

# Određivanje koncentracije teških metala u dodacima prehrani atomskom apsorpcijskom spektrometrijom : moringa i maca

---

**Bačurin, Ana**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:652280>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-11-23**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**I**

**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**Ana Bačurin**

**ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE TEŠKIH METALA U DODACIMA PREHRANI  
ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROMETRIJOM; MORINGA I MACA**

**Diplomski rad**

**Akadska godina: 2020./2021.**

**Mentor: doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun**

**Split, studeni 2020.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU**

**MEDICINSKI FAKULTET**

**I**

**KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**Ana Bačurin**

**ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE TEŠKIH METALA U DODACIMA PREHRANI  
ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROMETRIJOM; MORINGA I MACA**

**Diplomski rad**

**Akadska godina: 2020./2021.**

**Mentor: doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun**

**Split, studeni 2020.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

### DIPLOMSKI RAD

**Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet**  
**Integrirani preddiplomski i diplomski studij FARMACIJA**  
**Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska**

**Znanstveno područje:** Biomedicinske znanosti  
**Znanstveno polje:** Farmacija  
**Nastavni predmet:** Analitička kemija  
**Tema rada** je prihvaćena na 64. sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 28. Sjednici fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta i 26. sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta  
**Mentor:** doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun  
**Pomoć pri izradi:** doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek, Petra Brzović, mag. chem.

### **ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE TEŠKIH METALA U DODACIMA PREHRANI ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROMETRIJOM; MORINGA I MACA**

Ana Bačurin, broj indeksa 147

**Sažetak:** Pri niskim koncentracijama teški metali neophodni su za čovjekovo preživljavanje. Manjak esencijalnih elemenata može dovesti do poremećaja i bolesti u organizmu, dok pri visokim koncentracijama mogu postati toksični za ljudski organizam. Ovim eksperimentalnim radom određivane su koncentracije teških metala u pet različitih uzoraka dodataka prehrani Moringe i Mace. Mjerenje je izvršeno atomskom apsorpcijskom spektrometrijom sa elektrotoplinskom atomizacijom. Opisana su temeljna načela spektrofotometrije, te važne značajke atomske apsorpcijske spektrometrije. Prikazani su način pripreme uzoraka i standardnih otopina, te mjerenjem dobiveni rezultati. Teški metali čija je koncentracija mjerena su: bakar, kadmij, kobalt, krom, nikal i željezo. Temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti da u testiranim dodacima prehrani koncentracije teških metala uglavnom ne prelaze granicu toksičnosti. Povećane vrijednosti koncentracije željeza povezane su sa primjenom ovih dodataka prehrani u liječenju hematoloških poremećaja, dok ostali ispitivani metali prema dobivenim vrijednostima ne pokazuju negativan utjecaj na ljudsko zdravlje.

**Ključne riječi:** Moringa, Maca, teški metali, atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS)

**Rad sadrži:** 57 stranica, 35 slika, 14 tablica, 23 literaturne reference

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

1. doc. dr. sc. Franko Burčul, predsjednik
2. doc. dr. sc. Ivana Škugor Rončević, član
3. doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun, član – mentor

**Datum obrane:** 19.11.2020.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen** u knjižnici Medicinskog fakulteta u Splitu, Šoltanska 2.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

### GRADUATE THESIS

**Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine  
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy  
University of Split, Croatia**

**Scientific area:** Biomedical sciences  
**Scientific field:** Pharmacy  
**Course title:** Analytical chemistry  
**Thesis subject:** was approved by Council of Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, session no. 64 as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 28 and Faculty Council of School of Medicine, session no. 26  
**Mentor:** Lea Kukoč Modun, PhD, assistant professor  
**Technical assistance:** Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor, Petra Brzović, mag. chem.

### **DETERMINATION OF HEAVY METAL CONCENTRATION IN DIETARY SUPPLEMENT USING ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY; MORINGA AND MACA**

Ana Bačurin, index number 147

**Summary:** At low concentrations, heavy metals are essential for human survival. Lack of essential elements can lead to disorders and diseases in the human body, while at high concentrations they can become toxic. In this experiment, heavy metal concentrations were determined in five different samples of Moringa and Maca dietary supplements. The measurement was performed by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. The basic principles of spectrophotometry and the essential features of atomic absorption spectrometry were described in this work. We also presented the method of preparation of samples and standard solutions, and we presented the obtained results. Heavy metals whose concentration we measured were: copper, cadmium, cobalt, chromium, nickel and iron. The results led us to a conclusion that in the tested dietary supplements the concentrations of heavy metals generally do not exceed the toxicity limit. Increased values of iron concentrations are associated with the use of these dietary supplements in the treatment of hematological disorders, while other tested metals according to the obtained values do not show a negative impact on human health.

**Keywords:** Moringa, Maca, heavy metals, atomic absorption spectrometry (AAS)

**Thesis contains:** 57 pages, 35 figures, 14 tables, 23 references

**Original in:** Croatian

**Defence committee:**

1. Franko Burčul, PhD, assistant professor, chair person
2. Ivana Škugor Rončević, PhD, assistant professor, member
3. Lea Kukoč Modun, PhD, assistant professor, member – supervisor

**Defence date:** 19.11.2020.

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited** in Library of School of Medicine, Šoltanska 2.

*Diplomski rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Lee Kukoč Modun u razdoblju od veljače do srpnja 2020. godine.*

**Rad je financiran od Hrvatske zaklade za znanost projektom BioSMe (IP-2016-06-1316).**

## **Zahvala**

*Iskreno se zahvaljujem mentorici doc. dr. sc. Lei Kukoč Modun na strpljenju, pomoći i stručnim savjetima. Zahvaljujem se i doc. dr. sc. Mariu Nikoli Mužeku i Petri Brzović, mag. chem. na pomoći pri izradi diplomskog rada te uloženom trudu i vremenu.*

*Na nezaboravnim trenucima tijekom studiranja zahvaljujem svim kolegama i prijateljima koji su ih takvima učinili.*

*Za kraj, hvala mojim roditeljima Draženu i Željki, sestri Mariji, te Nikoli koji su bili najveća podrška i oslonac za vrijeme studiranja.*

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
1.1. <i>Moringa oleifera</i> Lam. ....	2
1.2 Maca - <i>Lepidium meyenii</i> Walp.....	3
1.3 Teški metali .....	4
1.3.1. Cink .....	4
1.3.2. Bakar .....	4
1.3.3. Kadmij .....	5
1.3.4. Kobalt .....	5
1.3.5. Krom.....	6
1.3.6. Nikal .....	6
1.3.7. Olovo .....	7
1.3.8. Željezo .....	7
1.3.9 Živa.....	8
1.4. Spektroskopija .....	9
1.4.1. Elektromagnetski spektar .....	9
1.4.2. Apsorpcija zračenja .....	9
1.4.3. Atomska apsorpcijska spektroskopija .....	12
2. CILJ ISTRAŽIVANJA .....	17
3. MATERIJALI I METODE .....	19
3.1. Materijali .....	20
3.2. Priprema standardnih otopina metala .....	21
3.2.1. Bakar (Cu) .....	22
3.2.2. Kadmij (Cd).....	23
3.2.3. Kobalt (Co).....	24
3.2.4. Krom (Cr) .....	25



3.2.5. Nikal (Ni) .....	27
3.2.6. Željezo (Fe) .....	28
3.3. Atomski apsorpcijski spektrometar .....	29
4. REZULTATI .....	34
4.1. Bakar (Cu) .....	42
4.2. Kadmij (Cd) .....	42
4.3. Kobalt (Co) .....	43
4.4. Krom (Cr) .....	43
4.5. Nikal (Ni) .....	44
4.6. Željezo (Fe) .....	44
5. ZAKLJUČAK .....	46
6. POPIS CITIRANE LITERATURE .....	49
7. SAŽETAK .....	52
8. SUMMARY .....	54
9. ŽIVOTOPIS .....	56

## **1. UVOD**

### 1.1. *Moringa oleifera* Lam.

*Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) je ljekovita indijska biljka. Pripada redu Brassica, te obitelji Moringaceae. Poznata je po svom doprinosu za ljudsko zdravlje, čime je stekla ime „čudotvorno drvo“. [1]

Gotovo svi dijelovi ove biljke: korijen, kora, list, mahune, cvijeće, sjeme i ulje sjemenki korišteni su u tradicionalnoj medicini za liječenje upala i zaraznih bolesti, te kardiovaskularnih, gastrointestinalnih, hematoloških i hepatorenalnih poremećaja. [2]



Slika 1.1. *Moringa oleifera* Lam. – plod [3]

Lišće moringe bogato je hranjivim sastojcima, željezom, vitaminima, mineralima, aminokiselinama i masnim kiselinama. Pripisuje joj se široki spektar fizioloških i farmakoloških aktivnosti što se temelji na tradicionalnoj primjeni. Najveća znanstvena podloga postoji za antioksidativne, antidijabetičke, antihiperlipidemijske i kemoprotektivne učinke. Kako bi se odredila točnost ovih tvrdnji tj. djelotvornost biljke za tvrdnje koje joj se pripisuju, ali i potencijalna toksičnost, potrebne su dodatne studije. [4]

## 1.2 Maca - *Lepidium meyenii* Walp.

Maca (*Lepidium meyenii* Walp.), biljka iz porodice Brassica stoljećima se koristi u Andama kao lijek za anemiju, neplodnost i ravnotežu ženskih hormona. [5]

Vlakna, minerali, polisaharidi, polifenoli, makaeni, makamidi, glukozinolati i alkaloidi glavni su biološki aktivni spojevi. Ove komponente same ili u kombinaciji pokazale su niz bioaktivnosti. Neke od značajki koje se pripisuju ovoj biljci su: promicanje reproduktivnog zdravlja, djelovanje protiv umora, neuroprotektivnost, antikancerogeni učinak, hepatoprotektivni i imunomodulatorni kapaciteti. [6]

Poznate su razlike između učinaka crne, žute i crvene sorte maca. Crna maca pokazuje najbolji učinak na spermatogenezu, pamćenje i umor, dok je crvena maca sorta koja svoju primjenu ostvaruje u liječenju benigne hiperplazije prostate i osteoporoze. Uz to, maca smanjuje razinu glukoze, a njena konzumacija povezana je s snižavanjem krvnog tlaka i poboljšanim zdravstvenim stanjem. Eksperimentalne studije pokazale su da kratkotrajna i dugotrajna konzumacija ne pokazuju toksičnost *in vivo* i *in vitro*. [7]



Slika 1.2. Žuti, ljubičasti i crni maca korijen [6]

Iako se danas na tržištu nalazi u obliku kapsula ili praha, zdravstvene tvrdnje koje se povezuju uz macu ne mogu se u potpunosti podržati sa znanstvenog stajališta. Potrebna su dodatna istraživanja. [8]

### **1.3 Teški metali**

Elementi su velike molarne mase i gustoće u usporedbi s vodom. Javljaju se u prirodi, a pri niskim koncentracijama neophodni su za preživljavanje čovjeka. Određeni teški metali pri višim koncentracijama mogu postati toksični za ljudski organizam. [9]

#### **1.3.1. Cink**

Posljedice nedostatka cinka poznate su već dugi niz godina, tek je nedavno pozornost usmjerena na potencijalne posljedice prekomjernog unosa cinka. Smatra se da je cink relativno netoksičan, a najviše se u organizam unosi hranom. [10]

##### **1.3.1.1 Toksični učinci cinka**

Izuzetno visok unos cinka dovodi do pojave simptoma toksičnosti (mučnina, povraćanje, epigastična bol, letargija i umor). Nedostatak bakra s popratnim simptomima anemije i neutrapenije, kao i oštećena imunološka funkcija moguće su posljedice pretjeranog unosa cinka. [10]

#### **1.3.2. Bakar**

Bakar (Cu) je važan esencijalni element, katalizator je za sintezu hema i apsorpciju željeza. Nužan je za djelovanje enzima citokromne oksidaze, tirozinaze, oksidaze askorbinske kiseline, urikaze, katalaze i peroksidaze. U ljudski organizam unosi se najviše prehranom. Biljna hrana sadržava 1-10 mg/kg bakra, dok je u namirnicama životinjskog podrijetla veća koncentracija. U obliku bakrova sulfata primjenjuje se i u vinogradarstvu. [11]

##### **1.3.2.1 Toksični učinci bakra**

Primjenom visokih doza bakrova sulfata javlja se povraćanje kao jasni znak intoksikacije. Na taj način smanjuje se i mogućnost apsorpcije. Iz tog razloga teško je odrediti granične doze, ali smatra se da je doza veća od 150 mg/kg smrtonosna. Dimerkaprol (BAL) i EDTA primjenjuju se kao kelirajuća sredstva, a uz njih koristi se i dijaliza za brže uklanjanje kelata. [11]

### 1.3.3. Kadmij

Mekan, srebrno-bijeli metal koji se u prirodi nalazi kao produkt iz prirodnih izvora (vulkani, stijene, šumski požari), ali i kao posljedica antropogenog djelovanja. Najvećim dijelom akumulacija kadmija nastaje zbog odlaganja otpada, spaljivanja ugljena, proizvodnje željeza i čelika. U ljudski organizam unosi se uglavnom udisanjem (zbog industrijskog zagađenja ili zbog pušenja), dok je unos putem hrane vrlo mali. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) dopušteni tjedni unos iznosi 7 µg/kg tjelesne težine. [11,12]

#### 1.3.3.1. Toksični učinci kadmija

Izvor onečišćenja kadmijem (Cd) može biti i kontaminacija lijekova i dodataka prehrani. Nakon apsorpcije, Cd se prenosi po tijelu, obično vezan za protein koji sadrži sulfhidrilne (-SH) skupine poput metalotioneina. Oko 30% kadmija odlaze se u jetri i 30% u bubrezima, a ostatak je raspoređen po tijelu. Uklanja se sporo, a vrijeme polueliminacije iznosi čak 16–33 godine. [13]

Vezanjem na sulfhidrilne skupine kadmij inhibira enzime kao što su: PEP-karboksilaza, lipaza, invertaza. Svoju toksičnost ostvaruje i oponašanjem esencijalnih elemenata u ljudskom organizmu cinka, bakra, željeza i selen. Glavni put izlučivanja je preko urina. Kao kompleks kadmij-metalotionein akumulira se u jetri, bubrezima, te u koštanom i mišićnom sustavu. Kao posljedice otrovanja kadmijem javljaju se poremećaji rada pluća i bubrežnih funkcija, a simptomi koji na to upućuju su iritacije gornjih dišnih putova, glavobolja, mučnina i vrtoglavica. FDA (engl. *Federal Drug Administration*, SAD) je odobrila EDTA kao protuotrov za kadmij i ostale teške metale zbog duge povijesti sigurne uporabe. [11,12]

### 1.3.4. Kobalt

Kobalt (Co) je relativno rijedak magnetski element sa svojstvima sličnim željezu i niklu. U prirodi se javlja prvenstveno kao arsenid, oksid i sulfid. Za opću populaciju prehrana je glavni izvor izloženosti kobaltu. Neophodan je za stvaranje vitamina B12 (hidroksokobalamin), međutim, pretjerana primjena ovog elementa može dovesti do stvaranja guše te smanjenja aktivnosti štitnjače. [14]

#### **1.3.4.1. Toksični učinci kobalta**

Plućna fibroza povezuje se sa industrijskom izloženošću prašini teških metala (volfram i kobalt), ali ne i samog kobalta. Izloženost samo kobaltu stvara alergijski kontaktni dermatitis i profesionalnu astmu. Svoj toksični učinak ostvaruje vezenjem za –SH skupine proteina, pokretanjem alergijske reakcije tipa I, te stvaranjem reaktivnih oblika kisika u stanicama što dovodi do oksidativnog oštećenja DNA, proteina i lipida. [14,15]

#### **1.3.5. Krom**

U trovalentnom stanju, krom (Cr) je esencijalan element, manje toksičan od drugih oblika (petero-, šesterovalentnih). U organizmu je važan za metabolizam inzulina te energetsko iskorištenje glukoze. Primjenjuje se u poljoprivredi, industriji boja, te u laboratorijima.

##### **1.3.5.1 Toksični učinci kroma**

Najviše kroma zaostaje u plućima, jetri, bubrezima, mozgu, mišićima i testisima. U organizam može biti unesen putem probavnog sustava, te u obliku prašine preko pluća. Zabilježena je i apsorpcija preko kože, a na njoj može uzrokovati alergijske reakcije (tzv. kromatni dermatitis). Dugotrajno izlaganje kromu ostavlja trag najviše na plućima, a rezultat može biti i razvoj zloćudnih tumora. Sredstva za keliranje kod trovanja bikromatima nisu pokazala dobar učinak, te se u ovom slučaju primjenjuje hemodijaliza. [11,12]

#### **1.3.6. Nikal**

Nikal (Ni) je srebrno-bijeli metal koji je esencijalni element u mnogo živih organizama. Pitka voda i hrana glavni su izvori nikla za opću populaciju. Postoje dokazi da se spojevi nikla akumuliraju u prehrambenom lancu, ali gotovo svi slučajevi akutne toksičnosti nikla proizlaze iz izloženosti niklovom karbonilu (hlapljiva tekućina koja se na sobnoj temperaturi raspada na ugljični monoksid i nikal). [16]

##### **1.3.6.1 Toksični učinci nikla**

Toksični učinci uključuju iritaciju dišnog trakta, te može uzrokovati i alergijske reakcije (kontaktni dermatitis). Pacijenti s teškim trovanjem razvijaju intenzivnu plućnu i gastrointestinalnu toksičnost. Natrijev dietilditiokarbamat je ispitivani lijek koji se koristi za keliranje nikla nakon izlaganja niklovom karbonilu. [16]

### **1.3.7. Olovo**

Mekan, lako savitljiv, srebrno-sivi metal bez sjaja. Najviše se primjenjuje u industriji. Zagađenje tla u blizini prometnica i industrijskih područja dovodi do kontaminacije biljaka, te unosa olova u životinjske organizme. Putem prehrane unosi se u ljudski organizam, a prema preporuci Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) dopušteni tjedni unos iznosi 25 µg/kg tjelesne težine. [12]

#### **1.3.7.1. Toksični učinci olova**

Olovo (Pb) svoj toksičan učinak ostvaruje vezanjem na sulfhidrilne skupine enzima (adenil-ciklaze i aminotransferaze) koje na taj način inhibira, zamjenom  $Ca^{2+}$  u transportnom sustavu, reakcijom sa nukleinskim kiselinama što dovodi do ometanja sinteze proteina te inhibicijom enzima koji sudjeluju u procesu sinteze hema. Simptomi koji mogu upućivati na trovanje olovom su promjene ponašanja, hiperaktivnost, grčevi, opstipacija. Teži oblici mogu uzrokovati i mentalnu retardaciju kod djece, nakupljanje olova u kostima i zubima, te smetnje reprodukcije. Najrjeđi i najopasniji oblik je encefalopatički tip trovanja olovom koji često završava smrću. [12]

Uobičajena koncentracija olova u krvi iznosi oko 0,5 µmol/L. Povećanje te koncentracije uočeno laboratorijskom analizom krvi znak je akutnog trovanja olovom. Zbog dugotrajne inhibicije pretvorbe protoporfirina IX u hem, te delta-aminolevulinske kiseline u porfobilinogen javlja se njihovo nakupljanje. Povećane razine protoporfirina IX i delta-aminolevulinske kiseline ukazuje nam na kroničnu izloženost ljudskog organizma olovu. Kao protuotrovi primjenjuju se dimerkaprol (BAL),  $CaNa_2EDTA$  i D-penicilamin. [11]

### **1.3.8. Željezo**

Željezo (Fe) u ljudski organizam najčešće dolazi putem probavnog sustava, ali moguće je i inhalacijom te putem kože. U organizmu se veže za feritin gdje se i skladišti, a njegova raspodjela ovisi o transportnim proteinima. Eliminacija željeza najvećim je dijelom preko mokraće. [11] Željezo smatramo esencijalnim elementom jer sudjeluje u staničnim procesima disanja, redoks reakcija, energetskog metabolizma, DNA sinteze i regulacije gena. Pomanjkanje i preopterećenje organizma željezom može imati fatalne posljedice, a one uključuju široki spektar bolesti od anemije do neurodegenerativnih poremećaja. Stoga je vrlo važno održavati optimalnu razinu željeza u ljudskom organizmu. [17]



### **1.3.8.1 Toksični učinci željeza**

Najčešći oblici otrovanja su oni putem željeza i njegovih pripravaka. Već unutar terapijskog intervala mogu se pojaviti određene nuspojave, a smrtonosne doze su 15-30 puta veće. U probavnom sustavu uzrokovati će hemoragijski gastritis, a moguća su i oštećenja jetre i bubrega, te cerebralni edem i metabolička acidoza. U slučaju trovanja uglavnom se primjenjuje ispiranje želuca. [11]

### **1.3.9 Živa**

Jedini je tekući metal na sobnoj temperaturi, široko je rasprostranjen. Oslobađa se iz prirodnih izvora, te ljudskim djelovanjem (fossilna goriva, termoelektrane, spaljivanje otpada itd.). Nalazi se u tlu, vodi i zraku. U prehrambenu industriju najvećim dijelom dolazi putem riba i drugih vodenih organizama. Uglavnom se u hrani nalazi u koncentraciji od 5 do 50 µg/kg. [12]

#### **1.3.9.1 Toksični učinci žive**

Javlja se u tri oblika: elementarna, anorganska i organska. Najtoksičniji oblik je organski spoj metil-živa ( $\text{CH}_3\text{Hg}$ ) koji se lako akumulira u organizmu, te se dugo zadržava zbog dugog poluživota (70 dana). Za neorganske oblike poluvrijeme izlučivanja je 40–60 dana. Vežanjem na –SH skupinu inhibira enzime, nepovoljno utječe na metabolizam minerala. Tri sindroma čine kliničku sliku kroničnog merkurijalizma: orofaringealni sindrom (pojačana salivacija, ulcerozni gingivitis, ispadanje zubi, bolovi u grlu), neuropsihički sindrom (umor, razdražljivost, depresija, tremor, nesanica, poremećaj govora) i renalni sindrom (proteinurija, nefrotski sindrom). Za uklanjanje žive iz organizma primjenjuju se kelati BAL i D-penicilamin, ovisno o obliku žive. [11,12]

## 1.4. Spektroskopija

Spektroskopske analitičke metode temelje se na mjerenju količine zračenja koje emitiraju ili apsorbiraju molekulske ili atomske vrste od interesa. [18]

### 1.4.1. Elektromagnetski spektar

Oblik energije koji se prenosi Svemirom ogromnim brzinama naziva se elektromagnetsko zračenje. Može se opisati kao val kojeg karakteriziraju valna duljina ( $\lambda$ ), frekvencija ( $\nu$ ), brzina ( $c$ ) i amplituda ( $A$ ). Valna duljina linearna je udaljenost između uzastopnih maksimuma ili minimuma vala, a frekvencija elektromagnetskog vala broj je oscilacija koje se javljaju u jednoj sekundi. Elektromagnetsko zračenje obuhvaća ultraljubičasti (UV), vidljivi (VIS), infracrveni (IR) dio spektra i druge.

U interakciji s drugim tvarima elektromagnetsko zračenje se promatra kao diskretne čestice energije nazvane fotoni. Energija pojedinog fotona ( $E$ ) proporcionalna je frekvenciji zračenja ( $\nu$ ), a to je vidljivo iz jednadžbe:

$$E = h \cdot \nu$$

gdje je  $h$  Planckova konstanta ( $6,63 \times 10^{-34}$  J s). [17]

### 1.4.2. Apsorpcija zračenja

Proces u kojem neka kemijska vrsta, prisutna u propusnoj sredini, selektivno prigušuje frekvencije elektromagnetskog zračenja naziva se apsorpcija. Osnovnim stanjem naziva se najniže energijsko stanje atoma ili molekule. Apsorpcija fotona može nastati samo ako je energija fotona jednaka energijskoj razlici između osnovnog i nekoga od viših energijskih stanja čestice. Pritom energija fotona prelazi u atom, ion ili molekulu prevodeći je u više energijsko, pobuđeno stanje. Pobuđivanje vrste  $M$  u ekscitiranu vrstu  $M^*$  može se opisati jednadžbom:



$M^*$  označava pobuđenu česticu.

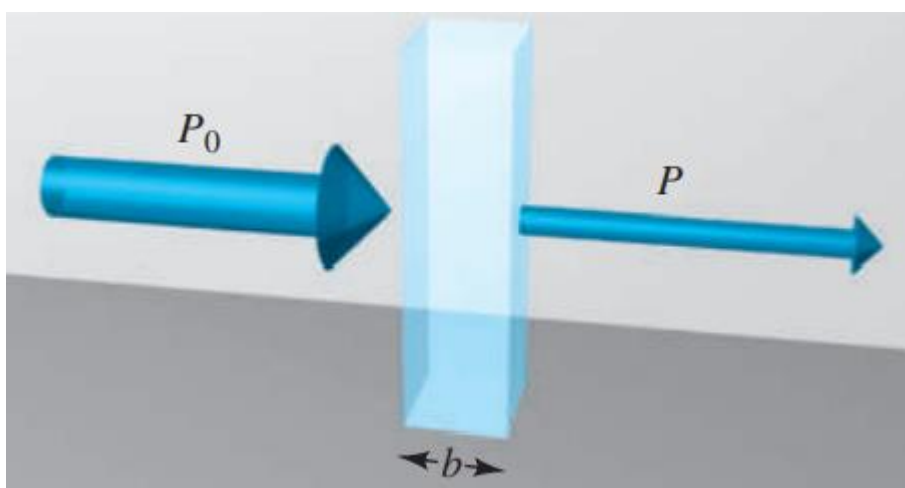
Nakon kratkog vremena ( $10^{-6}$ – $10^{-9}$  s) pobuđena se čestica vraća u niže energijsko stanje. U tom procesu pobuđena vrsta otpušta suvišak energije u obliku topline, relaksira se. Taj proces uzrokuje zanemarivo malo povišenje temperature u okolini, a opisuje se jednadžbom:



Čestice u pobuđenom stanju vrlo se brzo vraćaju u osnovno stanje, koncentracija pobuđenih čestica u bilo kojem trenutku može se smatrati zanemarivom. Također, količina toplinske energije otpuštene tijekom relaksacije je vrlo mala pa se ne može ni detektirati. [18]

Grafički prikaz funkcije slabljenja osnovnog snopa zračenja u ovisnosti o promjeni valne duljine, frekvencije ili valnog broja definicija je apsorpcijskog spektra. Vertikalna os takvih prikaza može biti apsorbanca ili propusnost (transmitancija) izražena u postocima [18,19].

Kada sloj svjetlosti prolazi kroz sloj otopine analit apsorbira zračenje upadne snage zračenja ( $P_0$ ), što rezultira smanjenjem snage zračenja ( $P$ ). Snaga zračenja je energija zračenja koja u jednoj sekundi pada na površinu detektora od  $1 \text{ cm}^2$ . (slika 1.3).



Slika 1.3. Prigušivanje snopa zračenja kao rezultat apsorpcije [18]

Transmitancija ( $T$ ) se definira kao udio upadnog zračenja koji je prošao kroz medij:

$$T = P/P_0 \quad (1-3)$$

gdje  $P_0$  predstavlja snagu zračenja snopa prije prolaska, a  $P$  snagu zračenja snopa nakon apsorpcije.

Apsorbancija ( $A$ ) otopine povezana je transmitancijom putem logaritma :

$$A = -\log T = -\log P/P_0 = \log P_0/P \quad (1-4)$$

S povećanjem apsorbancije otopine transmitancija se smanjuje. [18]

#### 1.4.2.1. Odnos između apsorbancije i koncentracije: Beerov zakon

Beerov zakon prikazuje nam kvantitativno kako količina prigušenja zračenja ovisi o koncentraciji apsorbirajućih molekula i duljini puta kroz koji se apsorpcija događa. Prema Beerovom zakonu, apsorbancija je izravno proporcionalna koncentraciji apsorbirajuće vrste ( $c$ ) i duljini puta ( $b$ ) apsorbirajućeg medija.

$$A = \log P_0/P = a \cdot b \cdot c \quad (1-5)$$

gdje je  $a$  konstanta proporcionalnosti koja se naziva apsorptivnost (apsorpcijski koeficijent),  $b$  duljina puta zračenja kroz uzorak, a  $c$  koncentracija apsorbirajuće vrste [18].

Apsorbancija je veličina bez dimenzija, a jedinice za apsorpcijski koeficijent određuju se uz pretpostavku da je lijeva strana jednadžbe bezdimenzijska. Ako je koncentracija izražena u  $\text{mol L}^{-1}$ , a duljina puta zračenja u cm, konstanta proporcionalnosti je izražena u  $\text{L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$  te se naziva molarna apsorptivnost,  $\varepsilon$ . Tada vrijedi:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (1-6)$$

Molarna apsorptivnost,  $\varepsilon$  iskazuje broj litara u kojima treba otopiti jedan mol neke tvari da bi apsorbancija bila 1 uz duljinu optičkog puta od 1 cm [18,19].

Beerov zakon također se odnosi na otopine koje sadrže više vrsta apsorbirajućih tvari. Pod uvjetom da nema interakcija između različitih vrsta tvari, ukupna će apsorbancija za višekomponentni sustav na jednoj valnoj duljini biti zbroj pojedinačnih apsorbancija. Drugim riječima:

$$A_{\text{ukupno}} = A_1 + A_2 + \dots + A_n = \varepsilon_1 \cdot b \cdot c_1 + \varepsilon_2 \cdot b \cdot c_2 + \dots + \varepsilon_n \cdot b \cdot c_n$$

gdje indeks  $n$  označuje tvari 1,2,...,  $n$  koje apsorbiraju zračenje [18,19].

#### **1.4.2.2. Ograničenja Beerovog zakona**

Beerov zakon strogo se primjenjuje samo kada se mjerenja obavljaju monokromatskim zračenjem samo za razrijeđene otopine. Pri koncentracijama većim od oko 0,01 M, prosječna udaljenost između iona ili molekula smanjuje i utječe na raspodjelu naboja susjednih iona ili molekula. To uzrokuje odstupanje od linearnog odnosa apsorbancije o koncentraciji i zato Beerov zakon smatramo ograničavajućim zakonom.

Kemijska odstupanja od Beerovog zakona pojavljuju se kada se pojave reakcije asocijacije, disocijacije ili reakcije s otapalom. Pri tome nastaje produkt različitih apsorpcijskih značajki od analita.[18,19]

#### **1.4.3. Atomska apsorpcijska spektroskopija**

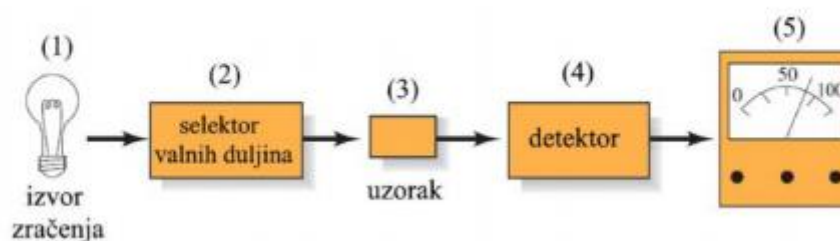
Suvremena atomska apsorpcijska spektroskopija uvedena je 1955. godine kao rezultat neovisnog rada A. Walsha i C. T. J. Alkemadea. Atomska apsorpcijska spektroskopija se kao i molekulska apsorpcijska spektroskopija temelji na ultraljubičastom i vidljivom zračenju, te se primjenjuje za kvantitativnu analizu.

Atomski apsorpcijski spektrofotometri imaju sličnu tehnologiju kao i kod molekulskih apsorpcijskih spektrofotometara, međutim važna je razlika atomske apsorpcijske spektroskopije što se analit mora prevesti u slobodne atome. [20]

##### **1.4.3.1. Instrumenti u atomskoj apsorpcijskoj spektrometriji**

Pet osnovnih dijelova spektroskopskih uređaja:

1. stabilni izvor zračenja;
2. selektor valnih duljina koji omogućuje izdvajanje određenog valnog područja;
3. atomizator;
4. detektor zračenja ili pretvornik energije zračenja u mjerljiv signal;
5. procesor signala i uređaj za njegovo očitavanje [19].



Slika 1.4. Sastavni dijelovi instrumenta za apsorpcijsku spektroskopiju [21]

Najčešće korišteni izvor zračenja za atomsku apsorpcijsku spektroskopiju je žarulja sa šupljom katodom koja se sastoji se od volframove anode i cilindrične katode, te inertnog plina (npr. argon). Katoda je izrađena od elementa koji se određuje ili je obložena njime. Promjena potencijala od približno 300 V na elektrodama uzrok je ionizacije argona i nastajanja struje od 5 do 10 mA, jer kationi argona putuju prema katodi, a elektroni prema anodi. Pri dovoljno velikom potencijalu kationi argona udaraju na katodu energijom dovoljno velikom za izbijanje nekolicine atoma metala, čime nastaje atomski oblak. Dio izbijenih atoma nalazi se u pobuđenom stanju te emitiraju tipične valne duljine pri povratku u osnovno stanje. Izbijeni atomi mogu prijeći natrag na površinu katode ili pak na stjenku žarulje i tamo se istaložiti. [22]



Slika 1.5. Žarulje sa šupljom katodom

Monokromator dio je instrumenta koji raspršuje različite valne duljine svjetlosti koje emitira izvor te izolira specifičnu valnu duljinu koja se želi mjeriti. Na taj način, odabirom određene valne duljine tog izvora omogućuje se određivanje izabranog elementa u prisutnosti drugih. Valna duljina svjetlosti koju je izolirao monokromator usmjerena je na uzorak. [18]

Važan dio atomskog apsorpcijskog spektrofotometra je atomizator koji je odgovoran za pretvorbu analita u slobodne atome.

Postupak atomizacije kod atomskih spektroskopskih metoda može se postići:

1. plamenom
2. elektrotoplinski
3. induktivno spregnutom plazmom. [22]

S obzirom na način atomizacije razlikujemo četiri AAS tehnike: plamena AAS (P AAS), elektrotoplinska (ET AAS), tehnika hladnih para (*Cold Vapour*, CV AAS), te hidridna AAS (*Hydride generation*, H AAS). [22]

### **Plamena atomska apsorpcijska spektrometrija (P AAS)**

Pri atomizaciji plamenom uzorak se prvo prevodi u finu maglicu koja se miješa sa plinovima izgaranja u komori za raspršivanje. Na plameniku toplinska energija plamena pretvara aerosolnu maglicu u suhi aerosol malih, čvrstih čestica, a nakon toga stvara paru slobodnih atoma. [19] Atomizacijom u plamenu veliki dio uzorka ili odlazi u otpad ili nije potpuno atomiziran, a pojedinačni atomi u optičkom putu nalaze se vrlo kratko ( $10^{-4}$  s). [22]

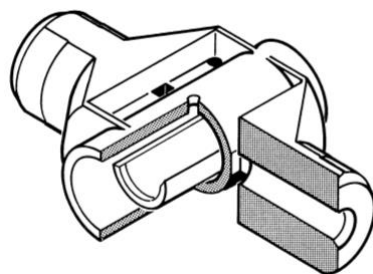
### **Elektrotoplinska atomska apsorpcijska spektrometrija (ET AAS)**

Elektrotoplinska atomizacija (grafitna tehnika) osigurava značajno poboljšanje osjetljivosti, te koncentracija analita u rezultirajućoj parnoj fazi može biti čak 1000 puta veća od one koja nastaje raspršivanjem plamenom. Tipični elektrotoplinski raspršivač, poznat i kao grafitna peć, sastoji se od cilindrične grafitne cijevi duljine približno 1–3 cm i promjera 3–8 mm. Propuštanjem struje grafitni nosač se zagrijava kako bi došlo do pretvorbe analita u slobodne atome. Kontinuirana struja inertnog plina, štiti grafitnu cijev od oksidacije i uklanja plinovite proizvode nastale tijekom raspršivanja. [20]

U elektrotoplinskom atomizatoru odvijaju se:

1. Sušenje - pri temperaturi do 120 °C i stalni protok plina nosioca (Ar)
2. Spaljivanje (piroliza) - pri temperaturama od 200 °C do 700 °C
3. Atomizacija - temperatura od 2000 °C ili 3000 °C, postiže se u nekoliko milisekundi, traje 3 - 5 sekundi, bez protoka plina nosioca.
4. Čišćenje - podizanje temperature do maksimalne, uz protok plina nosioca
5. Hlađenje - uz protok plina i rashladne vode pri čemu temperatura u roku od 20 sekundi pada s 2400 °C na 20 °C

U cilindričnoj grafitnoj cijevi (grafitnoj kivetu) odvija se proces atomizacije. Ona je otvorena na dva kraja, te sadrži središnju šupljinu u koju se mikropipetom unosi uzorak. Ispod otvora za unošenje uzorka nalazi se L'vovljev podložak koji omogućuje da nanese uzorak, pri naglom povišenju temperature, nije odmah atomiziran. Kako bi brzina stvaranja slobodnih atoma mogla biti jednaka ili viša od brzine nestanka iz optičkog puta, tijekom atomizacije zaustavlja se protok plina nosioca, te se na taj način ostvaruje zadržavanje analita u području mjerenja. Na ovaj način postiže se visoka osjetljivost elektrotoplinske metode atomizacije uzorka. [22]



Slika 1.6. Grafitna kiveta, presjek

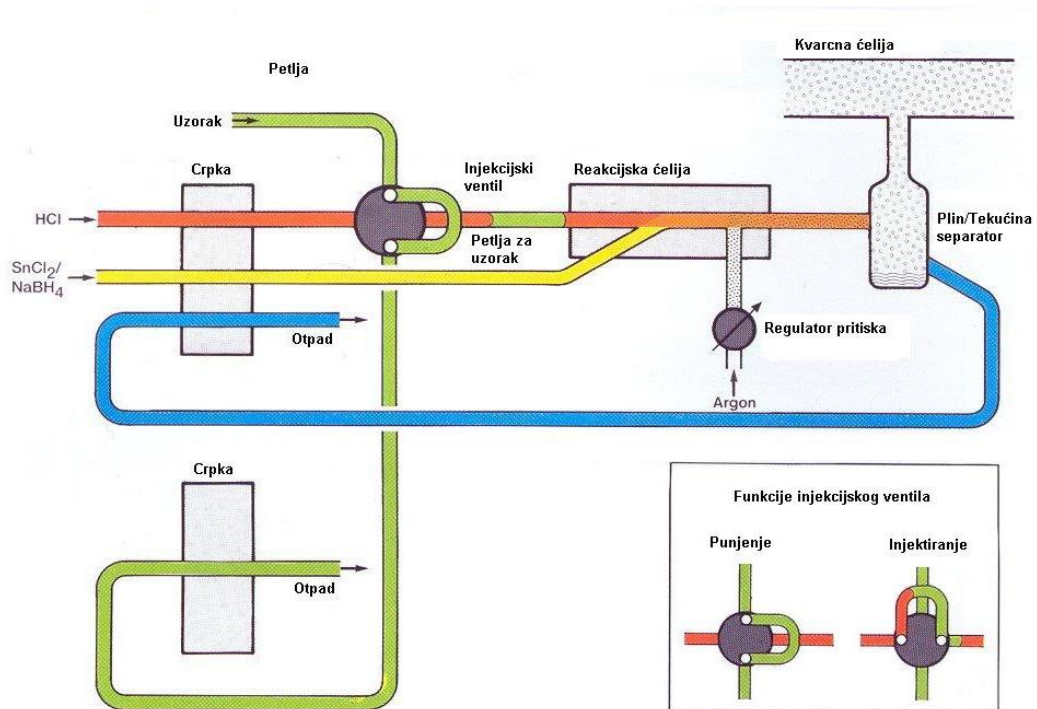
### **Hladne pare (Cold Vapour; CV AAS)**

Cold Vapour je analitička tehnika za određivanje žive. Živa se ne određuje atomskom apsorpcijom uz zagrijavanje, već se reducira jakim redukcijskim sredstvom ( $\text{SnCl}_2$  ili  $\text{NaBH}_4$ ) kako bi nastao elementarni (hlapivi) oblik žive. Kao takva uvodi se u svjetlosni put instrumenta. Navedeno se provodi u protočnom sustavu identičnom onome kod hidridne tehnike. [22]



## Hidridna tehnika (Hydride Generation; HG AAS)

Kod hidridne tehnike uzorci se reduciraju redukcijskim sredstvom ( $\text{SnCl}_2$  ili  $\text{NaBH}_4$ ), a dobiveni plinski produkti su hlapivi hidridi. Dobiveni hidridi prije apsorpcije prevode se u elementarne atome zagrijavanjem ćelije. Protočna injekcijska tehnika služi za stvaranje i odvajanje hidrida. Ovom tehnikom se s visokom preciznošću određuju elementi koji tvore hidride: As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn, Te. [22]



Slika 1.7. Protočno injekcijski sustav za hidridnu tehniku [22]

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Koncentracije metala u uzorcima moguće je odrediti i drugim analitičkim tehnikama, ali zbog svojih prednosti kao što je selektivnost i niska granica određivanja atomska apsorpcijska spektroskopija vrlo često se koristi u analitici lijekova. Cilj istraživanja predstavljenog u ovom diplomskom radu je odrediti koncentracije teških metala u dodacima prehrani, Maca i Moringa atomskom apsorpcijskom spektroskopijom.

Teški metali se velikim dijelom u organizam unose putem prehrane. Određivanjem koncentracija nekih od navedenih teških metala cilj je utvrditi može li njihova prisutnost i unos putem razmatranih dodataka prehrani utjecati na ljudsko zdravlje ili su količine teških metala koje se na ovaj način unose u organizam zanemarive.

### **3. MATERIЈALI I METODE**

### 3.1. Materijali

Za analizu korištena su po dva oblika svakog od opisanih dodataka prehrani: Moringa u prahu (Encian i Nutrigold), čaj od moringe (Nutrigold), maca prah (žuti korijen, Bio&Bio) i maca prah (crveni korijen, Nutrigold). Navedeni uzorci obrađivani su kako slijedi; uzorak čaja od moringe u tarioniku je usitnjen u prah, dok su svi ostali uzorci već bili u obliku praha. Svaki uzorak je pripreman u duplikatu. Odvagano je približno 1 g svakog uzorka u porculanskom lončiću za žarenje, te je zabilježena točna masa. Uzorci u porculanskim lončićima su žareni na 500 °C u žarnoj (mufolnoj) peći. Ovaj proces odvija se najmanje 8 sati (odnosno do konstantne mase). Produkt žarenja je pepeo koji se ohladi do sobne temperature te potom otapa u 5 mL 0,2 % HNO<sub>3</sub>. Otopina se filtrira u odmjernu tikvicu od 50 mL i razrijedi do oznake deioniziranom vodom.



Slika 3.1. Dodaci prehrani analizirani u ovom radu

Tablica 3.1. Uzorci korišteni za analizu

UZORAK	OZNAKA LONČIČA	MASA ODVAGE, $m_v$ (g)
MORINGA ENCIAN 1	M1A	1,0233
MORINGA ENCIAN 2	M2A	1,0202
MORINGA NUTRIGOLD 1	M3A	1,0207
MORINGA NUTRIGOLD 2	M4A	1,0218
MORINGA ČAJ NUTRIGOLD 1	M5A	1,0234
MORINGA ČAJ NUTRIGOLD 2	M6A	1,0245
MACA BIO&BIO 1	M7A	1,0209
MACA BIO&BIO 2	M8A	1,0216
MACA CRVENA NUTRIGOLD 1	M9A	1,0228
MACA CRVENA NUTRIGOLD 2	M10A	1,0247

### 3.2. Priprema standardnih otopina metala

U pripravljenim uzorcima određivana je koncentracija slijedećih metala: kadmija, kobalta, kroma, bakra, nikla, i željeza. Budući da je atomska apsorpcijska spektroskopija relativna tehnika, potrebno je izraditi krivulje umjeravanja, za svaki ispitivani element. Krivulje umjeravanja izrađuju se analizom standardnih otopina ispitivanih elemenata. Za svaki element zadana je vrijednost osjetljivosti (S), a krivulja umjeravanja izrađuje se analizom standarda slijedećih odnosa koncentracija: 1/2 S, S, 3 S i 6 S.

Tablica 3.2. Valne duljine pri kojima se vrše mjerenja

Analizirani metal	Valna duljina ( $\lambda$ /nm)
Bakar	324,8
Kadmij	228,8
Kobalt	242,5
Krom	357,9
Nikal	232,0
Željezo	248,3

Komercijalno dostupne standardne otopine ovih metala imaju koncentraciju 1000 ppm te je njihovim razrjeđenjem moguće pripremiti niže koncentracije. Pri proračunima je korištena jednadžba:

$$c_s \times V_s = c_{s1} \times V_k$$

gdje je  $c_s = 1000$  ppm, koncentracija standardne otopine,  $V_s$  volumen standardne otopine koji je potreban da se dobije odgovarajuća koncentracija,  $c_{s1}$  predstavlja željenu koncentraciju, a  $V_k$  predstavlja volumen odmjerne tikvice u kojoj se radi razrjeđenje (10 mL).

### 3.2.1. Bakar (Cu)

Preporučeni uvjeti za analizu bakra nalaze se u tablici.

Tablica 3.3. Preporučeni uvjeti za analizu bakra

<b>Element:</b>	Cu
<b>Valna duljina:</b>	324,8 nm
<b>Temperatura pirolize:</b>	1200 °C
<b>Temperatura atomizacije:</b>	1900 °C
<b>Karakteristična masa:</b>	17 pg/0,0044 A s <sup>-1</sup>
<b>Osjetljivost (S)</b>	25 ug/L za 0.22 A s <sup>-1</sup>
<b>Otapalo:</b>	0,2 % HNO <sub>3</sub>
<b>Vrijeme atomizacije:</b>	5 s

Za bakar je navedena osjetljivost:  $S = 25$  ppb, što znači da je za izradu krivulje umjerenja potrebno pripremiti slijedeće koncentracije: 12,5 ppb, 25 ppb, 75 ppb te 150 ppb.

Zbog izbjegavanja pogreške kod razrjeđenja, potrebno ih je raditi postupno. U prvom koraku potrebno je od osnovne standardne otopine koncentracije 1000 ppm pripremiti otopinu koncentracije 10 ppm.

$$V_s = \frac{c_{s1} \times V_k}{c_s} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 100 \mu\text{L}$$

Za pripremu 10 mL standardne otopine koncentracije 10 ppm, potrebno je 100  $\mu\text{L}$  otopine koncentracije 1000 ppm. Sam uređaj može raditi razrjeđenja, te je potrebno pripremiti samo dvije standardne otopine, 150 ppb i 25 ppb.

$$2) c_{s2} = 150 \text{ ppb} = 0,150 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s2} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,150 \text{ mL} = 150 \mu\text{L}$$

Za pripremu otopine koncentracije 150 ppb potrebno je 150  $\mu\text{L}$  otopine koncentracije 10 ppm.

Potreban je i još jedan korak razrjeđenja prije pripreme konačne standardne otopine:

$$3) c_{s3} = 100 \text{ ppb} = 0,1 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s3} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}$$

Za pripremu otopine koncentracije 100 ppb potrebno je 100  $\mu\text{L}$  otopine koncentracije 10 ppm.

$$4) c_{s4} = 25 \text{ ppb}$$

$$V_{s3} = \frac{c_{s4} \times V_k}{c_{s3}} = \frac{25 \text{ ppb} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 2,5 \text{ mL}$$

Za pripremu otopine koncentracije 25 ppb potrebno je 2,5 mL otopine koncentracije 100 ppb.

Analizom pripremljenih standardnih otopina bakra, izrađena je krivulja umjeravanja.

#### Calibration Standard Concentrations

	ID	Concentration	A/S	Loc	Stock (uL)	Diluent (uL)
Calib Blank	0,2%HNO3			121	20	0
Standard 1	Calib Std 1	12.5		1	5	15
Standard 2	Calib Std 2	25		1	10	10
Standard 3	Calib Std 3	75		2	10	10
Standard 4	Calib Std 4	150		2	20	0

Slika 3.2. Analizirane standardne otopine bakra za izradu krivulje umjeravanja, program samouzorkivača

### 3.2.2. Kadmij (Cd)

Podaci preporučeni za analizu kadmija navedeni su u tablici.

Tablica 3.4. Preporučeni uvjeti za analizu kadmija

<b>Element:</b>	Cd
<b>Valna duljina:</b>	228,8 nm
<b>Temperatura pirolize:</b>	700 °C
<b>Temperatura atomizacije:</b>	1400 °C
<b>Karakteristična masa:</b>	1,3 pg/0,0044 A s <sup>-1</sup>
<b>Osjetljivost (S)</b>	2,0 ug/L za 0.22 A s <sup>-1</sup>
<b>Otapalo:</b>	0,2 % HNO <sub>3</sub>
<b>Vrijeme atomizacije:</b>	3 s

Budući da je osjetljivost 2 ppb, potrebno je za izradu krivulje umjeravanja analizirati standardne otopine slijedećih koncentracija: 1 ppb, 2 ppb, 6 ppb i 12 ppb.

$$c_s = 1000 \text{ ppm}$$



$$1) c_{s1} = 10 \text{ ppm}$$

$$V_s = \frac{c_{s1} \times V_k}{c_s} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 100 \mu\text{L}$$

$$2) c_{s2} = 100 \text{ ppb} = 0,1 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s2} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}$$

$$3) c_{s3} = 2 \text{ ppb}$$

$$V_{s2} = \frac{c_{s3} \times V_k}{c_{s2}} = \frac{2 \text{ ppb} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 0,2 \text{ mL} = 200 \mu\text{L}$$

$$4) c_{s4} = 12 \text{ ppb}$$

$$V_{s2} = \frac{c_{s4} \times V_k}{c_{s2}} = \frac{12 \text{ ppb} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 1,2 \text{ mL} = 1200 \mu\text{L}$$

#### Calibration Standard Concentrations

	ID	Concentration	A/S	Loc	Stock (uL)	Diluent (uL)
Calib Blank	Calib Blank 1			121	20	0
Standard 1	Calib Std 1	1		1	5	15
Standard 2	Calib Std 2	2		1	10	10
Standard 3	Calib Std 3	6		2	10	10
Standard 4	Calib Std 4	12		2	20	0

Slika 3.3. Analizirane standardne otopine kadmija za izradu krivulje umjeravanja, program samouzorkivača

### 3.2.3. Kobalt (Co)

Podaci preporučeni za analizu kobalta navedeni su u tablici.

Tablica 3.5. Preporučeni uvjeti za analizu kobalta

<b>Element:</b>	Co
<b>Valna duljina:</b>	242,5 nm
<b>Temperatura pirolize:</b>	1400 °C
<b>Temperatura atomizacije:</b>	2400 °C
<b>Karakteristična masa:</b>	17 pg/0,0044 A s <sup>-1</sup>
<b>Osjetljivost (S)</b>	20 ug/L za 0.22 A s <sup>-1</sup>
<b>Otapalo:</b>	0,2 % HNO <sub>3</sub>
<b>Vrijeme atomizacije:</b>	4 s

$$c_s = 1000 \text{ ppm}$$

Temeljem navedene osjetljivosti od 20 ppm, zadane su koncentracije standarda: 10, 20, 60 i 120 ppm.

$$1) c_{s1} = 10 \text{ ppm}$$

$$V_s = \frac{c_{s1} \times V_k}{c_s} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 100 \mu\text{L}$$

$$2) c_{s2} = 100 \text{ ppb} = 0,1 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s2} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}$$

$$3) c_{s3} = 20 \text{ ppb}$$

$$V_{s2} = \frac{c_{s3} \times V_k}{c_{s2}} = \frac{20 \text{ ppb} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 2 \text{ mL}$$

$$4) c_{s4} = 120 \text{ ppb} = 0,120 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s4} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,120 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,120 \text{ mL} = 120 \mu\text{L}$$

#### Calibration Standard Concentrations

	ID	Concentration	A/S	Loc	Stock (uL)	Diluent (uL)
Calib Blank	0,2%HNO3			1	20	0
Standard 1	Calib Std 1	10		2	10	10
Standard 2	Calib Std 2	20		2	20	0
Standard 3	Calib Std 3	60		3	10	10
Standard 4	Calib Std 4	120		3	20	0

Slika 3.4. Analizirane standardne otopine kobalta za izradu krivulje umjeravanja, program samouzorkivača

### 3.2.4. Krom (Cr)

Preporučeni uvjeti za analizu kroma nalaze se u tablici.

Tablica 3.6. Preporučeni uvjeti za analizu kroma

<b>Element:</b>	Cr
<b>Valna duljina:</b>	357,9 nm
<b>Temperatura pirolize:</b>	1500 °C
<b>Temperatura atomizacije:</b>	2300 °C
<b>Karakteristična masa:</b>	7 pg/0,0044 A s <sup>-1</sup>
<b>Osjetljivost (S)</b>	10 ug/L za 0.22 A s <sup>-1</sup>
<b>Otapalo:</b>	0,2 % HNO <sub>3</sub>
<b>Vrijeme atomizacije:</b>	5 s

U skladu s navedenom osjetljivošću,  $S = 10$ , standardne otopine za izradu krivulje umjeravanja su redom: 5 ppb, 10 ppb, 30 ppb i 60 ppb.

$$c_s = 1000 \text{ ppm}$$

$$1) c_{s1} = 10 \text{ ppm}$$

$$V_s = \frac{c_{s1} \times V_k}{c_s} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 100 \mu\text{L}$$

$$2) c_{s2} = 100 \text{ ppb} = 0,1 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s2} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}$$

$$3) c_{s3} = 10 \text{ ppb}$$

$$V_{s2} = \frac{c_{s3} \times V_k}{c_{s2}} = \frac{10 \text{ ppb} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 1 \text{ mL}$$

$$4) c_{s4} = 60 \text{ ppb}$$

$$V_{s2} = \frac{c_{s4} \times V_k}{c_{s2}} = \frac{60 \text{ ppb} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 6 \text{ mL}$$

### Calibration Standard Concentrations

	ID	Concentration	A/S	Loc	Stock (uL)	Diluent (uL)
Calib Blank	0,2 HNO <sub>3</sub>			121	20	0
Standard 1	Calib Std 1	5		1	5	15
Standard 2	Calib Std 2	10		1	10	10
Standard 3	Calib Std 3	30		2	10	10
Standard 4	Calib Std 4	60		2	20	0

Slika 3.5. Analizirane standardne otopine kroma za izradu krivulje umjeravanja, program samouzorkivača

### 3.2.5. Nikal (Ni)

Preporučeni uvjeti za analizu nikla navedeni su u tablici:

Tablica 3.7. Preporučeni uvjeti za analizu nikla

<b>Element:</b>	Ni
<b>Valna duljina:</b>	232,0 nm
<b>Temperatura pirolize:</b>	1100 °C
<b>Temperatura atomizacije:</b>	2300 °C
<b>Karakteristična masa:</b>	20 pg/0,0044 A s <sup>-1</sup>
<b>Osjetljivost (S)</b>	50 ug/L za 0.22 A s <sup>-1</sup>
<b>Otopalo:</b>	0,2 % HNO <sub>3</sub>
<b>Vrijeme atomizacije:</b>	5 s

Budući da je navedena osjetljivost  $S = 50$  ppb, za krivulju umjeravanja potrebne su slijedeće koncentracije standardnih otopina: 25 ppb, 50 ppb, 150 ppb i 300 ppb.

$$c_s = 1000 \text{ ppm}$$

$$1) c_{s1} = 10 \text{ ppm}$$

$$V_s = \frac{c_{s1} \times V_k}{c_s} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 100 \mu\text{L}$$

$$2) c_{s2} = 100 \text{ ppb} = 0,1 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s2} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}$$

$$3) c_{s3} = 50 \text{ ppb}$$

$$V_{s2} = \frac{c_{s3} \times V_k}{c_{s2}} = \frac{50 \text{ ppb} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 5 \text{ mL}$$

$$4) c_{s4} = 300 \text{ ppb} = 0,3 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s4} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,3 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,3 \text{ mL} = 300 \mu\text{L}$$

#### Calibration Standard Concentrations

	ID	Concentration	A/S	Loc	Stock (uL)	Diluent (uL)
Calib Blank	0,2% HNO <sub>3</sub>			121	20	0
Standard 1	Calib Std 1	25	1		5	15
Standard 2	Calib Std 2	50	1		10	10
Standard 3	Calib Std 3	150	2		10	10
Standard 4	Calib Std 4	300	2		20	0

Slika 3.6. Analizirane standardne otopine nikla za izradu krivulje umjeravanja, program samouzorkivača

### 3.2.6. Željezo (Fe)

Preporučeni uvjeti za analizu željeza navedeni su u tablici:

Tablica 3.8. Preporučeni uvjeti za analizu željeza

<b>Element:</b>	Fe
<b>Valna duljina:</b>	248,3 nm
<b>Temperatura pirolize:</b>	1400 °C
<b>Temperatura atomizacije:</b>	2100 °C
<b>Karakteristična masa:</b>	12 pg/0,0044 A s <sup>-1</sup>
<b>Osjetljivost (S)</b>	20 ug/L za 0.22 A s <sup>-1</sup>
<b>Otapalo:</b>	0,2 % HNO <sub>3</sub>
<b>Vrijeme atomizacije:</b>	3 s

Temeljem navedene osjetljivosti od 20 ppm, zadane su koncentracije standarda: 10, 20, 60 i 120 ppm.

$$1) c_{s1} = 10 \text{ ppm}$$

$$V_s = \frac{c_{s1} \times V_k}{c_s} = \frac{10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}} = 100 \mu\text{L}$$

$$2) c_{s2} = 100 \text{ ppb} = 0,1 \text{ ppm}$$

$$V_{s1} = \frac{c_{s2} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,1 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}$$

3)  $c_{s3} = 20 \text{ ppb}$

$$V_{s2} = \frac{c_{s3} \times V_k}{c_{s2}} = \frac{20 \text{ ppb} \times 10 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 2 \text{ mL}$$

4)  $c_{s4} = 120 \text{ ppb} = 0,120 \text{ ppm}$

$$V_{s1} = \frac{c_{s4} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{0,120 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,120 \text{ mL} = 120 \mu\text{L}$$

#### Calibration Standard Concentrations

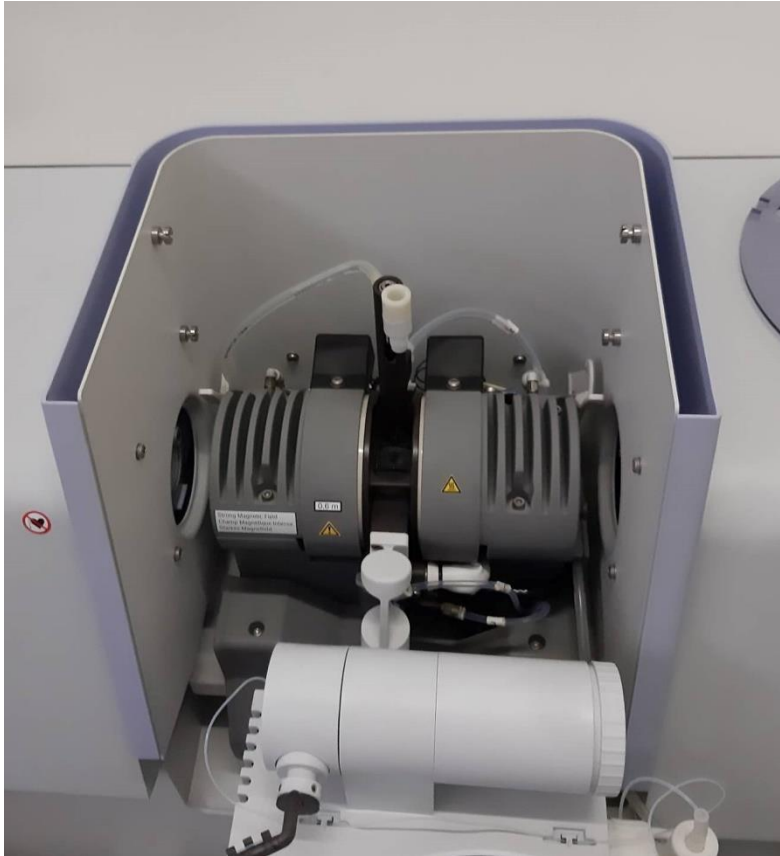
	ID	Concentration	A/S	Loc	Stock (uL)	Diluent (uL)
Calib Blank	0.2 HNO <sub>3</sub>			121	20	0
Standard 1	Calib Std 1	10	1	1	5	15
Standard 2	Calib Std 2	20	1	1	10	10
Standard 3	Calib Std 3	60	2	2	10	10
Standard 4	Calib Std 4	120	2	2	20	0

Slika 3.7. Analizirane standardne otopine željeza za izradu krivulje umjeravanja, program samouzorkivača

Ovako pripravljene otopine analizirane su atomskim apsorpcijskim spektrofotometrom, u skladu s navedenim preporučenim uvjetima. Izmjerene apsorbancije korištene su za izradu krivulja umjeravanja, a potom je provedena analiza uzoraka. Apsorbancija dobivena analizom uzoraka računski se uspoređuje sa izrađenom krivuljom umjeravanja i na taj način se izračunava nepoznata koncentracija analita u uzorku.

### 3.3. Atomski apsorpcijski spektrometar

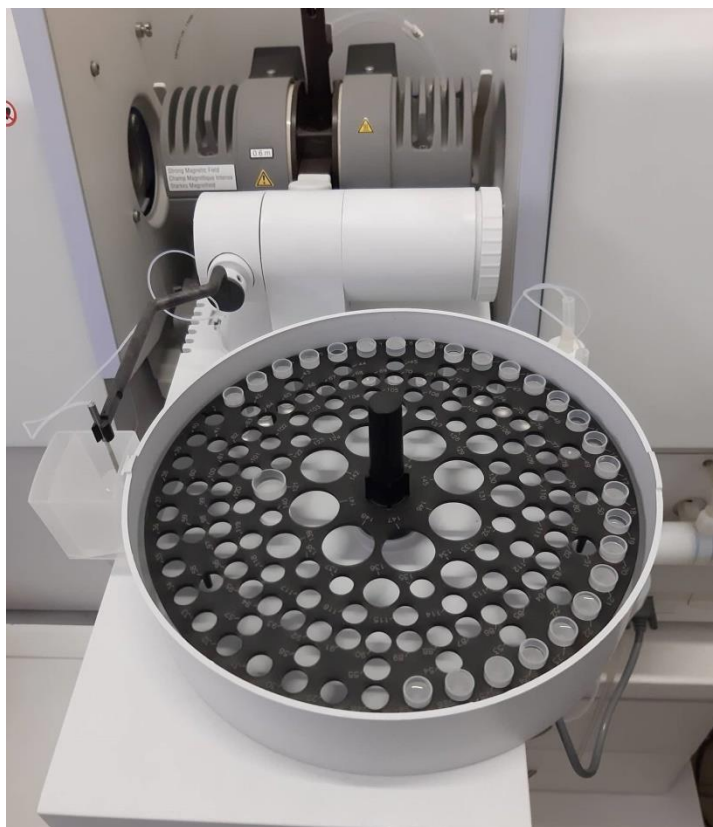
Ovako pripremljeni uzorci i standardne otopine analiziraju se korištenjem atomskog apsorpcijskog spektrofotometra koji atomizaciju uzorka provodi u grafitnoj peći (Slika 3.8.).Uzorak se mikropipetom injektira u grafitnu kivetu (Slika 3.9.). Elektrotoplinskom atomizacijom, koju primjenjuje ovaj uređaj, povećana je osjetljivost određivanja analita u uzorku.



Slika 3.8. Grafitna peć unutar koje se nalazi grafitna kiveta



Slika 3.9. Grafitna kiveta [23]



Slika 3.10. Podložak za uzorke u samouzorkivaču

Za svaki od ispitivanih elemenata izrađen je program u skladu s preporučenim uvjetima. Temperaturni programi za svaki element navedeni su u nastavku. Programi su napisani kroz 5 koraka, te je definirano vrijeme u sekundama potrebno da se pojedini korak postigne, te vrijeme koje uzorak provodi na određenoj temperaturi. Koraci 1 i 2 odnose se na sušenje, odnosno uklanjanje otapala. Korak 3 je piroliza, korak 4 je atomizacija. Vrijeme postizanja temperature atomizacije jest 0. Korak 5 je čišćenje, nakon čega opet počinje ciklus od početka.



**Furnace Program**

Step	Temp (°C)	Ramp Time	Hold Time	Internal Flow	Gas Type
1	110	1	30	250	Normal
2	130	15	30	250	Normal
3	1200	10	20	250	Normal
4	2000	0	5	0	Normal
5	2450	1	3	250	Normal

Read Step : 4 Injection Temperature(°C) : 20

No extra furnace cleanout.

Slika 3.11. Temperaturni program za određivanje bakra

**Furnace Program**

Step	Temp (°C)	Ramp Time	Hold Time	Internal Flow	Gas Type
1	110	1	30	250	Normal
2	130	15	30	250	Normal
3	500	10	20	250	Normal
4	1500	0	5	0	Normal
5	2450	1	3	250	Normal

Read Step : 4 Injection Temperature(°C) : 20

No extra furnace cleanout.

Slika 3.12. Temperaturni program za određivanje kadmija

**Furnace Program**

Step	Temp (°C)	Ramp Time	Hold Time	Internal Flow	Gas Type
1	110	1	30	250	Normal
2	130	15	30	250	Normal
3	1400	10	20	250	Normal
4	2400	0	5	0	Normal
5	2500	1	5	250	Normal

Read Step : 4 Injection Temperature(°C) : 20

No extra furnace cleanout.

Slika 3.13. Temperaturni program za određivanje kobalta

#### Furnace Program

Step	Temp(°C)	Ramp Time	Hold Time	Internal Flow	Gas Type
1	110	1	30	250	Normal
2	130	15	30	250	Normal
3	1500	10	20	250	Normal
4	2300	0	5	0	Normal
5	2450	1	3	250	Normal

Read Step : 4 Injection Temperature(°C) : 20

No extra furnace cleanout.

Slika 3.14. Temperaturni program za određivanje kroma

#### Furnace Program

Step	Temp(°C)	Ramp Time	Hold Time	Internal Flow	Gas Type
1	110	1	30	250	Normal
2	130	15	30	250	Normal
3	1100	10	20	250	Normal
4	2300	0	5	0	Normal
5	2450	1	3	250	Normal

Read Step : 4 Injection Temperature(°C) : 20

No extra furnace cleanout.

Slika 3.15. Temperaturni program za određivanje nikla

#### Furnace Program

Step	Temp(°C)	Ramp Time	Hold Time	Internal Flow	Gas Type
1	110	1	30	250	Normal
2	130	15	30	250	Normal
3	1400	10	20	250	Normal
4	2100	0	5	0	Normal
5	2450	1	3	250	Normal

Read Step : 4 Injection Temperature(°C) : 20

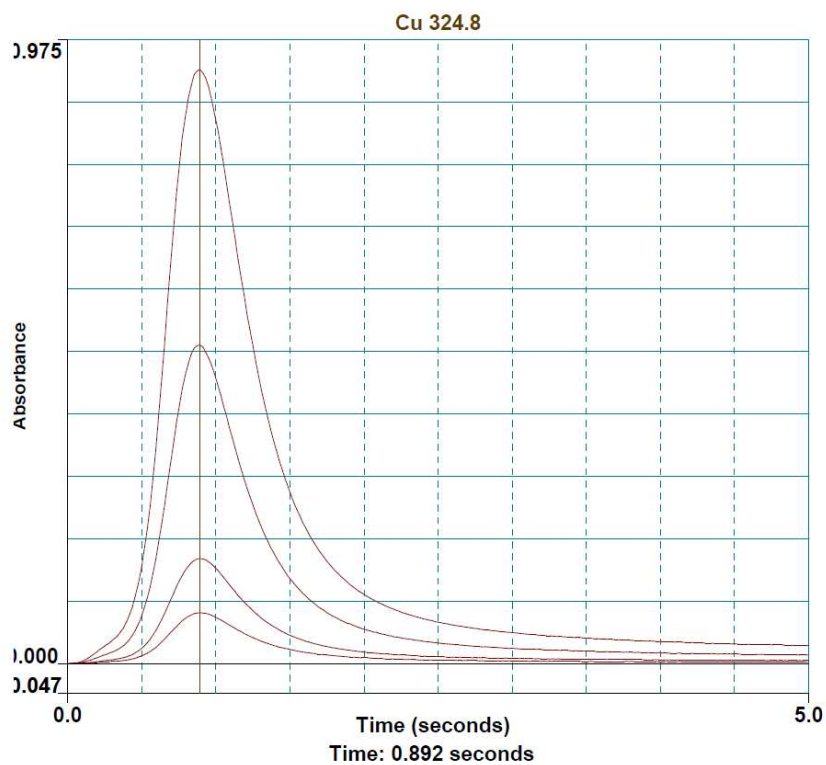
No extra furnace cleanout.

Slika 3.16. Temperaturni program za određivanje željeza

#### **4. REZULTATI**

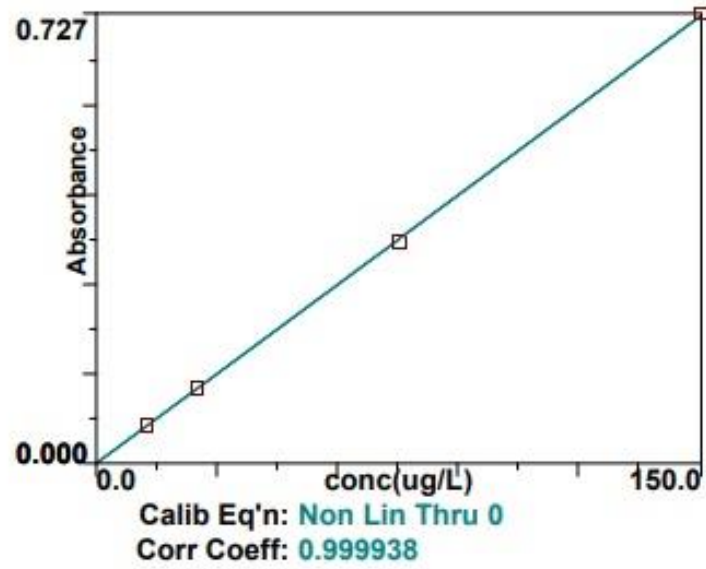
Izrađene su krivulje umjeravanja za određivanje analita od interesa u analiziranim uzorcima, temeljem preporučenih uvjeta i korištenjem prikazanih programa. U nastavku su prikazani instrumentni zapisi i iz njih konstruirane krivulje umjeravanja za analite od interesa.

## Bakar



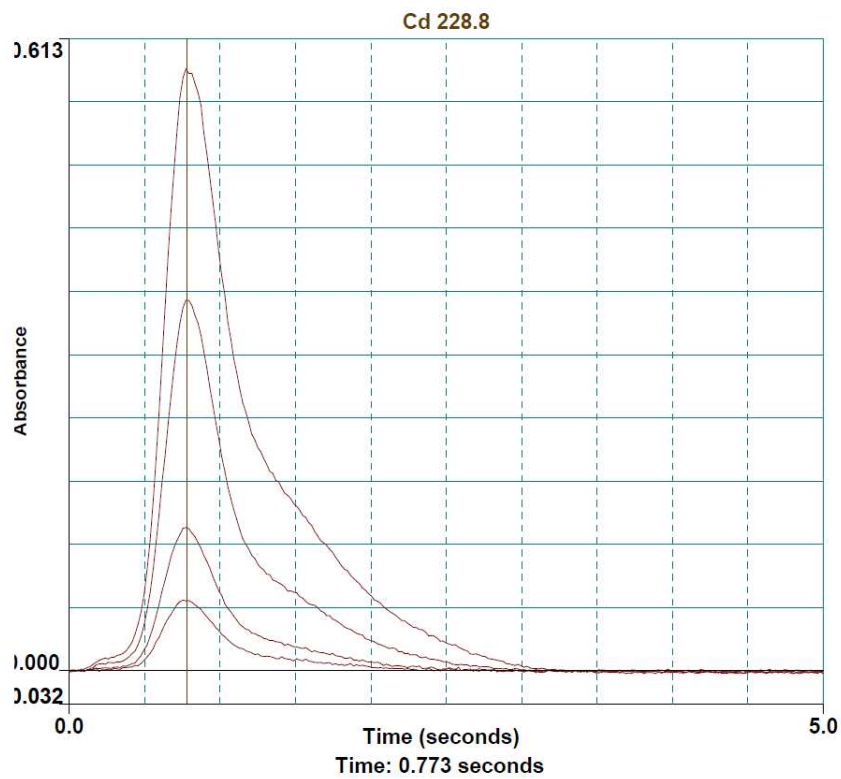
Slika 4.1. Instrumentni zapis ovisnosti apsorbancije o proteklom vremenu (atomizacija) za različite koncentracije standardnih otopina bakra

Cu 324.8



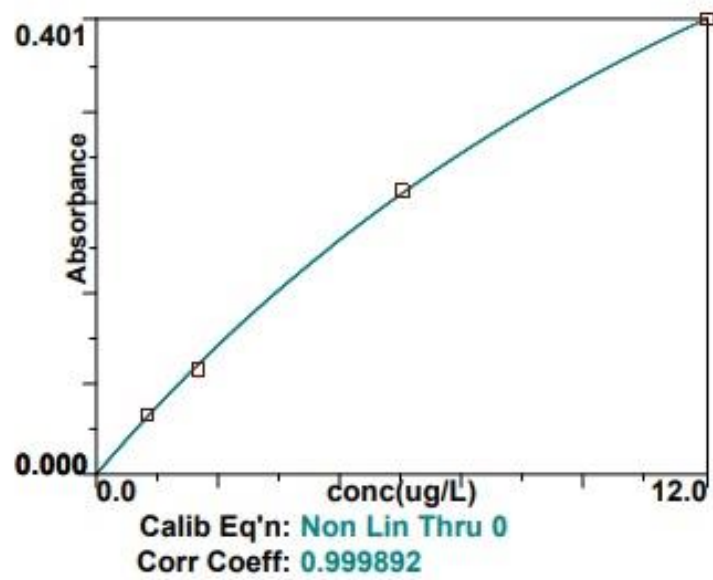
Slika 4.2. Krivulja umjeravanja za bakar

## Kadmij



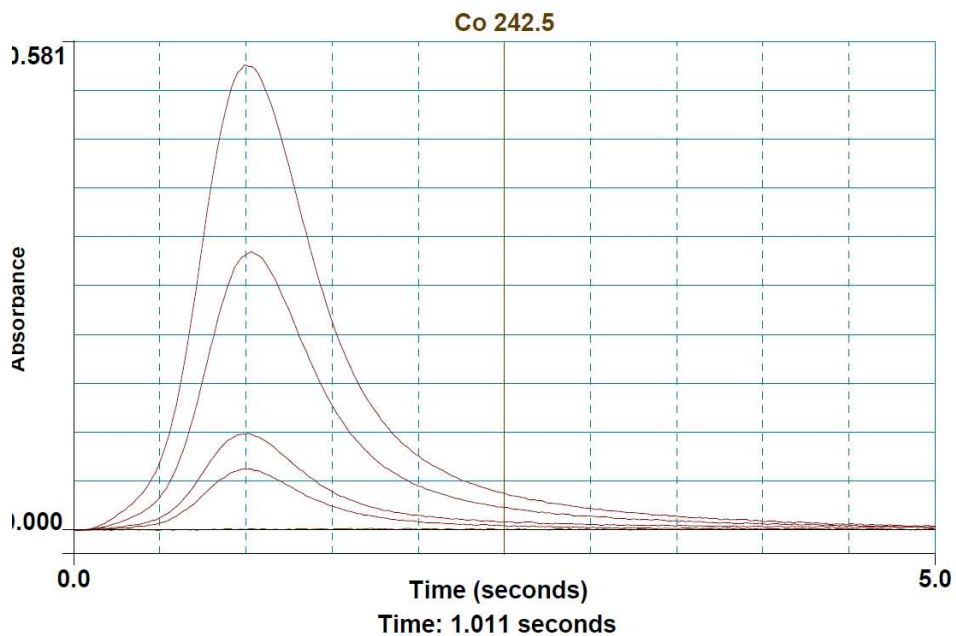
Slika 4.3. Instrumentni zapis ovisnosti apsorbancije o proteklom vremenu (atomizacija) za različite koncentracije standardnih otopina kadmija

Cd 228.8



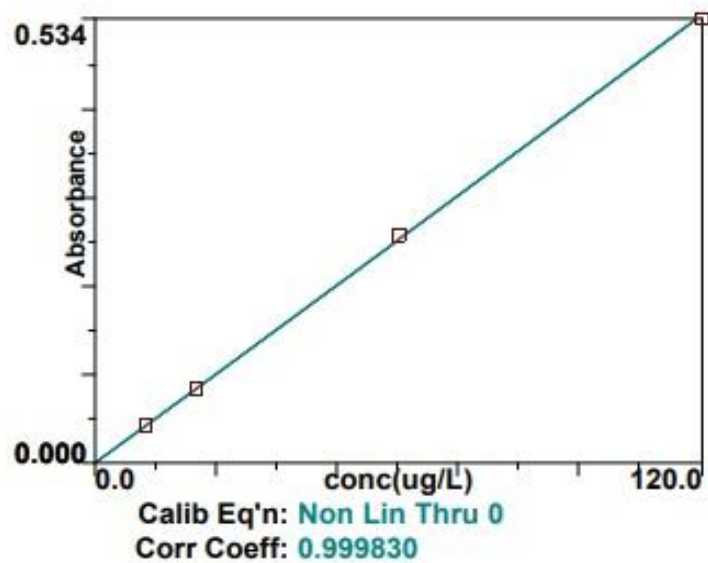
Slika 4.4. Krivulja umjeravanja za kadmij

Kobalt



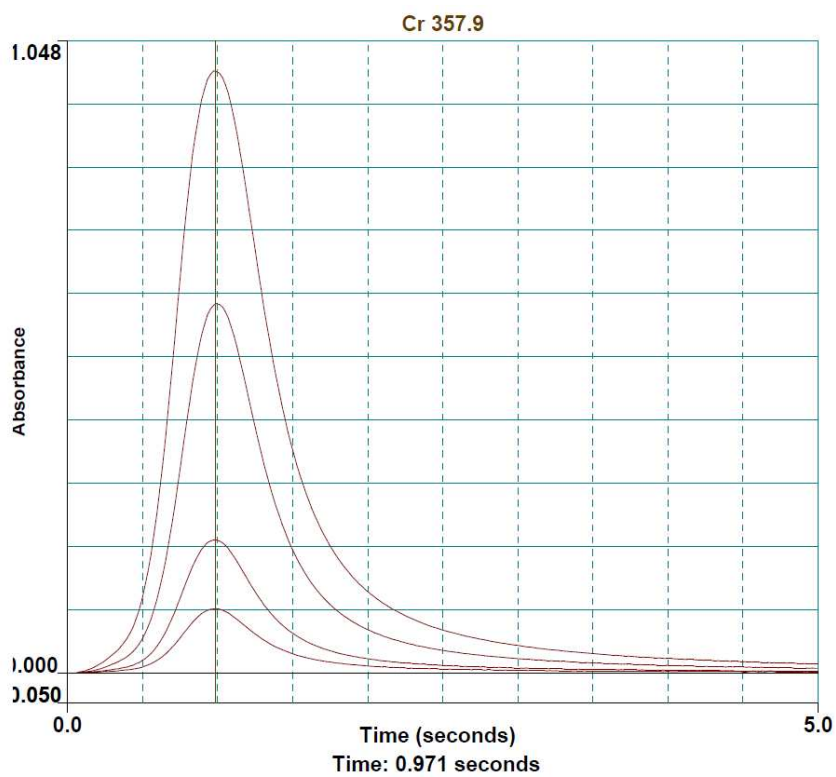
Slika 4.5. Instrumentni zapis ovisnosti apsorbancije o proteklom vremenu (atomizacija) za različite koncentracije standardnih otopina kobalta

Co 242.5



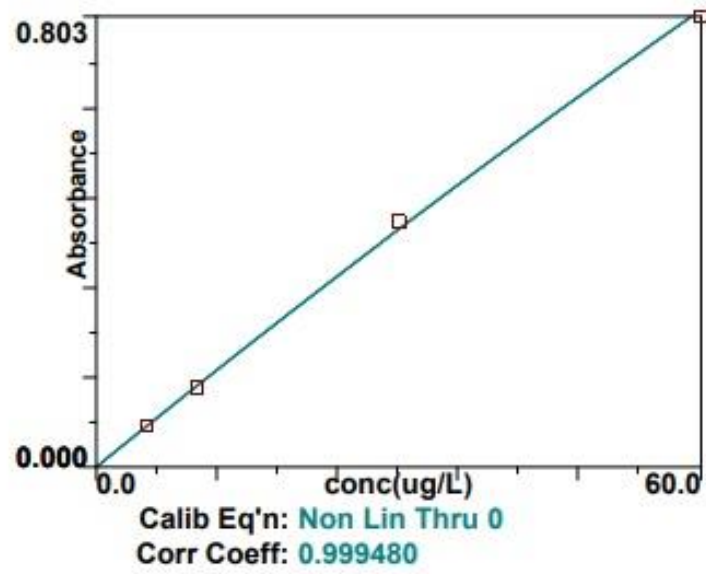
Slika 4.6. Krivulja umjeravanja za kobalt

Krom



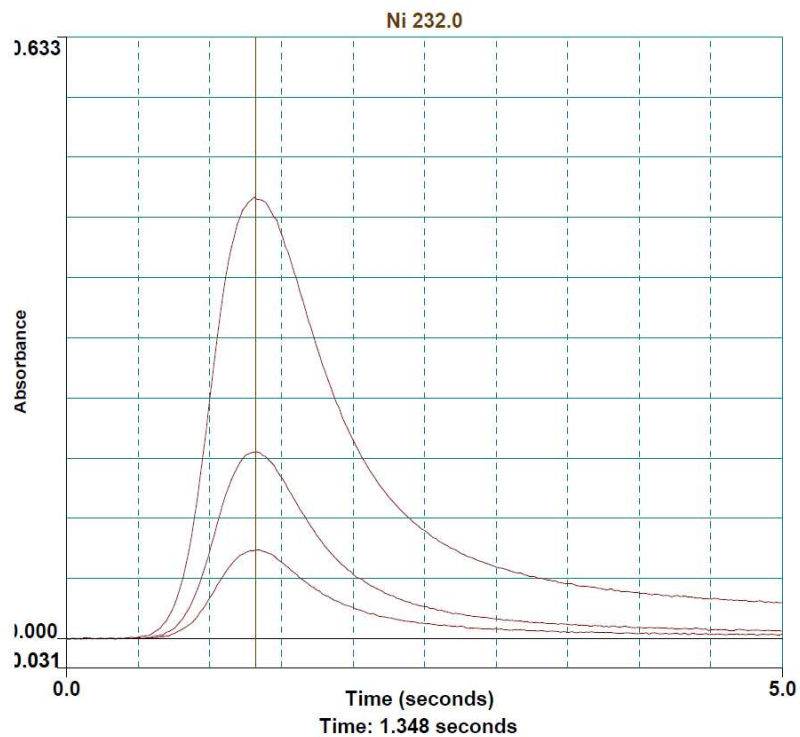
Slika 4.7. Instrumentni zapis ovisnosti apsorbancije o proteklom vremenu (atomizacija) za različite koncentracije standardnih otopina kroma

Cr 357.9



Slika 4.8. Krivulja umjeravanja za krom

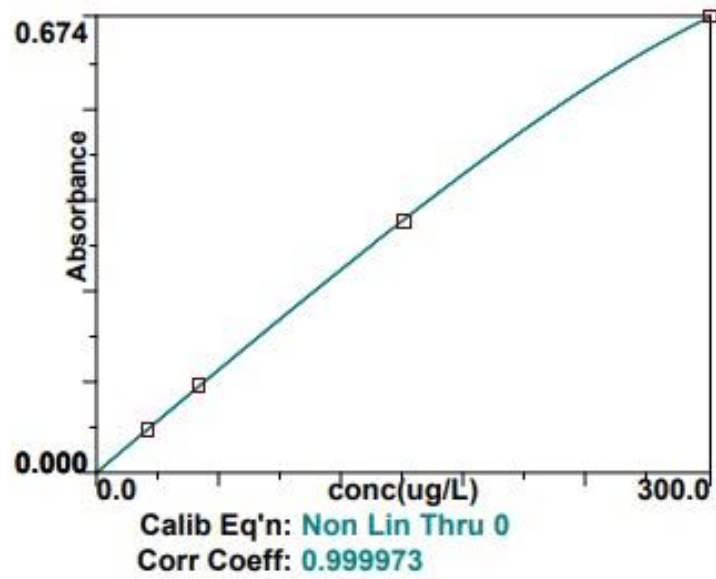
Nikal



Slika 4.9. Instrumentni zapis ovisnosti apsorbancije o proteklom vremenu (atomizacija) za različite koncentracije standardnih otopina nikla

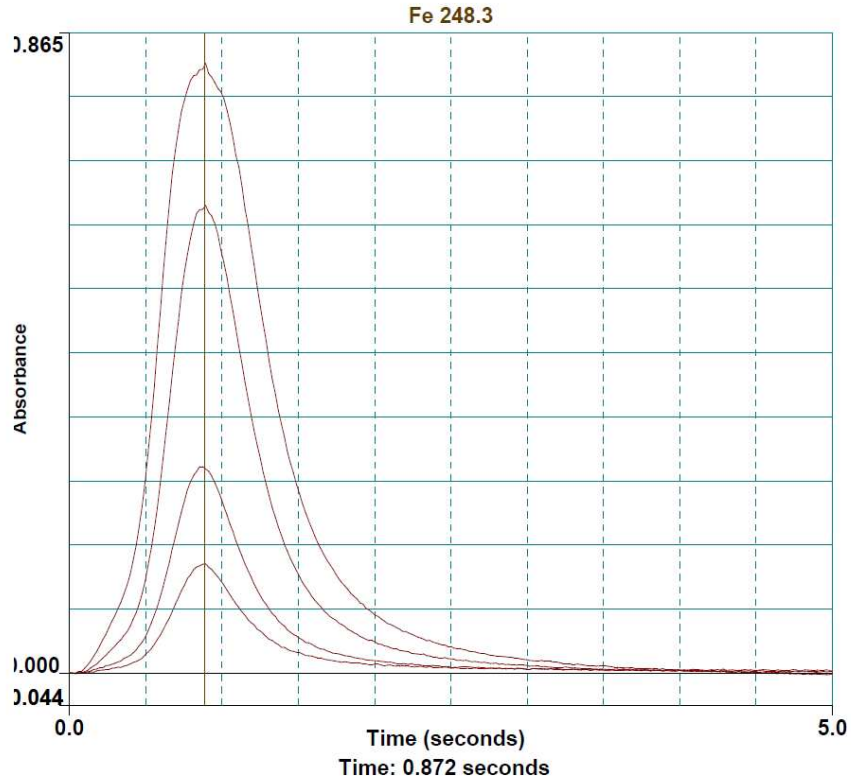


Ni 232.0



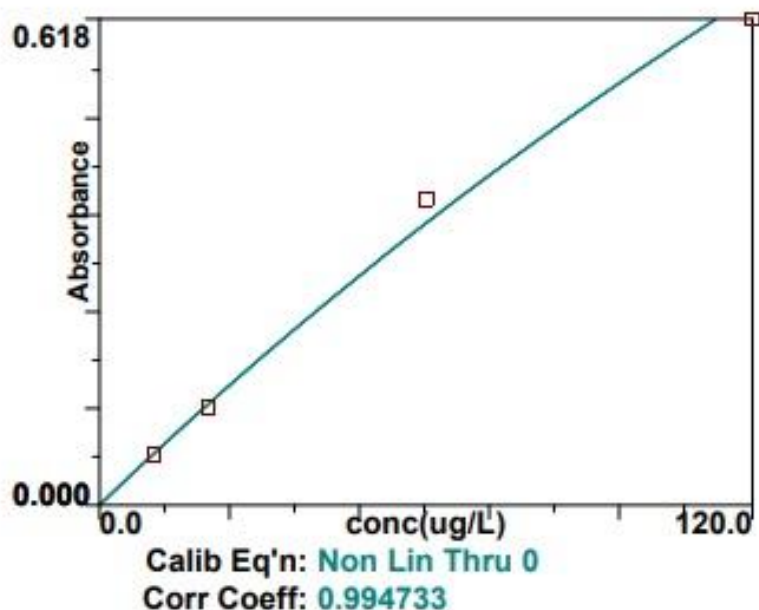
Slika 4.10. Krivulja umjeravanja za nikal

Željezo



Slika 4.11. Instrumentni zapis ovisnosti apsorbancije o proteklom vremenu (atomizacija) za različite koncentracije standardnih otopina željeza

Fe 248.3



Slika 4.12. Krivulja umjeravanja za željezo

Korištenjem konstruiranih krivulja umjeravanja i jednadžbi pravca za linearni dio krivulje (koji su izračunati metodom najmanjih kvadrata), te signala zabilježenih za svaki uzorak, određene su koncentracije pojedinog elementa u mjernoj otopini. Potrebno je uzeti u obzir postupak pripreme mjerne otopine, te izvaganu masu uzorka, za konačni proračun mase elementa u biljnom materijalu. Neki elementi su prisutni u uzorku u koncentraciji nižoj od granice određivanja, te nije moguće iskazati njihovu koncentraciju u biljnom materijalu.

Masenu koncentraciju elementa u mjernoj otopini ( $\gamma$ ) koja je izražena u ppb ili  $\mu\text{g/L}$  potrebno je podijeliti sa volumenom mjerne otopine (50 mL), da bi se izračunala masa elementa u uzorku. Dobivenu masu elementa potrebno je podijeliti sa masom izvaganog biljnog materijala ( $m$ ), kako bi se izračunao maseni udio elementa u analiziranom uzorku, iskazan u ppm.

#### 4.1. Bakar (Cu)

Primjer proračuna za bakar prikazan je za uzorak oznake „M2A“:

$$\gamma (\text{Cu AAS}) = \frac{m (\text{Cu})}{V};$$

$$m (\text{Cu}) = \gamma (\text{Cu AAS}) \times V = 27,13 \text{ ppb} \times 0,05 \text{ L} = 1,3565 \mu\text{g}$$

$$\text{Cu uzorak} = \frac{m (\text{Cu})}{m (\text{uzorak})} = \frac{1,3565 \mu\text{g}}{1,0202 \text{ g}} = 1,33 \mu\text{g/g} = 1,33 \text{ ppm}.$$

Tablica 4.1. Vrijednosti rezultata za bakar

Uzorak	Masa	V	Cu mjerena otopina	Cu uzorak
Oznaka	G	L	$\gamma$ ppb	ppm
M1A	1,0233	0,05	29,5	1,44
M2A	1,0202	0,05	27,13	1,33
M3A	1,0207	0,05	18,58	0,91
M4A	1,0218	0,05	18,7	0,92
M5A	1,0234	0,05	26,84	1,31
M6A	1,0245	0,05	28,03	1,37
M7A	1,0209	0,05	21,67	1,06
M8A	1,0216	0,05	22,29	1,09
M9A	1,0228	0,05	34,99	1,71
M10A	1,0247	0,05	27,02	1,32

#### 4.2. Kadmij (Cd)

Primjer proračuna za kadmij prikazan je za uzorak oznake „M2A“:

$$\gamma (\text{Cd AAS}) = \frac{m (\text{Cd})}{V};$$

$$m (\text{Cd}) = \gamma (\text{Cd AAS}) \times V = 2,06 \text{ ppb} \times 0,05 \text{ L} = 0,103 \mu\text{g}$$

$$\text{Cd uzorak} = \frac{m (\text{Cd})}{m (\text{uzorak})} = \frac{0,103 \mu\text{g}}{1,0202 \text{ g}} = 0,1010 \mu\text{g/g} = 0,1010 \text{ ppm}.$$

Tablica 4.2. Vrijednosti rezultata za kadmij

Uzorak	Masa	V	Cd mjerena otopina	Cd uzorak
Oznaka	G	L	$\gamma$ ppb	ppm
M1A	1,0233	0,05	3,05	0,1490
M2A	1,0202	0,05	2,06	0,1010
M3A	1,0207	0,05	3,578	0,1753
M4A	1,0218	0,05	3,251	0,1591
M5A	1,0234	0,05	2,886	0,1410
M6A	1,0245	0,05	1,621	0,0791
M7A	1,0209	0,05	5,852	0,2866
M8A	1,0216	0,05	6,477	0,3170
M9A	1,0228	0,05	16,59	0,8110
M10A	1,0247	0,05	14,64	0,7144

#### 4.3. Kobalt (Co)

Izmjerene vrijednosti koncentracija kobalta bile su niže od granice određivanja koja iznosi 10 ppb.

Tablica 4.3. Vrijednosti rezultata za kobalt

Uzorak	Masa	V	Co mjerena otopina	Co uzorak
Oznaka	G	L	$\gamma$ ppb	ppm
M1A	1,0233	0,05	<10	<0,5
M2A	1,0202	0,05	<10	<0,5
M3A	1,0207	0,05	<10	<0,5
M4A	1,0218	0,05	<10	<0,5
M5A	1,0234	0,05	<10	<0,5
M6A	1,0245	0,05	<10	<0,5
M7A	1,0209	0,05	<10	<0,5
M8A	1,0216	0,05	<10	<0,5
M9A	1,0228	0,05	<10	<0,5
M10A	1,0247	0,05	<10	<0,5

#### 4.4. Krom (Cr)

Primjer proračuna za krom prikazan je za uzorak oznake „M2A“:

$$\gamma (\text{Cr AAS}) = \frac{m (\text{Cr})}{V};$$

$$m(\text{Cr}) = \gamma(\text{Cr AAS}) \times V = 5,088 \text{ ppb} \times 0,05 \text{ L} = 0,2544 \mu\text{g}$$

$$\text{Cr uzorak} = \frac{m(\text{Cr})}{m(\text{uzorak})} = \frac{0,2544 \mu\text{g}}{1,0202 \text{ g}} = 0,2494 \mu\text{g/g} = 0,2494 \text{ ppm.}$$

Tablica 4.4. Vrijednosti rezultata za krom

Uzorak	Masa	V	Cr mjerena otopina	Cr uzorak
Oznaka	G	L	$\gamma$ ppb	ppm
M1A	1,0233	0,05	5,521	0,2698
M2A	1,0202	0,05	5,088	0,2494
M3A	1,0207	0,05	5,74	0,2812
M4A	1,0218	0,05	5,719	0,2798
M5A	1,0234	0,05	<5	<0,24
M6A	1,0245	0,05	<5	<0,24
M7A	1,0209	0,05	7,994	0,3915
M8A	1,0216	0,05	7,789	0,3812
M9A	1,0228	0,05	7,764	0,3795
M10A	1,0247	0,05	7,434	0,3627

#### 4.5. Nikal (Ni)

Izmjerene vrijednosti koncentracija nikla bile su niže od granice određivanja koja iznosi 25 ppb.

Tablica 4.5. Vrijednosti rezultata za nikal

Uzorak	Masa	V	Ni mjerena otopina	Ni uzorak
Oznaka	G	L	$\gamma$ ppb	ppm
M1A	1,0233	0,05	<25 ppb	<0,05
M2A	1,0202	0,05	<25 ppb	<0,05
M3A	1,0207	0,05	<25 ppb	<0,05
M4A	1,0218	0,05	<25 ppb	<0,05
M5A	1,0234	0,05	<25 ppb	<0,05
M6A	1,0245	0,05	<25 ppb	<0,05
M7A	1,0209	0,05	<25 ppb	<0,05
M8A	1,0216	0,05	<25 ppb	<0,05
M9A	1,0228	0,05	<25 ppb	<0,05
M10A	1,0247	0,05	<25 ppb	<0,05

#### 4.6. Željezo (Fe)

Primjer proračuna za željezo prikazan je za uzorak oznake „M2A“:

$$\gamma (\text{Fe AAS}) = \frac{m (\text{Fe})}{V};$$

$$m (\text{Fe}) = \gamma (\text{Fe AAS}) \times V = 3983 \text{ ppb} \times 0,05 \text{ L} = 199,15 \mu\text{g}$$

$$\text{Fe uzorak} = \frac{m (\text{Fe})}{m (\text{uzorak})} = \frac{199,15 \mu\text{g}}{1,0202 \text{ g}} = 195,21 \mu\text{g/g} = 195,21 \text{ ppm.}$$

Tablica 4.6. Vrijednosti rezultata za željezo

<b>Uzorak</b>	<b>Masa</b>	<b>V</b>	<b>Fe mjerena otopina</b>	<b>Fe uzorak</b>
Oznaka	G	L	$\gamma$ ppb	Ppm
M1A	1,0233	0,05	4176	204,05
M2A	1,0202	0,05	3983	195,21
M3A	1,0207	0,05	5143	251,93
M4A	1,0218	0,05	5241	256,46
M5A	1,0234	0,05	969,8	47,38
M6A	1,0245	0,05	973	47,49
M7A	1,0209	0,05	822	40,26
M8A	1,0216	0,05	866,1	42,39
M9A	1,0228	0,05	904,1	44,20
M10A	1,0247	0,05	907,1	44,26

## **5. ZAKLJUČAK**

Obzirom da se teški metali u ljudski organizam najvećim dijelom unose putem hrane, opisanim eksperimentalnim mjerenjima ispitano je postoji li opasnost od unosa teških metala u organizam putem dodataka prehrani.

Temeljem rezultata mjerenja može se zaključiti:

### **Bakar**

- S obzirom da se u Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/2012) ne nalaze informacije koje se odnose na bakar, vrijednosti koncentracija bakra mogu se usporediti sa podacima iz literature. Kao referentnu vrijednost za bakar uzet je podatak da se biljnom hranom unosi 1–10 mg/kg bakrovih iona, te da je smrtonosna doza > 150 mg/kg. [11] Prema ovom podatku iz Tablice 4.4. može se zaključiti da su u ispitivanim uzorcima koncentracije bakra nešto više od 1 ppm, odnosno nalaze se u rasponu normalnog unosa bakra putem biljne hrane.

### **Nikal i Kobalt**

- Maksimalne koncentracije nikla i kobalta nisu određene ni Pravilnikom ni literaturnim izvorima. Izmjerene vrijednosti koncentracija nikla i kobalta bile su niže od granice određivanja. U Tablici 4.3. i Tablici 4.5. navedene su koncentracije kobalta u ispitivanim uzorcima <0,5 ppm i koncentracije nikla < 0,05 ppm. U ispitivanim dodacima prehrani nalaze se vrlo male koncentracije ovih metala.

### **Kadmij**

- U nacionalnom Pravilniku o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani (NN 146/2012) navedene su vrijednosti za olovo, kadmij, živu i kositar. Prema navedenom Pravilniku maksimalna dopuštena količina kadmija u dodacima prehrani je 0,1 mg/kg. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da je u svim uzorcima količina kadmija nešto iznad propisane razine, osim u uzorku M6A (Tablica 4.2.). Uzorci uglavnom pokazuju blaga odstupanja od maksimalne dopuštene koncentracije.

### **Krom**

- Prema podacima iz literature gornja granica za unos kroma iznosi 0,5 mg/L, a iz Tablice 4.3. vidljivo je da su vrijednosti kroma ispod navedene razine. [10]

### **Željezo**

- Kao izvor željeza ovi ispitivani dodaci prehrani primjenjuju se u liječenju anemija. Sadrže velike količine željeza što potvrđuju i dobiveni rezultati. Vrijednosti rezultata za željezo razlikuju se od svih ostalih ispitivanih metala. Raspon vrijednosti kreće se od 40,26 ppm u uzorku M7A do 256,46 ppm u uzorku M4A (Tablica 4.6.). Najveća koncentracija nalazi se u uzorku moringe u prahu proizvođača Nutrigold. Prema Pravilniku o dodacima prehrani (NN



46/2011) najveći dopušteni dnevni unos za zdrave osobe iznosi 30 mg, a preporučena dnevna doza je 14 mg. Kako bi se smanjila pojavnost neželjenih učinaka važno je pri primjeni preparata Moringe i Mace pridržavati se preporučenih dnevnih doza.

- Korištena analitička tehnika, atomska apsorpcijska spektrometrija, vrlo je jednostavna, pouzdana i osjetljiva tehnika za određivanje koncentracije metala.
- Ispitivani uzorci većinom sadrže niske koncentracije teških metala ili njihov sadržaj blago odstupa od dopuštenog unosa teških metala. Značajnije koncentracije su zabilježene samo za željezo što se može povezati sa primjenom ovih dodataka prehrani u liječenju hematoloških poremećaja. Vrlo je važno biti na oprezu prilikom primjene Moringa i Maca dodataka prehrani. Noviji su preparati na tržištu koji su nedavno stekli veliku popularnost i kao takvi zahtijevaju dodatna istraživanja provedena na većim skupinama ljudi kako bi njihova primjena bila sigurnija.

## **6. POPIS CITIRANE LITERATURE**

- [1] Abdull Razis, Ahmad Faizal et al. "Health benefits of *Moringa oleifera*." Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP vol. 15,20
- [2] Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother Res.* 2007 Jan;21(1):17-25
- [3] <https://www.medicalnewstoday.com/articles/319916> [Internet] [citirano 07.10.2020.]
- [4] Stohs SJ, Hartman MJ. Review of the Safety and Efficacy of *Moringa oleifera*. *Phytother Res.* 2015 Jun;29
- [5] Lee MS, Shin BC, Yang EJ, Lim HJ, Ernst E. Maca (*Lepidium meyenii*) for treatment of menopausal symptoms: A systematic review. *Maturitas.* 2011 Nov
- [6] Wang S, Zhu F. Chemical composition and health effects of maca (*Lepidium meyenii*). *Food Chem.* 2019 Aug
- [7] Gonzales GF, Villaorduña L, Gasco M, Rubio J, Gonzales C. Maca (*Lepidium meyenii* Walp), una revisión sobre sus propiedades biológicas [Maca (*Lepidium meyenii* Walp), a review of its biological properties]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2014
- [8] Beharry S, Heinrich M. Is the hype around the reproductive health claims of maca (*Lepidium meyenii* Walp.) justified? *J Ethnopharmacol.* 2018 Jan 30
- [9] Fisher RM, Gupta V. Heavy Metals. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; May 13, 2020.
- [10] Fosmire GJ. Zinc toxicity. *Am J Clin Nutr.* 1990;51(2):225-227.
- [11] Franjo Plavšić, Irena Žuntar Uvod u analitičku toksikologiju Zagreb;2006. str. 69.-78.
- [12] Davorka Sutlović i sur. Osnove forenzične toksikologije Split; 2011. str. 469. – 481.
- [13] Bernhoft RA. Cadmium toxicity and treatment. *ScientificWorldJournal.* 2013;2013:394652. Published 2013 Jun 3.
- [14] Barceloux DG. Cobalt. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1999;37(2):201-206.
- [15] Simonsen LO, Harbak H, Bennekou P. Cobalt metabolism and toxicology--a brief update. *Sci Total Environ.*2012;432:210-215.

- [16] Barceloux DG. Nickel [published correction appears in J Toxicol Clin Toxicol 2000;38(7):813]. J Toxicol Clin Toxicol. 1999;37(2):239-258.
- [17] Đokić kem. tehnol. M, Bilandžić N. Željezo - toksikološki i nutritivni aspekti u organizmu. MESO: Prvi hrvatski časopis o mesu. 2012;XIV(3):232-238.
- [18] Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR. Fundamentals of Analytical Chemistry. Boston MA: Cengage Learning; 2013.
- [19] Kukoč Modun L. Interna skripta za pripremu vježbe: Molekulska apsorpcijska spektrometrija. Split: Kemijsko-tehnološki fakultet; 2003.
- [20] Harvey D. Modern Analytical Chemistry. McGraw-Hill Higher Education; 2000.
- [21] Biočić M. Razvoj kinetičkih metoda i metoda analize injektiranjem u protok za određivanje farmaceutski aktivnih tiolnih spojeva (N-acetil-L-cisteina, cisteina, penicilamina, tiopronina i glutationa) kao čistih tvari te u farmaceutskim pripravcima: Kinetičke metode analize [doktorska disertacija]. Split: Kemijsko-tehnološki fakultet; 2019.
- [22] Kukoč Modun L. Interna skripta: Spektrometrijske metode elementne analize Split: Kemijsko-tehnološki fakultet
- [23] <http://insidechem.blogspot.com/2017/11/graphite-furnace-atomic-absorption.html>  
[Internet] [citirano 19.10.2020.]

## **7. SAŽETAK**

Pri niskim koncentracijama teški metali neophodni su za čovjekovo preživljavanje. Manjak esencijalnih elemenata može dovesti do poremećaja i bolesti u organizmu, dok pri visokim koncentracijama mogu postati toksični za ljudski organizam. Ovim eksperimentalnim radom određivane su koncentracije teških metala u pet različitih uzoraka dodataka prehrani Moringe i Mace. Mjerenje je izvršeno atomskom apsorpcijskom spektrometrijom sa elektrotoplinskom atomizacijom. Opisana su temeljna načela spektrofotometrije, te bitne značajke atomske apsorpcijske spektometrije. Prikazani su načini pripreme uzoraka i standardnih otopina, te mjerenjem dobiveni rezultati. Teški metali čija je koncentracija mjerena su: bakar, kadmij, kobalt, krom, nikal i željezo.

Temeljem dobivenih rezultata može se zaključiti da u testiranim dodacima prehrani koncentracije teških metala uglavnom ne prelaze granicu toksičnosti. Povećane vrijednosti koncentracija željeza povezane su sa primjenom ovih dodataka prehrani u liječenju hematoloških poremećaja, dok ostali ispitivani metali prema dobivenim vrijednostima ne pokazuju negativan utjecaj na ljudsko zdravlje.

## **8. SUMMARY**

At low concentrations, heavy metals are essential for human survival. Lack of essential elements can lead to disorders and diseases in the human body, while at high concentrations they can become toxic. In this experiment, heavy metal concentrations were determined in five different samples of Moringa and Maca dietary supplements. The measurement was performed by atomic absorption spectrometry by electrothermal atomization. The basic principles of spectrophotometry and the essential features of atomic absorption spectrometry were described in this work. We also presented the method of preparation of samples and standard solutions, and we presented the obtained results. Heavy metals whose concentration we measured were: copper, cadmium, cobalt, chromium, nickel and iron.

The results led us to a conclusion that in the tested dietary supplements the concentrations of heavy metals generally do not exceed the toxicity limit. Increased values of iron concentrations are associated with the use of these dietary supplements in the treatment of hematological disorders, while other tested metals according to the obtained values do not show a negative impact on human health.



## **9. ŽIVOTOPIS**

**OSOBNI PODACI:**

- Ime i prezime: Ana Bačurin
- Datum rođenja i mjesto rođenja: 08.01.1996., Zagreb, Republika Hrvatska
- Državljanstvo: hrvatsko
- Adresa: T.P.O. 44 Velika Buna, 10413 Kravarsko
- e-mail: anabacurin8@gmail.com

**OBRAZOVANJE:**

- 2002. - 2010. Osnovna škola "Jurja Habelića", Velika Gorica, Republika Hrvatska
- 2010. - 2014. Opća gimnazija Velika Gorica, Republika Hrvatska
- 2014. - 2020. Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet, Kemijsko-tehnološki fakultet, Studij farmacija

**RADNO ISKUSTVO:**

- III. 2020. – IX. 2020. – Stručno osposobljavanje u Ljekarnama Splitsko-dalmatinske županije, ljekarna Grad

**POSEBNE VJEŠTINE:**

- Rad na računalu: MS Office, Eskulap 2000
- Strani jezici: engleski jezik