

Određivanje nutrijenata u biljci čunjasti repušac (*Bunias erucago* L.)

Zorić, Antonija

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:167:887124>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-27**

Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

ODREĐIVANJE NUTRIJENATA U BILJCI ČUNJASTI REPUŠAC
(*Bunias erucago* L.)

ZAVRŠNI RAD

ANTONIJA ZORIĆ

Matični broj: 1033

Split, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U SPLITU
KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET
PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJSKE TEHNOLOGIJE
ZAŠTITA OKOLIŠA

**ODREĐIVANJE NUTRIJENATA U BILJCI ČUNJASTI REPUŠAC (*Bunias
erucago L.*)**

ZAVRŠNI RAD

ANTONIJA ZORIĆ

Matični broj: 1033

Split, rujan 2019.

UNIVERSITY OF SPLIT
FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY
UNDERGRADUATE STUDY OF CHEMICAL TECHNOLOGY
STUDY ORIENTATION: ENVIRONMENTAL PROTECTION

DETERMINATION OF NUTRIENTS IN *Bunias erucago* L.

BACHELOR THESIS

ANTONIJA ZORIĆ

Parent number: 1033

Split, September 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijско-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 Kemijско-tehnološkog fakulteta.

Mentor: doc. dr. sc. Maša Buljac

Pomoć pri izradi: Josip Radić, mag. chem. asistent

ODREĐIVANJE NUTRIJENATA U BILJCI ČUNJASTI REPUŠAC (*Bunias erucago* L.)

Antonija Zorić, 1033

Sažetak: U ovom radu analiziran je uzorak biljke, *Bunias erucago* L., ubrane na području Brača. Određivana je koncentracija lakopristupačnog fosfora (Al-metodom) i amonijačnog dušika u korijenu, stabljici i listu biljke. Najveća koncentracija lakopristupačnog fosfora zabilježena je u stabljici biljke, a najveća koncentracija amonijačnog dušika u listu biljke.

Ključne riječi: biljka, fosfor, dušik

Rad sadrži: 25 stranica, 9 slika, 4 tablice, 8 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: 30.9.2019.

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 of Chemical Technology, orientation: Environmental 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: Josip Radić, mag. chem. assistant

DETERMINATION OF NUTRIENTS IN *Bunias erucago* L.

Antonija Zorić, 1033

Abstract: In this bachelor thesis, a sample of a plant, *Bunias erucago* L., harvested in the Brač area was analyzed. The concentration of readily available phosphorus (Al-method) and ammonia nitrogen in the root, stem and leaf of the plant were determined. The highest concentration of readily available phosphorus was observed in the plant stem, and the highest concentration of ammonia nitrogen in the plant leaf.

Keywords: plant, phosphorus, nitrogen

Thesis contains: 25 pages, 9 figures, 4 tables, 8 literature references

Original in: Croatian

Defence committee:

- | | |
|--|--------------------|
| 1. Mario Nikola Mužek, PhD, assistant prof. | chairperson |
| 2. Lea Kukoč Modun, PhD, assistant prof. | member |
| 3. Maša Buljac, PhD, assistant prof. | supervisor |

Defence date: 30.9.2019.

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 Kemiju okoliša, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Maše Buljac, u razdoblju od veljače do rujna 2019. godine.

ZAHVALA

*Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Maši Buljac na stručnoj pomoć ,
strpljenju i prenesenom znanju prilikom izrade ovog rada.*

*Također se zahvaljujem asistentu Josipu Radiću i ostalom osoblju Zavoda za
Kemiju okoliša na pomoći prilikom provedbe eksperimentalnog dijela rada.*

Najveća hvala mojoj obitelji i prijateljima na podršci tijekom studiranja.

Antonija

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

U ovom završnom radu određivana je:

- Količina lakopristupačnog fosfora u uzorku biljke
- Količina amonijačnog dušika u uzorku biljke

SAŽETAK

U ovom radu analiziran je uzorak biljke, *Bunias erucago* L., ubrane na području Brača. Određivana je koncentracija lakopristupačnog fosfora (Al-metodom) i amonijačnog dušika u korijenu, stabljici i listu biljke. Najveća koncentracija lakopristupačnog fosfora zabilježena je u stabljici biljke, a najveća koncentracija amonijačnog dušika u listu biljke.

SUMMARY

In this bachelor thesis, a sample of a plant, *Bunias erucago* L., harvested in the Brač area was analyzed. The concentration of readily available phosphorus (Al-method) and ammonia nitrogen in the root, stem and leaf of the plant were determined. The highest concentration of readily available phosphorus was observed in the plant stem, and the highest concentration of ammonia nitrogen in the plant leaf.

Sadržaj

UVOD	1
1. OPĆI DIO.....	2
1.1. BRASSICACEAE.....	3
1.1.1. Čunjasti repušac (<i>Bunias erucago</i> L.)	3
1.2. ULOGA MIKRO I MAKROELEMENATA.....	4
1.3. Uloga i značaj fosfora.....	5
1.3.1. Fosfor u tlu.....	5
1.3.2. Fosfor u biljkama.....	6
1.4. ULOGA I ZNAČAJ DUŠIKA.....	7
1.4.1. DUŠIK U TLU	7
1.4.2. DUŠIK U BILJKAMA	8
1.4. SPEKTROSKOPIJA	9
2. EKSPERIMENTALNI DIO	10
2.1. KEMIJSKE ANALIZE.....	11
2.1.1. KEMIKALIJE	11
2.1.2. PRIPRAVA OTOPINA ZA ODREĐIVANJE LAKOPRISTUPAČNOG FOSFORA	11
2.1.3. PRIPRAVA OTOPINA ZA ODREĐIVANJE AMONIJAČNOG DUŠIKA	13
2.2. PRIPREMA UZORKA.....	15
2.3. ODREĐIVANJE LAKOPRISTUPAČNOG FOSFORA AL-METODOM	15
2.4. ODREĐIVANJE AMONIJAČNOG DUŠIKA.....	16
2.5. APARATURA	17
3. REZULTATI I RASPRAVA.....	18
3.1. ODREĐIVANJE LAKOPRISTUPAČNOG FOSFORA AL-METODOM	19
3.2. ODREĐIVANJE AMONIJAČNOG DUŠIKA.....	20
4. ZAKLJUČAK.....	22
5. LITERATURA	24

UVOD

Za normalan rast i razvoj biljkama je potrebno 17 biogenih elemenata.

Prema pravilima Arnon i Stout se utvrđuje njihova neophodnost za život biljaka:

1. bez tog elementa normalan rast i razvoj biljke nije moguć
2. njegova funkcija ne može se zamijeniti nijednim drugim elementom
3. element mora biti uključen u biljni metabolizam izravn
4. element mora biti potreban za tri ili više biljnih vrsta.

Fosfor i dušik se ubrajaju u skupinu biogenih, esencijalnih, konstitucijskih makroelemenata koji su potrebni biljci.

Fosfor sudjeluje u svim metaboličkim procesima biljke te ulazi u sastav enzima, DNA, RNA, ATP-a. Uključen je u važne biokemijske procese: fotosintezu, disanje i glikolizu te sudjeluje u održavanju osmotskog tlaka. Najveće potrebe za fosforom su na početku vegetacije.

Dušik je jedan od najvažnijih makroelemenata kojeg biljka usvaja u NO_3^- i NH_4^+ obliku. Opskrbljenost dušikom ima značaj u prinosu biljke i kakvoći prinosa pa je i njegov drugi naziv prinosotvorni element.^[1]

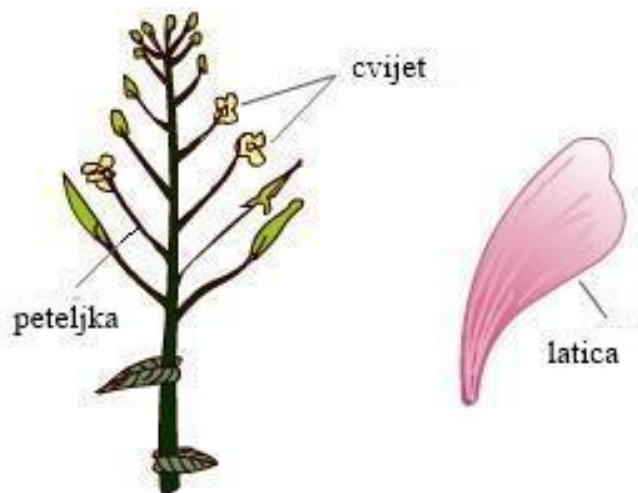
1. OPĆI DIO

1.1. BRASSICACEAE

Brassicaceae je naziv za biljnu porodicu (kupusnjače, ranije *Crucifereae*-krstašice) kojoj pripada oko 3500 biljnih vrsta koje su rasprostranjene u umjerenom klimatskom području sjeverne polutke, najvećim dijelom na Sredozemlju.

Unutar porodice postoji veliki broj endemičnih rodova i biljnih vrsta. Biljke iz porodice *Brassicaceae* su jednogodišnje, dvogodišnje ili višegodišnje zeljaste biljke, rijetko grmovi.

Stabljika im može biti uspravna, polegnuta ili različito usmjerena u odnosu na tlo. Neke vrste na stabljici imaju naizmjenično raspoređene listove koji su uglavnom jednostavni i različitih oblika, sa i bez peteljke. Pravilni dvospolni cvjetovi građeni su na osnovi broja 4: imaju 4 lapa, 4 latice, 4 duža (unutarnja) i 2 kraća (vanjska) prašnika. Cvjetovi mogu biti skupljeni u cvatove ili pojedinačni. Ocvijeće može biti dvostruko (čашka i vjenčić) ili jednostavno. Plodnica je jednogradna ili dvogradna, s najčešće dosta sjemenih zametaka. Plodovi su uglavnom kumuške različitog oblika. ^[2]



Slika 1. Karakteristike biljke iz porodice *Brassicaceae*^[3]

1.1.1. Čunjasti repušac (*Bunias erucago* L.)

Bunias erucago L. je jednogodišnja ili dvogodišnja zeljasta biljka koja pripada porodici kupusnjača. Može narasti do 60 cm visine, a stabljika joj je uspravna, prekrivena dlakama i razgranata. Listovi su joj duguljasti, perasto razdijeljeni,

tupo nazubljenih rubova te se nalaze na peteljka. Cvjetovi su pozicionirani na dužim stapkama na vrhu stabljika gdje su skupljeni u rahle grozdaste cvatove. Iako su veliki oko samo 1 cm, primjetni su zahvaljujući intenzivnoj žutoj boji. Vjenčić je sastavljen od 4 žute latice i 6 prašnika. Plodovi su nepravilnog oblika te sadrže sjemenke u 3-4 odjeljka. Vrijeme dozrijevanja je od srpnja do rujna. *Bunias erucago* L. je poprilično rasprostranjena u južnoj Europi, a kod nas je pronađena samo u primorskom području. Za rast joj pogoduju sunčana i suha staništa te neobrađena i siromašna zemljišta. Osim sirovog korijena, jestivi dijelovi biljke su također i mladi izdanci i listovi i to kuhani ili u sirovom obliku.^[3]



Slika 2. *Bunias Erucago* L.^[4]

1.2. ULOGA MIKRO I MAKROELEMENATA

Utvrđeno je da biljke za svoj rast i razvoj trebaju 17 biogenih kemijskih elemenata. Zbog različitih zahtjeva biljaka za pojedinim elementima uobičajena je njihova podjela na makroelemente čija koncentracija je veća od 0,1 % suhe tvari biljke i mikroelemente (koncentracija niža od 0,1 % suhe tvari biljke).

Uobičajena je podjela elemenata u grupe:

Makroelementi: C, H, O, P, K, N, S, Ca, Mg

Mikroelementi: Fe, Mn, Zn, Cu, B, Mo, Cl i Ni

Korisni elementi: Co, Na, Si, Al, La, Ti, Ce, Se, V

Toksični elementi: Cr, Cd, U, Hg, Pb, As

Premda u sastav biljaka ulazi čitav niz kemijskih elemenata koje biljke usvajaju iz tla/supstrata i atmosfere, neki od njih, posebice dušik, fosfor i kalij, potrebni su u velikim količinama pa se obavezno dodaju u tlo putem gnojidbe. Dio elemenata vraća se u tlo prirodnim putem (ciklusi elemenata), oslobađajući se iz prirodnih rezervi tla otapanjem ili mineralizacijom, uglavnom sporijim procesima. Makroelementi ugljik, vodik i kisik su konstitucijski elementi. Dušik je izvor aminokiselina i bjelančevina, fosfor je izvor nukleinskih kiselina i ATP-a, a kalij je katalizator i transporter iona.

1.3. Uloga i značaj fosfora

Fosfor je nemetal koji se u tlu i biljkama javlja u peterovalentnom obliku. Važan je biogeni element te sudjeluje u svim metaboličkim procesima organizma u kojima se nakuplja ili oslobađa energija. Ulazi u sastav enzima, fosfolipida, DNA, RNA, ATP, itd.

1.3.1. Fosfor u tlu

Fosfor u tlo dospijeva procesom razgradnje matičnih stijena. Sadržaj fosfora u tlu varira od 0,03 % do 0,2 %. U magmatskim stijenama se nalazi oko 170 minerala koji sadrže fosfor. Najbrojniji su minerali fosfora za željezom, kalcijem i aluminijem. Fosfor u tlu može biti vezan organski(40-60 %) i anorganski (40-80 %)

ANORGANSKI OBLICI su različito topljiv, pa samim time i biljkama različito dostupni. Dije se na:

1. Vodotopljive fosfate- najmanje zastupljena frakcija u tlu.
2. Fosfor topljiv u kiselinama- dijeli se u dvije frakcije:
 - a) fosfor topljiv u jakim kiselinama- obuhvaća tercijarne fosfate, aluminijske i željezove fosfate, dakle fosfor koji spada u teško raspoložive rezerve tla.
 - b) fosfor topljiv u slabim kiselinama- tu spadaju sekundarni fosfati i imaju veliku ulogu u ishrani biljaka.
3. Fosfor topljiv u lužnatim otopinama- količina fosfora koja se otapa u lužinama iznosi od 50 do 600 ppm, a ovisi o količini kalcija.

4. Teško topljiv fosfor- ovako vezan fosfor nedostupan je za ishranu biljkama.

ORGANSKI FOSFOR

U tlo dolazi razgradnjom biljnih ostataka, jedan dio se otapa u lužinama, a drugi dio u kiselinama. Organski fosfor topljiv u kiselinama se mineralizira znatno brže.^[4]

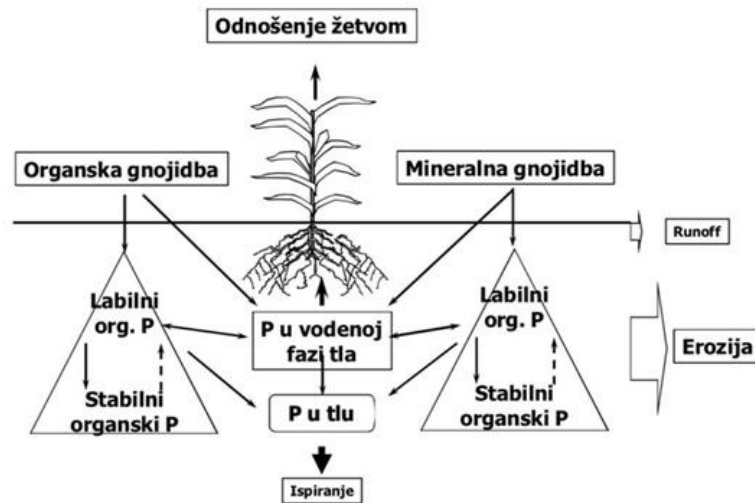
1.3.2. Fosfor u biljkama

Biljke usvajaju fosfor u anionskom obliku, a bez redukcije ga ugrađuju u organsku tvar. Bioraspoloživost fosfora najviše ovisi o pH vrijednosti tla jer ortofosfatna kiselina različito disocira ovisno o prisustvu baza na adsorpcijskom kompleksu tla. Fosfor je sastavni dio velikog broja minerala tla (oko 170) različite topljivosti, a najzastupljeniji u zemljinoj kori su apatiti i fosforiti.

U fiziološkim procesima biljaka fosfor je najpotrebniji u fazi intenzivnog rasta korijena te kod prelaska iz vegetativne u generativnu fazu. Pokretljivost u biljci mu je dobra u oba smjera. Mlađa tkiva i reprodukcijski dijelovi sadrže više anorganskog fosfora. Koncentracija fosfora u biljkama je obično 0,3 %-0,5 %.^[5]

Nedostatak fosfora je česta pojava zbog smanjene pristupačnosti kako u alkalnim tako i u kiselim tlima, zbog kemijske adsorpcije. Simptomi koji se vizualno mogu uočiti su slabi rast biljaka i pojava kloroze, a kod jačeg nedostatka reducirani rast korijena te kasnije cvjetanje i zrioba. Prvi simptom je manje lišće tamnije boje, a kod dužeg deficita javlja se i crvenkasta nijansa zbog povećane sinteze antocijana. Biljke su manje, a na lišću se kasnije javlja kloroza, dok starije lišće izumire (premještanje u mlađe).

Višak fosfora je rijedak, a nastupa kod koncentracija većih od 1 % u suhoj tvari. Rast biljaka je usporen uz tamne pjege na lišću koje se šire prema bazi te lišće na kraju otpada. Metabolizam je ubrzan pa dolazi do skraćanja vegetacije, prijevremenog cvjetanja i starenja biljaka.^[5]



Slika 3. Ciklus kruženja fosfora u tlu^[6]

1.4. ULOGA I ZNAČAJ DUŠIKA

Dušik ima poseban položaj u grupi makroelemenata. Usvaja se u mineralnom obliku, sastavni je dio nukleinskih kiselina, amina, amida, proteina i drugih važnih spojeva. Mali broj organizama ga može koristiti iz atmosfere u plinovitom obliku. Biljke ga usvajaju u obliku amonijaka ili nitrata, a za prevođenje dušika u molekularni oblik potrebne su velike količine energije. S druge strane, dušik se lako vraća u molekularno stanje te se lako gubi iz tla.^[5]

1.4.1. DUŠIK U TLU

U tlu se nalazi u obliku anorganskih i organskih spojeva. Organski dio (humus i nerazgrađeni biljni i životinjski ostaci) nije dostupan biljkama za ishranu. Mineralni dio potpuno je dostupan za usvajanje, no on čini manji dio ukupnog dušika u tlu (2-3 % ukupne količine).

Organski ostaci životinja i biljaka prolaze kroz proces mineralizacije. Mineralizacija je proces u kojem organski dušik prolazi kroz niz kemijskih i biokemijskih procesa pri kojima se oslobađa dušik u ionskom obliku, koji je pristupačan za biljke.^[1]

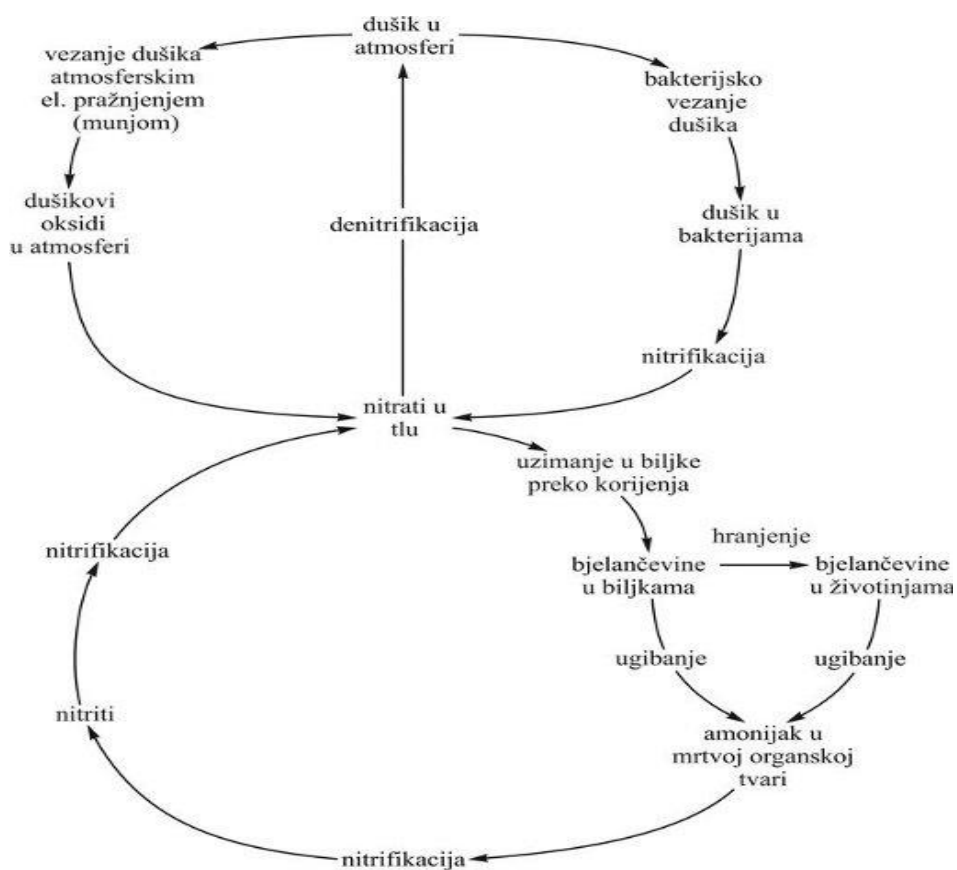
1.4.2. DUŠIK U BILJKAMA

Biljke sadrže oko 1-5 % dušika u suhoj tvari, a usvajaju ga u obliku NO_3^- i NH_4^+ . Nitratni ion mogu skladištiti u vakuoli stanice te ga biljka reducira do amonijačnog dušika, koji stvara aminokiseline te na kraju proteine.

Amonijačni dušik biljke ne mogu skladištiti, pa usvajanje većih količina može biti štetno (u većim koncentracijama NH_4^+ je otrovan.)

Prekomjerno nakupljanje nitrata dovodi do štetnih posljedica, kao što su: pojačana sinteza proteina, razgradnja rezervnih ugljikohidrata, što dovodi do prevelikog bujanja vegetacije.

Nedostatak dušika dovodi do bržeg starenja biljke, lišće je kraće, blijedozeleno, te je prinos manji. Suprotno tome suvišak dušika dovodi do porasta vegetacijskih organa uz modrozelenu boju listova. Biljke postaju neotporne na sušu i bolest.^[1]



Slika 4. Kruženje dušika u prirodi^[7]

1.4. SPEKTROSKOPIJA

Spektroskopija je znanost koja proučava apsorpcijske i emisijske elektromagnetske spektre atoma i molekula. Mjeri se količina zračenja koja ovisi o frekvenciji, valnoj dužini ili energiji.

Spektroskopija je razvijena disciplina te se dijeli na druge poddiscipline prema:

- vrsti zračenja (radio, mikrovalna, terahercna, infracrvena, vidljiva, ultraljubičasta, rendgenska, gama)
- pronalazaču (Ramanova, Mössbauerova)
- nivou interakcije (molekularna, agregacijska, nuklearna, atomska)
- tehnici (rezonantna, apsorpcijska, emisijska, laserska, Furierova)

Elektromagnetski spektar obuhvaća zračenja od gama zraka do radio valova.

UV-VIS spektrofotometrija ili ultraljubičasta i vidljiva spektrofotometrija je tehnika temeljena na apsorpcijskoj spektroskopiji u ultraljubičastom i vidljivom dijelu spektra. Spektrofotometrijom se izvodi i kvalitativna (ovisi i sastavu i strukturi uzorka, a zasniva se na njegovom apsorpcijskom spektru i kvantitativna (zasniva se na Lambert-Beerovom zakonu) analiza.^[8]

2. EKSPERIMENTALNI DIO

2.1. KEMIJSKE ANALIZE

2.1.1. KEMIKALIJE

Tablica 1. Korištene kemikalije

KEMIKALIJE	MOLEKULSKA FORMULA	DOBAVLJAČ
octena kiselina	CH ₃ COOH	Kemika
natrijev acetat	CH ₃ COONa	kemika
sulfatna kiselina	H ₂ SO ₄	Kemika
amonijevheptamolibdat	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	Kemika
askorbinska kiselina	C ₆ H ₈ O ₆	T.T.T doo
kalijev dihidrogen fosfat	KH ₂ PO ₄	Kemika
amonijevlaktat	C ₃ H ₉ NO ₃	Sigma-Aldrich
kalijev sulfat	K ₂ SO ₄	Kemika
kalijev-natrijev tartarat	KNT	T.T.T. doo
Nesslerov reagens		T.T.T. doo
osnovna standardna otopina	NH ₄ ⁺	CPAchem

2.1.2. PRIPRAVA OTOPINA ZA ODREĐIVANJE LAKOPRISTUPAČNOG FOSFORA

2.1.2.1. PRIPRAVA OTOPINE CH₃COOH, $c(\text{CH}_3\text{COOH})=0,1 \text{ M}$

Za pripravu otopine 0,1 M octene kiseline otpipetirano je 1,14 mL ledene octene kiseline u tikvicu od 200 mL i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

2.1.2.2. PRIPRAVA OTOPINE CH₃COONa, $c(\text{CH}_3\text{COONa})=0,1 \text{ M}$

Za pripravu otopine natrijevog acetata, $c(\text{NaAc})=0,1 \text{ M}$, izvagano je na analitičkoj vagi 0,82 g NaAc, te je odvaga otopljena u destiliranoj vodi u odmjernoj tikvici od 100 mL.

2.1.2.3. PRIPRAVA OTOPINE H₂SO₄, $c(\text{H}_2\text{SO}_4)=4 \text{ M}$

Za pripravu otopine sulfatne kiseline, $c(\text{H}_2\text{SO}_4)=4 \text{ M}$ otpipetirano je 10,66 mL koncentrirane sulfatne kiseline u tikvicu od 50 mL i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

2.1.2.4. PRIPRAVA OTOPINE $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$

Za pripravu 1,44 % otopine $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ izvagano je 0,72 g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$. Izvagani $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ otopljen je u destiliranoj vodi, u odmjernoj tikvici od 50 mL.

2.1.2.5. PRIPRAVA OTOPINE $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$

Za pripravu 2,5 % otopine $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ izvagano je 0,625 g askorbinske kiseline. Izvagani $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ otopljen je u destiliranoj vodi u tikvici od 25 mL.

2.1.2.6. PRIPRAVA PUFER OTOPINE

U čašu od 800 mL stavljeno je oko 200 mL pripremljene 0,1 M octene kiseline i oko 40 mL 0,1 M natrijeva acetata, mjerena je pH-vrijednost te postepenim dokapavanjem 0,1 M natrijeva acetata podešavana na 4,1.

2.1.2.7. PRIPRAVA EKSTRAKCIJSKE OTOPINE

Za pripravu ekstrakcijske otopine amonijevog laktata $c(\text{AL})=0,04$ M, otpipetirano je 4 mL otopine amonijevog laktata ($w=20$ %, $c=2$ M) u tikvicu od 200 mL i nadopunjeno do oznake pufer otopinom.

2.1.2.8. PRIPRAVA STANDARDNIH OTOPINA

Za pripravu osnovne otopine standarda izvagano je 0,1917 g KH_2PO_4 koji je otopljen u ekstrakcijskoj otopini u tikvici od 100 mL. Dobiven je osnovni standard A koncentracije 1 g/L. Otopina B je pripremljena tako da je u tikvicu od 25 mL dodano 2,5 mL otopine A i ekstrakcijska otopina do oznake.

Otopina C je pripremljena tako da je u tikvicu od 25 mL dodano 2,5 mL otopine B i ekstrakcijska otopina do oznake.

Otopina D je pripremljena tako da je u tikvicu od 25 mL dodano 2,5 mL otopine C i ekstrakcijska otopina do oznake.

Nakon toga pripremljeni su radni standardi: 0,04 mg/L, 0,16 mg/L, 0,25 mg/L, 0,4 mg/L, 0,8 mg/L, 2,5 mg/L.

U čašu je dodan određeni volumen standarda (tablica 2), nadopunjeno je ekstrakcijskom otopinom, te je dodano 1,8 mL 4 M H₂SO₄. Zatim se zagrijava 15 minuta u vodenoj kupelji na 60°C. Nakon toga je dodano 2 mL amonijevog heptamolibdata, te 400 µL askorbinske kiseline. Nakon toga otopina se ohladi, prebaci u tikvicu od 25 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake.

Tablica 2. Podatci potrebni za pripremu radnih standarda

koncentracija standarda	dodani volumen standarda (mL)	dodani volumen ekstrakcijske otopine (mL)	koncentracija radnih standarda (mg/L)
1 mg/L	1	8	0,04
	4	5	0,16
	6,25	1,75	0,25
10 mg/L	1	8	0,4
	2	7	0,8
	6,25	1,75	2,5

2.1.3. PRIPRAVA OTOPINA ZA ODREĐIVANJE AMONIJAČNOG DUŠIKA

2.1.3.1. PRIPRAVA EKSTRAKCIJSKE OTOPINE K₂SO₄

Za pripremu 0,2 M ekstrakcijske otopine K₂SO₄, u tikvici od 50 mL otopljeno je 1,7427 g K₂SO₄ i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

2.1.3.2. PRIPRAVA OTOPINE KALIJEVOG-NATRIJ TARTARATA (KNT)

Za pripremu 25 % otopine KNT, u tikvici od 25 mL otopljeno je 6,25 g KNT-a i nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

2.1.3.3. PRIPRAVA STANDARDNIH OTOPINA

Otopina A pripremljena je tako da je u tikvicu od 10 mL dodan 1 mL osnovne standardne otopine (1 mg NH_4 /1 mL) te nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

Otopina B je pripremljena tako da je u tikvicu od 10 mL dodan 1 mL otopine A te je nadopunjeno destiliranom vodom do oznake.

Otopina C je pripremljena tako da je u tikvicu od 10 mL dodan 1 mL otopine B.

Zatim su pripremljene standardne otopine. U prvu tikvicu od 25 mL za slijepu probu dodan je 1 mL KNT-a i destilirana voda do pola, zatim 1 mL Nesslerovog reagensa te destilirana voda do oznake.

U drugu tikvicu od 25 mL dodano je 2,5 mL otopine C, dodan je 1 mL KNT-a i destilirana voda do pola, zatim 1 mL Nesslerovog reagensa te destilirana voda do oznake (koncentracija 0,1 mg/L).

U treću tikvicu od 25 mL dodano je 5 mL otopine C, 1 mL KNT-a i destilirana voda do pola, zatim 1 mL Nesslerovog reagensa te destilirana voda do oznake (koncentracija 0,2 mg/L).

U četvrtu tikvicu od 25 mL dodan je 1 mL otopine B, 1 mL KNT-a i destilirana voda do pola, zatim 1 mL Nesslerovog reagensa te destilirana voda do oznake (koncentracija 0,4 mg/L).

U petu tikvicu od 25 mL dodano je 1,75 mL otopine B, 1 mL KNT-a i destilirana voda do pola, zatim 1 mL Nesslerovog reagensa te destilirana voda do oznake (koncentracija 0,7 mg/L).

U šestu tikvicu od 25 mL dodano je 2,5 mL otopine B, 1 mL KNT-a i destilirana voda do pola, zatim 1 mL Nesslerovog reagensa te destilirana voda do oznake (koncentracija 1 mg/L).

U sedmu tikvicu od 25 mL dodan je 3,25 mL otopine B, 1 mL KNT-a i destilirana voda do pola, zatim 1 mL Nesslerovog reagensa te destilirana voda do oznake (koncentracija 1,3 mg/L).

2.2. PRIPREMA UZORKA

Uzorak ispitivane biljke je ubran na otoku Braču, te je sušen na zraku tri mjeseca u sjeni, na prozračnom mjestu pri sobnoj temperaturi. Biljka je podijeljena na 3 dijela: list, korijen i stabljiku. Svaki dio je posebno usitnjen i izvagan.



Slika 5. Osušeni uzorci (list, stabljika i korijen)

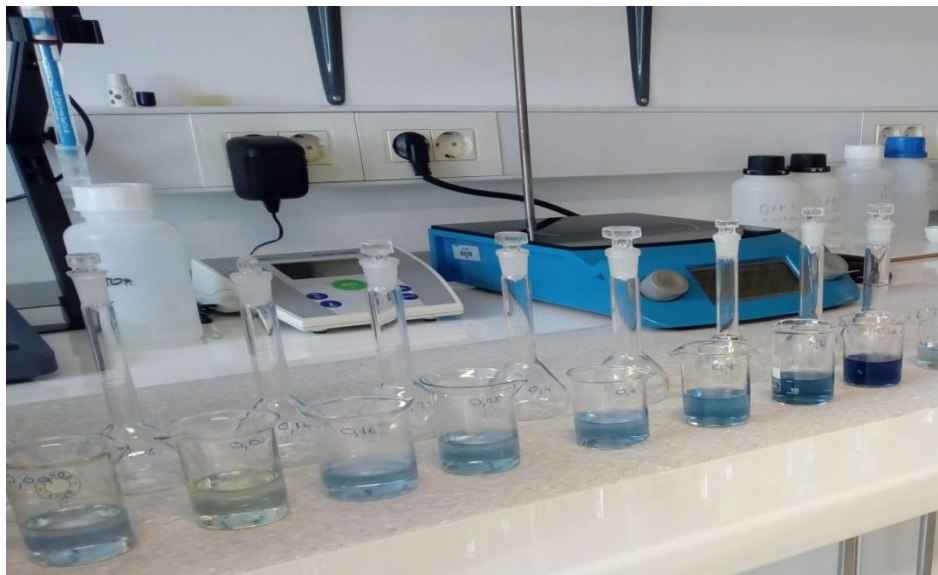
2.3. ODREĐIVANJE LAKOPRISTUPAČNOG FOSFORA AL-METODOM

Postupak:

Izvagane su mase biljnog materijala: masa lista=0,4832 g, masa korijena=0,5654 g, masa stabljike=0,5324 g. Nakon toga biljni materijal je ekstrahiran u 20 mL 0,04 M Al-otopini sat vremena na magnetskoj miješalici. Dobivene otopine su profiltrirane kroz filter papir-bijela vrpca.

U času je dodano 0,1 mL uzorka, 8,9 mL ekstrakcijske otopine i 1,8 mL H₂SO₄. Čaša je grijana 15 minuta u vodenoj kupelji na 60 °C. Nakon toga je u čašu dodano 2 mL amonijevog heptamolibdata i 400 µL askorbinske kiseline. Dobivena otopina je zagrijavana još 30 minuta na 60, pri čemu se razvija kompleks modre boje. Nakon toga otopina je ohlađena, prebačena u tikvicu od 25 mL, te je nadopunjena destiliranom vodom do oznake. Za sva tri uzorka postupak je isti. Priprema standarda je opisana u poglavlju 2.1.2.8.

Koncentracije fosfora u standardima i uzorcima određene su spektrofotometrijski pri 680 nm.



Slika 6. Serija standarda

2.4. ODREĐIVANJE AMONIJAČNOG DUŠIKA

Postupak:

Izvagane su mase biljnog materijala: masa lista=0,4066 g, masa korijena=0,7839 g i masa stabljike=1,7238 g. Nakon toga biljni materijal je ekstrahiran u 2 M K_2SO_4 sat vremena na magnetnoj miješalici, list u 15 mL, korijen u 15 mL i stabljika u 20 mL ekstraktivne otopine. Dobivena otopina filtrirana je 3 puta. Prvi put je korišten filter papir-crna vrpca, koji je najporozniji, zatim je dobiveni filtrat profiltriran kroz filter papir-bijela vrpca te je zadnja filtracija izvršena preko filter papira-plava vrpca.

Zatim je uslijedila priprema otopina A, B i C, kao i priprema standardnih otopina (postupak opisan u poglavlju 2.1.3.3.).

Nakon pripreme standardnih otopina uslijedila je priprema otopina uzoraka. Dodano je 1 mL filtrata od svakog uzorka u tikvice od 25 mL, 1 mL KNT-a, destilirana voda do pola, Nesslerov reagens te destilirana voda do oznake.

Boja se razvijala pola sata, a na spektrofotometru je izmjerena apsorbancija standarda i uzoraka.

Uočeno je da je vrijednost apsorbancije iznad LDP (linearno dinamičko područje je područje koncentracije analita u kojem signal linearno raste s porastom koncentracije), pa su pripravljene otopine uzorka tako da je u tikvice od 25 mL dodano po 200 μ L uzorka te je dodan 1 mL KNT-a, Nesslerov reagens i destilirana voda do oznake.

2.5. APARATURA

Za mjerenje apsorbancije uzoraka i standardnih otopina korišten je UV-VIS spektrofotometar. Apsorbancija je mjerena pri valnoj duljini od 680 nm.

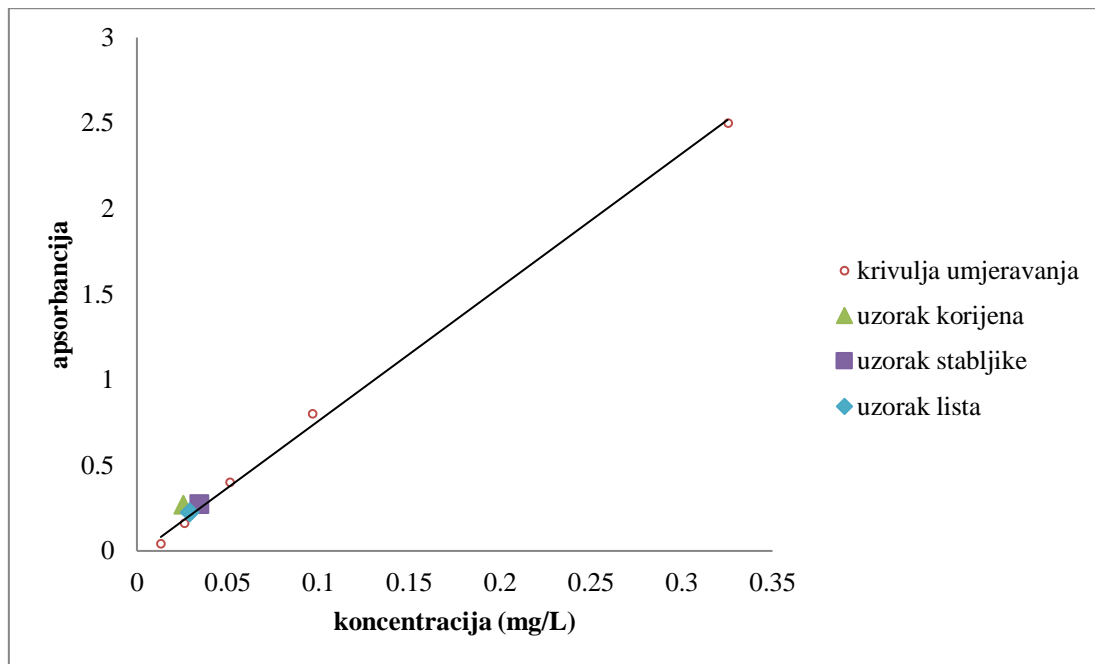


Slika 7. UV-VIS spektrofotometar

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. ODREĐIVANJE LAKOPRISTUPAČNOG FOSFORA AL-METODOM

Postupak određivanja opisan je u poglavlju 2.3. Pripravljanim standardnih otopina dobivena je krivulja umjeravanja.



Slika 8. Krivulja umjeravanja za određivanje količine lakopristupačnog fosfora

- Primjer proračuna za uzorak lista:

izmjerena koncentracija: 0,2227 mg/L

koncentracija u filtratu: $0,2227 \text{ mg/L} \times 250 = 55,675 \text{ mg/L}$

masa fosfora: $55,675 \text{ mg/L} \times 0,02 \text{ L} = 1,1135 \text{ mg}$

masa fosfora po kilogramu lista: $1,1135 \text{ mg} \times (1000/0,4832) = 2304,429 \text{ mg/kg}$

Tablica 3. Dobivene mase fosfora po kilogramu uzorka

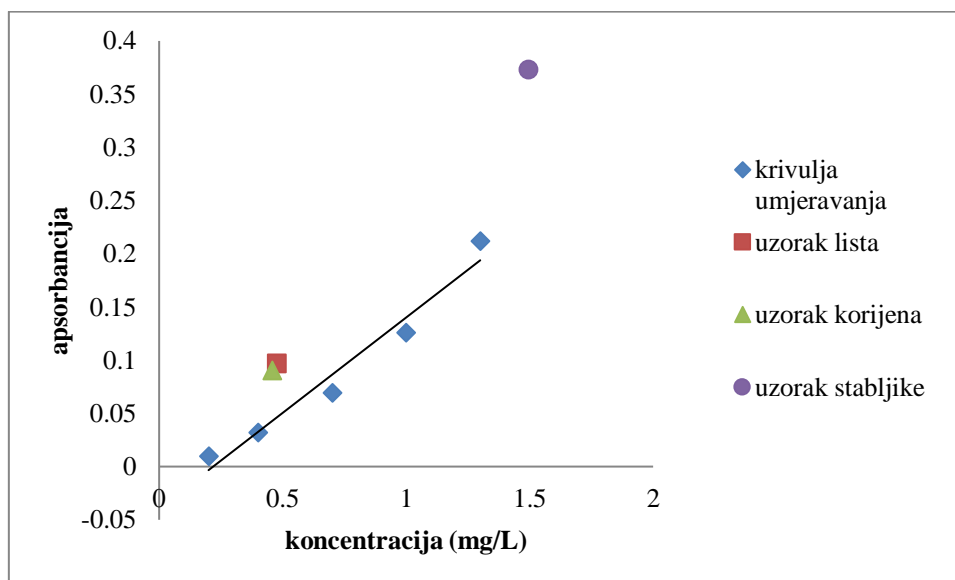
UZORAK	MASA FOSFORA PO KILOGRAMU UZORKA (mg/kg)
list	2304,429
korijen	1732,402
stabljika	2509,391

U svim uzorcima prisutan je fosfor, najveća koncentracija zabilježena je u stabljici, zatim u listu, a najmanja u korijenu. Pokretljivost fosfora je dobra u oba

smjera, zbog toga je najveća količina pronađena u stabljici biljke. U korijenu je prisutna najmanja količina lakopristupačnog fosfora pa se može zaključiti da tlo nije pogodno pH vrijednosti, jer bioraspoloživost fosfora biljkama ovisi o pH tla. Može se zaključiti da većinu fosfora biljka apsorbira iz atmosfere.

3.2. ODREĐIVANJE AMONIJAČNOG DUŠIKA

Postupak određivanja amoniyačnog dušika opisan je u poglavlju 2.4. Krivulja umjeravanja je dobivena mjerenjem signala pripremljenih standardnih otopina.



Slika 9. Krivulja umjeravanja za određivanje količine amoniyačnog dušika

- Primjer proračuna za uzorak lista:

izmjerena koncentracija uzorka: 0,4787 mg/L

koncentracija u filtratu: $0,4787 \text{ mg/L} \times 125 = 59,8375 \text{ mg/L}$

masa amoniyačnog dušika: $59,8375 \text{ mg/L} \times 0,015 \text{ L} = 0,8976 \text{ mg}$

masa amoniyačnog dušika po kilogramu uzorka: $0,8976 \text{ mg} \times (1000/0,4066 \text{ kg}) = 2207,481 \text{ mg/kg}$

Tablica 4. Dobivene mase amonijačnog dušika po kilogramu uzorka

UZORAK	MASA AMONIJAČNOG DUŠIKA PO KILOGRAMU UZORKA (mg/kg)
list	2207,481
korijen	1157,396
stabljika	2170,785

U sva tri uzorka prisutan je amonijačni dušik, najviše ga ima u listu, zatim u stabljici, a najmanje u korijenu biljke, iz čega se može zaključiti da biljka dobiva najmanje amonijačnog dušika iz tla, a najviše iz atmosfere. Tlo na kojem je rasla biljka nije bogato amonijačnim dušikom, naime dušik iz tla se lako gubi jer brzo prelazi u svoje elementarno stanje.

4. ZAKLJUČAK

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

- Provedeni eksperiment određivanja lakopristupačnog fosfora doveo je do zaključka da je u sva tri dijela biljke (list, korijen i stabljika) prisutan fosfor. Najviše ga ima u stabljici, a najmanje u korijenu biljke.
- Postupkom određivanja amonijačnog dušika u uzorcima biljke (list, korijen i stabljika) utvrđena je prisutnost amonijačnog dušika. Najveća masa amonijačnog dušika nađena je u listu, a najmanja u korijenu biljke.

5. LITERATURA

- [1] URL: <http://ishranabilja.com.hr/literatura/tloznanstvo/Elementi.pdf> (preuzeto: 6.9.2019.)
- [2] M. Zekić, *Glukozinolati odabranih samoniklih biljaka porodice Brassicaceae/* doktorska disertacija. Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, **2012.**
- [3] A. Sedlar, *Izolacija i identifikacija hlapljivih sumporovih spojeva odabranih biljaka porodice Brassicaceae/* diplomski rad. Split: Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu, **2017.**
- [4] URL: <https://www.plantea.com.hr/cunjasti-repusac/> (preuzeto: 23.9.2019.)
- [5] V. Vukadinović, V. Vukadinović, *Ishrana bilja.* Osijek: Poljoprivredni fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, **2007.**
- [6] URL: http://ishranabilja.com.hr/literatura/ishrana_bilja/P.pdf (preuzeto: 7.9.2019.)
- [7] URL: <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=16717> (preuzeto: 23.9.2019.)
- [8] D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, *Osnove analitičke kemije,* Zagreb: Školska knjiga, **1999.**