

# Određivanje koncentracije željeza u obogaćenim klicama biljke *Brassica oleracea* atomskom apsorpcijskom spektroskopijom

---

**Bartulović, Donna**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*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:167:665810>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-08-17**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of chemistry and technology - University of Split](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET**

**ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE ŽELJEZA U OBOGAĆENIM KLICAMA  
BILJKE *BRASSICA OLERACEA* ATOMSKOM APSORPCIJSKOM  
SPEKTROSKOPIJOM**

**ZAVRŠNI RAD**

**DONNA BARTULOVIĆ**

**MATIČNI BROJ : 423**

**Split, rujan 2022.**



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**KEMIJSKO – TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
**PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE**

**ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE ŽELJEZA U OBOGAĆENIM KLICAMA**  
**BILJKE *BRASSICA OLERACEA* ATOMSKOM APSORPCIJSKOM**  
**SPEKTROSKOPIJOM**

**ZAVRŠNI RAD**

**DONNA BARTULOVIĆ**

**MATIČNI BROJ : 423**

**Split, rujan 2022.**

**UNIVERSITY OF SPLIT**  
**FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY**  
**UNDERGRADUTE STUDY IN CHEMISTRY**

**DETERMINATION OF IRON CONCENTRATION IN ENRICHED SPROUTS**  
**OF *BRASSICA OLERACEA* PLANT BY ATOMIC ABSORPTION**  
**SPECTROSCOPY**

**BACHELOR THESIS**

**DONNA BARTULOVIĆ**

**Parent number : 423**

**Split, September 2022.**

Sveučilište u Splitu  
Kemijско-tehnološki fakultet u Splitu  
Preddiplomski studij Kemije

**Znanstveno područje:** Prirodne znanosti

**Znanstveno polje:** Kemija

**Tema rada je prihvaćena na 25. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijско-tehnološkog fakulteta**

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Lea Kukoč Modun

**Pomoć pri izradi:** doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek

**ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE ŽELJEZA U OBOGAĆENIM KLICAMA BILJKE  
*BRASSICA OLERACEA* ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROSKOPIJOM**

Donna Bartulović, 423

**Sažetak:**

Atomska apsorpcijska spektroskopija je analitička tehnika koja omogućava lako kvantitativno određivanje metala u uzorku. U ovom radu je prikazano zasićenje biljke *Brassice oleraceae* željezom te njezino razvijanje pod utjecajem većih količina željeza. Analizom je utvrđeno da prilikom prezasićenja sjemena željezom neće doći do razvoja biljke.

**Ključne riječi:** željezo, brokula, *Brassica oleracea* var. *Italica*, atomska apsorpcijska spektroskopija, akumulacija

**Rad sadrži:** 28 stranica, 23 slika, 3 tablica, 18 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za obranu:**

1. Doc. dr. sc. Franko Burčul - član
2. Doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek – član mentor
3. Izv. prof. dr. sc. Lea Kukoč Modun – predsjednik

**Datum obrane:**

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

**BASIC DOCUMENTATION CARD**

**BACHELOR THESIS**

**University of Split**  
**Faculty of Chemistry and Technology Split**  
**Undergraduate study in Chemistry**

**Scientific area:** Natural Sciences

**Scientific field:** Chemistry

**Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 25**

**Mentor:** Lea Kukoč Modun, PhD, associate professor

**Technical assistance:** Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor

**DETERMINATION OF IRON CONCENTRATION IN ENRICHED SPROUTS OF *BRASSICA OLERACEA* PLANT BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY**

Donna Bartulović, 423

**Abstract:**

Atomic absorption spectroscopy is an analytical technique that enables easy quantitative determination of metals in a sample. This paper shows the saturation of the *Brassica oleraceae* plant with iron and its development under the influence of larger amounts of iron. The analysis determined that when the seed is oversaturated with iron, the plant will not develop.

**Keywords :** iron, broccoli, *Brassica oleracea* var. *Italica*, atomic absorption spectroscopy, accumulation

**Thesis contains:** 28 pages, 23 figures, 3 tables, 18 references

**Original in:** Croatian

**Defence committee:**

1. PhD, Franko Burčul. Assistant professor– chairperson
2. PhD, Mario Nikola Mužek, Assistant professor - member
3. PhD, Lea Kukoč Modun, Associate professor– supervisor

**Defence date:**

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





*Završni rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Lee Kukoč Modun, u razdoblju od ožujka 2022. do srpnja 2022. godine.*

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

*Veliku zahvalnost dugujem mentorici izv. prof. dr. sc. Lei Kukoč Modun na savjetovanju, pomoći i detaljnim objašnjenjima prilikom izrade ovog završnog rada. Od srca zahvaljujem mojoj obitelji i prijateljima na strpljenju, razumijevanju i potpori tijekom studiranja. Najveća hvala mom ocu na podršci te mojoj preminuloj majci koja mi je uvijek davala snage.*

## ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

1. Zasićenje biljke *Brassica oleracea* var. *Italica* željezom
2. Priprema biljnog materijala za analizu atomskom apsorpcijskom spektrometrijom
3. Određivanje količine željeza u uzorku biljke atomskom apsorpcijskom spektrometrijom
4. Postaviti zaključak na temelju dobivenih podataka

## **SAŽETAK**

Atomska apsorpcijska spektroskopija je analitička tehnika koja omogućava lako kvantitativno određivanje metala u uzorku. U ovom radu je prikazano zasićenje biljke *Brassica oleraceae* var. *Italica* željezom te njezino razvijanje pod utjecajem većih količina željeza. Analizom je utvrđeno da prilikom prezasićenja sjemena željezom neće doći do razvoja biljke.

**Ključne riječi :** željezo, brokula, *Brassica oleracea* var. *Italica*, atomska apsorpcijska spektroskopija, akumulacija

## **SUMMARY**

Atomic absorption spectroscopy is an analytical technique that enables easy quantitative determination of metals in a sample. This paper shows the saturation of the *Brassica oleracea* var. *Italica* plant with iron and its development under the influence of larger amounts of iron. The analysis determined that when the seed is oversaturated with iron, the plant will not develop.

**Keywords** : iron, broccoli, *Brassica oleracea* var. *Italica*, atomic absorption spectroscopy, accumulation

## Sadržaj

|  |    |
|--|----|
| 1. OPĆI DIO.....   | 2  |
| 1.1. <i>Brassica oleracea</i> var. <i>Italica</i> ( Brokula ) .....  | 2  |
| 1.1.1. Morfologija brokule.....  | 3  |
| 1.1.2. Hranjiva vrijednost brokule .....   | 3  |
| 1.1.3. Uvjeti uzgoja.....  | 5  |
| 1.2. Željezo .....   | 5  |
| 1.2.1. Toksični učinci željeza .....   | 6  |
| 1.3. Atomska apsorpcijska spektroskopija .....   | 6  |
| 1.3.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija , povijest i uređaj .....   | 7  |
| 1.3.2. Izvor elektromagnetskog zračenja .....  | 8  |
| 1.3.3. Optički sustav i detektor .....   | 10 |
| 1.3.4. Atomizacija uzorka .....  | 12 |
| 1.3.5. Interferencije i umjeravanje uređaja.....   | 14 |
| 2. MATERIJALI I METODE .....   | 17 |
| 2.1. Materijali .....  | 17 |
| 2.2. Metode.....   | 17 |
| 2.2.1. Priprema uzorka .....   | 17 |
| 2.2.2. Priprema biljnog materijala za analizu .....  | 18 |
| 2.2.3. Priprema standardnih otopina željeza i slijepe probe za analizu<br>uzorka atomskom apsorpcijskom spektroskopijom..... | 20 |
| 3. REZULTATI I RASPRAVA .....  | 22 |
| 3.1. Krivulja umjeravanja za određivanje koncentracije željeza atomskom<br>apsorpcijskom spektroskopijom.....                | 22 |
| 3.1. Koncentracije željeza u brokuli .....   | 23 |
| 4. ZAKLJUČAK.....  | 26 |
| 5. LITERATURA .....  | 27 |

## UVOD

Atomska apsorpcijska spektroskopija je analitička tehnika koja se ubraja u apsorpcijske spektroskopske tehnike temeljene na apsorpciji atoma analita u uzorku, koji je u formi bistre homogene otopine, gdje je apsorbirana energija proporcionalna koncentraciji analita. Tehnika koja je široko primijenjena u praksi; selektivna i osjetljiva te je kao takva značajna u kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi tragova metala u raznim uzorcima. *Brassica oleracea* var. *Italica* poznata pod nazivom brokula je dvogodišnje povrće iz porodice kupusnjača. Brokula je poznata još od rimskog doba kao cijenjeno povrće. Ime joj potječe od latinske riječi *bracchium* što u prijevodu znači grana ili jaka ruka a odnosi se na izgled brokulinih izdanaka. Sadrži vitamin C, A, B6, pantotensku kiselinu, riboflavin, kalcij, magnezij, željezo, fosfor i kalij. Željezo (Fe) je kemijski element koji spada u prijelazne elemente. Elementarno željezo je kemijski otporno te njegova električna i toplinska provodnost iznose samo petinu do šestinu provodnosti bakra. Željezo je feromagnetično što znači da zadržava magnetska svojstva i prestankom djelovanja magnetskog polja. Najiskorišteniji je od svih metala te njegova proizvodnja čini 95% (maseno) od ukupne svjetske proizvodnje metala. Željezo je čovjeku poznato još od prapovijesnog doba u kojem je obilježilo jedno cijelo tehnološko i kulturno razdoblje. Od željeza se izrađuju golemi proizvodi kao što su najrazličitiji strojevi, vozila, brodovi, itd. Važno je i za život biljaka i životinja pa ga mora sadržavati hrana toplokrvnih životinja i zemlja u kojoj rastu biljke. Glavna uloga željeza u našoj krvi je prijenos kisika. Željezo je u krvi sastavni dio krvnog pigmenta tzv. hemoglobina koji je nazvan pigmentom jer daje crvenu boju krvi a željezo je njegova najvažnija komponenta. Također ima još jednu važnu ulogu u ljudskom organizmu a to je da sudjeluje u specifičnim procesima u stanicama u kojima se proizvodi energija koju organizam koristi za rad i aktivnost. Cilj ovog rada je ispitivanje pod kojim se količinama željeza *Brassica oleracea* var. *Italica* može najbolje razvijati.

# 1. OPĆI DIO

## 1.1. *Brassica oleracea* var. *Italica* ( Brokula )

**Domena:** Eukaryota

**Carstvo:** Plantae

**Razred:** Dicotyledonae

**Red:** Spermatophyta

**Porodica:** Brassicaceae

**Rod:** Brassica

**Vrsta:** *Brassica oleracea* var. *italica*

**Narodna imena :** Kaulin, kavolin<sup>4</sup>



**Slika 1.** Brokula (*Brassica oleracea* var. *Italica*)<sup>1</sup>

Brokula je povrće koje potječe iz obitelji kupusnjača. Poznata je još od rimskog doba gdje se koristila kao jako cijenjeno povrće. Zbog velikog sadržaja vitamina koji su prisutni u



brokuli, česta je namirnica u kućanstvu. Tijekom 2018 – te godine globalna proizvodnja brokule je iznosila i do nekoliko milijuna tona, najviše u Kini i Indiji a zatim SAD, Španjolska, Meksiko i Italija. *Brassica oleracea* var. *Italica* je neophodna za zdravlje, pomlađivanje te detoksikaciju organizma. Zbog širokog područja upotrebe, znanstvenici su istražili kako brokula utječe na neke ozbiljnije bolesti kao na primjer artritis, rak i bolesti oka. Uočeno je da neki sastojci pronađeni u brokuli zaista imaju pozitivan učinak u sprječavanju nastanka navedenih bolesti.<sup>4</sup>

### **1.1.1. Morfologija brokule**

Brokula je dvogodišnja biljka no uzgaja se kao jednogodišnja. Koriijen brokule sličan je korijenu ostalih kupusnjača. Stabiljka joj je visine 100 cm a listovi su na srednje dugim peteljka sivo zelene do plavičasto zelene boje. Bere se kada dosegne određenu veličinu glavice. Važno je napomenuti da se brokula bere prije otvaranja cvjetova. Vršni cvatovi mogu biti promjera 8 cm – 20 cm i mase 150 g – 650 g. Nakon skidanja vršnih pupova potrebno je 15 dana – 20 dana da se razviju bočni cvatovi. Za upotrebu u svježem stanju uglavnom se koriste vršni cvatovi. Sezona brokule je od listopada do travnja.<sup>3</sup>

### **1.1.2. Hranjiva vrijednost brokule**

Brokula je bogata raznim vitaminima i mineralima. Sadrži vitamin C, provitamin A, vitamin B6, pantotensku kiselinu, riboflavin, kalcij, magnezij, željezo, fosfor i kalij. Neke od aktivnih tvari sadrže sumpor kao na primjer indol karbinol i sulforafan. Osim navedenih sastojaka u brokuli su pronađeni sastojci koji štite od raka (3,3 – dindolilmetan i glukorafanin). Brokula jača imunitet te regulira krvni tlak, također regulira probavu i smanjuje kolesterol. Osim pupoljaka jestivo je i lišće brokule koje se može jesti i sirovo i kuhano no preporuča se kuhati brokulu 3 min – 5 min kako bi održala svoje nutritivne vrijednosti.<sup>3</sup>

**Tablica 1.** Nutritivni sastav brokule (*Brassica oleracea* var. *Italica*)

| <b>Nutrijent</b>                          | <b>Mjerna jedinica</b> | <b>Količina</b> |
|---|------------------------|-----------------|
| <b>Energetska vrijednost</b>              | kcal                   | 34              |
| <b>Ukupno proteina</b>                    | g                      | 2,82            |
| <b>Ukupno ugljikohidrata</b>              | g                      | 6,64            |
| <b>Ukupno masti</b>                       | g                      | 0,37            |
| <b>– od toga: zasićene masne kiseline</b> | g                      | 0,039           |
| <b>Dijetalna vlakna</b>                   | g                      | 2,6             |
| <b>Ukupno šećera</b>                      | g                      | 1,70            |
| <b>Voda</b>                               | g                      | 89,30           |
| <b>Vitamin C</b>                          | mg                     | 89,2            |
| <b>Vitamin B1 (Tiamin)</b>                | mg                     | 0,071           |
| <b>Vitamin B2 (Riboflavin)</b>            | mg                     | 0,117           |
| <b>Vitamin B3 (Niacin)</b>                | mg                     | 0,639           |
| <b>Vitamin B5 (Pantotenska kiselina)</b>  | mg                     | 0,573           |
| <b>Vitamin B6 (Piridoksin)</b>            | mg                     | 0,175           |
| <b>Folati</b>                             | mg                     | 63              |
| <b>Vitamin A</b>                          | IU                     | 623             |
| <b>Vitamin D</b>                          | IU                     | 0               |
| <b>Vitamin E</b>                          | mg                     | 0,78            |
| <b>Vitamin K</b>                          | mg                     | 101,6           |
| <b>Kalcij(Ca)</b>                         | mg                     | 47              |
| <b>Željezo (Fe)</b>                       | mg                     | 0,73            |
| <b>Magnezij (Mg)</b>                      | mg                     | 21              |
| <b>Fosfor (P)</b>                         | mg                     | 66              |
| <b>Kalij(K)</b>                           | mg                     | 316             |
| <b>Natrij (Na)</b>                        | mg                     | 33              |
| <b>Cink (Zn)</b>                          | mg                     | 0,41            |
| <b>Bakar (Cu)</b>                         | mg                     | 0,049           |
| <b>Mangan (Mn)</b>                        | mg                     | 0,210           |
| <b>Selen (Se)</b>                         | mg                     | 2,5             |

### 1.1.3. Uvjeti uzgoja

Optimalna temperatura za rast i razvoj brokule je od 14 ° C – 19 ° C. Kako bi došlo do formiranja cvata , mora proći određeno razdoblje niskih temperatura. Prilikom sadnje važno je dobro zalijevati brokulu te ako su visoke temperature prvih dana je treba zalijevati svaki dan. Što se tiče ostalih zahtjeva, brokula ih ima najmanje u odnosu na druge kupusnjače. Tlo bi trebalo biti slabo kiselo do neutralno (pH raspon : 6,0 – 6,5). Zbog plitkog korijena treba se osigurati dostupna i redovita gnojidba tijekom vegetacije. Rasađuje se u srpnju. Brokula je spremna za berbu 100 dana – 120 dana nakon sjetve. Biljka se uzgaja iz presadnica , kada ima 4 – 5 dobro razvijenih listova. Razmak sadnje u redu je 30 cm – 40 cm dok je između biljaka 70 cm.<sup>3</sup>



**Slika 2.** Klice brokule

## 1.2. Željezo

Željezo (Fe) u ljudski organizam najčešće dolazi putem probavnog sustava, ali je moguće 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. Željezo se smatra 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

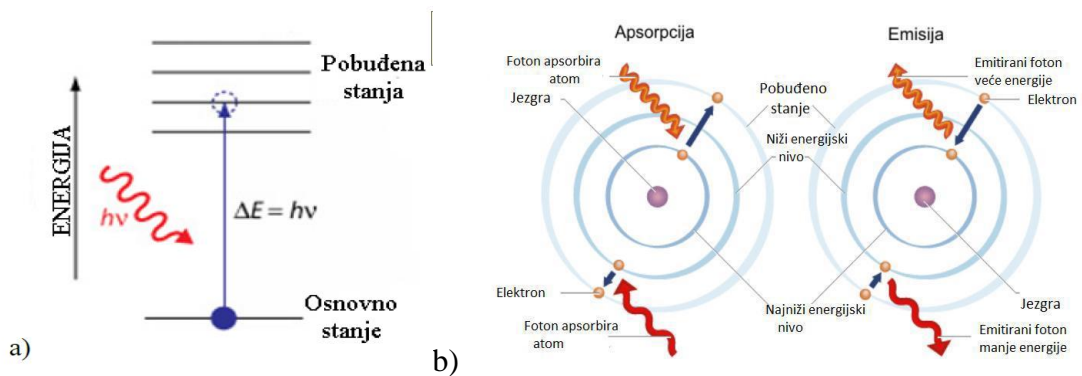
uključuju široki spektar bolesti anemije do neurodegenerativnih poremećaja. Vrlo je važno održavati optimalnu razinu željeza u ljudskom organizmu.<sup>5,6</sup>

### **1.2.1. Toksični učinci željeza**

Najčešći oblici trovanja 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.<sup>7</sup>

### **1.3. Atomska apsorpcijska spektroskopija**

Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS) analitička je tehnika koja je temeljena na sposobnosti atoma da apsorbira elektromagnetsko zračenje – svjetlost. Svjetlost je oblik elektromagnetskog zračenja koje se može opisati valnim i čestičnim svojstvima. Međudjelovanje tvari i elektromagnetskog zračenja je najlakše objasniti opisujući zračenje kao energijske čestice, koje se nazivaju fotoni. Uzorak apsorbira foton te preuzima od njega energiju i prelazi iz osnovnog energijskog stanja u pobuđeno (Slika 3. a). Apsorpcija u ultraljubičastom i vidljivom dijelu spektra (190 nm – 860 nm) dovodi do prijelaza valentnih elektrona iz osnovnog u pobuđeno stanje (Slika 3. b). Broj apsorbiranih fotona je analitički signal koji se naziva apsorbancija. Pri tome energija ulaznog fotona  $h\nu$ , mora biti jednaka razlici energija  $\Delta E$ , između osnovnog i pobuđenog stanja kao preduvjet da bi došlo do apsorpcije.



**Slika 3.** a) Linijski apsorpcijski spektar ; b) Elektroni apsorbiraju elektromagnetsko zračenje (fotone) <sup>14</sup>

Atomske apsorpcijske spektre karakteriziraju uski linijski spektri koji su posljedica konstantne razlike između osnovnog i pobuđenog stanja atoma. Važno je napomenuti da kod AAS atom ne reemitira apsorbirano zračenje nego se to zračenje većinom otpušta kao toplina- reemitirano zračenje znatno ne utječe na rezultat analize. Vrijedi Lambert – Beerov zakon što znači da je koncentracija analita u uzorku izravno proporcionalna apsorpciji odnosno smanjenju intenziteta ulaznog zračenja.<sup>11,12,13,14,16,17</sup>

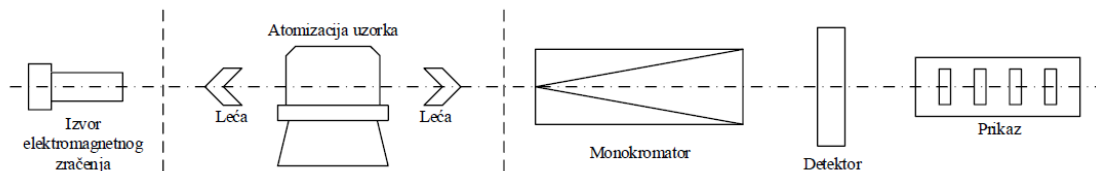
### 1.3.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija , povijest i uređaj

Guystav Kirchoff i Robert Bunsen su prvi put sredinom 19. stoljeća koristili atomsku apsorpcijsku spektroskopiju kod identifikacije atoma u plamenu i vrućim plinovima. 1955. ova tehnika je usavršena radom dvaju spomenutih znanstvenika, a prvi rad se pojavio 60 – ih godina prošlog stoljeća. Danas se atomska apsorpcijska spektroskopija koristi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu gotovo svih alkalijskih, zemnoalkalijskih i prijelaznih metala (Slika 4.). Ova tehnika se najčešće koristi u kliničkim analizama, analizama uzoraka iz okoliša, određivanju sastava farmaceutskih pripravaka te industriji i rudarstvu.

|    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| H  |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | He |
| Li | Be |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | B  | C  | N  | O  | F  | Ne |
| Na | Mg |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    | Al | Si | P  | S  | Cl | Ar |
| K  | Ca | Sc | Ti | V  | Cr | Mn | Fe | Co | Ni | Cu | Zn | Ga | Ge | As | Se | Br | Kr |
| Rb | Sr | Y  | Zr | Nb | Mb | Tc | Ru | Rh | Pd | Ag | Cd | In | Sn | Sb | Te | I  | Xe |
| Cs | Ba | La | Hf | Ta | W  | Re | Os | Ir | Pt | Au | Hg | Tl | Pb | Bi | Po | At | Rn |
| Fr | Ra | Ac |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |

**Slika 4.** Ružičasto obojeni elementi se mogu odrediti korištenjem atomske apsorpcijske spektroskopije ( AAS )<sup>14</sup>

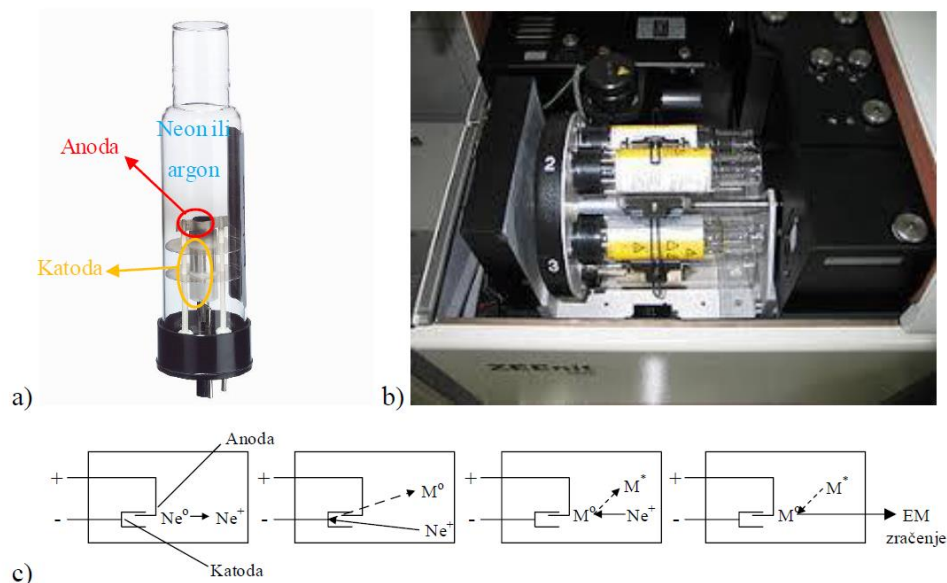
Spektrometar je složen uređaj. Sastavljen je od više dijelova : izvor elektromagnetskog zračenja, dio koji je zadužen za atomizaciju uzorka, monokromator, pojačalo, detektor te grafičko sučelje (Slika 5.). Suvremeniji uređaji imaju i samouzorkivač, dio koji je zadužen za automatsko uzorkovanje.<sup>11,12,13,17</sup>



**Slika 5.** Shema atomskog apsorpcijskog spektrometra<sup>14</sup>

### 1.3.2. Izvor elektromagnetskog zračenja

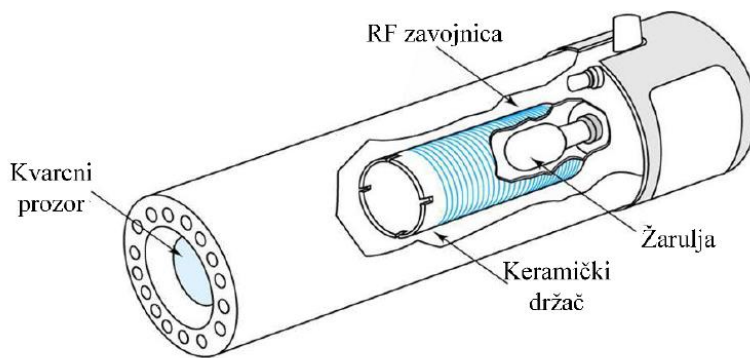
Unatoč primjeni atomske apsorpcijske spektroskopije sredinom 19. stoljeća, razvoj je uslijedio tek kasnije. Najveći problem je predstavljala potreba za visokom rezolucijom kako bi se postigla kvantitativna mjerenja (monokromatori za izolaciju spektralnih linija užih od 0,1 nm su bili preskupi). A. C. Walsh, australski znanstvenik, je prvi doskočio ovom problemu te je kao najbolje rješenje predstavio izvore zračenja koji emitiraju usko područje valnih duljina – žarulja sa šupljom katodom (engl. *Hollow cathode lamp*, HCL, Slika 6.).



**Slika 6.** a) Žarulja sa šupljom katodom ; b) Sustav sa više žarulja u jednom uređaju ; c) Princip rada i emitiranja žarulje sa šupljom katodom<sup>14</sup>

Žarulja sa šupljom katodom je zatvorena staklena cijev koja je ispunjena neonom ili argonom pri niskom tlaku. Kada se na katodu i anodu primjeni razlika potencijala od 300 V – 400 V, molekule inertnog plina se ioniziraju. Pozitivni ioni plina se sudaraju s negativno naelektriziranom katodom, koja je načinjena od izrazito čistog metala od interesa u uzorku te dovode do raspršenja atoma metala stvarajući pobuđeni oblak istih. Prilikom vraćanja u osnovno stanje ti atomi emitiraju elektromagnetsko zračenje točno određenih valnih duljina. Nakon povratka u osnovno stanje ti atomi se ili vraćaju na katodu ili se talože na staklenoj stjenci (Slika 6. c).

Za analizu svakog pojedinog metala u uzorku je potrebno imati odgovarajuće žarulje (više žarulja u jednom uređaju, Slika 6.b) s katodom izrađenom od čistog metala koji se analizira. Žarulje imaju ograničen vijek trajanja jer se radom troše. Za hlapljive metale žarulja sa šupljom katodom ne predstavlja dobar izvor zračenja. U takvom slučaju koristi se pouzdaniji i snažniji izvor elektromagnetskog zračenja – bez elektroda žarulja uz izbijanje (engl. *Electrodeless Discharge Lamp* , EDL, Slika 7.). U ovom slučaju ne postoje elektrode nego se metal od interesa nalazi u kvarcnoj žarulji, koja je okružena zavojnicom koja proizvodi zračenje unutar frekvencija radiovalova. Ta zavojnica pobuđuje metal unutar žarulje te ga potiče na emitiranje elektromagnetskog zračenja.<sup>11,12,14,17</sup>

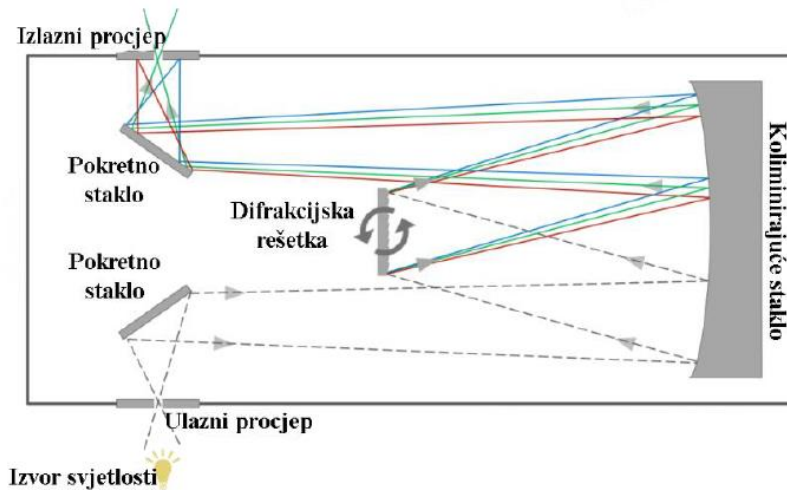


**Slika 7.** Bezelektrodna žarulja<sup>14</sup>

### 1.3.3. Optički sustav i detektor

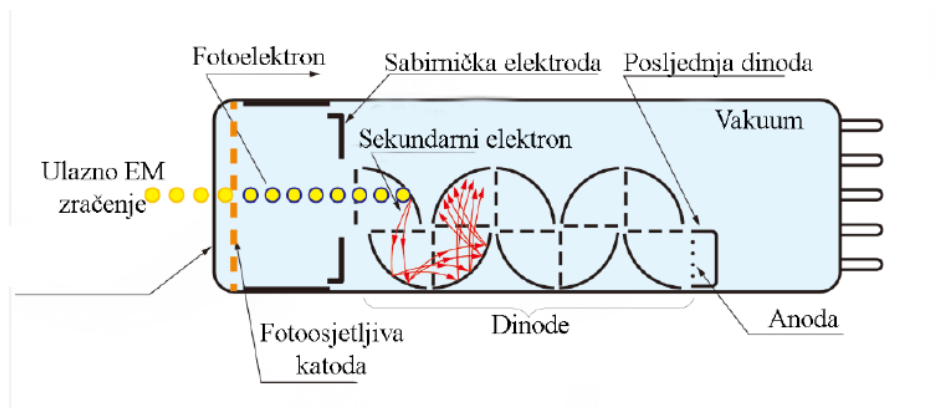
Optički dio služi za fokusiranje i filtriranje zračenja prije i poslije uzorka. Najvažnija komponenta je monokromator, Slika 8. Monokromator od skupa valnih duljina elektromagnetskog zračenja izdvaja blizak raspon susjednih valnih duljina, a sastavljen je od pokretnih, zakrivljenih zrcala te leća. Žarulja sa šupljom katodom ne emitira samo jednu valnu duljinu pa se stoga monokromatorom najčešće bira ona koja daje najveću osjetljivost (najveće smanjenje intenziteta ulaznog zračenja), ali kada je riječ o visokim koncentracijama analita u uzorku onda se bira jedna od sporednih valnih duljina jer tada nije potrebna vrlo velika osjetljivost. Sljedeće rješenje bi bilo razrjeđivanje uzorka koje daje točnije rezultate zbog veće linearnosti Beerovog zakona.





**Slika 8.** Shematski prikaz monokromatora<sup>14</sup>

Najčešći detektor je fotomultiplikator (Slika 9.) koji je u osnovi elektronska cijev. Glavna mu je svrha pojačavanje i pretvaranje elektromagnetskog zračenja u električni signal. Elektroni se ubrzavaju i njihov broj povećava preko niza dinoda te struja mjeri na kolektorskoj anodi. Struja je i dalje proporcionalna ulaznom intenzitetu zračenja ali je pojačana do milijun puta.<sup>14,16,17</sup>



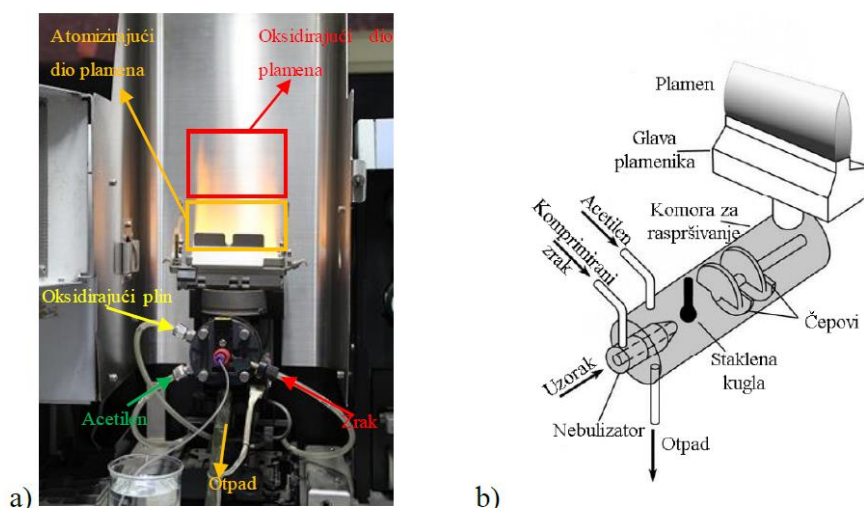
**Slika 9.** Shematski prikaz fotomultiplikatora<sup>14</sup>

### 1.3.4. Atomizacija uzorka

Proces prevođenja analita u plinovito stanje slobodnih atoma se naziva atomizacija. Kod atomizacije ne smije doći do prelaska atoma u pobuđeno energijsko stanje. Zbog više vrsta atomizacija odabir ovisi o potrebama analize i vrsti analita u uzorku.<sup>12,14,17</sup>

#### a) Atomizacija plamenom

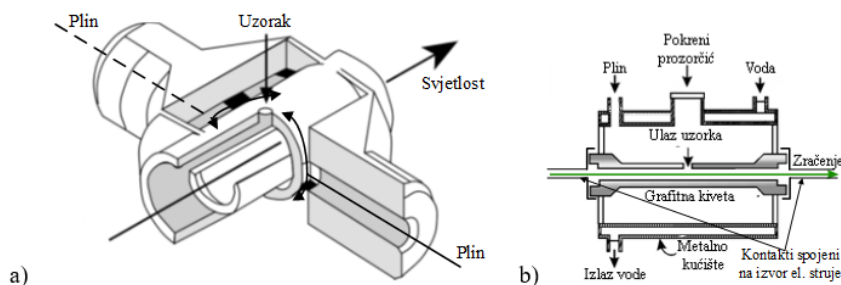
Atomizacija plamenom (Slika 10. a) predstavlja tehniku koja zahtjeva konstantan protok uzorka dok je potrošnja približno 2 mL – 5 mL. Komprimirani zrak prolazi kroz sustav i za sobom povlači tekući uzorak pomoću kapilare koja je uronjena u uzorak. Mjesto gdje se susreću komponente se naziva nebulizator. Za vrijeme izlaska iz nebulizatora smjesa ulazi u komoru za raspršivanje gdje udara u staklenu kuglu te se raspršuje u fini aerosol. U komori se miješa sa acetilenom, a zatim dolazi do glave plamenika gdje energija plamena suši aerosol pa te suhe čestice isparavaju stvarajući slobodne atome drugih čestica (Slika 10. b). Prihvatljiva cijena i velika brzina analita daju najveću prednost plamene atomizacije. No potrebna je relativno velika količina uzorka, a osjetljivost je puno manja u odnosu na elektroplinsku atomizaciju jer većina čestica koja uđe u nebulizator i komoru za raspršivanje ne dođe do plamena.<sup>14,17</sup>



Slika 10. a) Atomizacija plamenom ; b) Shematski prikaz atomizacije plamenom<sup>14</sup>

## b) Elektrolinska atomizacija

Elektrolinska atomizacija daje veću osjetljivost, a temelji se na zagrijavanju pomoću električne energije. Poznata je i pod nazivom grafitna peć jer je središte procesa mala grafitna kiveta (Slika 11. a) u koju se injektira 5  $\mu\text{L}$  – 50  $\mu\text{L}$  uzorka pomoću automatiziranog sustava. U prvoj fazi se uzorak suši na približno 110° C uz konstantan protok inertnog plina. Nakon toga ide druga faza koja se naziva piroliza ili spaljivanje. Tijekom ove faze (350 ° C – 1200 ° C) sva se organska tvar prevodi u ugljikov (IV) oksid i vodu, a protok plina je određen programom. Dolazi do atomizacije. Jakost struje naglo raste, temperatura se kreće u rasponu 2000 ° C – 3000 °C. Proces se odvija u periodu od nekoliko milisekundi, protok plina je zaustavljen zbog zadržavanja uzorka u prostoru optičkog puta. Nakon toga slijedi čišćenje što predstavlja dodatno povećanje temperature te maksimalan protok plina da bi se zaštitila sama kiveta, a nakon toga slijedi hlađenje plinom i rashladnom vodom (Slika 11.b). Ova atomizacija omogućuje osjetljivo određivanje analita u uzorku, uz nisku granicu određivanja. Grafitne kivete često imaju podložak koji odgađa atomizaciju uzorka u područje manje promjene temperature što poboljšava i samu točnost maksimuma.<sup>14,16,17</sup>



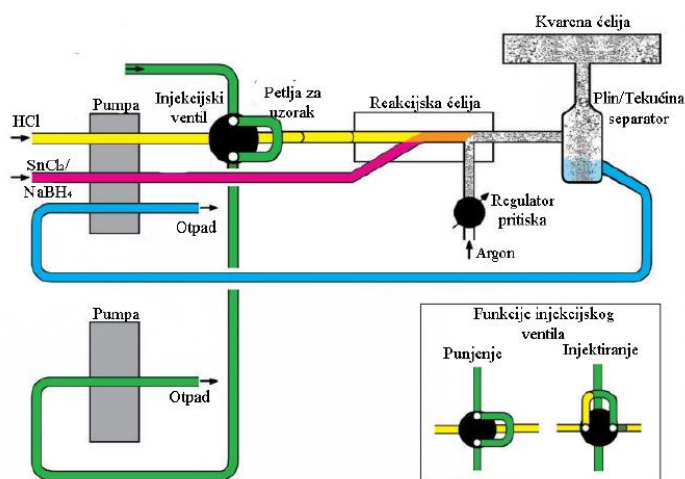
**Slika 11.** a) Grafitna kiveta ; b) Prikaz grafitne kivete u peći<sup>14</sup>

## c) Tehnika hladnih para

Tehnika hladnih para se koristi samo za određivanje žive. Živa je jedini metal koji je na sobnoj temperaturi u tekućem stanju. Živa se prevodi u elementarno stanje uz pomoć kositrov (II) klorid tako da se, blagim zagrijavanjem prevodi u parno stanje, a zatim se inertnim plinom prenosi do kivete koja se nalazi u optičkom putu instrumenta. Prednosti ove tehnike su to što se živa dobro odvaja od matrica što smanjuje interferencije te ima nisku granicu određivanja.<sup>14,16,17,18</sup>

#### d) Atomizacija pomoću stvaranja hidrida

Arsen, selenij, kositar, bizmut, telurij, germanij i olovo su neki od metala koji u reakciji s natrijevim borhidridom u kiselini stvaraju hlapljive hidride. Nakon reakcije, inertni plin nosi hlapljivi hidrid grijane kvarcne ćelije kroz koju prolazi snop elektromagnetskog zračenja (Slika 12.).<sup>14,16,17,18</sup>

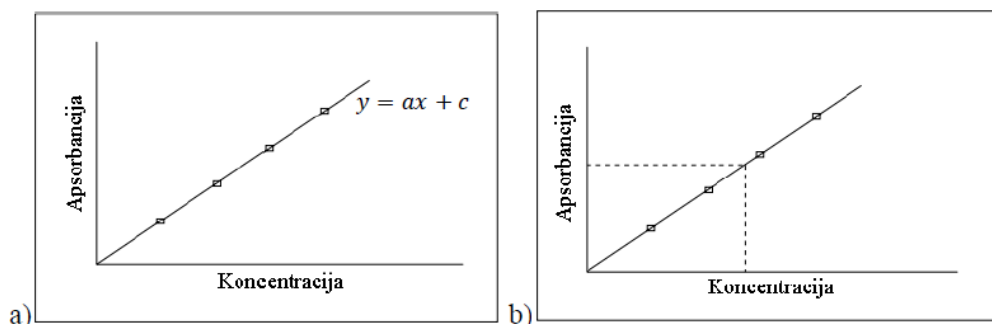


Slika 12. Princip rada hidridne tehnike<sup>14</sup>

#### 1.3.5. Interferencije i umjeravanje uređaja

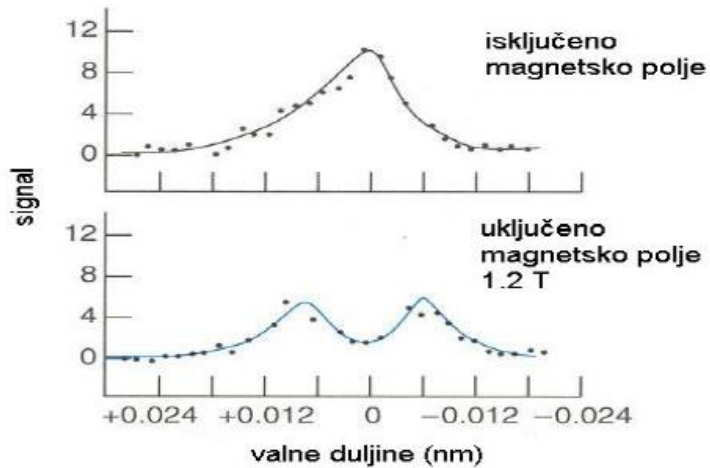
Spektralne interferencije koje su izazvane preklapanjem apsorpcijskog spektra analita i interferencija najčešće ne predstavljaju problem jer su linijski spektri jako uski. Matica uzorka može izazvati kemijske interferencije na način da ili tijekom pirolize odnosi dio analita ili da onemogućava atomizaciju dijela analita. Kod ovakvih slučajeva najlakše je povećati temperaturu atomizacije ili ako je poznat sastav matice uzeti ga u obzir pri pripravi standarda, odnosno primijeniti maskiranje. Pozadinske interferencije se najčešće uklanjaju koristeći dvostruki izvor elektromagnetskog zračenja. Kao kontinuiran izvor elektromagnetskog zračenja širokog spektra duljine koristi se deuterijska lampa, a apsorpcija od strane analita je zanemariva pa se smatra da samo pozadina apsorbira ovaj spektar valnih duljina. Potrebno je prethodno konstruirati krivulju umjeravanja kako bi se atomska apsorpcijska spektroskopija koristila za analizu nepoznate koncentracije analita u uzorku. Ovaj proces se naziva kalibracija. Ova metoda zahtjeva upotrebu standardnih otopina točno određenih koncentracija za koje se mjeri apsorpcija te se

ovisnost apsorbancije o koncentraciji prikazuje grafički. Najprije se odredi jednačba pravca koja povezuje točke grafa a nakon toga se lako određuje nepoznata koncentracija analita mjereći njenu apsorbanciju i uvrštavanjem te vrijednosti u jednačbu pravca. Nakon toga se odredi sama koncentracija analita (Slika 13.).



**Slika 13.** a) Krivulja umjeravanja ; b) Određivanje nepoznate koncentracije analita<sup>14</sup>

Često je potrebno pored razrjeđivanja standardne otopine pripremiti i slijepu probu da bi se oduzela apsorbancija svih vrsta prisutnih u matrici isključujući analit. Nakon pripreme slijepa probe slijedi priprema nekoliko otopina koje se dobivaju razrjeđenjem standardne otopine. Minimalno tri puta se svakoj od tih otopina mjeri apsorbancija tako da se krene od najniže prema najvećoj koncentraciji te se izračuna srednja vrijednost apsorbancije za pojedinu koncentraciju. Nanesu se vrijednosti na graf i odredi se jednačba pravca umjeravanja. Nakon što se u instrument injektira prethodno pripremljeni uzorak, mjerenje se vrši minimalno 3 puta. Od srednje vrijednosti mjerenja oduzima se slijepa proba, a konačna vrijednost se uvrštava u jednačbu pravca i računa koncentracija. Drugi način uklanjanja spektralnih interferencija je Zeemanova pozadinska korekcija koja je najbolja i najskuplja korekcijska tehnika za mnoge elemente. Zeemanov efekt (Slika 14.) polazi od činjenice da se energijski nivoi atoma i molekula mijenjaju kada su postavljeni u magnetskom polju. Kada se magnetsko polje postavi paralelno optičkom putu kroz atomizator apsorpcijska linija analita se dijeli na tri komponente. Dvije postavljene na nižim i višim valnim duljinama, a jedna ostaje na istoj.



**Slika 14.** Zeemanov efekt<sup>14</sup>

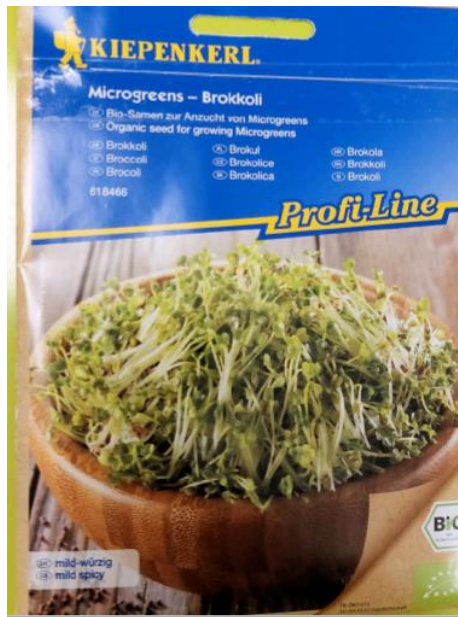
Nepromijenjena komponenta nema odgovarajuću elektromagnetsku polarizaciju da bi apsorbirala svjetlo koje putuje paralelno s magnetskim poljem i zato je „nevidljiva“. Korekcija se izvodi uključivanjem i isključivanjem jakog magnetskog polja. Kad je magnetsko polje isključeno zabilježeni signal je uzrokovan analitom i pozadinom, a kada se polje uključi signal je isključivo posljedica pozadine. Razlika predstavlja ispravljeni signal.<sup>12,14,16,17</sup>

## 2. MATERIJALI I METODE

### 2.1. Materijali

Klice su izvrstan dodatak prehrani kada je svježe povrće organskog podrijetla slabo dostupno. Najbolje ih je koristiti sirove jer se tako sačuvaju prehrambene vrijednosti. U procesu klijanja sjemenke nakon dugog mirovanja dolaze u nove uvjete pogodne za rast. Klice brokule se čak konzumiraju kao funkcionalna hrana jer posjeduju povoljan učinak na zdravlje uz odgovarajuće nutritivno djelovanje.

Za vrijeme ovog eksperimentalnog rada sjeme klice brokule (mase 5 grama) je izloženo različitim koncentracijama željeza ( 0 mg/L ; 1 mg/L ; 2.5 mg/L ; 5 mg/L ; 10 mg/L i 25 mg/L ). Potrebno je bilo osigurati čiste posudice te prozračnu prostoriju.



Slika 15. Sjeme brokule (*Brassica oleracea* var. *Italica*)

### 2.2. Metode

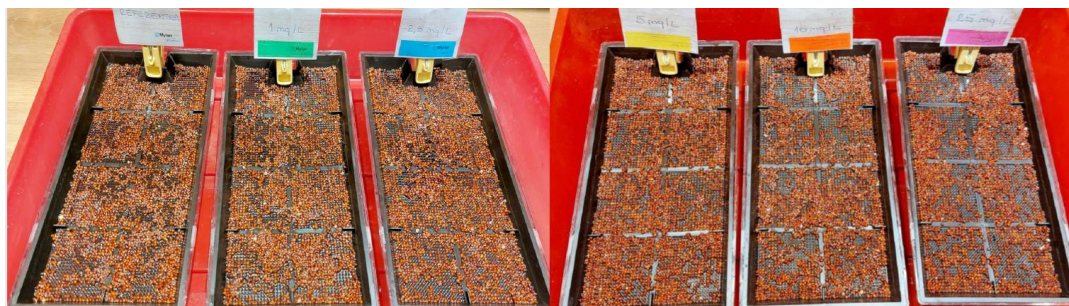
#### 2.2.1. Priprema uzorka

Nakon pripreme navedenih otopina željeza, sjemenke brokule se izvažu te postavljaju na sito posudice za uzgoj. Važe se po 5 grama sjemenki brokule za svaku pripremljenu otopinu. Nakon vaganja se posudice odlože te napune vodovodnom vodom kako bi sjemenke

nabubrile. Tako namočene sjemenke se ostave 24 sata kako bi nabubrile. Po završetku, posudice se pune pripremljenim otopinama po redu. Nakon toga se promatra u kojim od pripremljenih posudica dolazi do klijanja te u kojima dolazi do nepotpunog klijanja. Ovo promatranje traje 7 dana tijekom kojih se bilježe zapažanja.



**Slika 16.** Vaganje količine sjemenki brokule



**Slika 17.** Dodatak pripremljenih otopina željeza u nabubrene sjemenke

### **2.2.2. Priprema biljnog materijala za analizu**

Nakon 7 dana promatranja i zabilješki opažanja utvrđeno je da je u početku najviše klijanja bilo u posudici sa 10 mg/L željeza no nakon 2 dana uočeni su listići kod preostalih posudica, osim u posudici sa 25 mg/L željeza. Zadnji dan uzgoja uočeno je da se kod klica uzgajanih na otopini željeza od 10 mg/L razvio tek poneki listić, klice se nisu uspravile i korijenje je na situ iznad otopine. Kod najviše koncentracije nije uočen razvoj



klica. Klice uzgajane s dodatkom preostalih otopina željeza su dobro napredovale i postigle konzumnu veličinu.



**Slika 18.** Prikaz uzgoja brokule nakon 7 dana pokusa

Po završetku uzgoja biljke se suše, usitnjavaju te slijedi procedura spaljivanja suhog uzorka kako bi se mogla provesti analiza teških metala. Uzima se približno 1 g usitnjene, osušene brokule i stavi u porculanski lončić (Slika 19. a). Zabilježi se točna odvagana masa zbog proračuna. Lončić s materijalom se stavi u žarnu (mufolnu) peć (Slika 19. b) podešenu na 500 °C te se ostavi preko noći ili najmanje 8 sati. Ohlađeni pepeo se otopi u 5 mL HNO<sub>3</sub> te se po potrebi zagrijava. Otopina se propusti kroz kiselinom zasićeni filter papir u tikvicu od 50 mL, a zatim se razrijedi do oznake destiliranom vodom.



**Slika 19.** a) Vaganje približno 1 g brokule ; b) Žarna peć ispunjena porculanskim lončićima koji sadrže usitnjenu odvagu brokule

### 2.2.3. Priprema standardnih otopina željeza i slijepe probe za analizu uzorka atomskom apsorpcijskom spektroskopijom

Kod atomske apsorpcijske spektroskopije linearno dinamično područje krivulje umjeravanja je određeno osjetljivošću instrumenta, koja pak ovisi o apsorptivnosti svakog pojedinog određivanog elementa. Svaki element ima zadanu vrijednost osjetljivosti ( $S$ ) te se krivulja umjeravanja konstruira korištenjem standarda sljedećih koncentracija :  $\frac{1}{2} S$ ,  $S$ ,  $3 S$ , i  $6 S$ . Za element željeza  $S$  iznosi 10 ppm, 20 ppb, 60 ppm i 120 ppm.

**Tablica 2. Preporučeni uvjeti za analizu**

|                           |                      |
|---------------------------|----------------------|
| Element :                 | Fe                   |
| Valna duljina :           | 248,3 nm             |
| Temperatura pirolize :    | 1400 °C              |
| Temperatura atomizacije : | 2100 °C              |
| Osjetljivost ( $S$ )      | 20 $\mu\text{g/L}$   |
| Otapalo :                 | 0,2 % $\text{HNO}_3$ |

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

$$V_k = 10 \text{ mL}$$

$$V_s = \frac{c_{s(x)} \times V_k}{c_s}$$

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

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

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

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

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

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

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

$$V_{s3} = \frac{0,120 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{10 \text{ ppm}} = 0,120 \text{ mL} = 120 \mu\text{L}$$

---

Method Name: Fe ku

Calibration Units : ug/L

Sample Units : ug/L

-----

Calibration Standard Concentrations

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

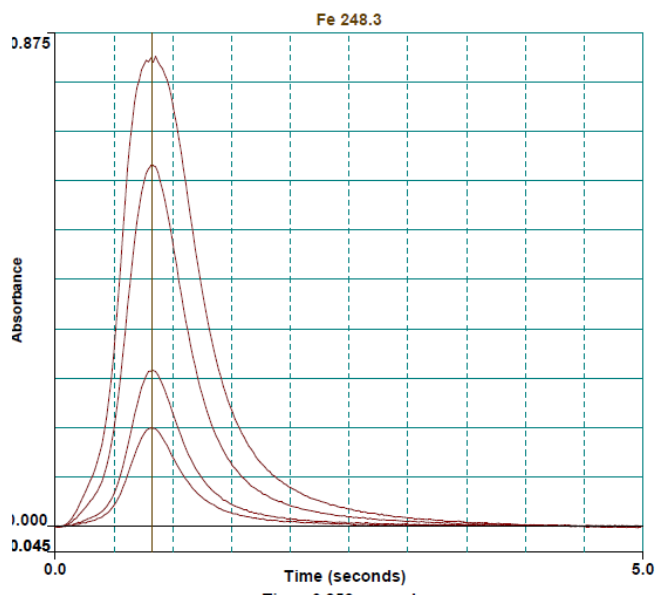
-----

**Slika 20.** Analizirane standardne otopine željeza za izradu krivulje umjeravanja

### 3. REZULTATI I RASPRAVA

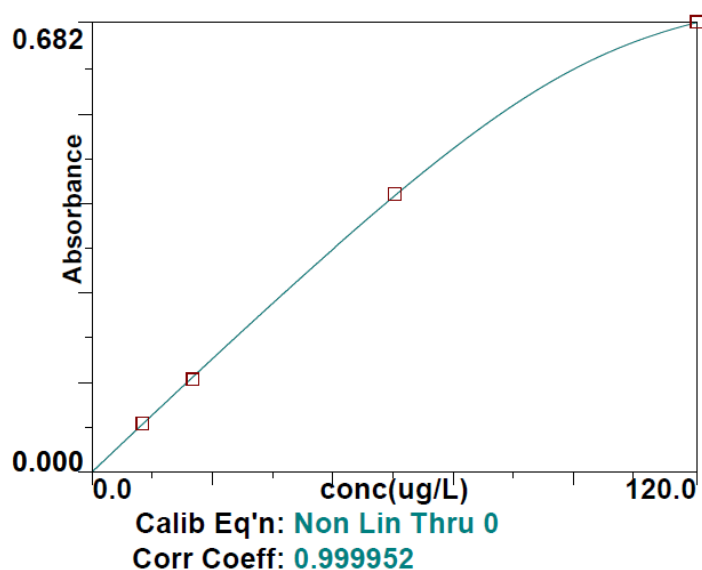
#### 3.1. Krivulja umjeravanja za određivanje koncentracije željeza atomskom apsorpcijskom spektroskopijom

Analizom prethodno pripremljenih standardnih otopina željeza korištenjem atomskog apsorpcijskog spektrometra konstruirana se krivulja umjeravanja (Slika 22.) Apsorbancija za željezo se mjeri na valnoj duljini 248.3 nm.



**Slika 21.** Instrumentni zapis ovisnosti apsorbancije o proteklom vremenu ( atomizacija ) za različite koncentracije željeza

## Fe 248.3



**Slika 22.** Krivulja umjeravanja za željezo

Korištenjem konstruiranih krivulja umjeravanja i jednadžbi pravca za linearni dio krivulje, te signala koji su zabilježeni za svaki uzorak, određene su koncentracije željeza u mjerenoj otopini. Treba uzeti u obzir postupak pripreme mjerne otopine te izvaganu masu uzorka za konačni proračun mase željeza u uzorku.

### 3.1. Koncentracije željeza u brokoli

Konstrukcija krivulje umjeravanja omogućava lako određivanje koncentracija željeza u pripremljenom uzorku. Mjerenja su vršena pri istoj valnoj duljini korištenoj za konstruiranje krivulje umjeravanja, a rezultati su prikazani u Tablici 3.

**Tablica 3.** Rezultati za uzorke sjemenki brokule zalijevanih otopinama željeza različitih koncentracija

| Uzorak | masa   | volumen | Fe AAS  | Fe uzorak | Δ Fe uzorka |
|--------|--------|---------|---------|-----------|-------------|
| oznaka | g      | L       | γ (ppb) | ppm       | ppm         |
| Ref A  | 1,0007 | 0,05    | 1010    | 50,46     |             |
| Ref B  | 1,0518 | 0,05    | 772,5   | 36,72     | 43,59       |
| 1A     | 1,0025 | 0,05    | 1265    | 63,09     |             |
| 1B     | 1,0535 | 0,05    | 1244    | 59,04     | 61,07       |
| 2,5 A  | 1,0146 | 0,05    | 1960    | 96,59     |             |
| 2,5 B  | 1,0318 | 0,05    | 1299    | 62,95     | 79,77       |
| 5A     | 1,0403 | 0,05    | 2289    | 110,02    |             |
| 5B     | 1,0577 | 0,05    | 2403    | 113,60    | 111,81      |
| 10A    | 1,0274 | 0,05    | 21230   | 1033,19   |             |
| 10B    | 1,0548 | 0,05    | 18400   | 872,20    | 952,70      |
| 25A    | 1,0272 | 0,05    | 126,5   | 6,16      |             |
| 25B    | 1,0084 | 0,05    | 98,86   | 4,90      | 5,53        |

Koncentracija željeza u sjemenkama se dobije računski uzimajući u obzir volumen u kojem je materijal bio pripremljen, koncentraciju željeza u tom volumenu te količinu odvaغانog materijala. Potrebno je najprije izračunati koliko je mikrograma željeza prisutno u prethodno pripremljenom dijelu uzorka.

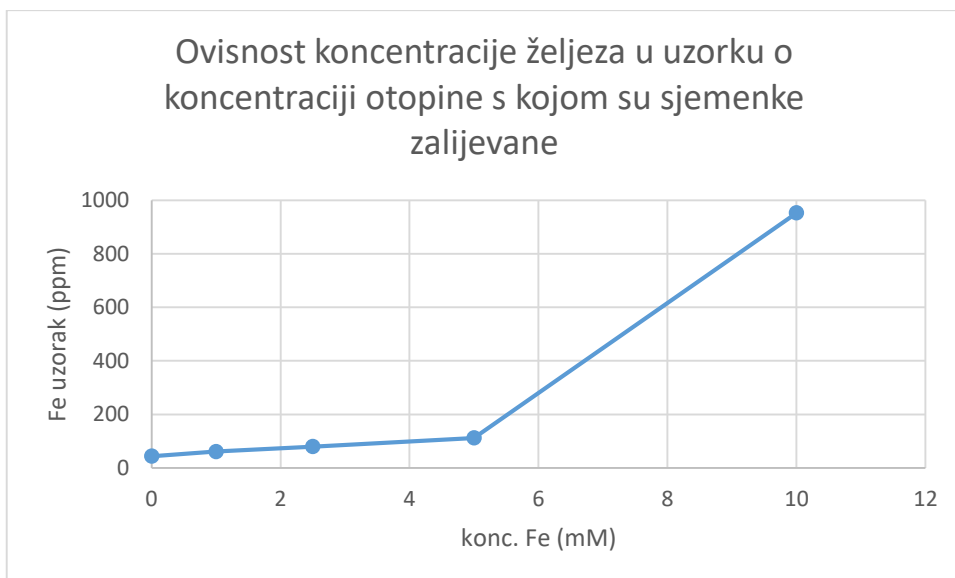
$$\gamma (\text{Fe AAS}) = \frac{m(\text{Fe})}{V}$$

$$m(\text{Fe}) = \gamma (\text{Fe AAS}) \times V = 1010 \text{ ppb} \times 0,05 \text{ L} = 50,5 \text{ } \mu\text{g}.$$

Kako bi se dobio maseni udio željeza u uzorku, gore izračunatu masu je potrebno podijeliti s masom uzorka koja je uzeta u postupku pripreme materijala za analizu atomskom apsorpcijskom spektroskopijom :

$$Fe \text{ uzorak} = \frac{m(\text{Fe})}{m(\text{uzorak})} = \frac{50,5 \text{ } \mu\text{g}}{1,0007 \text{ g}} = \frac{50,46 \text{ } \mu\text{g}}{\text{g}} = 50,46 \text{ ppm}$$

Iz dobivenih podataka se može konstruirati grafički prikaz ovisnosti koncentracije željeza u brokuli o koncentraciji vodene otopine željeza s kojom su sjemenke zalijewane (Slika 23.).



**Slika 23.** Prikaz ovisnosti koncentracije željeza u uzorku o koncentraciji otopine s kojom su sjemenke zalijewane

Iz zabilježenih rezultata mjerenja, prikazanih u Tablici 3 i na slici 23., vidljivo je da sposobnost akumulacije željeza u uzorku raste povećanjem koncentracije željeza do koncentracije od 10 mg/L. Daljnje povišenje koncentracije dovodi do značajnog pada akumulacije željeza u uzorku brokule što je potvrđeno vizualnim praćenjem rasta i razvoja klica. Promatrajući izgled brokule utvrđeno je da je pri većim koncentracijama željeza obustavljeno klijanje te da je došlo do propadanja sjemena. Više koncentracije od 10 mg/L željeza potpuno uništavaju klijanje, no 10 mg/L željeza će znatno smanjiti ukupnu dužinu klice.

#### 4. ZAKLJUČAK

Cilj ovoga rada je bio istražiti moguću sposobnost klica brokule (*Brassica oleracea* var. *italica*) da usvoje željezo.

Sjemenke brokule su se pokazale kao dobar akumulator željeza no prilikom akumulacije koncentracija viših od 10 mg/L dolazi do sušenja biljke i do obustavljanja klijanja brokule.

S obzirom da se željezo smatra esencijalnim elementom, vizualnim praćenjem rasta i razvoja klica brokule, utvrđeno je da je do 10 mg/L koncentracije željeza dodanih u sjemenke brokule potaknulo klijanje te razvijanje listića koji se kasnije mogu koristiti u prehrani. Više koncentracije željeza dovele su do toksičnih učinaka što je uzrokovalo propadanje klica brokule te nije došlo do njihovog razvoja.



## 5. LITERATURA

1. URL : [https://usercontent.one/wp/antropocene.it/wp-content/uploads/2019/01/Brassica\\_oleracea-var-italica-800x445.jpg?media=1655914063](https://usercontent.one/wp/antropocene.it/wp-content/uploads/2019/01/Brassica_oleracea-var-italica-800x445.jpg?media=1655914063) ( 29. lipanj 2022. )
2. URL : <https://alternativa-za-vas.com/index.php/clanak/article/brokula> ( 15. svibanj 2022. )
3. URL : <https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/brokula-139/> ( 15. svibanj 2022. )
4. URL : <https://www.biovrt.com/brokula-brassica-oleracea-italica/> ( 20. svibanj 2022. )
5. URL : <https://www.cabi.org/isc/datasheet/10094> ( 21. svibanj 2022. )
6. URL : <https://en.wikipedia.org/wiki/Broccoli> ( 21. svibanj 2022. )
7. URL : <https://hr.wikipedia.org/wiki/%C5%BDeljezo> (25. svibanj 2022. )
8. URL : <http://zeljezo.ba/uloga-zeljeza/uloga-zeljeza-u-nasem-organizmu/> ( 25. svibanj 2022. )
9. URL : <https://www.spar.hr/dobar-tek/dobro-je-znati/lifestyle/top-7-namirnica-u-kojima-caruje-zeljezo> ( 25. svibanj 2022 )
10. URL : <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=4486> ( 1. lipanj 2022. )
11. URL : [https://hr.wikipedia.org/wiki/Atomska\\_spektrometrija](https://hr.wikipedia.org/wiki/Atomska_spektrometrija) ( 1. lipanj 2022. )
12. URL : [https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/8\\_AK2\\_atom\\_spektr.pdf](https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/8_AK2_atom_spektr.pdf) ( 5. lipanj 2022. )
13. URL :  
[http://fizika.unios.hr/~ilukacevic/dokumenti/materijali\\_za\\_studente/afs/6\\_AAS.pdf](http://fizika.unios.hr/~ilukacevic/dokumenti/materijali_za_studente/afs/6_AAS.pdf) ( 5. lipanj 2022. )
14. Adžić D. Određivanje koncentracije kadmija u bogaćenoj biljci *Lepidium sativum* L. atomskom apsorpcijskom spektroskopijom, Završni rad, Kemijsko – Tehnološki fakultet
15. Perkin – Elmer, Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy, The Perkin – Elmer Corporation, USA, 1996.
16. P. Worsfold, A. Townshend, C. Poole, M. Miró, Encyclopedia of Analytical Science, 3rd Edition, Elsevier, Amsterdam, 2019.

17. L. Kukoč Modun, *Spektroskopijske metode elementarne analize, interna skripta*,  
Split