Određivanje koncentracije kadmija u bogaćenoj biljci lepidium sativum L. atomskom apsorpcijskom spektroskopijom

Adžić, David

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

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:167:650317

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-30**

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 KONCENTRACIJE KADMIJA U BOGAĆENOJ BILJCI *LEPIDIUM SATIVUM* L. ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROSKOPIJOM

ZAVRŠNI RAD

DAVID ADŽIĆ

Matični broj: 397

Split, srpanj 2020.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

PREDDIPLOMSKI STUDIJ KEMIJE

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KADMIJA U BOGAĆENOJ BILJCI *LEPIDIUM SATIVUM* L. ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROSKOPIJOM

ZAVRŠNI RAD

DAVID ADŽIĆ

Matični broj: 397

Split, srpanj 2020.

UNIVERSITY OF SPLIT

FACULTY OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY

UNDERGRADUATE STUDY IN CHEMISTRY

DETERMINATION OF CADMIUM CONCENTRATION IN ENRICHED PLANT *LEPIDIUM SATIVUM* L. USING ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY

BACHELOR THESIS

DAVID ADŽIĆ

Parent number: 397

Split, July 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

ZAVRŠNI RAD

Sveučilište u Splitu
Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu
Preddiplomski studij kemije

Znanstveno područje: prirodne znanosti
Znanstveno polje: kemija
Tema rada je prihvaćena na 28. sjednici Fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta
Mentor: doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun
Komentor: doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KADMIJA U BOGAĆENOJ BILJCI *LEPIDIUM SATIVUM* L. ATOMSKOM APSORPCIJSKOM SPEKTROSKOPIJOM

David Adžić, 397

Sažetak:

Biljka *Lepidium sativum* L. je tijekom ranijih istraživanja izdvojena kao mogući hiperakumulator kadmija. Na zapadu se često koristi u prehrani radi dobrih svojstava, izdržljivosti i lakog uzgoja. Atomska apsorpcijska spektroskopija je analitička tehnika koja omogućava lako kvantitativno određivanje metala u uzorku. U ovom radu je prikazan uzgoj biljke *Lepidium stativum* L. uz zalijevanje različitim koncentracijama kadmija, a zatim je prikazana metoda pripreme biljnog materijala za analizu atomskim apsorpcijskim spektrometrom. Koristeći se spomenutim uređajem određena je koncentracija kadmija akumulirana u biljci. Analizom je utvrđeno da je biljka *Lepidium sativum* L. zaista dobar akumulator kadmija te da njena sposobnost akumulacije raste s koncentracijom kadmija u tlu.

Ključne riječi: kadmij, kres salata, *Lepidium sativum* L., atomska apsorpcijska spektroskopija, hiperakumulator

Rad sadrži: 25 stranica, 19 slika, 3 tablice, 1 prilog, 29 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

1. doc. dr. sc. Franko Burčul
2. doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek
3. doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun

Datum obrane: 13. srpanj 2020.

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 in Chemistry

Scientific area: Natural Sciences
Scientific field: Chemistry
Thesis subject was approved by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 28.
Mentor: Lea Kukoč Modun, PhD, assistant professor
Comentor: Mario Nikola Mužek, PhD, assistant professor

DETERMINATION OF CADMUM CONCENTRATION IN ENRICHED PLANT *LEPIDIUM SATIVUM* L. USINGATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY

David Adžić, 397

Abstract:

The plant *Lepidium sativum* L. was singled out during previous research as a possible hyperaccumulator of cadmium. In the West, it is often used in the diet for its good properties, durability and ease of cultivation. Atomic absorption spectroscopy is an analytical technique that allows easy quantitative determination of metals in a sample. This paper describes cultivation of the plant *Lepidium stativum* L., its watering using different concentrations of cadmium, and the method of preparation of plant material for analysis by atomic absorption spectrometer. The concentration of cadmium accumulated in the plant was determined using the mentioned device. The analysis showed that the plant *Lepidium sativum* L. is, indeed, a good accumulator of cadmium and its ability to accumulate it increases with the concentration of cadmium in the soil.

Keywords: cadmium, garden cress, *Lepidium sativum* L., atomic absorption spectroscopy, hiperaccumulator

Thesis contains: 25 pages, 19 figures, 3 tables, 1 supplements, 29 references

Original in Croatian

Defense committee:

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

Defense date: July 13, 2020

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 analitičku kemiju, Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu pod mentorstvom doc. dr. sc. Lee Kukoč Modun, komentorstvom doc. dr. sc. Maria Nikole Mužeka te uz pomoć Petre Brzović, mag. chem. u razdoblju od veljače 2020. do srpnja 2020. godine.

Veliku zahvalnost, u prvom redu, dugujem mentorici doc. dr. sc. Lei Kukoč Modun te komentoru doc. dr. sc. Mariu Nikoli Mužeku na savjetima, pomoći i objašnjenjima prilikom izrade ovog završnog rada. Također, zahvaljujem Petri Brzović na pomoći pri izradi, a na koncu od srca se zahvaljujem mojim prijateljima i cijeloj obitelji, a najveća hvala mojim roditeljima na strpljenju, razumijevanju i potpori tijekom studiranja.

ZADATAK ZAVRŠNOG RADA

1. Uzgojiti biljku *Lepidium sativum* L., uz kontinuirano zalijevanje otopinama kadmija različitih koncentracija
2. Pripremiti biljni materijal za analizu na atomskom apsorpcijskom spektrometru
3. Odrediti sadržaj kadmija u uzorcima biljke atomskom apsorpcijskom spektrometrijom
4. Izvesti zaključke o mogućoj hiperakumulaciji kadmija u navedenoj biljci

SAŽETAK

Biljka Lepidium sativum L. je tijekom ranijih istraživanja izdvojena kao mogući hiperakumulator kadmija. Na zapadu se često koristi u prehrani radi dobrih svojstava, izdržljivosti i lakog uzgoja. Atomska apsorpcijska spektroskopija je analitička tehnika koja omogućava lako kvantitativno određivanje metala u uzorku. U ovom radu je prikazan uzgoj biljke Lepidium stativum L. uz zalijevanje različitim koncentracijama kadmija, a zatim je prikazana metoda pripreme biljnog materijala za analizu atomskim apsorpcijskim spektrometrom. Koristeći se spomenutim uređajem određena je koncentracija kadmija akumulirana u biljci. Analizom je utvrđeno da je biljka Lepidium sativum L. zaista dobar akumulator kadmija te da njena sposobnost akumulacije raste s koncentracijom kadmija u tlu.

Ključne riječi: kadmij, kres salata, *Lepidium sativum* L., atomska apsorpcijska spektroskopija, hiperakumulator

SUMMARY

The plant Lepidium sativum L. was singled out during previous research as a possible hyperaccumulator of cadmium. In the West, it is often used in the diet for its good properties, durability and ease of cultivation. Atomic absorption spectroscopy is an analytical technique that allows easy quantitative determination of metals in a sample. This paper describes cultivation of the plant Lepidium stativum L., its watering using different concentrations of cadmium, and the method of preparation of plant material for analysis by atomic absorption spectrometer. The concentration of cadmium accumulated in the plant was determined using the mentioned device. The analysis showed that the plant Lepidium sativum L. is, indeed, a good accumulator of cadmium and its ability to accumulate it increases with the concentration of cadmium in the soil.

Keywords: cadmium, garden cress, *Lepidium sativum* L., atomic absorption spectroscopy, hiperaccumulator

SADRŽAJ

UVOD **1**

1. OPĆI DIO **2**

1.1. Kres salata (*Lepidium sativum* L.) 2

1.1.1. Morfologija kres salate 3

1.1.2. Hranjiva vrijednost kres salate i njenog sjemena 3

1.1.3. Uvjeti uzgoja i rasprostranjenost 4

1.2. Atomska apsorpcijska spektroskopija 5

1.2.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija, povijest i uređaj 6

1.2.2. Izvor elektromagnetskog zračenja 7

1.2.3. Optički sustav i detektor 8

1.2.4. Atomizacija uzorka 10

1.2.5. Interferencije i umjeravanje uređaja 12

2. MATERIJALI I METODE **15**

2.1. Materijali 15

2.2. Metode 15

2.2.1. Uzgoj biljke *Lepidium sativum* L 15

2.2.2. Priprema biljnog materijala za analizu 16

2.2.3. Priprema standardnih otopina kadmija i slijepe probe za analizu uzoraka atomskom apsorpcijskom spektroskopijom 17

3. REZULTATI I RASPRAVA **19**

3.1. Krivulja umjeravanja za određivanje koncentracije kadmija atomskom apsorpcijskom spektroskopijom 19

3.2. Koncentracije kadmija u kres salati 20

4. ZAKLJUČAK **22**

5. LITERATURA **23**

6. PRILOZI **25**

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 je široko primijenjena u praksi; selektivna i osjetljiva tehnika te je kao takva značajna u kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi tragova metala u raznim uzorcima. *Lepidium sativum* L., u narodu poznatija kao kres salata, je biljka niskog, grmolikog rasta. U našem podneblju često se može naći kao samonikla pokraj potoka i staza. Jestiva je, a zbog svoje pikantnosti i gorkastog okusa koristi se kao zamjena za papar i gorčicu, odnosno senf.

Sagledavajući utjecaj kvalitete tla, raznih gnojiva korištenih u poljoprivredi na razvoj i nutritivnu vrijednost ove biljke došlo se do zaključka da sama *Lepidium sativum* L. ima mogućnost akumuliranja teških metala. Problematičnost ovog akumuliranja je u samoj toksičnosti teških metala i utjecaja na ljudski organizam. Međutim, navedena svojstva hiperakumulacije bi je mogla učiniti pogodnom za fitoremedijaciju tla, koja je ključna za povećavanje proizvodnog kapaciteta ekosustava.

Kadmij (Cd) spada u prijelazne metale. Karakteriziraju ga nisko talište, mekoća, kovnost i plavo-bijela boja. U prirodi se najčešće nalazi kao onečišćenje ruda cinka, ali i u malim količinama kao nusprodukt rudarenja bakra i olova. Karakteristično oksidacijsko stanje je +2. Najčešća primjena kadmija je zaštita željeznih površina od korozije, proizvodnja baterija i akumulatora, zatim za proizvodnju poluvodiča i dr. Kao većina teških metala, u organizmu se nakuplja u bubrezima i jetri, a učinci mogu biti smrtonosni, osobito zbog kancerogenog učinka i radioaktivnosti. Prisutan je u industrijskim postrojenjima kao nusprodukt te u duhanskom dimu. Neki od simptoma trovanja kadmijem su: kašalj, groznica, edem pluća.[1]

Cilj ovog rada je ispitivanje utjecaja koncentracije kadmija kojim je zalijevana biljka *Lepidium sativum* L. na konačni sadržaj kadmija u biljci nakon 30 dana te na taj način procijeniti hiperakumulacijska svojstva *Lepidium sativum* L. u odnosu na kadmij. Sadržaj kadmija je određen atomskom apsorpcijskom spektroskopijom.

1. OPĆI DIO

1.1. Kres salata (*Lepidium sativum* L.)

Domena: Eukarya

Carstvo: Plantae

Divizija: Tracheophytes

Razred: Magnoliopsida

Red: Brassicales Bromhead

Porodica: Brasicaceae

Rod: *Lepidium*

Vrsta: *Lepidium sativum* L.

Sinonimi: *Nasturtium crispum* Medik.

Narodna imena: sjetvena grbica, bobovnjak vrtni, garbać vrtni, grbak vrtni, kres pitomi, kreša, kres salata



Slika 1. Kres salata (*Lepidium sativum* L.)[2]

Kres salata (*Lepidium sativum* L.), sjetvena grbica, vrtna grbica ili grbač je jednogodišnja, nerijetko samonikla biljka (Slika 1.). Potječe sa prostora zapadne Azije i Egipta, a poznata je u indijskoj kulturi kao začin te ljekovita biljka, a djeluje kao antioksidans i antibiotik. Obzirom da se koristi širom svijeta, sije se u razmaknutim periodima tako da bi se brala svježa u svako doba godine. Najčešće se jedu mladi

nadzemni dijelovi biljke u salatama ili varivima, a blago su ljutkastog i gorkog okusa. Crveno-smeđe sjemenke ove biljke se mogu koristiti i kao zamjena za papar.[3]

1.1.1. Morfologija kres salate

Kao i ostali predstavnici porodice krstašica, kres salata je zeljasta i grmolika biljka. Karakterizira je 20-60 cm visoka, tanka, čvrsta te plavkasto obojena stabljika koja je na vrhu razgranata. Riječ je o dvosupnici s trodjelnom supkom čiji su listovi mali, rijetki, svijetlozeleni, nepravilno raspoređeni te različito perasto izrezani što je razlikuje od drugih krstašica za koje su karakteristični krupni, mesnati listovi. Cvate u periodu od svibnja do srpnja, a cvjetovi su sitni, bijeli, mnogobrojni i skupljeni u grozdaste cvatove pri vrhu ili na ograncima stabljike. Što se ploda tiče, riječ je o maloj komuški u kojoj se nalaze sitne crveno-smeđe sjemenke (u 1 g oko 500 sjemenki) koje mogu biti usitnjene i korištene kao začin.[4]

1.1.2. Hranjiva vrijednost kres salate i njenog sjemena

U prehrani se najčešće koriste mladi nadzemni dijelovi biljke, odnosno rozeta listova koji su jestivi sirovi, ali se često pripremaju na razne načine. Kres salata se smatra bogatim izvorom nutrijenata poput minerala i vitamina. U 100 g kres salate može se pronaći u prosjeku najviše minerala poput kalija, zatim kalcija u relativno velikoj koncentraciji, ali i pristojnog udjela fosfora, magnezija i željeza. Listići su također bogati karotenom (provitamin A), porodicom vitamina B te vitaminom C. Točan udio nutrijenata u sirovoj kres salati pokazuju istraživanja USDA (*Agricultural Research Service, United States, Department of Agriculture*), što govori o značaju ove biljke u ljudskoj prehrani (Tablica 1.).[5]

Kres salata je izrazito popularna u Aziji kao važan prehrambeni proizvod osobito zbog ljekovitih svojstava. Radi prisustva karotena i vitamina C smatra se dobrim antioksidansom. Također, u istočnoj Aziji se koristi kao lijek za gonoreju, u liječenju nedostatka apetita, upale mokraćnog mjehura i pomaže pri probavnim smetnjama.[6]

Sjeme kres salate (Slika 2.) i njegovo ulje smatraju se vrlo moćnim antioksidansima. Kao što je spomenuto samo sjeme je pikantnog okusa, visokog energijskog sadržaja, a ponaša se kao galaktogog, antiskorbutik, antihistaminik, antianemik, diuretik i dr. Ulje kao pripravljeni preparat ovog sjemena pored vitamina A i C sadrži i eugenol koji dodatno

sprečava utjecaj slobodnih radikala u organizmu, a ima pojačana svojstva emenagoga i galaktogoga, a trudnice ga trebaju izbjegavati.[7]

Tablica 1. Nutritivni sastav svježe kres salate (*Lepidium sativum* L.) u 100g[5]

Energijska vrijednost	134 kJ (32 kcal)	Vitamin C	69 mg
Ugljikohidrati	5,5 g	Vitamin E	0,7 mg
Vlakna	1,1 g	Vitamin K	541,9 µg
Proteini	2,6 g	Cink, Zn	0,23 mg
Vitamin A	346 µg	Fosfor, P	76 mg
Beta karoten	4150 µg	Kalcij, Ca	81 mg
Tiamin (Vitamin B_1)	0,08 mg	Kalij, K	606 mg
Riboflavin (Vitamin B_2)	0,26 mg	Magnezij, Mg	38 mg
Niacin (Vitamin B_3)	1 mg	Natrij, Na	14 mg
Pantotenska kiselina	0,242 mg	Selen, Se	0,9 µg
Vitamin B_6	0,247 mg	Željezo, Fe	1,3 mg

1.1.3. Uvjeti uzgoja i rasprostranjenost

Važno je spomenuti da ova biljka za uzgoj ne zahtjeva bogat supstrat. Otporna je na mnoge ekološke utjecaje i ne zahtjeva posebnu njegu. Klija pri niskim temperaturama (5-6 °C), ali se inače uzgaja u zaštićenim plastičnim posudicama na svjetlu. Najpovoljnija temperatura je oko 20 °C, a preferirana je stabilna umjerena vlažnost tla ili supstrata. Najviše se uzgaja u zapadnoj Europi te na području sjeverne Indije. Sije se kontinuirano u razmacima 10-15 dana da bi se osigurala sjetva u periodu od jeseni pa do kasnog proljeća.[3,4]

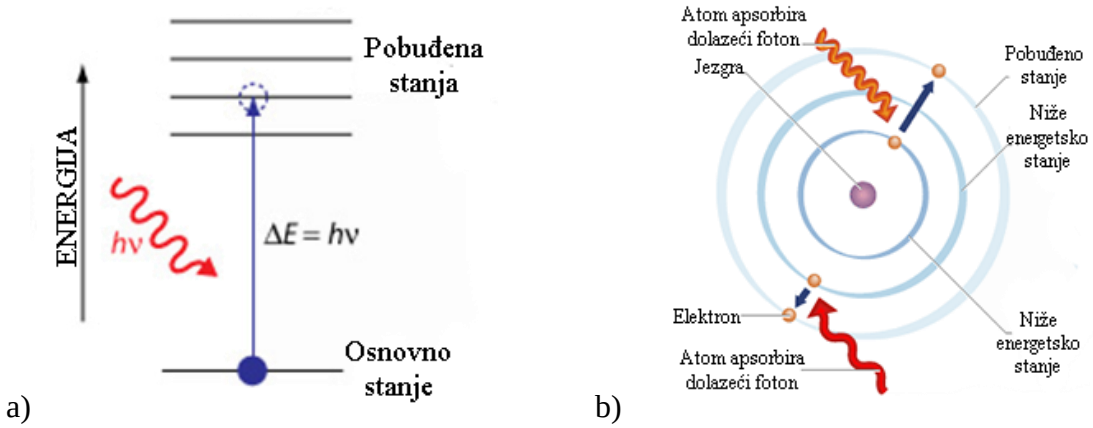


Slika 2. Sjeme kres salate[8]

1.2. Atomska apsorpcijska spektroskopija

Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS) je analitička tehnika temeljena na sposobnosti atoma da apsorbira elektromagnetsko zračenje – svjetlost. Svjetlost je oblik elektromagnetskog zračenja koje se može opisati valnim svojstvima (gibanje kroz prostor) i čestičnim svojstvima (prijenos energije). Kada određena tvar apsorbira elektromagnetsko zračenje, podliježe promjeni energijskog stanja. Međudjelovanje tvari i elektromagnetskog zračenja najlakše je objasniti opisujući zračenje kao energijske čestice, koje se nazivaju fotoni. Kada uzorak apsorbira foton, preuzima od njega energiju i prelazi iz osnovnog energijskog stanje u pobuđeno stanje (Slika 3. a).

Apsorpcijom u ultraljubičastom i vidljivom dijelu spektra (190-860 nm), dolazi do prijelaza valentnih elektrona iz osnovnog u pobuđeno stanje (Slika 3. b). Prilikom prolaska svjetlosti kroz uzorak, atomi u uzorku apsorbiraju dio ulaznih fotona te se broj fotona koji prođu smanjuje. Broj apsorbiranih fotona predstavlja analitički signal, a naziva se apsorbancija. Pri tome energija ulaznog fotona, $h\upsilon$, mora biti jednaka razlici energija, ΔE, između osnovnog i pobuđenog stanja kao preduvjet da bi došlo do apsorpcije.[9]



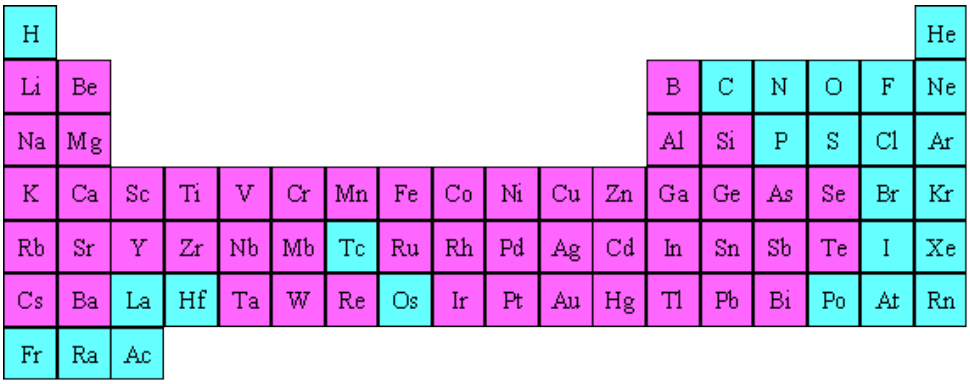
Slika 3. a) Linijski apsorpcijski spektar[9]; b) Elektroni apsorbiraju elektromagnetsko zračenje (fotone)[10]

Atomske apsorpcijske spektre karakteriziraju uski linijski spektri koji su posljedica stalne razlike između osnovnog i pobuđenih stanja atoma, a ti spektri su nadalje specifični za određene atome. Važno je napomenuti da kod atomske apsorpcijske spektroskopije atom, po pravilu, ne reemitira apsorbirano zračenje nego se to zračenje većinom otpušta kao toplina. To znači da reemitirano zračenje znatno ne utječe na rezultat analize.[9,11]

Budući da se radi o apsorpcijskoj tehnici vrijedi Lambert – Beerov zakon, što znači da je koncentraciji analita u uzorku izravno proporcionalna apsorbanciji, odnosno smanjenju intenziteta ulaznog zračenja.[12]

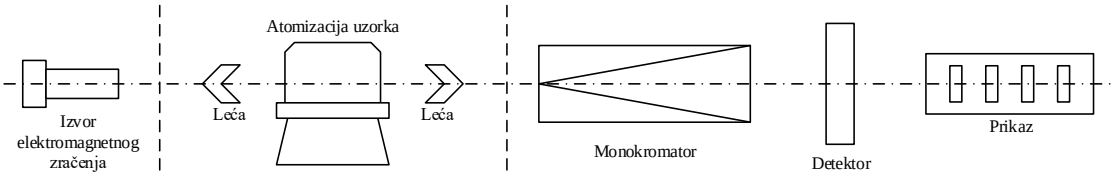
1.2.1. Atomska apsorpcijska spektroskopija, povijest i uređaj

Atomska apsorpcijska spektroskopija je prvi put korištena sredinom 19. stoljeća od strane Guystava Kirchoffa i Roberta Bunsena kod identifikacije atoma u plamenu i vrućim plinovima. Usavršena je 1955. godine nezavisnim radom dvaju znanstvenika, a prvi komercijalni uređaji pojavljuju se 60-ih godina prošlog stoljeća. Zanimljivo je da se od tada, pored svog komercijalnog napretka, sama tehnika nije mijenjala i napredovala. Danas se tehnika koristi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu gotovo svih alkalijskih, zemnoalkalijskih i prijelaznih metala (Slika 4.). Najčešće se koristi u kliničkim analizama, analizama uzoraka iz okoliša, određivanju sastava farmaceutskih pripravaka, industriji i rudarstvu.[9,13]



Slika 4. Ružičasto obojeni elementi se mogu odrediti korištenjem atomske apsorpcijske spektroskopije (AAS)[14]

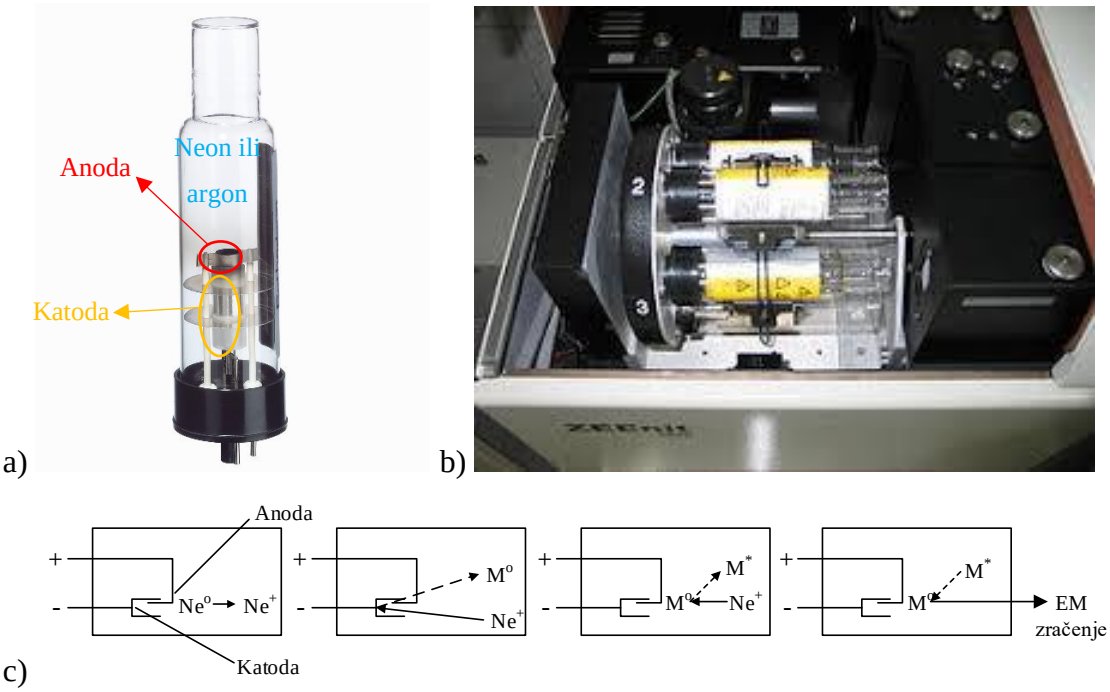
Atomski apsorpcijski spektrometar je složen uređaj. Sastavljen je iz više dijelova: izvor elektromagnetskog zračenja, dio zadužen za atomizaciju uzorka, monokromator, pojačalo, detektor te grafičko sučelje (odnosno dio koji prikazuje rezultate mjerenja tj. računalo) (Slika 5.).[13] Suvremeniji uređaji imaju i samouzorkivač, dio zadužen za automatsko uzorkovanje.



Slika 5. Shema atomskog apsorpcijskog spektrometra[13]

1.2.2. Izvor elektromagnetskog zračenja

Iako prva primjena atomske apsorpcijske spektroskopije datira od sredine 19. stoljeća, razvoj je uslijedio mnogo kasnije. Problem je predstavljala potreba za visokom rezolucijom da bi se postigla kvantitativna mjerenja (monokromatori za izolaciju spektralnih linija užih od 0,1 nm su bili preskupi). Ovome problemu je prvi doskočio A. C. Walsh, australski znanstvenik, koji je kao najbolje rješenje predstavio izvore zračenja koji emitiraju usko područje valnih duljina – žarulja sa šupljom katodom (eng. *hollow cathode lamp,* HCL, Slika 6. a).[12]



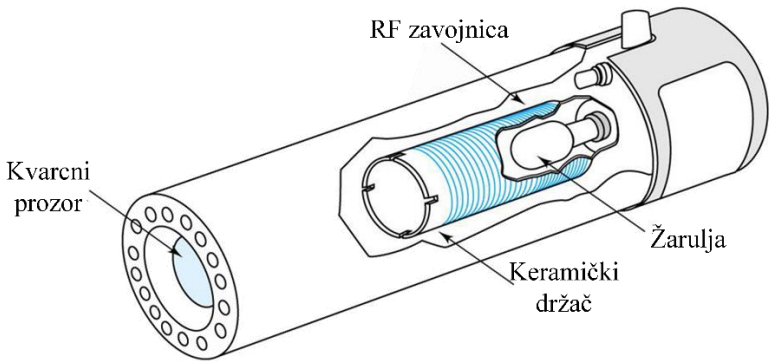
Slika 6. a) Žarulja sa šupljom katodom[15]; b) Sustav sa više žarulja u jednom uređaju[16]; c) Princip rada i emitiranja žarulje sa šupljom katodom[13]

Žarulja sa šupljom katodom je zatvorena staklena cijev ispunjena neonom ili argonom niskog tlaka. Kada se na katodu i anodu primjeni razlika potencijala od 300-400V,

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 njihovog povratka u osnovno stanje, ti atomi emitiraju elektromagnetsko zračenje točno određenih valnih duljina. Nakon povratka u osnovno stanje ti atomi se vraćaju na katodu ili se talože na staklenoj stjenci (Slika 6. c).[9]

Iz prethodnog se da zaključiti da je za analizu svakog pojedinog metala u uzorku potrebno imati odgovarajuće žarulje (više žarulja u jednom uređaju, Slika 6. b) s katodom izrađenom od čistog metala koji se analizira. Ove žarulje imaju ograničen vijek trajanja jer se radom troše. Prilikom korištenja, žarulje zahtijevaju kratko vrijeme zagrijavanja kako bi postigle konstantnu emisiju.[17]

Za hlapljivije metale žarulja sa šupljom katodom ne predstavlja dobar izvor zračenja. Kod ovih metala koristi se pouzdaniji i snažniji izvor elektromagnetskog zračenja – bezelektrodna žarulja uz izbijanje (eng. *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.[17]

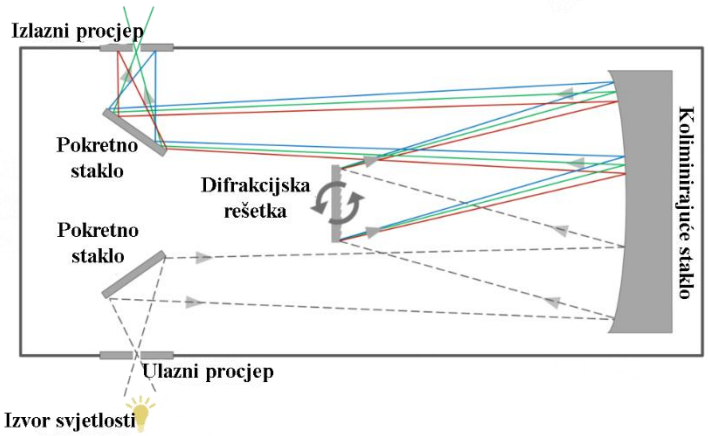


Slika 7. Bezelektrodna žarulja[18]

1.2.3. Optički sustav i detektor

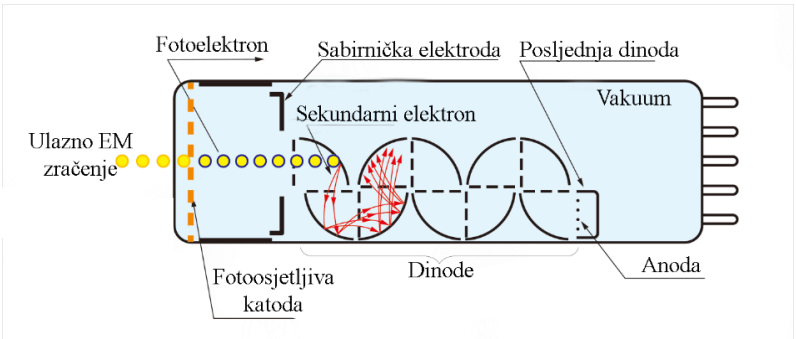
Optički dio atomskog apsorpcijskog spektrometra služi za fokusiranje i filtriranje zračenja prije i poslije uzorka. Najvažnija komponenta je monokromator, Slika 8. On od skupa valnih duljina elektromagnetskog zračenja izdvaja blizak raspon susjednih valnih

duljina, a sastavljen je od pokretnih, zakrivljenih zrcala te leća. Uzimajući u obzir da žarulja sa šupljom katodom ne emitira samo jednu valnu duljinu, monokromatorom se najčešće bira ona koja daje najveću osjetljivost (najveće smanjenje intenziteta ulaznog zračenja), ali kada je riječ o visokim koncentracijama analita u uzorku, bira se jedna od sporednih valnih duljina jer tada nije potrebna vrlo velika osjetljivost. Drugo rješenje bi bilo razrjeđivanje uzorka, koje daje točnije rezultate radi veće linearnosti Beerovog zakona.[9,13]



Slika 8. Shematski prikaz monokromatora[19]

Najčešći detektor je fotomultiplikator (Slika 9.) koji je u osnovi elektronska cijev. Njegova glavna svrha je pojačavanje i pretvaranje elektromagnetskog zračenja u električni signal. Sastoji se od fotoosjetljive katode koja pri izloženosti svjetlosnom, odnosno elektromagnetskom zračenju, emitira snop elektrona proporcionalan jačini zračenja koje pada na fotoosjetljivu katodu. Elektroni se ubrzavaju i njihov broj povećava preko niza dinoda te se struja mjeri na kolektorskoj anodi. Struja je i dalje proporcionalna ulaznom intenzitetu zračenja, ali pojačana do milijun puta.[20]



Slika 9. Shematski prikaz fotomultiplikatora[21]

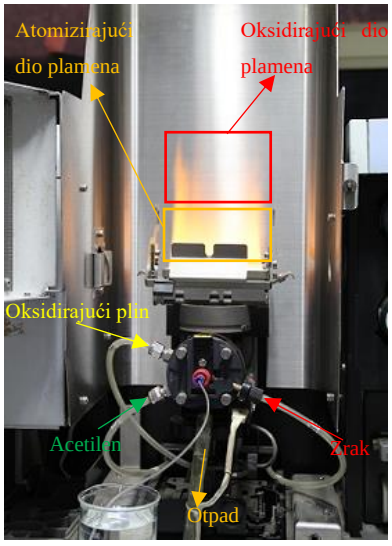
1.2.4. Atomizacija uzorka

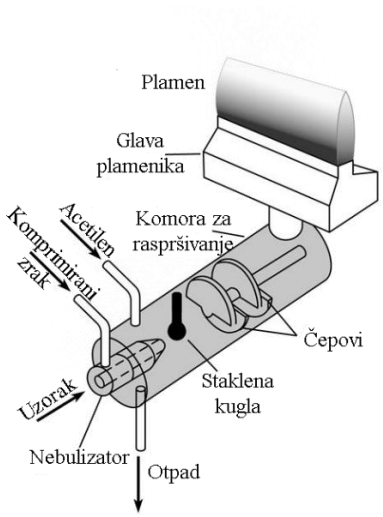
Atomizacija je proces prevođenja analita u plinovito stanje slobodnih atoma. Kod same atomizacije ne smije doći do prelaska atoma u pobuđeno energijsko stanje. Postoji više vrsta atomizacije, a odabir ovisi o potrebama analize i vrsti analita u uzorku.[17]

a) Atomizacija plamenom

Atomizacija plamenom (Slika 10. a) predstavlja tehniku koja zahtjeva konstantan protok uzorka, a potrošnja približno iznosi 2-5 mL. Komprimirani zrak prolazi kroz sustav te za sobom povlači tekući uzorak, pomoću kapilare uronjene u uzorak. Mjesto susreta ovih komponenti se zove nebulizator. Prilikom izlaska iz nebulizatora smjesa ulazi u komoru za raspršivanje, gdje udara u staklenu kuglu te se raspršuje u fini aerosol. U komori se miješa s acetilenom, a zatim dolazi do glave plamenika gdje energija plamena suši aerosol pa te suhe čestice isparavaju stvarajući slobodne atome (donji dio plamena) drugih čestica (viši dijelovi plamena) (Slika 10. b).

Najveća prednost plamene atomizacije je njena prihvatljiva cijena i velika brzina analize. Međutim, potrebna je relativno velika količina uzorka, a osjetljivost je puno manja u odnosu na elektrotoplinsku atomizaciju, jer većina čestica koja uđe u nebulizator i komoru za raspršivanje ne dođe do plamena.[9]

a) 

b) 

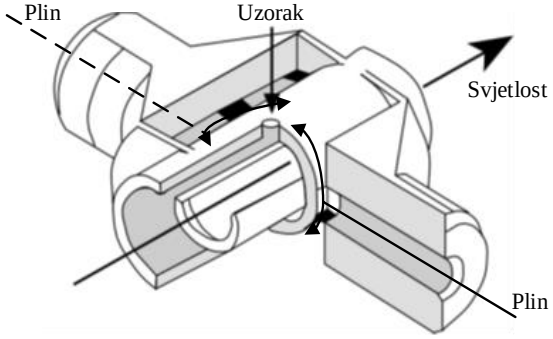
Slika 10. a) Atomizacija plamenom[22]; b) Shematski prikaz atomizacije plamenom[23]

b) Elektrotoplinska atomizacija

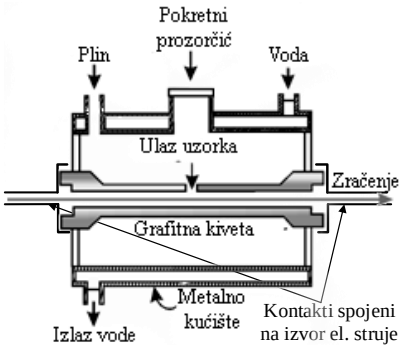
Za razliku od prethodnog načina, elektrotoplinska atomizacija daje veću osjetljivost, a temelji se na zagrijavanju pomoću električne energije. Poznata je i pod nazivom grafitna peć jer je središte procesa mala grafitna kiveta (Slika 11. a) u koju se injektira 5-50 µL uzorka pomoću automatiziranog sustava. U prvoj fazi uzorak se suši (isparava se otapalo) na približno 110 °C uz konstantan protok inertnog plina. Zatim slijedi druga faza koja se naziva piroliza ili spaljivanje. U ovoj fazi (350-1200 °C) sva se organska tvar prevodi u ugljikov(IV) oksid i vodu, a protok plina je određen programom. Konačno dolazi do atomizacije. Jakost struje naglo raste, temperatura se kreće u rasponu 2000-3000 °C. Proces se odvija u periodu od nekoliko milisekundi, protok plina je zaustavljen radi zadržavanja uzorka u prostoru optičkog puta. Slijedi čišćenje što predstavlja dodatno povećanje temperature i maksimalan protok plina da bi se zaštitila sama kiveta, a nakon toga slijedi hlađenje plinom i rashladnom vodom (Slika 11. b).[17]

Elektrotoplinska atomizacija omogućuje osjetljivo određivanja 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.[13]

a)



b)



Slika 11. a) Grafitna kiveta[24]; b) Prikaz grafitne kivete u peći[13]

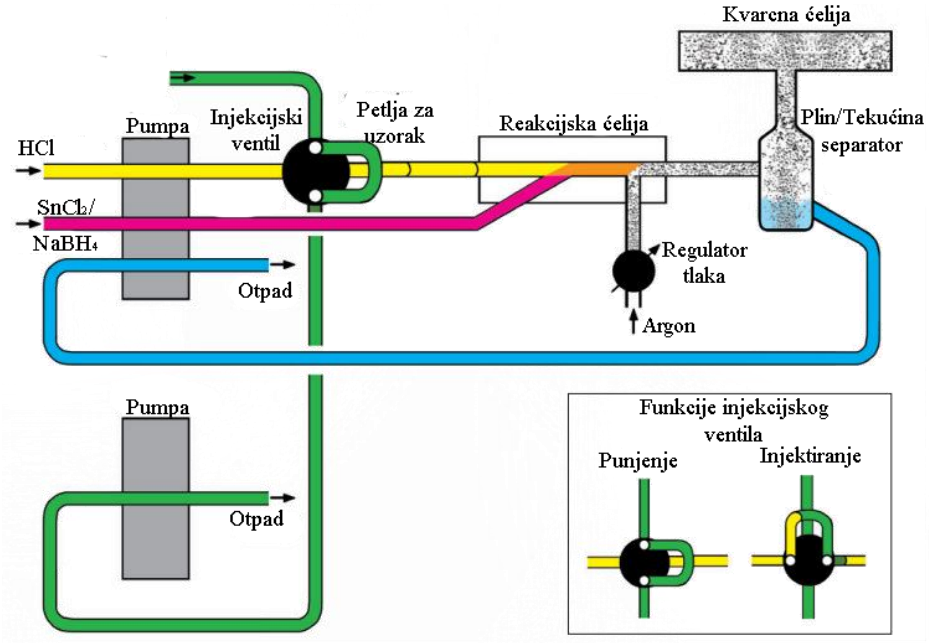
c) Tehnika hladnih para

Tehnika hladnih para se koristi samo za određivanje žive. Živa je jedini metal koji je na sobnoj temperaturi u tekućem stanju. Uz pomoć kositrovog(II) klorida, živa se prevodi u elementarno stanje, blagim zagrijavanjem se prevodi u parno stanje, a zatim 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.[25]

d) Atomizacija pomoću stvaranja hidrida

Metali poput arsena, selenija, kositra, bizmuta, telurija, germanija i olova, 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.).[17,11]



Slika 12. Princip rada hidridne tehnike[26]

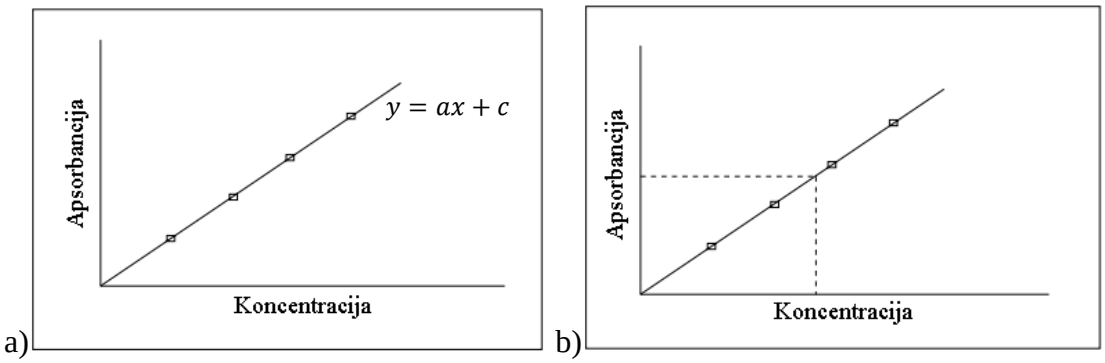
1.2.5. Interferencije i umjeravanje uređaja

Spektralne interferencije izazvane preklapanjem apsorpcijskog spektra analita i interferencija najčešće ne predstavljaju problem jer su linijski spektri jako uski. Nasuprot tomu ako je interferencija molekula, njen široki vrpčasti spektar apsorpcije, kao i raspršenje ulaznog zračenja može predstavljati ozbiljne spektralne interferencije. Kemijske interferencije može izazivati matrica uzorka, na način da ili tijekom pirolize odnosi dio analita, ili da onemogućava atomizaciju dijela analita. Kod ovih slučaja najlakše je povećati temperaturu atomizacije (kod atomizacije plamenom) ili ako je poznat sastav matice, uzeti ga u obzir pri pripravi standarda, odnosno primijeniti

maskiranje. Kod nekih se interferencija vrši modifikacija matice u vidu smanjenja (povećanja) hlapljivosti kako bi se odgodila (pospješila) atomizacija u svrhu poboljšanja rezultata mjerenja.[12,13]

Pozadinske interferencije se najčešće uklanjaju koristeći dvostruki izvor elektromagnetskog zračenja. Deuterijska lampa se koristi kao kontinuiran izvor elektromagnetskog zračenja širokog spektra valnih duljina, a apsorbancija od strane analita je zanemariva pa se smatra da samo pozadina apsorbira ovaj spektar valnih duljina. Naravno zračenje žarulje sa šupljom katodom apsorbiraju i pozadina i analit pa se apsorbancija analita dobije oduzimanjem apsorbancije kod deuterijske lampe od one kod šuplje katodne lampe.[9,13]

Da bi se atomska apsorpcijska spektroskopija koristila za analizu nepoznate koncentracije analita u uzorku potrebno je prethodno konstruirati krivulje umjeravanja. Ovaj proces se naziva kalibracija, a najčešće se vrši metodom vanjskog standarda. Ova metoda zahtjeva upotrebu standardnih otopina točno određenih koncentracija za koje se mjeri apsorbancija te se ovisnost apsorbancije o koncentraciji prikazuje grafički. Vrši se linearna regresija na osnovu danih točaka te se dobiva krivulja (pravac) umjeravanja. Prije određivanja same koncentracije analita u uzorku potrebno je odrediti jednadžbu pravca koja povezuje točke grafa, a nakon toga se lako određuje nepoznata koncentracija analita mjereći njenu apsorbanciju i uvrštavanjem te vrijednosti u jednadžbu pravca (Slika 13.).[12]

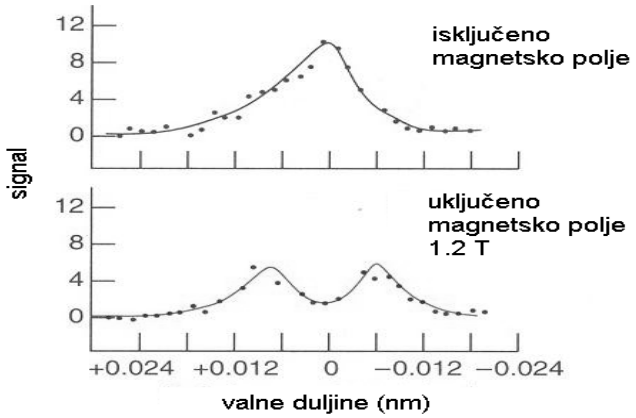


Slika 13. a) Krivulja umjeravanja; b) Određivanje nepoznate koncentracije analita[13]

Analiza često nije ovako jednostavna te je potrebno pored razrjeđivanja standardne otopine pripraviti i slijepu probu da bi se oduzela apsorbancija svih vrsta prisutnih u matrici isključujući analit. Nakon pripreme slijepe probe slijedi priprema nekoliko otopina koje se dobivaju razrjeđenjem standardne otopine. Svakoj od tih otopina se

minimalno tri puta mjeri apsorbancija, počevši od najniže prema najvećoj koncentraciji, te izračunava srednja vrijednost apsorbancije za pojedinu koncentraciju. Vrijednosti se nanose na graf i određuje se jednadžba pravca umjeravanja. U instrument se injektira prethodno pripremljeni uzorak i mjerenje se vrši minimalno 3 puta. Od srednje vrijednosti mjerenja oduzima se slijepa proba, a konačna vrijednost se uvrštava u jednadžbu pravca i računa koncentracija.[13]

Drugi način uklanjanja spektralnih interferencija je Zeemanova pozadinska korekcija, najbolja je i najskuplja korekcijska tehnika za mnoge elemente. Temelji se na Zeemanovom efektu (Slika 14.) koji polazi iz 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 dijeli se na tri komponente. Dvije su postavljene na nešto nižim i nešto višim valnim duljinama, a jedna ostaje na istoj.[28]



Slika 14. Zeemanov efekt[29]

Nepromijenjena komponenta nema odgovarajuću elektromagnetsku polarizaciju da bi apsorbirala svjetlo koje putuje paralelno s magnetskim poljem i zato je „nevidljiva“.

Zeemanova pozadinska korekcija izvodi se 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.[28]

2. MATERIJALI I METODE

2.1. Materijali

Sjeme kres salate *„Vilmorin“* (Slika 15.) je posijano u vrtnu zemlju (3 g sjemena u približno 400 g zemlje) raspoređenu u dvanaest vrtnih teglica smještenih u dva prenosiva držača. Pripravljeno je pet otopina kadmija slijedećih koncentracija: 2, 4, 8, 12 i 16 mM. Potrebno je bilo osigurati i prozračnu prostoriju sa dosta svjetlosti.



Slika 15. Sjeme kres salate (*Lepidium sativum* L.), proizvođač *„Vilmorin“*

2.2. Metode

2.2.1. Uzgoj biljke *Lepidium sativum* L.

Nakon priprave navedenih otopina kadmija, biljke se posade tako da se iz vrtne teglice ukloni mala količina zemlje od ukupne odvagane mase (približno odvagano 400 g, Slika 16. a), odvagano sjeme (Slika 16. b) se ravnomjerno rasporedi, pokrije uklonjenom zemljom te se zalije vodom. Svaka se vrtna teglica označi redom: dvije referentne (A i B) koje se nastavljaju zalijevati vodom kroz period od 30 dana, a ostale u paru za svaku koncentraciju kadmija (A i B), koje se zalijevaju po potrebi (u ovisnosti o vlažnosti zemlje) s 50 mL otopine kadmija koncentracije kako je prethodno naznačeno. Važno je naglasiti da zalijevanje otopinom kadmija počinje tek nakon pojave izdanaka. Prilog 1. prikazuje rast i razvoj biljke kroz period od 30 dana. Rast biljaka je svakodnevno praćen te su zapažene promjene i napredak rasta bilježeni u dnevniku.

a)  b) 

Slika 16. a) Vaganje količine zemlje; b) Vaganje količine sjemena

2.2.2. Priprema biljnog materijala za analizu

Nakon 30 dana zalijevanja i nadgledanja, biljke se zajedno s korijenom suše te usitnjavaju (Slika 17. a). Slijedi procedura spaljivanja suhog uzorka AY-4 kako bi se mogla provesti analiza teških metala u biljnom tkivu. Uzima se približno 1 g usitnjene, osušene kres salate i stavlja u porculanske lončiće (Slika 17 b). Zabilježi se točna odvagana masa, zbog kasnijih proračuna. Lončići s biljnim materijalom se stavljaju u žarnu (mufolnu) peć (Slika 17. c) podešenu na 500 °C te se ostave preko noći ili najmanje 8 sati. Ohlađeni pepeo se otapa u 5 mL HNO_3, po potrebi, uz zagrijavanje. Otopina se propusti kroz kiselinom zasićeni filter papir u tikvicu od 50 mL, a zatim se razrijedi do oznake ultračistom vodom.[17]

a)  b)  c) 

Slika 17. a) Usitnjena osušena kres salata; b) Vaganje približno 1 g usitnjene kres salate; c) Žarna peć ispunjena porculanskim lončićima koji sadrže usitnjenu odvagu kres salate

2.2.3. Priprema standardnih otopina kadmija i slijepe probe za analizu uzoraka atomskom apsorpcijskom spektroskopijom

Kod atomske apsorpcijske spektroskopije linearno dinamično područje krivulje umjeravanja određeno je osjetljivošću instrumenta, koja pak ovisi o apsorptivnosti svakog pojedinog određivanog elementa. Za svaki element zadana je vrijednost osjetljivosti (S) te se krivulja umjeravanja konstruira korištenjem standarda slijedećih koncentracija: 1/2 S, S, 3 S i 6 S. Za element kadmij, S iznosi 2 ppb te se krivulja umjeravanja konstruira korištenjem slijedećih koncentracija: 1 ppb, 2 ppb, 6 ppb i 12 ppb. Budući da sam instrument može kroz program vršiti određena razrjeđenja, dostatno je pripraviti samo dvije standardne otopine, primjerice koncentracije 2 ppb i 12 ppb.

Početna standardna otopina kadmija ima koncentraciju 1000 ppm te je od nje pripremljena otopina koncentracije 10 ppm tako da je 100 µL otopine od 1000 ppm preneseno u odmjernu tikvicu od 10 mL te razrijeđeno do oznake (koristeći 0,2 % HNO_3). Zatim se uzima 100 µL dobivene otopine, prenosi u odmjernu tikvicu od 10 mL te razrjeđuje do oznake da se dobije otopina koncentracije 100 ppb.

Proračunom se ovaj postupak može prikazati:

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

gdje c_s = 1000 ppm, V_s predstavlja potrebni volumen standardne otopine kadmija, c_{s1} predstavlja koncentraciju koja se želi dobiti u odmjernoj tikvici, a V_k predstavlja volumen odmjerne tikvice u kojoj se radi razrjeđenje (uvijek 10 mL). Potrebni volumen se izračunava na sljedeći način:

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

Za dobivanje otopine c_{s2} = 100 ppb, potrebni volumen otopine koncentracije c_{s1} = 10 ppm se izračunava:

$$V_{s1} = \frac{c_{s2} \times V_k}{c_{s1}} = \frac{100\ \text{ppm} \times 10\ \text{mL}}{1000 \times 10\ \text{ppm}} = 100\ \mu\text{L}.$$

Od pripravljene otopine koncentracije 100 ppb se nadalje pripravi otopina koncentracije c_1 = 12 ppb. Potrebni volumen otopine koncentracije 100 ppb se dobije izrazom:

$$V_{s2} = \frac{c_1 \times V_k}{c_{s2}} = \frac{12\ \text{ppb} \times 10\ \text{mL}}{100\ \text{ppb}} = 1200\ \mu\text{L}.$$

Otopina koncentracije $c_2 = 2$ ppb se pripravlja također koristeći otopinu koncentracije $c_{s2} = 100$ ppb, a potrebni volumen te otopine se izračunava isto kao i za otopinu koncentracije 12 ppb:

$$V_{s2} = \frac{c_2 \times V_k}{c_{s2}} = \frac{2\ \text{ppb} \times 10\ \text{mL}}{100\ \text{ppb}} = 200\ \mu\text{L}.$$

Pripravljene otopine su analizirane atomskom apsorpcijskom spektroskopijom pri valnoj duljini od 228,8 nm. Na osnovu izmjerenih apsorbancija konstruirana je krivulja umjeravanja, a tek potom se mogla provesti analiza samih uzoraka, u kojoj se koncentracija svakog uzorka morala dovesti u linearno dinamičko područje korištene metode, razrjeđenjem s 0,2 % HNO_3.

3. REZULTATI I RASPRAVA

3.1. Krivulja umjeravanja za određivanje koncentracije kadmija atomskom apsorpcijskom spektroskopijom

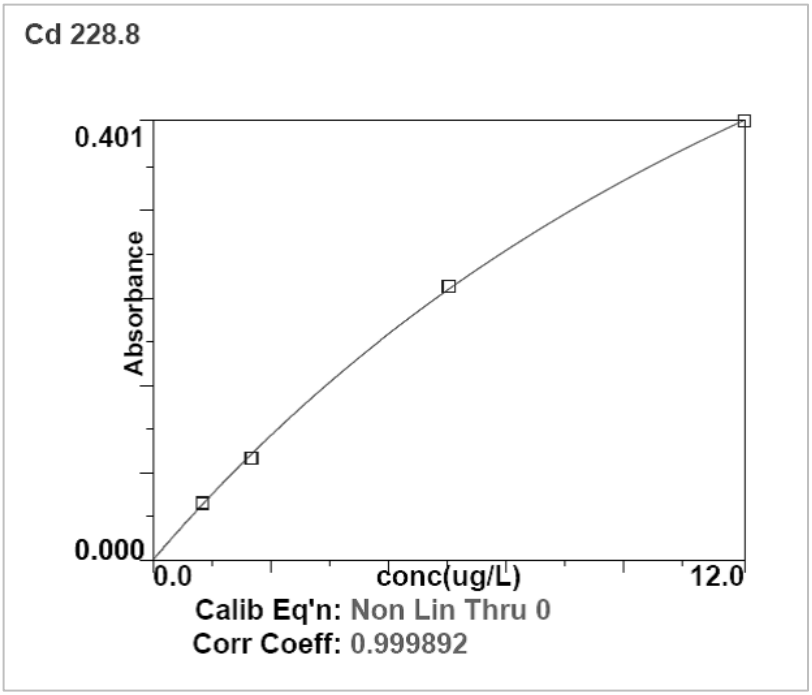
Analizom prethodno pripravljenih standardnih otopina kadmija koncentracije od 1-12 ppb korištenjem atomskog apsorpcijskog spektrometra konstruira se krivulja umjeravanja (Slika 18.). Apsorbancija se za kadmij mjeri na valnoj duljini od 228,8 nm. Podatci sa uređaja vidljivi su u Tablici 2.

Tablica 2. Podatci s atomskog apsorpcijskog spektrometra za krivulju umjeravanja

Calibration data for Cd 228.8 — Equation: Nonlinear Through Zero

ID	Mean Signal (Abs)	Entered Conc. ug/L	Calculated Conc. ug/L	Standard Deviation	%RSD
Calib Blank 1	0.0000	0	0.000	0.00	21.4
Calib Std 1	0.0520	1.0	1.030	0.00	5.4
Calib Std 2	0.0928	2.0	1.911	0.01	8.6
Calib Std 3	0.2498	6.0	6.084	0.00	1.8
Calib Std 4	0.4012	12.0	11.983	0.00	1.2

Correlation Coef.: 0.999892 Slope: 0.05288 Intercept: 0.00000



Slika 18. Krivulja umjeravanja za kadmij

3.2. Koncentracije kadmija u kres salati

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

Tablica 3. Rezultati za uzorke biljaka zalijevanih otopinama kadmija različite koncentracije

Uzorak oznaka	Masa (g)	Volumen (L)	Cd AAS γ (ppb)	Cd uzorak (ppm)
R	1,0223	0,05	203,5	**9,95**
2	1,0257	0,05	2363	**115,19**
4	1,0234	0,05	3877	**189,42**
8	1,0227	0,05	9815	**479,86**
12	1,0247	0,05	18390	**897,34**
16	1,0256	0,05	32340	**1576,64**

Koncentracija kadmija u biljci se dobiva računski uzimajući u obzir volumen u kojem je biljni materijal bio pripravljen, koncentraciju kadmija u tom volumenu te količinu odvaganog biljnog materijala. Primjer proračuna za uzorak označen oznakom „2“:
Prvenstveno je potrebno izračunati koliko je mikrograma kadmija prisutno u prethodno pripremljenom dijelu uzorka (udio je izražen u ppb ili µg/L, a volumen je konstantan i iznosi $V = 0{,}05$ L):

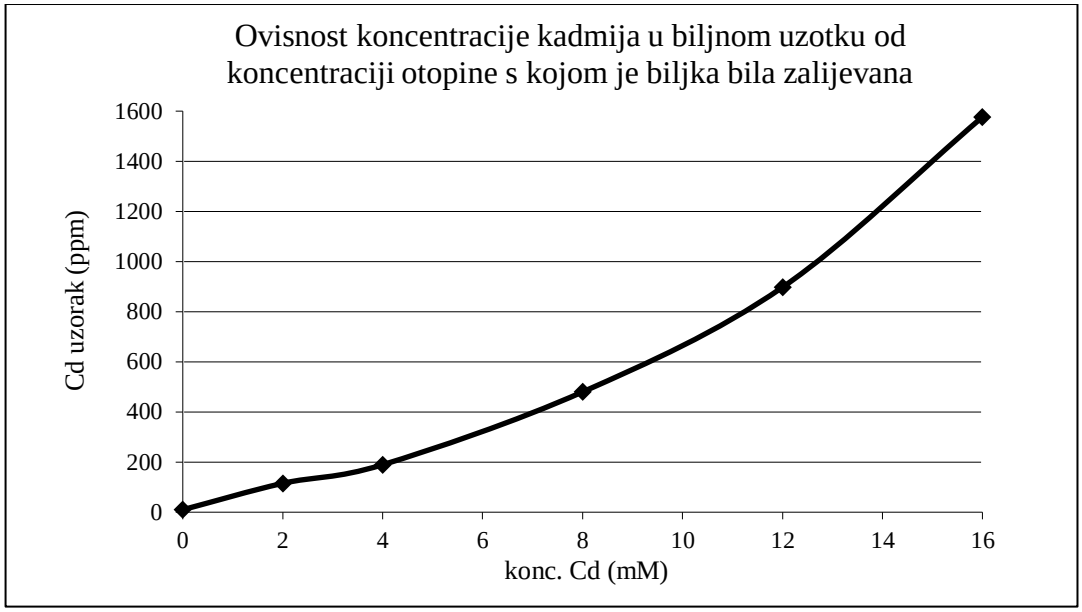
$$\gamma\,(\text{Cd AAS}) = \frac{m\,(\text{Cd})}{V};$$

$$m\,(\text{Cd}) = \gamma\,(\text{Cd AAS}) \times V = 2363\ \text{ppb} \times 0{,}05\ \text{L} = 118{,}15\ \mu\text{g}.$$

Kako bi se dobio maseni udio kadmija u biljnom materijalu, gore izračunatu masu potrebno je podijeliti s masom biljnog materijala koja je uzeta u postupku priprave materijala za analizu atomskom apsorpcijskom spektroskopijom:

$$\text{Cd uzorak} = \frac{m\,(\text{Cd})}{m\,(\text{uzorak})} = \frac{118{,}15\ \mu\text{g}}{1{,}0257\ \text{g}} = 115{,}19\ \mu\text{g/g} = 115{,}19\ \text{ppm}.$$

Iz dobivenih podataka se može konstruirati grafički prikaz ovisnosti koncentracije kadmija u biljci o koncentraciji vodene otopine kadmija s kojom je biljka bila zalijevana (Slika 19.).



Slika 19. Prikaz ovisnosti koncentracije kadmija u biljnom uzorku o koncentraciji vodene otopine kadmija s kojom je biljka bila zalijevana

Iz zabilježenih rezultata mjerenja, prikazanih u tablici 3. i na Slici 19., vidljivo je da sposobnost akumulacije kadmija u biljci ne opada povećanjem koncentracije kadmija, odnosno da nije postignuto zasićenje. S druge strane, promatrajući izgled biljaka, uočeno je sušenje i propadanje biljaka zalijevanih s otopinama koncentracije 12 mM i 16 mM, što ukazuje da će koncentracije kadmija više od 12 mM uništiti biljku.

4. ZAKLJUČAK

Obzirom na toksičnost kadmija, njegovu kancerogenost te blagu radioaktivnost; kadmij ne spada u metale poželjne u tlu. Iz ovog razloga, važno je naglasiti potrebu za fitoremedijacijom tla zagađenog kadmijem. U ovu svrhu je ispitana sposobnost biljke *Lepidium sativum* L. kao hiperakumulatora kadmija. Ova biljka je pogodna za istraživanje radi niske cijene te relativno brzog rasta i razvoja što bi značilo veću mogućnost upotrebe.

Koncentracija metala u biljnom materijalu određivana je korištenjem atomske apsorpcijske spektroskopije, tehnike koju odlikuje visoka selektivnost i osjetljivost. U slučaju kvantitativnog određivanja kadmija u biljci *Lepidium sativum* L. bila je nužna priprava uzorka spaljivanjem u žarnoj peći, kako bi se dobila homogena otopina pogodna za analizu.

Cilj ovog rada bio je istražiti moguću hiperakumulativnost biljke *Lepidium sativum* L. za kadmij. Opisan je način uzgoja biljke uz tretiranje vodenim otopinama kadmija različitih koncentracija, a potom je predstavljena je metoda priprave biljnog materijala te analize istog da bi se utvrdio konačni sadržaj kadmija u biljci. Za prikaz podataka korištena je programska podrška atomskog apsorpcijskog spektrometra i *Microsoft Excel.*

Biljka *Lepidium sativum* L. se pokazala kao jako dobar akumulator kadmija iz tla. Rezultati pokazuju da sposobnost akumulacije kadmija u biljci ne opada povećanjem koncentracije kadmija, odnosno da nije postignuto zasićenje. S druge strane, promatrajući izgled biljaka, uočeno je sušenje i propadanje biljaka zalijevanih sa otopinama koncentracija viših od 12 mM.

Obzirom na njena svojstva i eksperimentalne podatke može se zaključiti da je biljka *Lepidium sativum* L. hiperakumulator kadmija i da bi se mogla upotrebljavati za fitoremedijaciju tla u budućnosti.

5. LITERATURA

1. https://bs.wikipedia.org/wiki/Kadmij (5. ožujak 2020.)

2. https://greenfieldsjo.com/blog/garden-cress-seed-oil/ (9. ožujak 2020.)

3. R. Lešić, J. Borošić, I. Buturac, M. Ćustić, M. Poljak, D. Romić, *Povrćarstvo*, Čakovec, 2002.

4. Lj. Grlić, *Enciklopedija samoniklog jestivog bilja*, August Cesarec, Zagreb, 1990.

5. https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/168407/nutrients (9. ožujak 2020.)

6. K. Kirtikar, B. Basu, *Indian medical plants*, Lalit Mohan Basu, Allahbad, 1935.

7. P. K. Pattnaik, *Effect of Herbal Additives on Lactating Ruminants Wth or Without Subclinical Mastitis*, Orissa Univesrity of Agriculture and Technology, Bhubaneswar, 2003.

8. https://www.alwosta.tn/upload/stblog/1/75/121/75121large.jpg (7. ožujak 2020.)

9. D. Harvey, *Analitical Chemistry 2.0*, 2009.

10. https://i.pinimg.com/originals/37/02/82/370282be864672b255e4f5258d0c9488.gif (25. ožujak 2020.)

11. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry, 9th Edition*, Cengage Learning, Boston, 2017.

12. P. Worsfold, A. Townshend, C. Poole, M. Miró, *Encyclopedia of Analitical Science, 3rd Edition*, Elsevier, Amsterdam, 2019.

13. http://www.liskeard.cornwall.sch.uk/images/Liskeard-Sixth-Form/Atomic-Absorption-Spectrometry.pdf (1. ožujak 2020.)

14. https://web.nmsu.edu/~esevosti/report_files/image002.gif (7. ožujak 2020.)

15. https://kinesis-usa.com/hollow-cathode-lamp-hcl-hollow-cathode-lamp-37mm-uncoded-hcl-cuzn-37.html (1. travanj 2020.)

16. https://en.wikipedia.org/wiki/Hollow-cathode_lamp (1. travanj 2020.)

17. Perkin-Elmer. *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy*, The Perkin-Elmer Corporation, USA, 1996.

18. https://images.slideplayer.com/13/3920364/slides/slide_29.jpg (2. travanj 2020.)

19. https://miro.medium.com/max/1018/0*y9XUD0yxqSxREvwe.png (2 travanj 2020.)

20. https://en.wikipedia.org/wiki/Photomultiplier_tube (5. ožujak 2020.)

21. https://www.hamamatsu.com/preview/en/images/xx_pmt_01/img03.png (5. ožujak 2020.)

22. https://s21507.pcdn.co/wp-content/uploads/2014/04/IMG_0646.jpg (23. veljače 2020.)
23. https://images.slideplayer.com/31/9619630/slides/slide_3.jpg (23. veljače 2020.)
24. https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn%5DKDc6JoQ1-_DKUr7pdd-KijhSKJIxI-S-kM3bGbbJfJD4hGisBjFS0r55&dike=CAU (5. travanj 2020.)
25. https://www.agilent.com/cs/library/applications/AA032.pdf (21. ožujak 2020.)
26. https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/APP_PinAAcle-ToxicMetalsinWaterbyHG-CVAA.pdf (6. ožujak 2020.)
27. http://www.liskeard.cornwall.sch.uk/images/Liskeard-Sixth-Form/Atomic-Absorption-Spectrometry.pdf (26. travanj 2020.)
28. L. Kukoč Modun, *Spektroskopijske metode elementarne analize, interna skripta,* Split
29. D. C. Harris, *Quatitative Chemical Analysis, 7th Edition*, W. H. Freeman and Company, New . H. Freeman and Company, New York, 2007.

6. PRILOZI

Prilog 1. Video pokazuje rast i razvoj biljke *Lepidium sativum* L.