Određivanje koncentracija teških metala u kupusu (Brassica oleracea L.) atomskom apsorpcijskom spektrometrijom

Danese, Ella

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Chemistry and Technology / Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:167:746401

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA TEŠKIH METALA U KUPUSU (*Brassica oleracea* L.) ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROMETRIJOM

ZAVRŠNI RAD

ELLA DANESE

Matični broj: 1128

Split, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAŠTITA OKOLIŠA

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA TEŠKIH METALA U KUPUSU (*Brassica oleracea* L.) ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROMETRIJOM

ZAVRŠNI RAD

ELLA DANESE

Matični broj: 1128

Split, rujan 2019.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

ENVIRONMENTAL PROTECTION

DETERMENATION OF HEAVY METALS CONCENTRATIONS IN CABBAGES (*Brassica oleracea* L.) USING ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY METHOD

BACHELOR THESIS

ELLA DANESE

Parent number: 1128

Split, September 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij Kemijske tehnologije, smjer: Zaštita okoliša

Znanstveno područje: prirodne znanosti
Znanstveno polje: kemija
Tema rada je prihvaćena na 19. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta.

Mentor: doc. dr. sc. Maša Buljac
Pomoć pri izradi: doc. dr. sc. Lea Kukoč-Modun; doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA TEŠKIH METALA U KUPUSU (*Brassica oleracea* L.) ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROMETRIJOM

Ella Danese, 1128

Sažetak:

U ovom završnom radu ispitivane su kemijske karakteristike triju uzoraka kupusa (bijeli kupus, *Brassica oleracea* L. *var. capitata f. alba*, crveni kupus, *Brassica oleracea* L. *var. capitata f. rubra*, kelj, *Brassica oleracea* L. *var. sabauda*) koji pripadaju porodici *Brassicaceae*. Koncentracije zadanih teških metala u uzorcima su određene tehnikom atomske apsorpcijske spektrometrije. Najniže određene koncentracije zadanih teških metala su izmjerene za kadmij, čija koncentracija doseže najvišu vrijednost u uzorku kelja (0,19 mg kg^{-1}) , ali ne prelazi granicu toksičnosti kadmijem u biljci (> 3 mg kg^{-1}). Najviše koncentracije zadanih teških metala su određene za željezo, čija koncentracija doseže najvišu vrijednost u uzorku kelja (50,715 mg kg^{-1}), koja se nalazi unutar odgovarajućih vrijednosti potrebnih biljkama za normalan rast i razvoj, a one iznose 50-300 mg kg^{-1}.

Ključne riječi: *Brassica oleracea* L., kupus, kelj, teški metali, atomska apsorpcijska spektrometrija

Rad sadrži: 33 stranice, 10 slika, 9 tablica, 19 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek	**predsjednik**
2. doc. dr. sc. Lea Kukoč-Modun	**član**
3. doc. dr. sc. Maša Buljac	**član-mentor**

Datum obrane: 27.9.2019.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Kemijsko-tehnološkog fakulteta Split, Ruđera Boškovića 35.

BASIC DOCUMENTATION CARD

BACHELOR THESIS

University of Split
Faculty of Chemistry and Technology Split
Undergraduate study of Chemical Technology, orientation: Enviromental protection

Scientific area: natural sciences
Scientific field: chemistry
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 19.

Mentor: Maša Buljac, PhD, assistant prof.
Technical assistance: Lea Kukoč-Modun, PhD, assistant prof.; Mario Nikola Mužek, PhD, assistant prof.

DETERMENATION OF HEAVY METALS CONCENTRATIONS IN CABBAGES (*Brassica oleracea* L.) USING ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY METHOD

Ella Danese, 1128

Abstract:

In this bachelor thesis the chemical characteristics of three different cabbage In this final paper, the chemical characteristics of three cabbage samples were examined (white cabbage, *Brassica oleracea* L. *var. capitata f. alba*, red cabbage, *Brassica oleracea* L. var. capitata f. rubra, kale, *Brassica oleracea* L. *var. sabauda*) which belong to the *Brassicaceae* family. The concentrations of the selected heavy metals in the samples were determined by atomic absorption spectrometry. The lowest quantificated concentrations of selected heavy metals were measured for cadmium, the concentration of which reached the highest value in the kale sample (0.19 mg kg^{-1}) but did not exceed the toxicity limit of cadmium in the plant (> 3 mg kg^{-1}). The highest concentrations of the selected heavy metals were quantificated for iron, the concentration of which reached the highest value in the kale sample (50.715 mg kg^{-1}), which is within the corresponding values required by the plants for normal growth and development, and they are 50-300 mg kg^{-1}.

Keywords: *Brassica oleracea* L., cabbage, kale, heavy metals, atomic absorption method

Thesis contains: 33 pages, 10 figures , 9 tables, 19 literature references

Original in: Croatian

Defence committee:

1. Mario Nikola Mužek, PhD, assitant prof.	**chair person**
2. Lea Kukoč-Modun, PhD, assistant prof.	**member**
3. Maša Buljac, PhD, assistant prof.	**supervisor**

Defence date: 27.9.2019.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of Faculty of Chemistry and Technology Split, Ruđera Boškovića 35.

Završni rad je izrađen u Zavodu za Kemiju okoliša, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maše Buljac, u razdoblju od travnja do rujna 2019. godine.

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

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici doc. dr. sc. Maši Buljac na pruženoj stručnoj pomoći i savjetima tijekom izvedbe ovog završnog rada.

Također veliko hvala doc. dr. sc. Lei Kukoč-Modun na izvršenim mjerenjima koncentracija teških metala korištenjem AAS i doc. dr. sc. Mariu Nikoli Mužeku na pruženim savjetima.

Ella

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

Cilj ovog rada je bio odrediti koncentracije zadanih teških metala u uzorku bijelog kupusa, crvenog kupusa i kelja. Sva tri tipa uzorka spadaju u biljnu porodicu krstašica.

- Nabaviti zadane uzorke.
- Pripremiti uzorke za kemijsku analizu.
- Odrediti koncentracije odabranih teških metala u uzorcima.

SAŽETAK

U ovom završnom radu ispitivane su kemijske karakteristike triju uzoraka kupusa (bijeli kupus, *Brassica oleracea* L. *var. capitata f. alba*, crveni kupus, *Brassica oleracea* L. *var. capitata f. rubra*, kelj, *Brassica oleracea* L. *var. sabauda*) koji pripadaju porodici *Brassicaceae*. Koncentracije zadanih teških metala u uzorcima su određene tehnikoom atomske apsorpcijske spektrometrije. Najniže određene koncentracije zadanih teških metala su izmjerene za kadmij, čija koncentracija doseže najvišu vrijednost uuzorku kelja (0,19 mg kg^{-1}), ali ne prelazi granicu toksičnosti kadmijem u biljci (> 3 mg kg^{-1}). Najviše koncentracije zadanih teških metala su određene za željezo, čija koncentracija doseže najvišu vrijednost u uzorku kelja (50,715 mg kg^{-1}), koja se nalazi unutar odgovarajućih vrijednosti potrebnih biljkama za normalan rast i razvoj, a one iznose 50-300 mg kg^{-1}.

Ključne riječi: *Brassica oleracea* L., kupus, kelj, teški metali, atomska apsorpcijska spektrometrija

SUMMARY

In this bachelor thesis the chemical characteristics of three different cabbage In this final paper, the chemical characteristics of three cabbage samples were examined (white cabbage, *Brassica oleracea* L. *var. capitata f. alba*, red cabbage, *Brassica oleracea* L. *var. capitata f. rubra*, kale, *Brassica oleracea* L. *var. sabauda*) which belong to the Brassicaceae family. The concentrations of the selected heavy metals in the samples were determined by atomic absorption spectrometry. The lowest quantificated concentrations of selected heavy metals were measured for cadmium, the concentration of which reached the highest value in the kale sample (0.19 mg kg^{-1}) but did not exceed the toxicity limit of cadmium in the plant (> 3 mg kg^{-1}). The highest concentrations of the selected heavy metals were quantificated for iron, the concentration of which reached the highest value in the kale sample (50.715 mg kg^{-1}), which is within the corresponding values required by the plants for normal growth and development, and they are 50-300 mg kg^{-1}.

Keywords: *Brassica oleracea* L., cabbage, kale, heavy metals, atomic absorption method

Sadržaj

UVOD ... 1
1. OPĆI DIO ... 2
1.1. PODJELA KRSTAŠICA (*Brassicaceae, Cruciferae*) ... 3
1.1.1. KUPUS (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) ... 3
1.1.2. KELJ (*Brassica oleracea* L. var. *sabauda*) ... 4
1.2. TEŠKI METALI ... 4
1.2.1. TEŠKI METALI U OKOLIŠU ... 4
1.2.2. TEŠKI METALI U TLU ... 5
1.2.3. TEŠKI METALI U BILJKAMA ... 6
1.3. UTJECAJ TEŠKIH METALA NA LJUDSKO ZDRAVLJE ... 6
1.4. Kadmij ... 6
1.5. Krom ... 7
1.6. Bakar ... 7
1.7. Nikal ... 8
1.8. Željezo ... 8
1.9. BILJKE KAO HIPERAKUMULATORI TEŠKIH METALA ... 8
1.10. ATOMSKA SPEKTROSKOPIJA ... 10
1.10.1. PROCES ATOMSKE APSORPCIJE ... 10
1.10.2. OSNOVNE KOMPONENTE INSTRUMENTACIJE ZA AAS ... 11
1.10.3. ELEKTROTOPLINSKA ATOMSKA APSORPCIJSKA SPEKTROSKOPIJA U GRAFITNOJ PEĆI ... 11
2. EKSPERIMENTALNI DIO ... 14
2.1. KEMIJSKE ANALIZE ... 15
2.1.1. KEMIKALIJE ... 15
2.1.2. PRIPRAVA OTOPINA ... 15
2.1.2.1. PRIPRAVA OTOPINE HCl, w(HCl) = 20 % ... 15
2.1.2.2. PRIPRAVA OTOPINE HNO_3, w(HNO_3) = 0,2 % ... 15
2.2. PRIPREMA UZORAKA ... 15
2.3. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA TEŠKIH METALA ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROMETRIJOM ... 17
3. REZULTATI I RASPRAVA ... 23
4. ZAKLJUČAK ... 29
5. LITERATURA ... 31

UVOD

U današnjem svijetu postoji goreća problematika zagađenja teškim metalima. Uslijed sve veće proizvodnje, intenzivnog rada raznih grana industrije, pojačanog prometa, sve veće količine otpada zagađenje se intenzivira. Onečišćujuće tvari poput teških metala svakodnevno dospijevaju u okolinu. Zbog uočenih štetnih posljedica teških metala na okoliš, a tako i na čovjeka, broj istraživanja vezanih za utjecaj teških metala je sve veći. Tlo je posebno zanimljiv medij istraživanja što se tiče teških metala. Isprepliću se prirodni, ali i antropogeni utjecaji na koncentracije teških metala u tlu. Naglašava se važnost kontrole razine koncentracija teških metala u tlu i biljnim sustavima te uslijed toga stupaju na snagu razni pravilnici u kojima se definiraju dopuštene koncentracije različitih polutanata među kojima se nalaze i teški metali, poput Pravilnika o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani.[1] Utjecaj teških metala na pojedine biljke, posebice one s povećanim afinitetom prema teškim metalima te s većom otpornosti prema štetnim posljedicama teških metala pomoću specifičnog sustava obrane predstavlja popularno područje istraživanja. U zadnje vrijeme posebice se istražuju tzv. „hiperakumulatori“, biljke za koje se smatra da bi mogle imati veliki ekološki potencijal. Smatra se da bi se njihova osobina akumulacije teških metala mogla iskoristiti za dekontaminaciju tla zagađenih teškim metalima.

Ispitivane vrste imaju izraženi srednji afinitet prema teškim metalima, a pripadaju porodici krstašica *(Brassicaceae, Cruciferae)*.[2] Krstašice ili kupusnjače predstavljaju biljnu porodicu koja sadrži 7887 vrsta koje su zeljaste, grmolike ili drvenaste biljke. Krstašice su ekonomski vrlo značajne te se prostiru po svim naseljenim kontinentima, dok su najzastupljenije na gusto naseljenom području Europe i Sjeverne Amerike. Zajednička karakteristika porodice je gorkoljuti okus zbog glukozinolata, prirodne komponente koja se nalazi u njihovoj strukturi.[3,4]

Za ljudsku prehranu među vrstama krstašicama najznačajniji je kupus, koji se razvio iz divljeg kupusa. Zajedničke značajke za uzgoj kupusa su: puno vlage u zraku i tlu, visoka otpornost prema hladnoći i mrazu te njihovom rastu jako pogoduje uzgoj na pognojenom tlu organskim gnojivima koji sadrže određene koncentracije teških metala.[4]

1. OPĆI DIO

1.1. PODJELA KRSTAŠICA (*Brassicaceae, Cruciferae*)

U grupu krstašica spadaju:

- kupus
- kineski kupus
- pekinški kupus
- kelj
- lisnati kelj
- kelj pupčar
- brokula
- korabica
- cvjetača

1.1.1. KUPUS (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)

Dvogodišnja zeljasta biljka koja potječe iz Sredozemlja te predstavlja jednu od najvažnijih povrtnih vrsta. Vegetativni organi biljke (korijen, stabljika, listovi) se formiraju kroz prvu godinu, a generativni (plodovi, sjeme, cvjetna stabljika i cvjetovi) kroz drugu. Razvija veliki pup koji je nastao savijanjem lišća tvoreći „glavicu kupusa".

Zauzima velike površine na području Republike Hrvatske, ali ga nažalost karakterizira i slab prinos. Uzgaja se na kontinentalnom i primorskom dijelu Hrvatske.

Kulturi kupusa najviše odgovara hladnije i vlažno podneblje zbog čega se najčešće uzgaja na riječnim dolinama. Najveće prinose ima na dubokim i plodnim tlima čiji je pH kiseo do neutralan (6,0-7,0) dok su za uzgoj na nepovoljnijim tlima potrebne velike količine stajskog gnoja. Kupus se isključivo uzgaja u plodoredu zbog čestog stradanja od bolesti i štetnika, a na zadanoj površini se može početi uzgajati tek nakon 3 godine. Sadi se svake godine na novom polju iz presadnica ili direktno.

Najčešća jednostavna podjela je na bijeli i crveni kupus iako kupus zapravo obuhvaća velik broj raznolikih sorti.

Već odavno igra važnu ulogu u ishrani ljudi. Troši se tijekom cijele godine. Konzumira se svjež, kuhan ili ukiseljen te se sprema na razne načine. Zbog raznih vitamina, posebice velike količine vitamina C te minerala poput željeza, kalcija i kalija koje sadrži smatra se veoma zdravom namirnicom. Kupus također sadrži razne antioksidanse čime igra važnu ulogu u prevenciji raznih bolesti poput raka dojke, debelog crijeva i prostate te u smanjenju lošeg kolesterola. [3,5,6]

1.1.2. KELJ (*Brassica oleracea* L. var. *sabauda*)

Dvogodišnja zeljasta biljka koja se od kupusa zapravo jedino razlikuje po strukturi lišća. Zbog svoje naborane površine lista, listovi glavice kelja ne priliježu jednako čvrsto jedan na drugi kao kod kupusa te je glavica manje čvrsta, a time i lakša od glavice kupusa jednakih dimenzija.

Kelj je po ostalima morfološkim svojstvima jednak kupusu. Zbog velike sličnosti s kupusom se često naziva i glavati kupus. Veoma je bogat vitaminima i mineralima, ali uz nisku kaloričnu vrijednost. Naborano lišće kelja sadrži više parenhimskog tkiva radi čega je bogatiji proteinima i ugljikohidratima od kupusa.

U usporedbi s kupusom otporniji na izmjene temperature te se može uzgajati tijekom cijele godine. Mogu se saditi razne sorte kelja. Među vrstama kelja nalaze se kelj pupčar, lisnati kelj i glavati kelj.

Najviše se konzumira kuhan, kao varivo ili kao prilog. Ne kiseli se zbog rahlog tkiva.[3,7]

1.2. TEŠKI METALI

U kemijskom pogledu pojam „teški metali“ se striktno pridodaje skupini prijelaznih metala čija je atomska masa iznad 20, a gustoća veća od 5 g cm^{-3}, dok u biologiji teški metali predstavljaju seriju metala i metaloida koji mogu biti toksični prema životinjama i ljudima u vrlo malim koncentracijama.[8]

Određen broj teških metala su zapravo neophodni tj. esencijalni za razne funkcije u ljudskom organizmu, dok ujedno manjak tih elemenata može uzrokovati ozbiljne simptome raznih bolesti. Od preostalih teških metala dio njih su bez fiziološkog značaja, a jedan dio se smatra toksičnim te uzrokuje nepogode u ljudskom organizmu. Problematika teških metala leži u njihovoj tendenciji akumulacije u biljnim i životinjskim organizmima što se kroz hranidbeni lanac prenosi i do ljudi. Dolazi do nakupljanja teških metala u raznim dijelovima ljudskog organizma što učestalo završava teškim oboljenjima. Uočavanjem štetnih posljedica teških metala iz okoliša na ljudsko zdravlje raste zanimanje znanstvenika te svijest ljudi o opasnosti teških metala što rezultira sve češćim i opsežnijim studijama teških metala na aspekte ljudskog života.[2,9]

1.2.1. TEŠKI METALI U OKOLIŠU

Teški metali dospijevaju u atmosferu u obliku finih čestica (aerosola) koje što su manje imaju duže vrijeme zadržavanja u atmosferi. Iz atmosfere taloženjem dopiru u tlo i vodu. U vodenim površinama brzo reagiraju te se talože u obliku teško topljivih

karbonata, sulfata i sulfida. Prirodno kruženje teških metala varira o vladajućim prirodnim faktorima, ali i o samim promjenama kojima određeni metali podliježu. Emisije teških metala u atmosferu ne ugrožavaju nužno direktnu lokaciju ispuštanja baš zbog mogućnosti dugog zadržavanja u atmosferi. Moguće je da jako sitne čestice uslijed polaganog taloženja prijeđu veće udaljenosti od samog izvora emisije što ukazuje na opasnost ugrožavanja većih područja. Najčešći izvori emisija teških metala predstavljaju razne grane industrije poput metalurške, prerađivačke te rudnici, elektrane, a velika količina teških metala dolazi i od sagorijevanja fosilnih goriva.[9]

1.2.2. TEŠKI METALI U TLU

Kontaminacija tla teškim metalima se očituje u poremećaju neke od funkcije tla, pogotovo funkcije vezane za organsku sintezu tvari. Teški metali u tlu su prirodnog, imisijskog ili, danas sve češće, antropogenog porijekla.[2]

U kiselim tlima se teški metali nalaze u obliku iona što ih čini pokretnima i dostupnima biljkama. Dakle, u kiselim sredinama uz prisustvo teških metala vrlo lako dolazi do kontaminacije biljaka. Povišenjem pH tla, teški metali postupno prelaze u nepokretne oblike hidroksida i oksida što znači da u lužnatim sredinama dolazi do imobilizacije teških metala.[9]

Prema Pravilniku o zaštititi poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja[10], onečišćeno poljoprivredno zemljište je ono čiji sadržaj teških metala i drugih onečišćujućih elemenata prelazi njihove maksimalno dopuštene koncentracije za zadani tip tla.

Tablica 1. Maksimalno dopuštene količine onečišćujućih tvari u poljoprivrednom zemljištu[10]

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

1.2.3. TEŠKI METALI U BILJKAMA

Teški metali, poput As, Cd, Pb, Hg ili Se nisu esencijalni s obzirom da nemaju nijednu poznatu fiziološku ulogu kod biljaka. Navedeni elementi lako mogu uzrokovati trovanje biljki ako njihove koncentracije prijeđu optimalne vrijednosti. No, metali kao što su Cu, Fe, Co, Mn, Ni, i Zn jesu esencijalni elementi, potrebni za normalan rast i metabolizam biljaka.[8]

Asimilacija teških metala kod biljaka se primarno odvija preko korijena iz tla, no ipak se jednim, iako manjim dijelom usvajaju i preko nadzemnih organa iz zraka, nakupljanjem na biljnim površinama poput listova. Teški metali u biljkama mogu uzrokovati niz nepovoljnih pojava poput inaktivacije enzima, onemogućavanje procesa fotosinteze, poremećaj vodnog režima biljke, otežano crpljenje i transport neophodnih elemenata čime štetno utječu na sam rast i razvoj biljaka. Prvi znaci oboljenja biljke pod utjecajem teških metala su pojava nekroze i kloroze. Stari listovi pomalo odumiru, dok je rast novih usporen. Daljnji učinci teških metala na biljku ovise o vrsti biljke, prisutnim teškim metalima te načinu apsorpcije elemenata.[9]

1.3. UTJECAJ TEŠKIH METALA NA LJUDSKO ZDRAVLJE

Ljudi stupaju u doticaj s teškim metalima preko zraka, vode i hrane. Teški metali dospijevaju u organizam preko kože, putem respiratornog i gastro-intestinalnog trakta nakon čega se nakupljaju u masnom i vezivnom tkivu te organima poput bubrega, jetre, kostiju i mozga, gdje zbog svoje prekomjerne količine remete metabolizam, hormonski sustav i ostale procese u tijelu te na taj način sprječavaju normalno funkcioniranje organizma. Naš organizam, nastoji izbaciti teške metale iz tijela preko kože, pomoću disanja, putem znojnih i lojnih žlijezdi i kroz digestivni trakt.[9]

1.4. Kadmij

Kadmij i njegovi spojevi su veoma toksični. Kao posljedica antropogenog djelovanja kadmij se velikim dijelom otpušta u atmosferu iz dima i prašine elektrolitskih peći pri dobivanju bakra i cinka te se nalazi u ostatku dobivenom procesom elektrolitske rafinacije cinka. Kristali kadmija primjenjuju se u poluvodičkoj elektronici. Spojevi kadmija nisu prisutni samo u granama industrije poput metalurške, već se koriste i u raznim područjima ljudskog djelovanja. Zanimljivo je da se npr. nalaze se u slikarskoj boji (CdS-kadmijsko žutilo) i fotografiji ($CdBr_2$, CdI_2). Djelovanjem vulkana, šumskim požarima ili rastvaranjem stijena kadmij prirodnim

putem dospijeva u okoliš.

Iako je sadržaj kadmija u tlima uobičajno vrlo nizak (< 3 mg kg^{-1}), u tlu se nakuplja spaljivanjem otpada, izgaranjem fosilnih goriva, proizvodnjom plastike, eksploziva i boja te korištenjem gnojiva. Koncentracija kadmija u biljkama se kreće 0,05-2 mg kg^{-1}, a iznad 3 mg kg^{-1} nastupa toksičnost.[2]

Velika opasnost od onečišćenosti biljnih sustava iz tla se javlja u kiselim sredinama gdje kadmij postaje pokretan kao Cd^{2+}, ali i u obliku kompleksnih iona ($CdCl^{+}$, $CdCl^{-2}_4$).

Inhalacijom štetnih dimnih plinova i aerosola iz ljevaonica, spalionica otpada i drugih postrojenja te konzumacijom hrane zagađene kadmijem on pronalazi put u ljudski organizam gdje se ponajviše akumulira u bubrezima i jetri. Višegodišnje posljedice trovanja kadmijem rezultiraju hipertenzijom, rakom pluća ili prostate.[9]

1.5. Krom

Sjajan metal koji se u prirodi nalazi u stijenama, vulkanskoj prašini i dimu te u tlu gdje se pojavljuje u obliku Cr^{3+} ili Cr^{6+}. Koristi se u kemijskoj industriji, tekstilnoj industriji i kod proizvodnje kože. Prisutan je u čeličnoj industriji gdje se u ljevaonicama dodaje čeliku i drugim legurama.

Normalna koncentracija kroma u biljci je 0,002-1 mg kg^{-1}, a granica toksičnosti je iznad 5 mg kg^{-1}.[2]

Krom je veoma opasan u Cr^{6+} obliku radi svog mutagenog, teratogenog i kancerogenog djelovanja. Trovanje kromom očituje se oštećenjem želučane sluznice te nastankom želučanog čira, poteškoćama s radom jetre i bubrega, a u konačnici mogu nastupiti različiti oblici raka.[9]

1.6. Bakar

U prirodi je rijedak u elementarnom stanju, najviše ga ima u sulfidnim rudama (halkopirit, kovelit, halkozin i bornit), u oksidnim (kuprit) i karbonatnim rudama (malahit i azurit). Naročito ga ima na crvenicama (Terra rossa), tlima nastalim na škriljavcima te na tlima bogatim humusom. Bakar je mikronutrijent, čija pokretljivost, kao i kod prethodno navedenih teških metala, raste zakiseljenjem tla. Organski i mineralni koloidi pokazuju naglašenu sposobnost adsorpcije bakra, posebice mineral gline montmorilonit. Već u neutralnim tlima, bakar s fosforom tvori teško topljive tercijarne fosfate ($Cu_3(PO_4)_2$ x $3H_2O$). Dakle, dodatkom fosfornih gnojiva u tlo i

procesom humizacije i kalcizacije tla moguće je smanjiti mobilnost bakra.

Zaštitna sredstva na bazi bakra, industrijski mulj i gnojovka su glavni izvori bakra u poljoprivredi. Sadržaj bakra u tlu iznosi 5-50 ppm, a u biljkama 2-20 ppm. Povišena koncentracija bakra u tlu toksično djeluje na biljke što se očituje klorozom i nekrozom starijeg lišća, usporenim klijanjem sjemena i smanjenim rastom korijena i izdanka.[2,9]

1.7. Nikal

Teški metal koji je neophodan za biljke i životinje. Karakterizira ga velika rasprostranjenost u mineralnom i organskom obliku u tlu. Velike količine nikla nalaze se u tlima formiranim na eruptivnim sedimentima (50 mg kg^{-1} tla), a u tlima razvijenim na serpentinu njegove koncentracije dosežu čak 600 mg kg^{-1} tla. Koncentraciju i mobilnost nikla u tlu uvjetuje pH reakcija tla, sadržaj organske tvari i glina.

Kanalizacijski mulj je glavni izvor onečišćenja tla niklom. Višak nikla sprječava translokaciju željeza, a time uvjetuje deficit željeza u tlu i biljkama. No, veće količine mobilnog nikla ne moraju imati direktan nepovoljan utjecaj na biljke ako tlo sadržava dovoljne količine kalcija koje umanjuju njegovo toksično djelovanje.[2,9]

1.8. Željezo

Željezo je veoma važan mikronutrijent. U prirodi se nalazi u karbonatnim, silikatnim, oksidnim i sulfidnim rudama među kojima su najznačajnije magnetit, hematit i geotit. U tlu i u biljkama se nalazi u ionskom obliku (Fe^{2+} i Fe^{3+}) ili u odgovarajućim spojevima. Biljke dakle usvajaju željezo u njegovom ionskom obliku ili u obliku kelata (organometalni kompleksni spojevi). S obzirom da je usvajanje povezano s redukcijom, kod nedostatka željeza u tlu biljke će izlučivati iz korijena reducirajuće agense poput fenola i organskih kiselina te ostale tvari koje potpomažu usvajanje željeza. Prosječna koncentracija u biljci iznosi 50-300 mg kg^{-1} (može doseći 1000 mg kg^{-1}). Suvišak željeza se može pojaviti u slabo prozračnim, vrlo kiselim tlima. Toksično djelovanje viška željeza očituje se pojavom tamnog, plavozelenog lišća i mrke boje korijena te inhibicijom vegetacijskog rasta.[2,11]

1.9. BILJKE KAO HIPERAKUMULATORI TEŠKIH METALA

Termin „hiperakumulator“ opisuje niz biljaka koje pripadaju daleko srodnim porodicama, ali dijele sposobnost rasta na tlima s povišenim koncentracijama metala i usvajanja izuzetno visokih koncentracija teških metala bez nastupanja značajnih

simptoma fitotoksičnosti. Dakle, hiperakumulatori aktivno usvajaju prekomjerne količine jednog ili više teških metala iz tla, ne zadržavaju ih u korijenu već ih prenose u nadzemne organe, posebice listove, gdje ih zadržavaju u 100-1000 puta većoj koncentraciji nego nehiperakumulirajuće vrste.

Tri glavne karakteristike hiperakumulatora:

- pojačana razina unosa teških metala
- brži prijenos tvari iz korijena u izdanak
- naglašena sposobnost detoksifikacije i odvajanja teških metala u listovima

Prema utvrđenim graničnim vrijednostima[8] teških metala, nakon niza uzastopnih mjerenja, hiperakumulatori su biljke koje akumuliraju:

- > 10 mg Mn ili Zn po gramu suhe tvari biljke
- > 1 mg As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Sb, Se ili Tl po gramu suhe biljke
- > 0,1 mg Cd po gramu suhe biljke

u izdanku bez simptoma fitotoksičnosti.

Dosad je identificirano oko 450 biljnih hiperakumulatorskih vrsta, što čini manje od 0,2 % svih poznatih vrsta. Nikal je hiperakumuliran u najvećem udjelu biljnih vrsta (više od 75 %), dok je za Cd, koji je jedan od najotrovnijih teških metala, pronađen mali broj hiperakumulatora (dosad samo 5 vrsta). Nikal je također metal za kojeg se pokazalo da u biljci postiže najvišu koncentraciju.

Oko 25 % otkrivenih hiperakumulatorskih vrsta pripada porodici *Brassicaceae*, a posebno rodovima *Thlaspi* i *Alyssum.* Različite biljne vrste porodice *Brassicaceae* hiperakumuliraju niz teških metala poput Ni, Zn, Cd, Se i As.

Velik broj hiperakumulatora je endemičan za tla bogata teškim metalima, ponašajući se kao „striktni metalofiti“, dok neki „fakultativni metalofiti“ mogu živjeti na tlima koja nisu bogata metalima, ali prevladavaju na tlima koja sadržavaju visoke koncentracije teških metala.

Otkrićem niza biljnih vrsta koje koncentriraju izuzetno velike količine teških metala razvio se velik interes prema istraživanju tih vrsta s ciljem razumijevanja zašto i kako pojedine biljke hiperakumuliraju teške metale te koje bi mogle biti prednosti hiperakumulacije teških metala u biljkama. Predložen je niz hipoteza kojima bi se mogla objasniti uloga teških metala u visokim koncentracijama od kojih je najviše

pozornosti privukla hipoteza elementarne obrane. Navedena hipoteza sugerira da visoke koncentracije teških metala u nadzemnim organima imaju funkciju strategije samoobrane koja se razvila u hiperakumulatorskim vrstama zbog prijeteće opasnosti nekih prirodnih neprijatelja, poput biljojeda. Ova hipoteza je široko testirana, prikupljajući mnoge dokaze koji je podupiru, no neki testovi su doveli do oprečnih rezultata. Usprkos brojnim izvješćima potrebno je više informacija s obzirom da je malen broj vrsta testiran na hipotezu. Većina istraživanja je fokusirana na biljnu porodicu *Brassicaeae* i ispitivani su samo neki elementi (Ni, Zn, Cd, As, Se). Štoviše, obrambeni učinci su većinom testirani u laboratorijskim uvjetima i uzeti su u obzir samo jedan ili nekoliko odabranih biljojeda, umjesto da su bili testirani u vanjskim uvjetima, na polju, gdje se hiperakumulatori moraju suočiti s nizom prirodnih neprijatelja.

Hiperakumulatorskim vrstama, osim ekološkog i fiziološkoga interesa, pridana je značajna pozornost zbog mogućnosti iskorištavanja njihovih akumulacijskih svojstava praktične primjene, posebice za razvoj tehnologije za fitoremedijaciju tla onečišćenih teškim metalima ili za rudarenje vrijednih metala s mineraliziranih nalazišta.

Međutim, usprkos velikom napretku koji je postignut brojnim provedenim studijama u posljednjih nekoliko godina, složenost hiperakumulacije teških metala daleko je od potpunog razumijevanja te nekoliko aspekata ove zadivljujuće karakteristike još uvijek čeka objašnjenje.[8]

1.10. ATOMSKA SPEKTROSKOPIJA

Atomska spektroskopija je analitička tehnika kojom se može kvalitativno i kvantitativno odrediti oko 70 elemenata. Metodu karakterizira visoka selektivnost.

Atomska spektroskopija, temeljena je na linijskim spektrima ultraljubičastog i vidljivog zračenja. Prvi je postupak atomizacija koja predstavlja najkritičniji dio postupka atomske spektroskopije. Atomizacija je postupak kojim se uzorak razgrađuje te prelazi u atomarno stanje pri čemu se koriste frekvencije zračenja (UV i vidljivog dijela spektra) koje su energijski odgovarajuće za pobuđivanje elektronskih prijelaza.

Podjela atomskih metoda temelji se prema načinu atomiziranja uzoraka čime razlikuju se pojave apsorpcije, fluorescencije i emisije.[12]

1.10.1. PROCES ATOMSKE APSORPCIJE

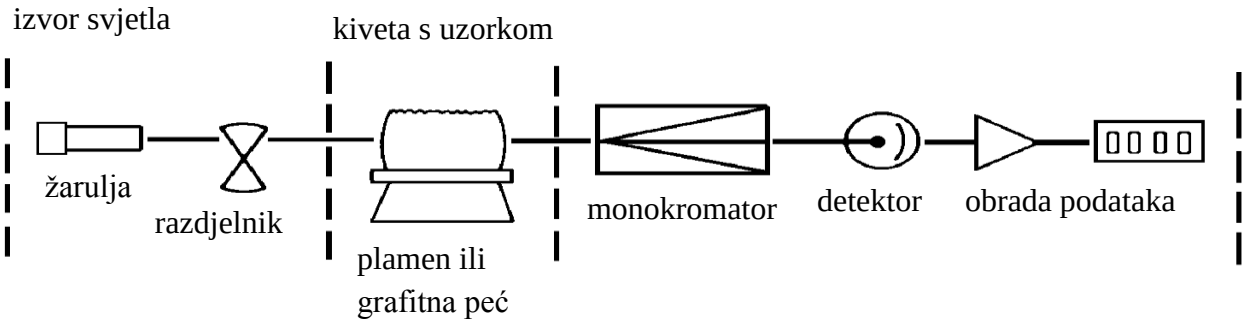
Kod atomske apsorpcije mjeri se količina svjetlosti na pri određenoj valnoj duljini koja se apsorbira dok svjetlost prolazi kroz oblak atoma. Kako se broj atoma na

putu svjetlosti povećava, količina apsorbirane svjetlosti povećava se na predvidiv način. Mjerenjem količine apsorbirane svjetlosti, moguće je kvantitativno odrediti količinu prisutnog analita. Upotrebom žarulja sa šupljom katodom koje emitiraju svjetlost točno određene valne duljine moguće je specifično kvantitativno određivanje pojedinih elemenata u prisutnosti drugih.

Atomski oblak potreban za mjerenje atomske apsorpcije nastaje opskrbom uzorka s dovoljno toplinske energije za disocijaciju kemijskih spojeva u slobodne atome. Otopina uzorka se postavlja u optički put instrumenta. Pravilnim temperaturnim programom većina atoma ostat će u osnovnom stanja te su sposobni apsorbirati svjetlost odabrane valne duljine iz žarulje sa šupljom katodom. Jednostavnost i brzina pri kojoj mogu biti postignuta precizna određivanja ovom tehnikom su uvjetovali atomsku apsorpciju kao jednu od najpopularnijih metoda za određivanje metala.[13]

1.10.2. OSNOVNE KOMPONENTE INSTRUMENTACIJE ZA AAS

Svaki apsorpcijski spektrometar mora imati dijelove koje ispunjavaju 3 osnovna zahtjeva izvedbe atomske apsorpcije. Mora sadržavati izvor svjetla, ćeliju za uzorak, uređaj za mjerenje apsorbirane svjetlosti.



Slika 1. Shema optičkog puta AA spektrometra[13]

Kao najčešći izvor svjetlosti se koristi šuplja žarulja sa šupljom katodom. Ona je dizajnirana da emitira atomski spektar pojedinog elementa. Ovisno o elementu koji se određuje biraju se specifične žarulje.[13] Atomizacija uzorka može se postići plamenom, elektrotoplinski te tehnikom formiranja hidrida. Tijekom procesa atomizacije bilježi se područje zračenja te se bilježi apsorbancija svjetlosti kao analitički signal.[14]

1.10.3. ELEKTROTOPLINSKA ATOMSKA APSORPCIJSKA SPEKTROSKOPIJA U GRAFITNOJ PEĆI

Elektrotoplinski atomizatori su se pojavili na tržištu početkom sedamdesetih godina. Osiguravaju povećanu osjetljivost zbog atomizacije uzorka u veoma kratkom

vremenu, a prosječno vrijeme zadržavanja atoma u optičkom putu iznosi oko 1 sekundu ili više.[12]

U elektrotoplinski atomizator se stavlja nekoliko mikrolitara (20 μL) uzorka te provodi kroz slijedeći program:

1. sušenje
2. spaljivanje ili piroliza
3. atomizacija
4. čišćenje
5. hlađenje.

Sušenje se provodi na temperaturama do 120 °C. Navedeni volumen uzorka zahtijeva vrijeme od 30-40 s. Pri sušenju je određeni i stalni protok plina nosioca (Ar). Spaljivanje se odvija na temperaturama od 200 °C do 700 °C. Protok plina je zadan programom. Kod atomizacije se temperatura postiže trenutno. Nakon spaljivanja, struja ubrzano jača do nekoliko stotina ampera što uzrokuje povišenje temperature na 2000 °C ili 3000 °C. Atomizacija uzorka se odvije u vremenu od nekoliko milisekundi. Nužno je da brzina stvaranja slobodnih atoma bude jednaka ili viša od brzine nestanka atoma iz optičkog puta. Upravo radi zadržavanja atomiziranog uzorka unutar područja optičkog puta potrebno je zaustaviti protok plina nosioca. Čišćenje se izvodi podizanjem temperature do maksimalne vrijednosti uz protok plina nosioca. Hlađenje se vrši pomoću protoka plina i rashladne vode. Temperatura unutar 20 s pada s 2400 °C na 20 °C.

Atomizacija se odvija u cilindričnoj grafitnoj cijevi (grafitnoj kiveti), koja je otvorena na oba kraja i sadrži po sredini šupljinu gdje se unosi uzorak mikropipetom. Grafitna kiveta je duljine oko 5 cm, a unutrašnji joj je promjer nešto manji od 1 cm. U metalnom, vodom hlađenom kućištu se nalazi par cilindričnih grafitnih kontakata na koje prilježe izmjenjiva grafitna kiveta. Zbog transverzalno grijane grafitne kivete omogućena je ravnomjerna raspodjela temperature tijekom atomizacije čime se smanjuju ili čak potpuno uklanjaju interferencije uzrokovane kondenzacijom na krajevima kivete.

Koriste se dvije struje inertnog plina te obe imaju posebne funkcije pri korištenju uređaja. Vanjska struja onemogućava ulazak zraka, a tako i spaljivanje cijevi, dok unutrašnja struja plina ulazi na oba kraja cijevi, a struji van kroz središnji otvor za uzorak te uz isključivanje zraka služi za odvođenje para koje proizvodi matrica uzorka

tijekom prva dva stupnja zagrijavanja.

L'vovljev podložak koji je smješten odmah ispod otvora za unošenje uzorka sprječava da prilikom naglog povišenja temperature grafitne kivete uzorak bude odmah atomiziran. Dakle, on uvjetuje pojavu atomizacije u okružju bez naglih promjena temperatura, rezultat čega je reproducibilnost maksimuma.

Kao izvor elektromagnetskog zračenja najčešće se koristi žarulja sa šupljom katodom koja se sastoji od volframove anode i cilindrične katode, zataljenih u staklenoj cijevi punjenoj inertnim plinom (Ar), pod niskim tlakom. Korištena katoda izrađena je od onog metala koji se analizira. Promjenom napona od oko 300 V dolazi do ionizacije argona prilikom čega kationi argona na katodu udaraju dovoljno velikom energijom za izbijanje nekolicine atoma metala uslijed čega nastaje atomski oblak. Dio izbijenih atoma dakle prijeđe u pobuđeno stanje te pri povratku u osnovno stanje emitiraju tipične valne duljine. Među dodatnim osnovnim dijelovima nalaze se još monokromator, koji propušta vrpcu susjednih valnih duljina te detektor koji pretvara očitano elektromagnetsko zračenje u električni napon.[14]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. KEMIJSKE ANALIZE

2.1.1. KEMIKALIJE

Tablica 2. Korištene kemikalije

KEMIKALIJE	MOLEKULSKA FORMULA	DOBAVLJAČ
klorovodična kiselina	HCl	VWR Chemicals
dušična kiselina	HNO_3	Merck KGaA, Darmstadt

2.1.2. PRIPRAVA OTOPINA

2.1.2.1. PRIPRAVA OTOPINE HCl, *w*(HCl) = 20 %

Za pripravu otopine klorovodične kiseline, *w*(HCl)=20 % otpipetirano je 25 mL klorovodične kiseline u odmjernu tikvicu od 50 mL te nadopunjeno ultračistom vodom do oznake.

2.1.2.2. PRIPRAVA OTOPINE HNO_3, *w*(HNO_3) = 0,2 %

Za pripravu otopine dušične kiseline, *w*(HNO_3)=0,2 % otpipetirano je 2 mL dušične kiseline u odmjernu tikvicu od 1 L te nadopunjeno ultračistom vodom do oznake.

2.2. PRIPREMA UZORAKA

Ispitivane uzorke čine: bijeli kupus (*Brassica oleracea* L. *var. capitata f. alba*), crveni kupus (*Brassica oleracea* L. *var. capitata f. rubra*) i kelj (*Brassica oleracea* L. *var. sabauda*).



Slika 2. Kelj, bijeli kupus i crveni kupus

Ispitivani uzorci su uzeti s dvije lokacije:

1. tržnica (bijeli kupus i kelj)
2. samoposluga (crveni kupus)

Uzorci su, prije vaganja, ostavljeni da se suše na zraku, a zatim stavljeni u sušionik na 60°C (24 sata). Osušene uzorke potrebno je usitniti koristeći tarionik.

Lončiće za žarenje je prije vaganja bilo potrebno žariti na istoj temperaturi na kojoj se žari i biljka (500°C), sat vremena. Zatim je odvagano 1,0 g suhe organske tvari (± 0,001 g) svakog pojedinačnog uzorka. Uzorci u lončićima za žarenje su stavljeni u eksikator nakon čega se nose na žarenje u laboratorijsku peć. Kad se postigla potrebna temperatura žarenja (500°C), uzorci su stavljeni na žarenje 10 sati. Konačan izgled uzoraka treba biti pepeo svijetlosive boje bez tamnih mrlja što upućuje na to da je organska tvar iz uzoraka uklonjena. Ohlađeni pepeo je preliven s 5 mL razrijeđene otopine HCl (20 %), te ako je nužno, radi boljeg otapanja potrebno je još malo zagrijati uzorak. Dobivene otopine su zatim prenesene preko filter papira najfinijeg poroziteta - crna vrpca u odmjerne tikvice od 50 mL.



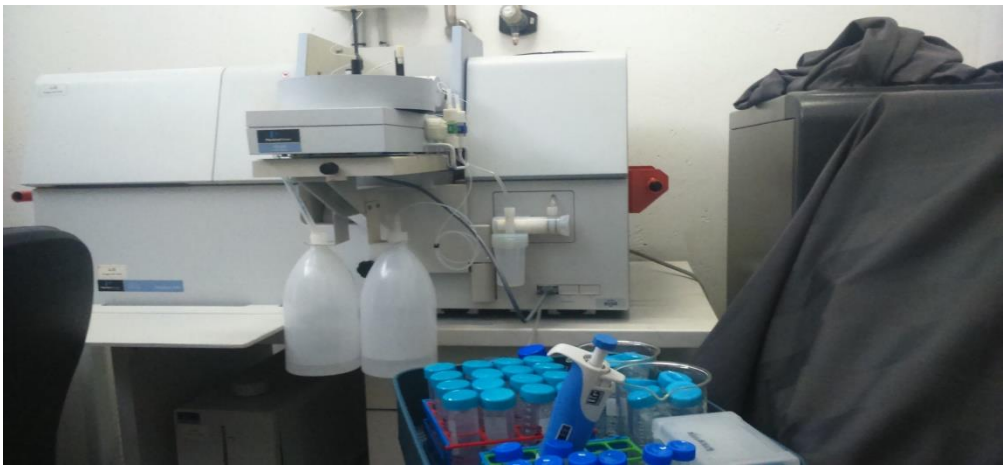
Slika 3. Priprema otopine uzoraka

Nakon što su se otopine ohladile, odmjerne tikvice su nadopunjene destiliranom vodom do oznake. Konačno, prije ispitivanja uzoraka metodom AAS, dobivene otopine se prebacuju iz odmjernih tikvica u kivete.



Slika 4. Pripremljene otopine uzoraka u kivetama

2.3. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJA TEŠKIH METALA ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROMETRIJOM



Slika 5. Elektrotoplinski atomski apsorpcijski spektrometar s grafitnom pećи

Od pripremljenih otopina uzoraka napravljena je serija razrjeđenja (uzorak/10) koja je služila pri mjerenju teških metala za koje su se očekivale visoke koncentracije. Za pripremu serije razrjeđenja korištena je 0,2 % HNO_3 pri čemu po 1 mL svake otopine uzoraka razrijedio u odmjernoj tikvici do oznake 10 mL dodavanjem 0,2 % HNO_3. U konačnici serija razrjeđenja je korištena pri mjerenju koncentracije željeza zbog očekivanih visokih koncentracija u biljnim uzorcima.

Kadmij

λ = 228,8 nm

LDP (linearno dinamičko područje) = 1-12 ppb

osjetljivost: S = 2,0 µg/L za 0,13 A-s

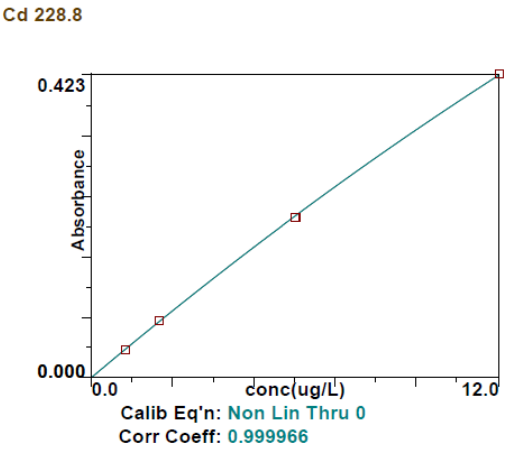
značajne temperature:

- piroliza: 500 °C
- atomizacija: 1500 °C

Tablica 3. Program peći Cd

korak	temperatura (°C)	vrijeme postizanja temp. (s)	vrijeme zadržavanja (s)	unutarnji protok plina	tip plina
1	110	1	30	250	argon
2	130	15	30	250	argon
3	500	10	20	250	argon
4	1500	0	5	0	argon
5	2450	1	3	250	argon

:



Slika 6. Krivulja umjeravanja za Cd

Krom

λ =357,9 nm

LDP = 5-60 ppb

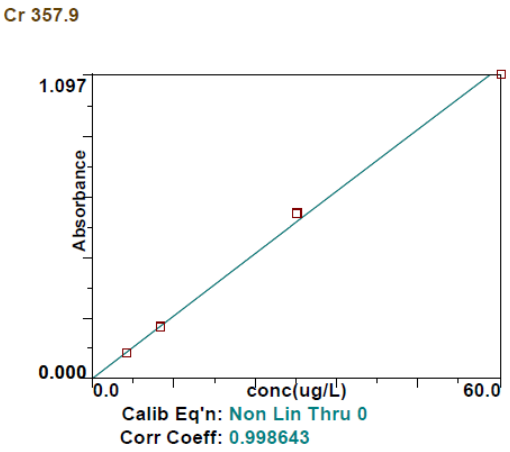
osjetljivost: S = 10 µg/L za 0,13 A-s

značajne temperature:

- piroliza: 1500 °C
- atomizacija: 2300 °C

Tablica 4. Program peći Cr

korak	temperatura (°C)	vrijeme postizanja temp. (s)	vrijeme zadržavanja (s)	unutarnji protok plina	tip plina
1	110	1	30	250	argon
2	130	15	30	250	argon
3	1500	10	20	250	argon
4	2300	0	5	0	argon
5	2450	1	3	250	argon



Slika 7. Krivulja umjeravanja za Cr

Bakar

λ =324,8 nm

LDP = 12,5-150 ppb

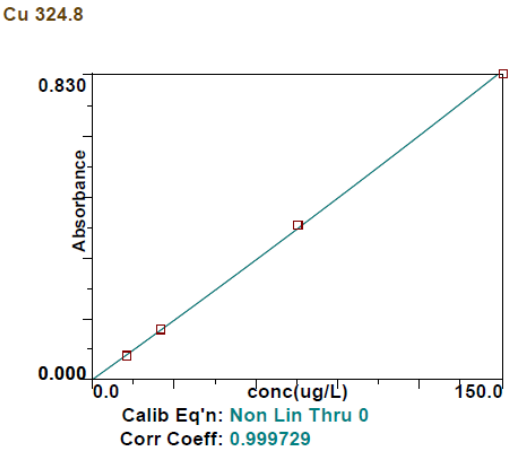
osjetljivost: S = 25 µg/L za 0,13 A-s

značajne temperature:

- piroliza: 1200 °C
- atomizacija: 2000 °C

Tablica 5. Program peći Cu

korak	temperatura (°C)	vrijeme postizanja temp. (s)	vrijeme zadržavanja (s)	unutarnji protok plina	tip plina
1	110	1	30	250	argon
2	130	15	30	250	argon
3	1200	10	20	250	argon
4	2000	0	5	0	argon
5	2450	1	3	250	argon



Slika 8. Krivulja umjeravanja za Cu

Nikal

λ = 232,0 nm

LDP = 25-150 ppb

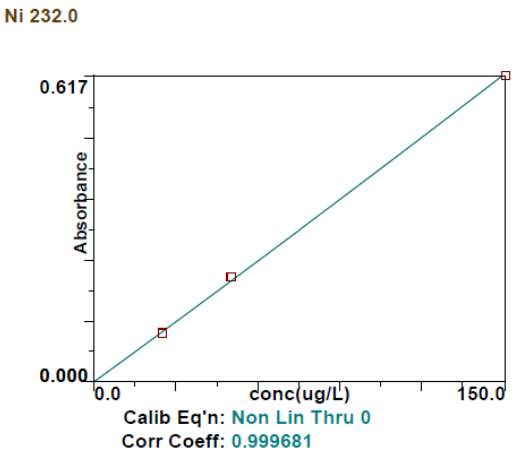
osjetljivost: S = 50 µg/L za 0,22 A-s

značajne temperature:

- piroliza: 1100 °C
- atomizacija: 2300 °C

Tablica 6. Program peći Ni

korak	temperatura (°C)	vrijeme postizanja temp. (s)	vrijeme zadržavanja (s)	unutarnji protok plina	tip plina
1	110	1	30	250	argon
2	130	15	30	250	argon
3	1100	10	20	250	argon
4	2300	0	5	0	argon
5	2450	1	3	250	argon



Slika 9. Krivulja umjeravanja za Ni

Željezo

λ = 248,3 nm

LDP = 10-120 ppb

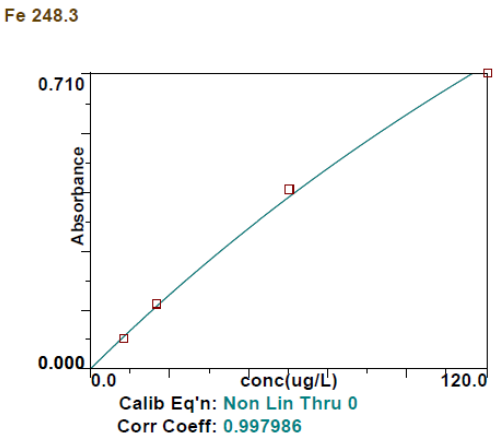
osjetljivost: S = 20 µg/L za 0,15 A-s

značajne temperature:

- piroliza: 1400 °C
- atomizacija: 2100 °C

Tablica 7. Program peći Fe

korak	temperatura (°C)	vrijeme postizanja temp. (s)	vrijeme zadržavanja (s)	unutarnji protok plina	tip plina
1	110	1	30	250	argon
2	130	15	30	250	argon
3	1400	10	20	250	argon
4	2100	0	5	0	argon
5	2450	1	3	250	argon



Slika 10. Krivulja umjeravanja za Fe

3. REZULTATI I RASPRAVA

Primjer izrade proračuna koncentracija teških metala:

Tablica 8. Mase izvaganih uzoraka

bijeli kupus		crveni kupus		kelj	
S2	**S3**	**S**	**C18**	**C15**	**C19**
1,0034 g	1,0060 g	1,0017 g	1,0088 g	1,0019 g	1,0020 g

Jednadžba proračuna:

$$\gamma\ [\mu g\ g^{-1} = mg\ kg^{-1}] = \frac{\gamma\ [ppb = \mu g\ L^{-1}]\ x\ V_{otopine\ uzorka}\ [L]}{m_{odvaganog\ uzorka}[g]}$$

<u>Primjer</u>: bijeli kupus

element: Cd

uzorak: S2

$m_{\text{odvaganog uzorka}}$ = 1,0034 g

V_{uzorka} = 50 mL = 0,05 L (jednak za sve uzorke)

γ = 1,938 ppb = 1,938 µg L^{-1}

$$\gamma\ [mg\ kg^{-1}] = \frac{\gamma\ [ppb = \mu g\ L^{-1}]\ x\ V_{otopine\ uzorka}\ [L]}{m_{odvaganog\ uzorka}[g]}$$

$$\gamma_{S2} = \frac{1{,}938\ \mu g\ L^{-1}\ x\ 0{,}05\ L}{1{,}0034\ g}$$

$$\gamma_{S2} = 0{,}0966\ \mu g\ g^{-1} = 0{,}10\ mg\ kg^{-1}$$

uzorak: S3

$m_{\text{odvaganog uzorka}}$ = 1,0060g

V_{uzorka} = 50 mL = 0,05 L

γ = 2,336 ppb = 2,336 µg L^{-1}

$$\gamma\ [\text{mg kg}^{-1}] = \frac{\gamma\ [\text{ppb} = \mu\text{g L}^{-1}]\ x\ V_{otopine\ uzorka}\ [\text{L}]}{m_{odvaganog\ uzorka}[\text{g}]}$$

$$\gamma_{S3} = \frac{2{,}336\ \mu\text{g L}^{-1}\ x\ 0{,}05\ \text{L}}{1{,}0060\ \text{g}}$$

$$\gamma_{S3} = 0{,}1161\ \mu\text{g g}^{-1} = 0{,}12\ \text{mg kg}^{-1}$$

Konačan rezultat:

$$\overline{\gamma_{Cd}} = \frac{y_{S2} + y_{S3}}{2}$$

$$\overline{\gamma_{Cd}} = \frac{0{,}10 + 0{,}12}{2}$$

$$\overline{\gamma_{Cd}} = 0{,}11\ \text{mg kg}^{-1}$$

Tablica 9. Rezultati AAS

Koncentracije teških metala mg kg^{-1}	**Cd**	**Cr**	**Cu**	**Ni**	**Fe**
Bijeli kupus	0,11	1,075	< GD	2,67	18,285
Crveni kupus	0,095	1,005	1,18	< GD	29,13
Kelj	0,19	1,05	< GD	4,78	50,715

GD- granica detekcije

Unutar ovog istraživanja provedena su mjerenja koncentracija Cd i Cr, koji predstavljaju veoma toksične teške metale u biljkama te Cu, Ni i Fe, esencijalne biogene elemente potrebne pri rastu i razvoju biljaka.

Na temelju dobivenih rezultata uočava se da je najveća očitana koncentracija kadmija u uzorku kelja (0,19 mg kg^{-1}) te je blizu najveće dopuštene količine kadmija u lisnatom povrću tj. kupusnjačama (0,20 mg kg^{-1}) definirane Pravilnikom o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani.[1] Najnižu koncentraciju kadmija sadrži crveni kupus (0,095 mg kg^{-1}). Prema istraživanju C. Radulescu i suradnika[15], koje se bavilo ispitivanjem koncentracija i translokacije teških metala u

različitim dijelovima kupusa (vanjski list, unutarnji list, vanjski i unutarnji dio stabljike, srž te korijen) na području Rumunjske, dobivene povišene koncentracije kadmija u svim uzorcima izuzev dva, su objašnjene na temelju njegove općepoznate izražene biodostupnosti u biljkama. Očekivano, korijen te vanjski i unutarnji list su pretežito kod svih uzoraka kupusa sadržavali najviše očitane koncentracije kadmija. Korijen se nalazi u neposrednom kontaktu s tlom odakle se najviše crpe dostupni teški metali iz tla te zadržavaju neko vrijeme prije translociranja u nadzemne dijelove biljke, dok akumulacija u vanjske listove, iz korijena ili atmosfere, može služiti kao nekakav mehanizam obrane tj. očuvanja ostatka biljke.

Krom, idući ispitivani neesencijalni element kod biljaka, se kreće u veoma sličnim vrijednostima kod ispitivanih uzoraka, no ipak njegova najveća koncentracija je očitana u uzorku bijelog kupusa te iznosi 1,075 mg kg^{-1}. Uspoređujući dobivene eksperimentalne rezultate za krom s njegovom normalnom koncentracijom u biljkama (0,002-1 mg kg^{-1})[2] može se zaključiti da se vrijednosti sva tri uzorka nalaze na gornjoj granici. Krom se može naći u većim količinama kod nekih vrsta gnojiva (super fosfati, sirovi fosfati, bazne drozge) čijom primjenom dospijeva u tlo i biljke.[2] Dakle, izmjerene vrijednosti veoma toksičnih metala, kadmija i kroma, jesu povišene, ali još uvijek se nalaze u području prihvatljivih vrijednosti, odnosno ne bi trebali imati štetne posljedice na biljke, a tako i na čovjeka.

Bakar spada u potrebne biogene mikroelemente biljaka. Izmjerene koncentracije bakra bijelog kupusa i kelja su bliske, ali vrijednosti su im aproksimirane jer se nalaze ispod granice detekcije korištenog uređaja. Kod crvenog kupusa, koncentracija bakra je gotovo dvostruko veća od aproksimirane vrijednosti bijelog kupusa te iznosi 1,18 mg kg^{-1}. Sva tri uzorka pokazuju relativno nizak sadržaj bakra, ispod uobičajenih vrijednosti u biljci (2-20 mg kg^{-1}). Količine bakra u tlu su u prosjeku male, a na raspoloživost bakra uvelike utječe pH vrijednost tla (optimalan pH = 4,5 – 6). Niske koncentracije bakra ukazuju da vjerojatno nisu korištene kemikalije na bazi bakra poput zaštitnih sredstava i gnojiva koje bi mogle dovesti do akumulacije bakra u biljkama. Manjak bakra se očituje odumiranjem korijena, sušenjem rubova listova te pojavom kloroze što usprkos izmjerenim niskim koncentracijama bakra nije primijećeno kod ispitivanih uzoraka.[2,11]

Nikal je zadnji stekao status esencijalnog elementa, a njegova uobičajena koncentracija u biljkama je niska (1-10 mg kg^{-1}).[11] Od ispitivanih uzoraka, najveća očitana koncentracija Ni se nalazi u uzorku kelja (4,78 mg kg^{-1}), a u crvenom kupusu

koncentracija se nalazi ispod granice detekcije. Uzorak bijelog kupusa sadrži nešto nižu vrijednost Ni (2,67 mg kg^{-1}), no još uvijek unutar raspona prethodno navedene normalne zastupljenosti nikla u biljkama, zajedno s uzorkom kelja.[11]

Željezo je veoma važan mikronutrijent kod biljaka što se može i zaključiti prema njegovoj velikoj zastupljenosti u biljkama. Prosječna koncentracija željeza u biljci se kreće u rasponu 50-300 mg kg^{-1}.[11] Vezan je uz sintezu klorofila, iako nije njegov sastavni dio, već izgleda da je njegova uloga u tom procesu katalitička. Kao rezultat ove funkcije željeza, kloroza je neizostavan simptom kad elementa nedostaje.[16] Iako su izmjerene vrijednosti željeza bile najviše očitane od svih ispitivanih teških metala u uzorcima, od 3 uzorka, samo uzorak kelja sadrži dovoljnu količinu željeza (50,715 mg kg^{-1}) koja se nalazi na donjoj granici raspona njegove prosječne koncentracije u biljci. Uzorak bijelog kupusa sadrži najmanji izmjereni iznos Fe (18,285 mg kg^{-1}) dok je kod uzorka crvenog kupusa izmjereno 29,13 mg kg^{-1} željeza. Usjevi krstašica koji pate od nedostatka željeza pokazuju klorotično „mramorno“ djelovanje na lišću, a poneki listovi su potpuno izbijeljeni. Simptomi su vrlo slični onima koji su karakteristični kod nedostatka mangana, a često je nemoguće razlikovati ta dva metala samo na temelju vizualnih simptoma.[17] Kod oba uzorka zastupljen je nedostatak željeza na temelju dobivenih vrijednosti, iako na samim uzorcima nisu uočeni vizualni simptomi deficita željeza.

Za ostvarivanje visokih ratarskih prinosa pojedine biljne vrste veoma je bitna odgovarajuća, kontinuirana opskrba hranjivim, biogenim elementima. Uklanjanjem dijela prinosa ratarskog bilja za ljudske hranidbene potrebe pomiče se ravnoteža u tlu, a to dovodi do snižavanja sadržaja potrebnih hranjiva te pada prinosa, što može biti vidljivo tijekom vegetacije preko simptoma njihovog nedostatka.[11]

Prepoznavanje značajne i aktualne problematike teških metala rezultiralo je brojnim istraživanjima koja se bave ispitivanjem njihove rasprostranjenosti i sadržaja u različitim medijima poput vode, tla i zraka te njihovog štetnog utjecaja na žive organizme, kako u različitim područjima svijeta, tako i u RH. U srodnim istraživanjima često se ispituju koncentracije teških metala u tlima te prisutnih biljnih vrsta, među kojima veliku pozornost uzimaju povrtne vrste, poput kupusa, zbog njegove osobine kao značajnog indikatora onečišćenja metalima određenog područja i direktne korelacije s opasnošću unosa povišenih koncentracija teških metala putem ljudske ishrane. Zvjezdana Stančić i suradnici[18] su ispitivali koncentracije teških metala u 28 uzoraka tipičnih povrtnih vrsta na Varaždinskoj tržnici s ciljem uspostavljanja odnosa između

njihovih razina i mogućih izvora kontaminacije. U istraživanju je također korištena metoda atomske apsorpcijske spektrometrije pri mjerenju koncentracija devet različitih teških metala (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb i Zn). Rezultati su pokazali da je u 5 od 28 analiziranih uzoraka premašeno 6 koncentracija maksimalne razine predviđene propisima: 5 za Pb i 1 za Cd što je najvjerojatnije posljedica uzgoja na kontaminiranom tlu, gdje su uzroci zagađenja najvjerojatnije promet, prisutne industrije i otpadne vode te korištenje različitih pesticida i gnojiva tijekom poljoprivrednog uzgoja povrtnih vrsta. Još jedno nedavno, zanimljivo istraživanje su proveli Jurić i suradnici[19] u kojem su koristeći kupus kao odličan pokazatelj kontaminacije tla teškim metalima, htjeli utvrditi razliku u zagađenosti tla na lokacijama s intenzivnim ratnim djelovanjem i lokacijama pošteđenim ratnim djelovanjem na području istočne Hrvatske. U konačnici ispitivani uzorci ukazuju na nisku opterećenost istočne Hrvatske metalima nakon Domovinskog rata.

4. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog eksperimenta i dobivenih rezultata mogu se izvući sljedeći zaključci:

- Kupus (*Brassica oleracea* L.*)* zbog svoje sposobnosti akumulacije teških metala služi kao dobar indikator onečišćenosti okoliša teškim metalima.
- Atomska apsorpcijska spektrometrija je tehnika visoke osjetljivosti koja može biti uspješno primijenjena pri mjerenju koncentracija odabranih elemenata kod adekvatno pripremljenih uzoraka pri optimalnim uvjetima rada.
- Najniže određene koncentracije zadanih teških metala su izmjerene za kadmij, čija koncentracija doseže najvišu vrijednost u uzorku kelja (0,19 mg kg^{-1}) , ali ne prelazi granicu toksičnosti kadmijem u biljci (> 3 mg kg^{-1}).
- Najviše koncentracije zadanih teških metala su određene za željezo, čija koncentracija doseže najvišu vrijednost u uzorku kelja (50,715 mg kg^{-1}) koja se nalazi unutar odgovarajućih vrijednosti potrebnih biljkama za normalan rast i razvoj, a one iznose 50-300 mg kg^{-1}.
- Izmjerene koncentracije kadmija u sva 3 uzorka nisu prešle svoju najveću dopuštenu količinu u listovima kupusnjača (0,20 mg kg^{-1}) definiranu Pravilnikom o najvećim dopuštenim količinama kontaminanata u hrani.[1]
- Kod uzorka kelja je najveći broj odabranih teških metala uspješno određen te se nalaze unutar granice detekcije korištenog uređaja (Cd, Cr, Fe, Ni) i izmjerene vrijednosti navedenih metala se sve nalaze unutar uobičajenih koncentracija pojedinih metala kod biljaka, dok izmjerena vrijednost za Cu se nalazila ispod granice detekcije.
- Iako je kod sva 3 uzorka (od detektiranih vrijednosti: za bijeli kupus Fe, za crveni kupus Fe i Cu) za pojedine metale prisutan njihov deficit na temelju normalnih koncentracija u biljnim vrstama nisu prisutni vizualni simptomi nedostatka elementa.
- Nakupljanje i raspodjela teških metala u kupusu ovisi o vrsti teških metala, bioraspoloživosti teških metala, sastavnim dijelovima kupusa, izlučivanju korijena, temperaturi i pH vrijednosti tla.

5. LITERATURA

[1] Pravilnik o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani, Narodne novine br. 146/12.

[2] http://ishranabilja.com.hr/literatura/osnove_agroekologije/Stetne%20tvari%20u%20tlu.pdf (preuzeto: 02.09.2019.)

[3] N. Parađiković, *Opće i specijalno povrćarstvo*, Osijek: Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku , **2009**, str. 339-346, 352-354.

[4]http://www.bilje.hr/POLJOPRIVREDA/AgBase_4/HTML/Kupusnja%C4%8De.html (preuzeto: 02.09.2019.)

[5] Poljoprivredna enciklopedija: *Kupus glavičar i kupusno povrće*, JLZ, Zagreb, **1970**, str. 75-77

[6] http://www.bilje.hr/POLJOPRIVREDA/AgBase_4/HTML/Kupus.html (preuzeto: 02.09.2019.)

[7]http://www.bilje.hr/POLJOPRIVREDA/AgBase_4/HTML/Kelj.html (preuzeto: 02.09.2019.)

[8] N. Rascio, F. Navari-Izzo, *Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting?*, Plant Sci, **2011**, 180, 169-181.

[9]http://kakanj.com.ba/v4/wp-content/uploads/2014/08/Elaborat-o-zastiti-zemljista.pdf (preuzeto: 09. 09.2019.)

[10] Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja, Narodne novine br. 9/14

[11]http://ishranabilja.com.hr/literatura/osnove_agroekologije/Biljna%20hraniva%20i%20toksicni%20elementi_AGEKO.pdf (preuzeto: 08.09.2019.)

[12] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, **1999**, str. 595-596, 613.

[13] R. D. Beaty, J. D. Kerber, *Concepts, Instrumentation and Techniques in Absorption Spectrophotometry*, Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, **1993**, str. 11, 17-18.

[14] L. Kukoč-Modun, *Interna prezentacija: Spektrometrijske metode elementne analize*, Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet, **2011.**

[15] C. Radulescu, C. Stihi, I.V. Popescu, I.D. Dulama, E.D. Chelarescu, A. Chilian, *HEAVY METAL ACCUMULATION AND TRANSLOCATION IN DIFFERENT PARTS OF BRASSICA OLERACEA L*, Rom. Journ. Phys., **2013**, 58, 1337-1354.

[16] http://customers.hbci.com/~wenonah/min-def/index.html (preuzeto: 21.09.2019.)

[17] http://customers.hbci.com/~wenonah/min-def/part4.htm (preuzeto: 21.09.2019.)

[18] Z. Stančić, D. Vujević, A. Gomaz, S. Bogdan, D. Vincek, *Detection of heavy metals in common vegetables at Varaždin City Market, Croatia*, Arh Hig Rada Toksikol, **2016**, 67, 340-350.

[19] D. Jurić, D. Puntarić, V. Gvozdić, D. Vidosavljević, Z. Lončarić, A. Puntarić, E. Puntarić, I. Puntarić, S. Šijanović, M. Vidosavljević, *Kupus (Brassica oleracea var. Capitata) kao jedan od pokazatelja mogućeg onečišćenja okoliša metalima i metaloidima u istočnoj Hrvatskoj*, Med Jad, **2017**, 47(1-2), 39-48.