

Elementna analiza kurkume i mača zelenog čaja atomskom spektrometrijom uz induktivno spregnutu plazmu

Šoltić, Monika

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:320460>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Monika Šoltić

**ELEMENTNA ANALIZA KURKUME I
MAČA ZELENOG ČAJA ATOMSKOM
SPEKTROMETRIJOM UZ INDUKTIVNO
SPREGNUTU PLAZMU**

Diplomski rad

predložen Kemijskom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog zvanja

magistre kemije

Zagreb, 2021.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za analitičku kemiju Kemijskog odsjeka
Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom
prof. dr. sc. Ive Juranović Cindrić i neposrednim voditeljstvom dr. sc. Ivana Nemeta

Zahvale

Ovim putem se želim zahvaliti mojoj mentorici prof. dr. sc. Ivi Juranović Cindrić i neposrednom voditelju dr. sc. Ivanu Nemetu na pruženom znanju i iskustvu, ali i strpljenju, susretljivosti i uloženom vremenu tijekom izrade ovog diplomskog rada.

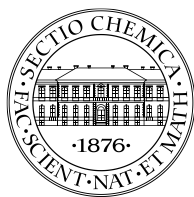
Hvala svim mojim prijateljima koji su uvijek bili uz mene, davali mi savjete i riječi podrške. Zajedno smo stvorili nevjerojatne uspomene, a studiranje učinili najboljim i najzabavnijim periodom života kojeg ću zauvijek pamtiti.

Na kraju, najveće hvala mojoj obitelji čija podrška je neizostavan dio mog uspjeha. Hvala na razumijevanju, ljubavi te riječima ohrabrenja u trenucima kada je bilo teško.

Sadržaj

| | |
|---|------------|
| SAŽETAK..... | X |
| ABSTRACT | XII |
| § 1. UVOD..... | 1 |
| 1.1. Uvod i svrha rada..... | 1 |
| § 2. LITERATURNI PREGLED | 3 |
| 2.1. Ljekovito bilje..... | 3 |
| 2.2. Esencijalni i toksični elementi | 3 |
| 2.2.1. Esencijalni elementi | 4 |
| 2.2.2. Toksični elementi..... | 7 |
| 2.3. Kurkuma..... | 9 |
| 2.3.1. Kemijska struktura i sastav | 10 |
| 2.4. Mača zeleni čaj | 14 |
| 2.4.1. Svojstva mača zelenog čaja..... | 15 |
| 2.5. Metode elementne analize ljekovitog bilja | 18 |
| 2.5.1. Atomska emisijska spektrometrija uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-AES)..... | 18 |
| 2.5.2. Spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS)..... | 20 |
| 2.6. Mikrovalno potpomognuto razaranje ljekovitog bilja | 22 |
| § 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 23 |
| 3.1. Kemikalije..... | 23 |
| 3.2. Opis instrumenata..... | 23 |
| 3.2.1. Mikrovalno potpomognuto razaranje uzorka | 23 |
| 3.2.2. Metoda ICP-AES..... | 23 |
| 3.2.3. Metoda ICP-MS | 24 |
| 3.3. Uzorci | 25 |
| 3.4. Postupak za mikrovalno potpomognuto razaranje uzorka kurkume i mača zelenog čaja | 25 |
| § 4. REZULTATI I RASPRAVA | 26 |
| 4.1. Elementna analiza kurkume..... | 26 |
| 4.1.1. Optimizacija postupka mikrovalno potpomognute razgradnje uzorka kurkume prije elementne analize..... | 26 |
| 4.1.2. Rezultati elementne analize kurkume | 30 |
| 4.2. Elementna analiza mača zelenog čaja..... | 35 |

| | |
|---|---------------|
| 4.2.1. Optimizacija postupka mikrovalno potpomognute razgradnje uzorka mače zelenog čaja prije elementne analize..... | 35 |
| 4.2.2. Rezultati elementne analize mača zelenog čaja..... | 37 |
| § 5. ZAKLJUČAK | 43 |
| § 6. LITERATURNI IZVORI..... | 44 |
| § 7. ŽIVOTOPIS | XLVIII |



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Kemijski odsjek

Diplomski rad

SAŽETAK

ELEMENTNA ANALIZA KURKUME I MAČA ZELENOG ČAJA ATOMSKOM SPEKTROMETRIJOM UZ INDUKTIVNO SPREGNUTU PLAZMU

Monika Šoltić

Ljekovita svojstva poput antioksidativnih, protuupalnih i antiseptičkih proizlaze iz bogatog nutritivnog sastava kurkume (*Curcuma longa* L.) i mača zelenog čaja (*Camellia sinensis*). Sadržaj makro- i mikroelemenata u uzorcima kurkume i mače određen je metodom atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-AES) i spektrometrijom masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS). Svi uzorci su razoreni u uređaju za mikrovalno potpomognuto razaranje smjesom dušične kiseline i vodikovog peroksida. Nakon optimiranja metode za pripremu uzorka, metodama ICP-AES i ICP-MS određen sadržaj elemenata: Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Te, Tl, V i Zn. Sadržaj makro- i mikroelemenata razlikuje se u različitim uzorcima iste biljne vrste te između kurkume i mača zelenog čaja.

(47 stranica, 12 slika, 16 tablica, 64 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj kemijskoj knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Horvatovac 102a, Zagreb i Repozitoriju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Ključne riječi: ICP-AES, ICP-MS, kurkuma, mača zeleni čaj, makroelementi, mikroelementi

Mentor: prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić

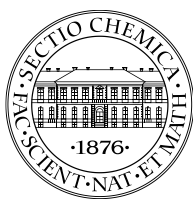
Neposredni voditelj: dr. sc. Ivan Nemet

Ocjenitelji:

1. prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić
2. prof. dr. sc. Biserka Prugovečki
3. doc. dr. sc. Đani Škalamera

Zamjena: prof. dr. sc. Sanda Rončević

Datum diplomskog ispita: 5. veljače 2021.



University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Chemistry

Diploma Thesis

ABSTRACT

ELEMENTAL ANALYSIS OF CURCUMA AND MATCHA GREEN TEA BY INDUCTIVELY COUPLED PLASMA ATOMIC EMISSION SPECTROSCOPY

Monika Šoltić

Properties such as antioxidant, anti-inflammatory and antiseptic derive from the rich nutritional composition of curcuma (*Curcuma longa* L.) and matcha green tea (*Camellia sinensis*). The content of macro- and microelements of curcuma and matcha green tea was determined by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The samples were digested using nitric acid and hydrogen peroxide in a microwave assisted digestion system. After optimizing the sample preparation method, the element content was determined by ICP-AES and ICP-MS methods: Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Te, Tl, V and Zn. The content of macro- and microelements differs within the same plant species and within turmeric and matcha green tea.

(47 pages, 12 figures, 16 tables, 64 references, original in Croatian)

Thesis deposited in Central Chemical Library, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, Zagreb, Croatia and in Repository of the Faculty of Science, University of Zagreb

Keywords: curcuma, ICP-AES, ICP-MS, major and minor elements, matcha green tea

Mentor: Dr. sc. Iva Juranović Cindrić, Full Prof.

Assistant mentor: Dr. Ivan Nemet

Reviewers:

1. Dr. Iva Juranović Cindrić, Professor
2. Dr. Biserka Prugovečki, Professor
3. Dr. Đani Škalamera, Assistant Professor

Substitute: Dr. Sanda Rončević, Professor

Date of exam: February 5th 2021.

§ 1. UVOD

1.1. Uvod i svrha rada

Od davnina čovjek je bio okružen ljekovitim biljem i koristio ga kao hranu i za liječenje bolesti. Upotreba bilja kao alternativnog načina liječenja i prevencije bolesti sve je veća. Ljekovitost biljke čine različite organske i anorganske tvari poput polifenola, alkaloida, glikozida, vitamina i elemenata, a s obzirom da njih u biljakama ima u ograničenim količinama, vrlo je važno znati koji su dijelovi biljke uporabljivi i vrijeme kada ih je najbolje brati.¹ Elementni sastav biljaka je važan zbog prehrambenih i toksikoloških aspekata s obzirom da ljekovito bilje može biti onečišćeno tijekom svojeg rasta, razvoja i prerade. Zbog važnosti poznavanja elementnog sastava ljekovitog bilja, provodi se velik broj istraživanja kako bi se odredili udjeli određenih elemenata pomoću različitih analitičkih metoda.²

Kurkuma (*Curcuma longa* L.) je izuzetno ljekovita začinska biljka aromatičnog i karakterističnog mirisa, porijeklom iz južne Azije. Žutonarančasti rizom kurkume sadrži brojne biološki aktivne sastojke, od kojih je najznačajniji kurkumin s dokazanim ljekovitim svojstvima poput antioksidativnog, protuupalnog, antimikrobnog i dr. Osim bogatog sastava polifenola, izvor je vitamina B skupine (tiamin, riboflavin i niacin) i vitamina C, kao i brojnih elemenata poput kalcija, fosfora, natrija, kalija, magnezija i željeza. Zbog navedenih sastojaka, kurkuma je vrlo važna u prevenciji i liječenju mnogih bolesti.^{2,3}

Mača čaj je mljeveni prah listova zelenog čaja biljke *Camellia sinensis*, poznat po velikom udjelu polifenola, aminokiselina i kofeina.⁴ Osim antioksidansa od kojih su najznačajniji katehini, sadrži i visok udio esencijalnih elemenata koji doprinose normalnom funkcioniranju ljudskog organizma.⁵ Kao rezultat bogatog nutritivnog sadržaja, mača zeleni čaj ima antioksidativna, protuupalna, antitumorska, antimikrobna i mnoga druga svojstva povoljna za zdravlje organizma.⁶

Cilj ovog istraživanja je određivanje esencijalnih i toksičnih elemenata u kurkumi i mača zelenom čaju. Uzorci su razoreni metodom mikrovalno potpomognutog razaranja s dušičnom kiselinom i vodikovim peroksidom, a elementni sastav određen je prethodno validiranim metodama atomske emisijske spektrometrije uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-AES) i spektrometrije masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS). Poseban naglasak

tijekom ovog rada stavljen je na optimiranje metode za pripravu uzorka prije spektrometrijskog mjerenja.

§ 2. LITERATURNI PREGLED

2.1. Ljekovito bilje

Ljekovito bilje i biljni proizvodi već tisućljećima nalaze široku primjenu u tradicionalnoj medicini, a u današnje vrijeme raste potražnja za alternativnim izvorima liječenja i prevencije bolesti. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (engl. *World Health Organization*, WHO), oko 70 do 80 % svjetske populacije koristi nekonvencionalne lijekove, uglavnom biljnog podrijetla. Osim slabije razvijenih zemalja gdje se liječenje većinom temelji na ljekovitom bilju, posljednjih godina i razvijenije se zemlje sve više okreću “zdravijem” načinu života i upotrebi ljekovitog bilja. Od 350 tisuća biljnih vrsta, čak se 12 tisuća primjenjuje u fitoterapiji.^{1,7}

Različite organske i anorganske tvari čine biljku ljekovitom, a u biljakama ih ima u ograničenim količinama. Aktivni sastojci, najčešće polifenoli, alkaloidi, glikozidi, tanini, gume, organske kiseline, vitamini i elementi, nalaze se u različitim dijelovima biljke, stoga je važno znati koji su dijelovi biljke uporabljivi i koje je optimalno vrijeme za njihovo branje.^{1,8} Na sadržaj aktivnih tvari u biljkama utječu geografska širina, nadmorska visina, sastav tla i vode, temperatura i svjetlost.¹ Unatoč velikog broja prednosti, ljekovito bilje i biljni lijekovi ponekad nisu bezopasni.⁹ Ljekovito bilje može biti zagađeno pesticidima, mikrobima, teškim metalima i otrovnim tvarima, a onečišćenje je najčešće povezano s područjem na kojem se biljke uzgajaju ili skladište.⁷ Onečišćenje biljaka otrovnim elementima najčešće je posljedica onečišćenja okoliša industrijskim i automobilskim prometom.⁹ U svrhu zaštite potrošača i bolje kvalitete ljekovitog bilja i biljnih pripravaka postoje brojne ustanove koje se bave unapređenjem proizvodnje i prerade biljaka.¹

2.2. Esencijalni i toksični elementi

Upotreba ljekovitog bilja kao načina liječenja i prevencije bolesti s godinama sve više raste. Konzumiranjem biljaka na različite načine moguće je unijeti u organizam značajne količine za zdravlje važnih elemenata i vitamina. Optimalan unos elemenata poput natrija, kalija, magnezija, kalcija, mangana, bakra, cinka i joda smanjuje mogućnost pojave mnogih bolesti pa su iz tog razloga važni za prevenciju bolesti. Vrlo važni makroelementi, čija je dnevna potreba

veća od 100 mg, čine oko 1 % tjelesne mase, su kalcij, fosfor, magnezij, sumpor, kalij i natrij. Elementi u tragovima (mikroelementi) su također neophodni za zdravlje organizma, ali njih je dovoljno manje od 100 mg dnevno jer čine manje od 0,01 % tjelesne težine. Najvažniji esencijalni elementi u tragovima su cink, željezo, mangan i bakar. Esencijalni elementi su nutrijenti potrebni za normalno funkcioniranje organizma i održavanje zdravlja. Sudjeluju u nizu biokemijski procesa, a njihov nedostatak može dovesti do pojave bolesti i niza drugih smetnji i poremećaja. Iz tog razloga, potrebno ih je unositi hranom i/ili dodacima prehrani.¹⁰

Međutim, ljekovito bilje može sadržavati i toksične elemente, čiji sadržaj najviše ovisi o mjestu uzgoja i vrsti biljke, te sposobnosti biljke da selektivno akumulira pojedine elemente. Prisutnost toksičnih elemenata u ljudskom organizmu može dovesti do akutnog ili kroničnog trovanja, stoga je važno odrediti udio pojedinih elemenata u ljekovitom bilju. Na temelju sadržaja elemenata moguće je utvrditi može li biljka imati toksične učinke na ljudsko zdravlje, ali i procijeniti preporučenu dnevnu količinu koja je nužna za normalno funkcioniranje ljudskog organizma.¹¹ Ukoliko prelaze maksimalne dopuštene vrijednosti za unos u organizam, čak i esencijalni elementi mogu biti opasni. Prema smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije postoje zahtjevi za kontrolu kvalitete ljekovitog bilja, uključujući klasifikaciju, identifikaciju, određivanje biološki aktivnih spojeva i esencijalnih elemenata, ali i identifikaciju prisutnih toksičnih elemenata.¹¹

2.2.1. Esencijalni elementi

Prisutnost određenih elemenata je nužna za normalno funkcioniranje ljudskog organizma jer oni sudjeluju u nizu različitih procesa. Iako su neki potrebni u vrlo malim količinama, njihov manjak može uzrokovati zdravstvene probleme. Ljudskom tijelu potrebne su različite količine određenih elemenata, a pravilna i uravnotežena prehrana trebala bi osigurati preporučenu dnevnu količinu (engl. *Recommended Dietary Allowances*, RDA) svih esencijalnih elemenata. Elementi ulaze u stanice, mišiće, krv i kosti, a višak se pohranjuje u različitim dijelovima tijela. Neki od njih imaju regulatornu ulogu (održavaju normalnu koncentraciju tekućine u organizmu), neki su bitni u izgradnji strukture organizma (zubi i kostiju), neki omogućavaju normalni mišićni rad, a neki su bitni za pravilno odvijanje metaboličkih procesa. Međutim, konzumiranje prevelikih količina makroelemenata ili mikroelemenata kroz duži vremenski period može uzrokovati zdravstvene probleme.¹²

Natrij je glavni element izvanstanične tekućine i zajedno s kalijem, natrijevi ioni imaju važnu ulogu u prijenosu živčanih impulsa. Također, natrij sudjeluje u procesu apsorpcije hranjivih tvari, poput glukoze i aminokiselina u tankom crijevu. Međutim, visok unos natrija povezan je s hipertenzijom i visokim krvnim tlakom.¹³

Kalcijevi, magnezijevi i kalijevi ioni u kombinaciji djeluju suprotno, smanjuju te parametre i na taj način pomažu u sprječavanju nastanka srčanog i moždanog udara. Kalcij je bitan za održavanje jakih i zdravih kostiju te igra važnu ulogu u kontrakciji i opuštanju mišića, kaskadnoj reakciji zgrušavanja krvi i apsorpciji vitamina B12. Kalij je isto tako važan u kontroli kontrakcije skeletnih mišića i prijenosu živčanog impulsa. Kalij i kalcij imaju važnu ulogu u poboljšanju mineralizacije kostiju i smanjenju njihove razgradnje, a kalcij je zajedno s fosforom neophodan za stvaranje i održavanje zdravlja kostiju i zubi. Osim toga, kalcij ima bitnu ulogu kod zgrušavanja krvi i kontrakcije mišića.¹³

Bakar, cink, magnezij i molibden neki su od elemenata bitnih za funkciju brojnih enzima. Magnezij doprinosi sintezi DNA i RNA tijekom proliferacije stanica, bitan je za normalno funkcioniranje živaca i srca, kao i oslobađanje inzulina i konačno djelovanje inzulina na stanice, smanjenje krvnog tlaka širenjem arterija i sprječavanje abnormalnog srčanog ritma.^{13,14}

Mangan je također dio strukture nekih enzima. Ima važnu ulogu stvaranju kostiju, hrskavice i vezivnog tkiva, pomaže pri zgrušavanju krvi, sudjeluje u regulaciji spolnih hormona i šećera u krvi, ali i sintezi bjelancevina i genetskog materijala.¹⁵

Jedan od elemenata u tragovima, krom, ima ulogu u metabolizmu ugljikohidrata, lipida i proteina. Važan je za održavanje koncentracije glukoze u krvi i za rad inzulina te djeluje sinergistički s inzulinom kako bi omogućio primanje glukoze i njen ulazak u stanicu.¹⁶

Željezo ima važnu ulogu u imunološkom sustavu, kognitivnom razvoju, regulaciji temperature i metabolizmu. Sastavni je dio mioglobina i hemoglobina te sudjeluje u prijenosu kisika iz pluća u krv i dalje putem krvi u tkiva.¹¹

Selenij ima ulogu u brojnim biološkim funkcijama i za razliku od većine mikroelemenata koji djeluju kao kofaktori enzima, selenij je ugrađen u sastav netipične aminokiseline selenocisteina. Grupa proteina koji imaju takvu netipičnu aminokiselinu selenocistein kao funkcionalni dio polipeptida nazivaju se selenoproteini, a jedan od takvih je glutation-peroksidaza.¹⁷

Kobalt djeluje kao kofaktor enzima u katalitičkim reakcijama i uključen je u proizvodnju eritropoetina, hormona koji potiče stvaranje eritrocita.¹⁴

Litij organizmi unose iz prehrambenih izvora, a njegovi spojevi se koriste u psihofarmakologiji. U višim koncentracijama je učinkovit i pomaže u liječenju nekih bolesti te neka istraživanja pokazuju da nedostatak litija može dovesti do ozbiljnih psihopatoloških problema kod ljudi.¹⁸

Za razliku od esencijalnih elemenata, srebro nije potrebno ljudskom organizmu za njegovo normalno funkcioniranje, no unatoč tome ima dugu povijest primjene u medicini kao antibiotik.¹⁹

Postoje i elementi koji imaju pozitivne učinke na ljudsko zdravlje, no prevelike količine, određeni oblik ili valentno stanje elementa mogu biti opasni. Jedan od takvih je vanadij koji se normalno nalazi u ljudskom organizmu i smatra se važnim elementom u tragovima. Općenito ima nisku toksičnost, međutim njegova toksičnost raste povećanjem valentnog stanja, pri čemu je vanadij(V) oksid najotrovniji. Glavni izvor potencijalno toksičnih učinaka koje uzrokuje vanadij je izloženost radnika u industrijama koje prerađuju ili koriste spojeve vanadija.²⁰

Spojevi galija sve su značajniji u području kliničke medicine gdje se radioaktivni galij i stabilni galijev nitrat koriste kao dijagnostička i terapijska sredstva. Iako nije štetan u malim količinama, galij se ne smije konzumirati u velikim dozama i neki spojevi galija mogu zapravo biti vrlo opasni.²¹

Istraživanja pokazuju da bizmut ima nisku toksičnost za ljude. Razvijeni su i kompleksi bizmuta koji se koriste se u klinikama za liječenje raznih bolesti i u većini slučajeva terapije bizmutom pokazuju visoku terapijsku učinkovitost i malo nuspojava. Unatoč tome, postoje i zabilježeni slučajevi toksičnosti bizmuta uzrokovane prevelikom dozom.²²

Nikal je element neophodan za pravilno funkcioniranje ljudskog tijela, bitan je za hormonalnu aktivnost i sudjeluje u metabolizmu lipida, no velike koncentracije nikla mogu izazvati razne nuspojave. Poznati štetni učinci nikla su genotoksičnost, hematotoksičnost, teratogenost, imunotoksičnost i karcinogenost.²³

Preporučene dnevne količine nekih elemenata postavljene su na temelju znanstvenih studija i eksperimenata objavljenih u stručnim časopisima. Ukoliko nema dovoljno znanstvenih podataka za postavljanje RDA (engl. *Recommended Dietary Allowances*), tada se koristi AI vrijednost (engl. *Adequate Intake*). Vrijednost UL (engl. *Tolerable upper intake level*) predstavlja najviši udio dnevnog unosa određenog elementa koji ne predstavlja rizik i ne uzrokuje štetan učinak na zdravlje. Vrijednosti RDA, AI i UL nekih elemenata navede su u tablici 1.²⁴

Tablica 1. Vrijednosti RDA, AI i UL za Cr, Cu, I, Fe, Mn, Mo, Se i Zn iskazane u mg/dan.²⁴

| Element | RDA | AI 19-50 godina | UL > 19 godina |
|-----------------|--|------------------------|----------------|
| Krom | - | 0,034 (M) 0,025 (Ž) | - |
| Bakar | 0,9 | - | 10 |
| Jod | 0,15 | - | 1,1 |
| Željezo | 8 (M i Ž > 51 godinu) 18 (Ž 19-50 godina) | - | 45 |
| Mangan | - | 2,3 (M) 1,8 (Ž) | 11 |
| Molibden | 0,045 | - | 2 |
| Selenij | 0,055 | - | 0,4 |
| Cink | 11 (M) 8 (Ž) | - | 40 |

* M - vrijednosti prikazane za muškarce, Ž - vrijednosti prikazane za žene

* Vrijednosti su izračunate u mg/kg na dan i pomnožene sa 70 kg (prosječna tjelesna težina odrasle osobe) kako bi se dobile vrijednosti u mg/dan

2.2.2. Toksični elementi

Ljekovite biljke mogu biti izvor i toksičnih elemenata, a njihova pristunost u organizmu ima negativan učinak na zdravlje. Iz tog razloga treba biti oprezan i provesti brojne analize kako konzumiranjem ljekovitog bilja i razih biljnih pripravaka ne bi ljudski život doveli u opasnost.²

Toksikološke studije su pokazale da kadmij, olovo, živa, arsen i kositar pripadaju među najtoksičnije metale, međutim ne treba se zanemariti toksičnost ostalih metala koji pri prevelikim koncentracijama također mogu biti opasni za ljudski organizam.²⁵ Neke studije su pokazale da spojevi nikla, arsena, kadmija i berilija mogu biti kancerogeni, a Međunarodna agencija za istraživanje raka (engl. *International Agency for Research on Cancer*, IARC) utvrdila je da spojevi arsena inhibiraju popravak DNA i pokazuju genotoksičnost i mutagenost.²⁶

Dugotrajno izlaganje kadmiju može biti opasno zbog njegovog dugog vremena zadržavanja u organizmu. On može izazvati oštećenja jetre, bubrega i pluća, a s obzirom na visok afinitet prema biološkim ligandima, može poremetiti i sintezu nukleinskih kiselina i oksidativnu fosforilaciju, ali i inhibirati rad mnogih enzima. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji najveća dopuštena koncentracija kadmija u ljekovitim biljkama je $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$.^{26,27}

Toksično djelovanje olova temelji se na njegovom zadržavanju u pojedinim dijelovima tijela, najviše u kostima i živčanim stanicama središnjeg i perifernog živčanog sustava, jetri i bubrezima. Inhibira rad brojnih enzima koji sadrže tiolne skupine i ometa sintezu hemoglobina.²⁶ Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji najveći dopušteni maseni udio olova u ljekovitim biljkama je 10 mg kg^{-1} .²⁷

Živa utječe na središnji živčani sustav i poznata je po svojem teratogenom djelovanju. Spojevi žive su otrovni, osobito metil-živa, a najznačajniji put izloženosti ljudi živi je konzumacijom morskih plodova.²⁶

Talij nema nikakvu biološku funkciju u ljudskom organizmu i smatra se jednim od najotrovnijih teških metala. Glavni izvor talija su onečišćeni okoliš i hrana, uglavnom povrće uzgajano na kontaminiranom tlu.²⁸

Aluminij je jedan od najrasprostranjenijih metala u okolišu i možemo ga unijeti udisanjem aerosola ili čestica, lijekovima, hranom te materijalima i predmetima koji dolaze u dodir s hranom i vodom. U većini slučajeva nije opasan, koristi se u medicini, može stimulirati rast i razvoj nekih tkiva, pridonosi procesima oporavka i regeneracije i utječe na aktivnost enzima, no ukoliko njegova koncentracija u organizmu poraste uzrokuje neurološke poremećaje kao što je primjerice Alzheimerova bolest, kao i kardiovaskularne bolesti te oštećenja mozga.^{2,29}

Rubidijeve soli su uglavnom inertne i njihova toksičnost gotovo uvijek dolazi od aniona (OH^- , F^-), a ne od Rb^+ . Međutim, ako rubidij unesemo u organizam u većim količinama on može biti opasan za ljudsko zdravlje.³⁰

Telurij pokazuje svojstva slična onim elementima za koje je poznato da su toksični za ljudski organizam, no potrebne su relativno visoke koncentracije prije nego što se uoče bilo kakvi toksični učinci.³¹

Kardiovaskularne bolesti, metabolički, neurološki i mentalni poremećaji mogu biti posljedica unosa barija, a važan čimbenik koji utječe na razvoj takvih štetnih učinaka je topljivost barijevih spojeva. Oni topljivi su opasniji za ljudsko zdravlje od netopljivih zbog bolje apsorpcije u organizmu.³²

Toksični učinci zbog predoziranja stroncijem do sada nisu zabilježeni i neka istraživanja pokazuju da stroncij utječe na poboljšanje stanja kostiju. Jedini spoj koji se smatra toksičnim za ljude već i u malim količinama je stroncijev kromat.^{33,34}

2.3. Kurkuma

Kurkuma (*Curcuma longa* L.) je biljka iz porodice đumbira (*Zingiberaceae*), a zbog žute boje podanka poznata je još i kao indijski šafran. To je gomoljasta višegodišnja biljka koja raste u tropskom području južne Azije i koristi se kao začim.² Stabljika kurkume je uspravna i razgranata i može narasti do 1 m visine. Ima duguljaste listove i dvospolne cvjetove žute boje. Rizom, iz kojeg se sušenjem i mljevenjem dobiva kurkuma prah, izvana je žućkastosmeđe boje, dok je unutrašnjost intenzivno žutonarančasta. Rizom kurkume je izrazito aromatičan i karakterističnog mirisa, pomalo gorkog okusa i bogat brojnim aktivnim sastojcima (slika 1).^{35,36}



Slika 1. Rizom kurkume iz kojeg se dobiva kurkuma prah.

U svijetu je do sada identificirano čak 133 vrsta kurkume koje se koriste u prehrani, lijekovima, ali i kozmetici. Oko 40 vrsta roda, uključujući *C. longa*, autohtono je u Indiji, što ukazuje na indijsko podrijetlo.^{35,37} Zemljopisni uvjeti područja u kojem se uzgaja i značajke tla mogu znatno utjecati na rast i elementni sastav biljke.² Iako se kurkuma sada uzgaja širom Azije, u Istočnoj i Zapadnoj Africi, Madagaskaru, Karipskim otocima i Srednjoj Americi, Indija je i dalje najveći svjetski proizvođač i izvoznik kurkume. Kurkuma se izvozi kao suha, svježa ili u prahu, ali i kao ekstrakt kurkume u obliku oleorezina te kao ulje kurkume.³⁷ Tradicionalno se koristi zbog svojih antioksidativnih, protuupalnih, antimikrobnih, antikancerogenih i mnogih drugih svojstava. Zbog svojeg antioksidativnog djelovanja, često se koristi u kozmetici u kremama, serumima i drugim proizvodima za smanjenje problema pri starenju kože.³⁸ Ljekovita svojstva kurkume poznata su još iz davnina, međutim točan mehanizama djelovanja i određivanje biološki aktivnih komponenata istražuju se tek odnedavno.³⁹

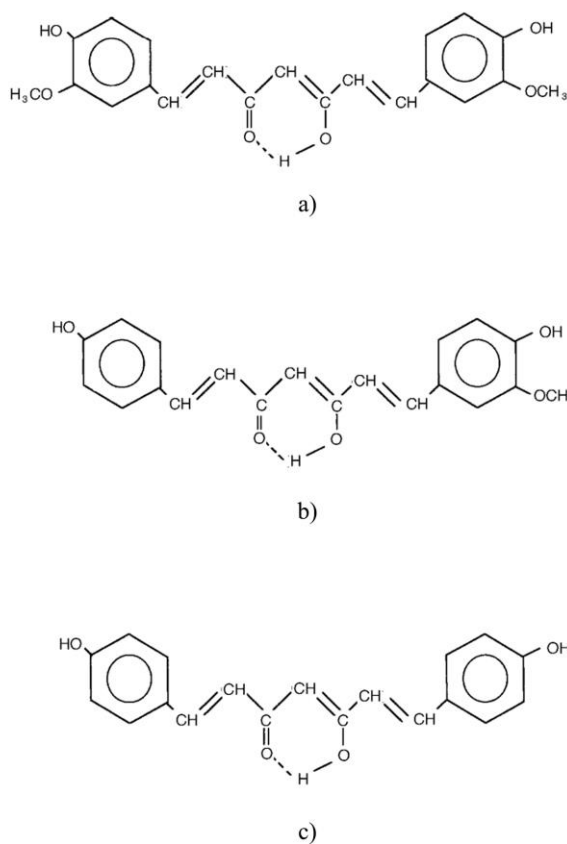
2.3.1. Kemijska struktura i sastav

Analizom uzoraka kurkume identificirano je oko 235 spojeva, a kvantitativni i kvalitativni sastav razlikuje se ovisno o mjestu i uvjetima uzgoja, te o sorti.⁴¹ U tablici 2 prikazani su rezultati nekoliko istraživanja koja pokazuju vrlo sličan udio ugljikohidrata, proteina, masti i vode u uzorcima kurkume.

Tablica 2. Udio ugljikohidrata, proteina, masti i vode u uzorcima kurkume.^{2,37,35}

| | Udio / % (Peter 2001) | Udio / % (Koocaadam i sur. 2017) | Udio / % (Prasad i Aggarwal 2011) |
|-----------------------|----------------------------------|---|--|
| Ugljikohidrati | 69,9 | 69,4 | 69,9 |
| Masti | 8,9 | 5,1 | 10 |
| Proteini | 8,5 | 6,3 | 8 |
| Voda | 6,0 | 13,1 | 9 |

Osim bogatog nutritivnog sastava, kurkuma je poznata po svojoj karakterističnoj žutoj boji zahvaljujući kurkuminu molekulske formule $C_{21}H_{20}O_6$. Kurkumin [1,7-*bis* (4-hidroksi-3-metoksi-fenil)-1,6-heptadien-3,5-dion], demetoksi kurkumin [4-hidroksicinamoil-(4-hidroksi-3-metoksi-cinamoil)] i *bis*-demetoksi kurkumin [bis-(4-hidroksicinamoilmetan) zajedno čine pigment koji daje karakterističnu žutu boju rizoma čije strukture su vidljive na slici 2, a radi se o srodnim pigmentima poznatim pod zajedničkim nazivom kurkuminoidi.³⁷



Slika 2. Kemijska struktura (a) kurkumina, (b) demetoksi kurkumina i (c) *bis*-demetoksi kurkumina.

Istraživanja provedena na 8 uzoraka *C. longa* pokazuju da najveći udio svih kurkuminoida čini kurkumin (tablica 3).³⁷

Tablica 3. Udio kurkuminoida u uzorcima kurkume.^{2,38,40}

| KURKUMINOIDI | Udio / % (Kocaadam i sur. 2017) | Udio / % (Gupta i sur. 2013) | Udio / % (Li i sur. 2011) |
|----------------------------|---|--|-------------------------------------|
| Kurkumin | 77 | 71,5 | 71,5 |
| Demetoksikurkumin | 17 | 19,4 | 19,4 |
| bis-metoksikurkumin | 3 | 9,1 | 9,1 |

Najviše istraživanja je zapravo i provedeno za kurkumin, iako i ostale dvije vrste kurkuminoida prikazanih u tablici 3 također pokazuju biološku aktivnost.^{2,41} Kurkuminoidi, koji su glavni bioaktivni spojevi kurkume, posjeduju antioksidacijska svojstva i spadaju u skupinu diarilheptanoida. Osim kurkuminoida, veći udio u sastavu kurkume čine fenolni spojevi i terpenoidi. Prisutni su i monoterpeni, seskviterpeni, diterpeni, triterpenoidi, steroli, alkaloidi te mnogi drugi biološki aktivni spojevi. Osušeni rizom kurkume sadrži oko 1,5-5 % esencijalnih ulja s najvećim udjelom seskviterpena kao što su *ar*-turmeron (2-metil-6-(4-metilfenil)hept-2-en-4-on), α -turmeron (2-metil-6-(4-metilcikloheksa-2,4-dien-1-il)hept-2-en-4-on), β -turmeron (2-metil-6-(4-metilidencikloheks-2-en-1-il)hept-2-en-4-on), turmeronol A i turmeronol B, odgovorni za okus i miris kurkume.^{35,41} Ljekovita svojstva kurkume proizlaze većinom iz kurkumina i dosadašnja istraživanja potvrđuju njegovo pozitivno djelovanje na ljudsko zdravlje.^{2,41} Kurkumin kod zdravih ljudi smanjuje stres, pozitivno utječe na kognitivne funkcije, raspoloženje, budnost i zadovoljstvo, ali i umor izazvan psihološkim stresom.^{39,42} Dokazano je da kurkumin zahvaljujući svojoj polifenolnoj strukturi može pozitivno utjecati na prevenciju i razvoj nekih bolesti. Unatoč biološkoj aktivnosti, jedan od glavnih problema kurkumina je slaba bioraspoloživost koja je posljedica slabe apsorpcije, brzog metabolizma i brzog izlučivanja.^{2,39}

Nutritivni sastav kurkume ukazuje na bogat izvor vitamina među kojima se ističu vitamini B skupine (tiamin, riboflavin i niacin) i askrobinska kiselina, odnosno vitamin C. Također, kurkuma je bogat izvor brojnih elemenata poput kalcija, fosfora, natrija, kalija, magnezija i željeza.² Maghrabi je metodom ICP-AES odredio udio metala u uzorku kurkume kojeg je prethodno razorio metodom mikrovalno potpomognutog razaranja uz dušičnu kiselinu i vodikov peroksid, a rezultati su prikazani u tablici 4.⁴³

Tablica 4. Elementna analiza uzorka kurkume.^{43,44}

| Element | LITERATURA | |
|--|-----------------|---------------------|
| | Maghrabi (2014) | Silva i sur. (2016) |
| $w > 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ | | |
| Ca | 1851 | 1200 ± 100 |
| K | 24120 | 19900 ± 400 |
| Mg | 2062 | 1200 ± 100 |
| $w < 1000 \text{ mg kg}^{-1}$ | | |
| Al | 731,9 | ND |
| Ba | 60,42 | 20 ± 2 |
| Cd | 0,36 | 0,04 ± 0,02 |
| Co | 0,87 | 0,19 ± 0,01 |
| Cr | 2,68 | 1,00 ± 0,07 |
| Cu | 6,01 | 7,14 ± 0,08 |
| Fe | 726 | 327 ± 5 |
| Mn | 570,6 | 193 ± 5 |
| Na | 132,7 | 76 ± 3 |
| Ni | 3,45 | 0,7 ± 0,2 |
| Rb | ND | 30,5 ± 0,7 |
| Se | 1,6 | ND |
| V | 0,66 | ND |
| Zn | 37,33 | 15,8 ± 0,7 |

*ND (nije detektirano)

Slične vrijednosti za udio elemenata dobili su i Silva i sur. Udio Ba, Ca, Co, Cr, Fe, K, Na, Mg, Mn, Rb, Se, V i Zn odredili su metodom neutronske aktivacije, a udio Cd, Cu i Ni metodom ICP-AES.⁴⁴ Iako se neke vrijednosti razlikuju, oba istraživanja pokazuju da u uzorcima kurkume ima najviše K (19900-24120 mg kg⁻¹), nakon kojeg slijede Ca i Mg (Ca u rasponu 1200-1851 mg kg⁻¹ te Mg u rasponu 1200-2062 mg kg⁻¹).^{43,44}

2.4. Mača zeleni čaj

Zeleni čaj (*Camellia sinensis*) je jedan od najstarijih i najpopularnijih pića na svijetu. Uzgaja se uglavnom u Japanu, Kini i Tajvanu, a postoje mnogo različitih vrsta koje su najčešće klasificirane prema okusu. Način uzgoja i obrade biljke *Camellia sinensis* utječe na različita svojstva čajeva, na njihovu biološku aktivnost, a time i učinak na ljudsko zdravlje. Najpopularnija vrsta zelenog čaja koji se konzumira je senča, klasični zeleni čaj, a različitom obradom senče dobivaju se i druge vrste poput banča, mača i *gyokuro* čaja. Od iste biljke se dobiva i crni čaj, no listovi i pupoljci crnog čaja nakon sušenja prolaze proces fermentacije što mu daje jači i gorak okus. S druge strane, zeleni čaj ima blaži okus jer listovi i pupoljci ne prolaze proces fermentacije, nego se pare nakon sušenja.⁶

Unatoč svojoj dugoj tradiciji, mača čaj se pojavio na tržištu relativno nedavno. Iako se dobivaju iz iste biljke, mača čaj se razlikuje od klasičnog zelenog čaja. Mača je zapravo fini prah dobiven mljevenjem listova biljke *Camellia sinensis* (slika 3).^{45,46}



Slika 3. Mača prah dobiven iz listova biljke *Camellia sinensis*.

Visok udio aminokiseline L-teanina i kofeina, a nizak udio katehina daju mača čaju umami okus, za razliku od drugih vrsta zelenog čaja u kojima sadržaj katehina pojačava gorak okus. Iz tog se razloga mača smatra najaromatičnijim zelenim čajem najviše kvalitete. Bogat je polifenolima, aminokiselinama i kofeinom pa se većina istraživanja bavi određivanjem udjela i svojstvima navedenih spojeva.^{4,47}

Kako bi se biljci omogućilo stvaranje većih količina biološki aktivnih spojeva, grmovi biljke *Camellia sinensis* se otprilike 20 dana prije berbe prekriju i rastu u sjeni, bez prisutnosti direktnih sunčevih zraka. Na taj se način potiče proizvodnja klorofila i aminokiseline L-teanina zbog čega je mača zeleni čaj katakteristične boje i okusa. Sadržaj biološki aktivnih spojeva ovisi i o sezoni berbe lišća pa se listovi za proizvodnju mače beru četiri tjedana prije prave berbe, dok svaka sljedeća berba branjem zrelijih listova daje čaj niže kvalitete što uvelike utječe na okus i kvalitetu čaja, odnosno količinu biološki aktivnih spojeva. Nakon berbe, listovi se pare i suše, a zatim melju u fini prah pri čemu se dobiva mača čaj kao finalni proizvod.⁴

2.4.1. Svojstva mača zelenog čaja

Dosadašnja istraživanja ukazuju na antitumorske, antioksidativne, protuupalne, antimikrobne, antivirusne, antidijabetičke i mnoge druge učinke zelenog čaja.⁶ Dokazani pozitivni učinci rezultat su prisutnosti antioksidansa, poput polifenola koji čine i do 30 % suhe mase mače, a uključuju velik broj spojeva poput katehina, flavonola, flavandiola i fenolnu kiselinu.⁴ Osim toga, redovitim konzumiranjem mača zelenog čaja moguće je unijeti u organizam dovoljne količine makroelemenata i elemenata u tragovima koji doprinose normalnom funkcioniranju ljudskog organizma.

Koláčková i sur. metodom ICP-MS odredili su udio velikog broja elemenata u mača zelenom čaju, među kojima se udjelom ističu Ca, K i Mg ($2310 \pm 20 \text{ mg kg}^{-1}$ Ca, $2750 \pm 20 \text{ mg kg}^{-1}$ K i $1760 \pm 10 \text{ mg kg}^{-1}$ Mg).⁵ Koch i sur. su metodom atomske apsorpcijske spektrometrije također odredili visok udio Ca, K i Mg ($1916 \pm 142 \text{ mg kg}^{-1}$ Ca, $10754 \pm 703 \text{ mg kg}^{-1}$ K i $2084 \pm 215 \text{ mg kg}^{-1}$ Mg), ali i Mn ($918 \pm 40,6 \text{ mg kg}^{-1}$).⁴⁸

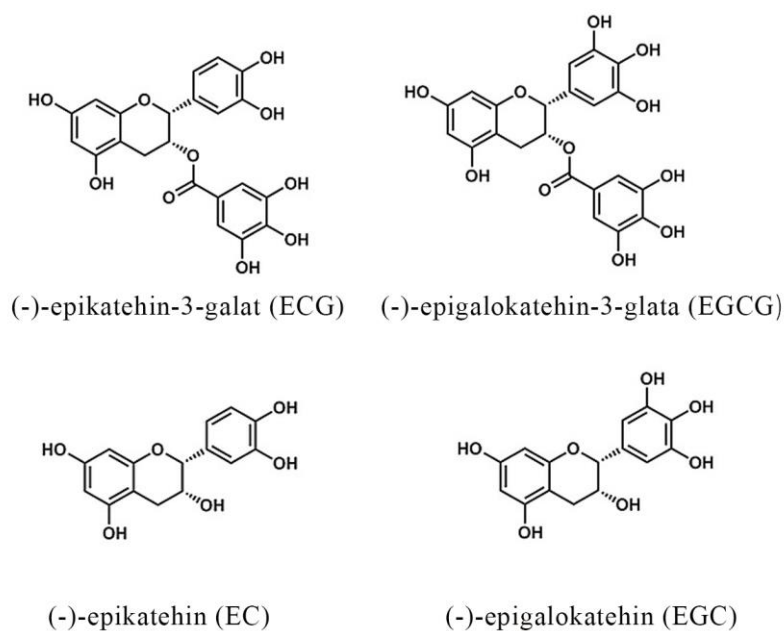
Oba istraživanja pokazuju vrlo slične rezultate što je vidljivo u tablici 5, no ipak razlike postoje s obzirom na mjesto uzgoja i način obrade mača zelenog čaja koji uvelike utječu na elementni sastav, ali i udio ostalih biološki aktivnih spojeva.

Tablica 5. Elementna analiza mača zelenog čaja.^{5,48}

| Element | LITERATURA | |
|------------------------------|--|--------------------|
| | Koláčková i sur. (2020) – “Asagiri” uzorak mače | Koch i sur. (2018) |
| $w > 900 \text{ mg kg}^{-1}$ | | |
| Ca | 2310 ± 20 | 1916 ± 142 |
| K | 2750 ± 20 | 10754 ± 703 |
| Mg | 1760 ± 10 | 2084 ± 215 |
| Mn | 17,1 ± 1,0 | 918 ± 40,6 |
| $w < 900 \text{ mg kg}^{-1}$ | | |
| Ag | 0,0304 ± 0,0005 | ND |
| Al | 12,1 ± 0,1 | ND |
| As | 0,0242 ± 0,0004 | ND |
| Ba | 7,02 ± 0,10 | ND |
| Cd | 0,0014 ± 0,0001 | 0,00239 ± 0,00017 |
| Co | 0,0223 ± 0,0005 | ND |
| Cr | 0,0211 ± 0,0005 | 2,32 ± 0,18 |
| Cu | 23,6 ± 2,0 | 7,38 ± 0,13 |
| Fe | 112 ± 3 | 154 ± 11,7 |
| Li | 0,0391 ± 0,0005 | ND |
| Mn | 17,1 ± 1,0 | 918 ± 40,6 |
| Na | 125 ± 2 | 123 ± 9,62 |
| Ni | 0,228 ± 0,002 | 2,13 ± 0,1 |
| Pb | 0,00005 ± 0,00001 | ND |
| Se | 0,0159 ± 0,0003 | ND |
| Sr | 0,255 ± 0,003 | ND |
| Tl | 0,00102 ± 0,0001 | ND |
| Zn | 73,0 ± 1,4 | 22,9 ± 0,54 |

*ND (nije detektirano)

U usporedbi s drugim zelenim čajevima, maču karakterizira najveće antioksidacijsko djelovanje zbog bogatog sadržaja polifenolnih spojeva poput rutina, koji osim antioksidacijskog pokazuje i protuupalno djelovanje. 80% ukupnih polifenola u zelenom čaju zapravo čine katehini, od kojih je najzastupljeniji (–)–epigalokatehin-3-galat (EGCG).^{4,45} Osim EGCG, u mača zelenom čaju su prisutni i ostali katehini poznati po svojem antioksidacijskom djelovanju: (–)–epigalokatehin (EGC), (–)–epikatehin-3-galat (ECG) i (–)–epikatehin (EC) (slika 4).^{4,6,49} Novija znanstvena istraživanja pokazuju da broj hidroksilnih skupina ima velik utjecaj na antioksidativna svojstva katehina.⁶



Slika 4. Kemijska struktura katehina prisutnih u mača zelenom čaju (slika preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru).⁶

Nekoliko nedavnih istraživanja pokazalo je kako zeleni čaj ima antiproliferativno i kemo-preventivno djelovanje, a EGCG odgovaran je za inhibiciju proliferacije stanica raka. Zeleni čaj može imati preventivni učinak kod različitih vrsta karcinoma, uključujući rak pluća, jednjaka, želuca, crijeva, gušterače, dojke, prostate i mokraćnog mjehura. Polifenoli, od kojih su najznačajniji katehini, mogu inducirati smrt stanica raka, a da pritom ne utječu na zdrave stanice. Osim toga, mača može pomoći i smanjiti rezistenciju stanica karcinoma na kemoterapiju.^{6,50}

Neka istraživanja pokazuju da L-teanin, EGCG i kofein utječu na raspoloženje, kognitivne sposobnosti i smanjenje stresa. Udio EGCG u mači znatno je veći u odnosu na udio u komercijalnom zelenom čaju. Kofein je isto tako jedna od glavnih biološki aktivnih komponenti mača čaja.⁴⁵ Kada se usporede vrijednosti kofeina u svim vrstama zelenog čaja, najveća koncentracija nalazi se u mači jer je sadržaj kofeina veći u pupoljcima i mladim listovima biljke *Camellia sinensis* nego u zrelih listovima. Bez izravne sunčeve svjetlosti, razina L-teanina u zelenom čaju raste pa njega ima dvostruko više u mači nego u klasičnom zelenom čaju uzgajanom na suncu.^{4,6,51} Kofein djeluje kao stimulans, izvor je antioksidansa, ubrzava metabolizam, potiče motoričke sposobnosti i smanjuje pospanost. Osim toga, poznato je kako kofein povećava puls, krvni tlak i moždanu aktivnost.⁴⁵

2.5. Metode elementne analize ljekovitog bilja

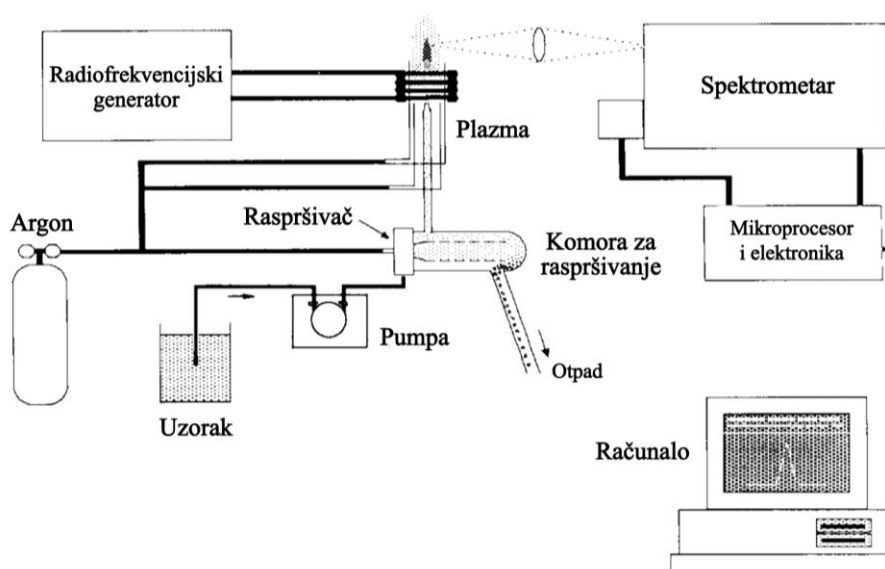
Elementni sastav uzorka ljekovitog bilja važan je podatak potreban za procjenu njihovih svojstava i primjene. Određivanje elemenata u tragovima zahtjeva izuzetno osjetljive metode detekcije, a najčešće se koriste metode atomske spektrometrije. Takve metode uključuju apsorpciju i/ili emisiju elektromagnetskog zračenja nabijenih atoma ili iona u uzorku, u području ultraljubičastog i vidljivog dijela elektromagnetskog spektra (UV/VIS, 160 - 800 nm).⁵²

Koriste se za određivanje približno 70 elemenata, a analitičke značajke kao što su široko dinamičko područje, velika preciznost, osjetljivost, velika brzina i visoka selektivnost, niske detekcijske granice, prednosti su takvih metoda. Metode atomske spektrometrije daju kvalitativne i kvantitativne informacije te omogućavaju multielementnu analizu uzorka. Kvantitativna informacija povezana je s količinom apsorbiranog ili emitiranog elektromagnetskog zračenja, dok je kvalitativna informacija, odnosno prisutnost određenog elementa, povezana s valnom duljinom apsorpcije ili emisije, što je karakteristično za svaki element.⁵²

Postoje različite vrste izvora zračenja koji se koriste, ovisno o izboru metode i elementima koji se određuju, a jedan od njih je plazma. To je visokoionizirani plin velike energije koji može postići visoke temperature (6000 - 10000 K), u kojem dolazi do atomizacije i pobude atoma uzorka, a jedna od bitnih prednosti je što nema kemijskih interferencija. Prije odabira metode analize potrebno je uzeti u obzir vrstu uzorka, elemente koji se određuju, osjetljivost i brzinu, volumen uzorka, cijenu i mnoge druge čimbenike.⁵²

2.5.1. Atomska emisijska spektrometrija uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-AES)

Atomska emisijska spektrometrija uz induktivno spregnutu plazmu (engl. *Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*, ICP-AES) vrlo se često koristi za određivanje elemenata u uzorcima zbog mogućnosti brze sekvencijalne i simultane analize metala i nekih nemetala. Zbog postizanja vrlo visokih temperatura pomoću plazme i zbog mogućnosti ugađanja radnih uvjeta, metodom ICP-AES moguće je odrediti većinu elemenata periodnog sustava u vrlo kratkom vremenu, uz detekcijske granice 1-10 ppb za određene elemente. Veliko linearno kalibracijsko područje (do 6 redova veličine), analitička preciznost (RSD < 1 %) i manja osjetljivost metode na kemijske interferencije uslijed iznimno visokih temperatura još su neke od prednosti ICP-AES metode. Slika 5 prikazuje dijelove ICP-AES instrumenta.⁵¹



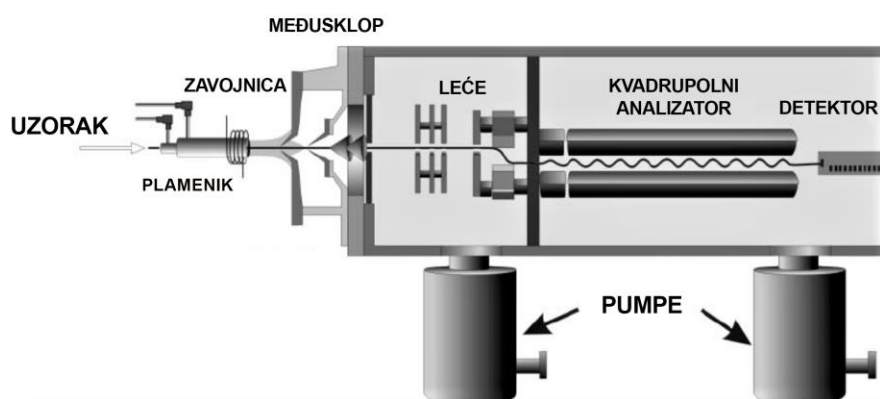
Slika 5. Dijelovi ICP-AES instrumenta (ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru).⁵¹

Otopina uzorka za analizu uvodi se pomoću peristaltičke pumpe u raspršivač koji otopinu uzorka pretvara u aerosol, koji zatim prolazi kroz komoru koja eliminira veće čestice, dok one manje dolaze do plamenika. Desolvatacija, vaporizacija, atomizacija i ionizacija uzorka javljaju se pri visokim temperaturama plazme, a sudari iona i elektrona u plazmi ioniziraju i pobuđuju atome uzorka. Atomizacija uzorka odvija se u kemijski inernom okolišu, a najčešće se koristi plemeniti plin argon. Emitirano zračenje iona u plazmi razlaže se pomoću spektrometra koji ga zatim usmjerava prema detektoru. Razlikujemo dva tipa spektrometra: polikromator i monokromator. Polikromator se koristi za istodobnu multielementnu analizu, a monokromator za sekvencijalnu elementnu analizu. Zračenje se detektira fotomultiplikatorom ili detektorom u čvrstom stanju, a intenzitet emitiranog zračenja pri određenoj valnoj duljini proporcionalan je koncentraciji elementa u analiziranom uzorku. Signal s detektora dolazi do procesora signala koji pojačava i filtrira signal od interferencija i šumova. Instrument ICP-AES spojen je na računalo pomoću kojeg se obrađuju analitički podaci i ugađaju radni parametri kao što su brzina protoka argona, volumen uzorka, položaj plamenika, snaga radiofrecvencijskog generatora (RF), razmještaj leća i zrcala u spektrometru, uklanjanje interferencija i pozadinskog zračenja.⁵²

2.5.2. Spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (ICP-MS)

Spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (engl. *Inductively coupled plasma mass spectrometry*, ICP-MS) brza je i učinkovita metoda za multielementnu analizu velikog broja elemenata. Koristi se za kvalitativne, polukvalitativne i kvantitativne analize. Prednost takve metode su izvrsne detekcijske granice (ng/g) i mogućnost mjerenja izotopa ukoliko je potrebna potpuna karakterizacija elemenata. Nedostatak metode ICP-MS u usporedbi s metodom ICP-AES je visoka cijena i nemogućnost detektiranja neutralnih čestica. Osim toga, pojava spektralnih interferencija predstavlja velik i vrlo čest problem.⁵³

Umjesto dobivanja analitičkih informacija zbog emisije elektromagnetskog zračenja atoma ili iona kao kod metode ICP-AES, atomi analita se metodom ICP-MS ioniziraju, a nakon toga se nastali ioni u plinskoj fazi razdvajaju i detektiraju prema njihovom omjeru mase i naboja.^{52,53} Slika 6 je shematski prikaz dijelova instrumenta ICP-MS.⁵⁴



Slika 6. Shematski prikaz dijelova ICP-MS instrumenta (ilustracija preuzeta i prilagođena prema literaturnom izvoru).⁵⁴

Uzorak, koji je najčešće u tekućem stanju, se uvodi u pneumatski raspršivač gdje se pretvara u aerosol. Manje kapljice se zatim razdvajaju od većih i one manje ulaze u plamenik čiji kraj je okružen bakrenom indukcijskom zavojnicom. Zavojnica je spojena na radiofrekvencijski generator koji je opskrbljuje snagom stvarajući visokofrekventnu izmjeničnu struju koja inducira promjenjivo elektromagnetsko polje u plameniku. Takvo elektromagnetsko polje utječe na ione i elektrone koji se zatim ubrzavaju i sudaraju s ostalim atomima argona iz plazme. Uzorak u plazmi prolazi kroz proces desolvatacije, isparavanja, atomizacije i ionizacije prije

nego uđe u spektrometar masa. Uloga plazme je zapravo formiranje pozitivno nabijenih iona koje ionske leće usmjeravaju prema analizatoru masa. Ionske leće sprječavaju dolazak fotona ili drugih neutralnih vrsta do detektora koji uzrokuju nestabilnost signala i povećavaju pozadinski šum. Postoje različite vrste analizatora, a najčešće se koristi kvadrupolni analizator masa. Ioni se separiraju pomoću analizatora na temelju omjera mase i naboja, a multiplikator elektrona detektira svaki ion koji izlazi iz analizatora, računa i pohranjuje ukupni signal za svaki omjer masa/naboj te u konačnici nastaje maseni spektar.^{53,54}

2.6. Mikrovalno potpomognuto razaranje ljekovitog bilja

Elementna analiza uzorka često zahtijeva prethodnu pripremu. Potrebno je razoriti uzorak, razgraditi matricu i osloboditi analit da bude u pogodnom obliku za analizu. S obzirom da se biološki uzorci sastoje od složene organske matrice (smjese ugljikohidrata, proteina i lipida), uzorak se mora razgraditi, čime se elementi vezani u organskom materijalu prevode u anorganski oblik, a zatim u vodenu otopinu koja se koristi u daljnjim analitičkim postupcima.^{54,61}

Jedna od vrlo čestih i brzih metoda za pripremu realnog uzorka prije elementne analize je mikrovalno potpomognuto razaranje. Koristeći navedenu metodu, smanjeno je vrijeme pripreme uzorka i onečišćenje uzorka, koristi se znatno manja količina uzorka i reagensa, smanjen je gubitak hlapljivih spojeva te je poboljšana sigurnost izvedbe. Također, prednost metode je njezina primjena na širok spektar uzoraka. Mikrovalovi zagrijavaju cijeli uzorak, dolazi do kidanja međumolekulskih interakcija i pospješuje se ekstrakcija analita iz uzorka u otapalo. Na razgradnju ne utječe samo odabir reagensa, nego i relativni udjeli svakog reagensa, vrijeme zagrijavanja, tlak i temperatura. Glavna prednost takve metode je mogućnost kontrole tlaka i temperature čime se postižu precizni i ponovljivi uvjeti razgradnje i ekstrakcije.^{53,61}

Uzorak se razgrađuje primjenom anorganskih kiselina pri povišenom tlaku i temperaturi u zataljenim teflonskim posudama, najčešće od politetrafluoretilena (PTFE). Koristi se smjesa oksidirajućih (HNO_3 , HClO_4 , H_2SO_4) i neoksidirajućih kiselina (HF , HCl) s vodikovim peroksidom. Razgradnja dušičnom kiselinom u kombinaciji s vodikovim peroksidom vrlo je česta i općenito učinkovita za razgradnju bioloških uzoraka. Dušična kiselina je komercijalno dostupna u visokoj čistoći i koristi se kao oksidirajući reagens, razara ugljikovodike na vodu i ugljikov dioksid, a mnogi elementi se oslobađaju kao topljive soli nitrata. Vodikov peroksid se dodaje kako bi se poboljšala učinkovitost razgradnje, smanjila količina nastalog dušikova(II) oksida i smanjio tlak u teflonskoj posudi. Priprema uzorka ključna je za dobivanje točnih i preciznih rezultata jer se na taj način interefencije prilikom mjerenja metodom ICP-AES i metodom ICP-MS svode na minimum. Osim spomenutih čimbenika koji utječu na rezultate, veliku ulogu ima i kvaliteta uzorka prije same razgradnje, odnosno treba obratiti pažnju na kontaminaciju uzorka, ali i posuda PTFE. Kao standardna metoda provjere valjanosti analitičkog postupka koriste se prikladni certificirani referentni materijali.^{53,61}

§ 3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Kemikalije

Tijekom pripreve uzoraka i izvedbe mjerenja korištene su sljedeće kemikalije:

Dušična kiselina, HNO₃ konc. ($w = 65\%$) (Kemika)

Klorovodična kiselina, HCl konc. ($w = 36\%$) (Kemika)

Vodikov peroksid, H₂O₂ konc. ($w = 30\%$) (Kemika)

Standardna multielementna otopina spektralne čistoće za izvore ICP, ($\gamma = 1000\text{ mg L}^{-1}$) (Merck)

Deionizirana voda visoke čistoće, specifičnog otpora $\geq 18\text{ M}\Omega\text{ cm}^{-1}$

Rodij, interni standard ($\gamma = 1\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$)

Laboratorijsko posuđe prethodno je očišćeno dušičnom kiselinom ($w = 2\%$).

3.2. Opis instrumenata

3.2.1. Mikrovalno potpomognuto razaranje uzorka

Za mikrovalno potpomognuto razaranje uzoraka kurkume i mača zelenog čaja korišten je uređaj MWS-2 *Microwave System Speedweve Berghof* prema programu prikazanom u tablici 6.

Tablica 6. Uvjeti mikrovalnog razaranja.

| | t / min | P / W | $t / ^\circ\text{C}$ |
|---|------------------|----------------|----------------------|
| 1 | 30 | 500 | 120 |
| 2 | 30 | 700 | 170 |
| 3 | 30 | 400 | 130 |

3.2.2. Metoda ICP-AES

Za elementnu analizu korištena je prethodno validirana metoda ICP-AES, odnosno plazma spektrometar (*Prodigy High Dispersive ICP*), a optimalni uvjeti rada dani su u tablici 7.⁵⁵

Tablica 7. Optimalni uvjeti rada spektrometra ICP-AES.

| Instrument | Prodigy High Dispersive ICP |
|------------------------|---|
| Spektrometar | Ešeletnog tipa |
| RF-Generator | “free-running” 40 MHz |
| Protok plina (Argon) | vanjski: 18 L min ⁻¹ pomoćni: 0,8 L min ⁻¹ za raspršivanje: 1 L min ⁻¹ |
| Plamenik | Fasselov tip, <i>DUAL-VIEW</i> |
| Raspršivač | Pneumatski |
| Komora za raspršivanje | Ciklonska |

3.2.3. Metoda ICP-MS

Za elementnu analizu korišten je spektrometar masa uz induktivno spregnutu plazmu (*Agilent 7500cx ICP-MS*), a radni uvjeti za korištenu prethodno validiranu metodu dani su u tablici 8.⁵⁶

Tablica 8. Radni uvjeti spektrometra ICP-MS.

| Optimalni uvjeti rada spektrometra ICP-MS | |
|--|--|
| RF-snaga | 1500 W |
| Protok plina nosioca (Ar) | 0,90 L min ⁻¹ |
| Dodatan protok plinske faze (Ar) | 0,20 L min ⁻¹ |
| Raspršivač | <i>MicroMist</i> |
| Pumpa raspršivača | 0,10 rps |
| Komora za raspršenje | <i>Scott double pass</i> |
| Vrijeme integracije | 0,10 s |
| Ponovljeni uzorci | dva |
| Kalibracija | vanjska |
| Kalibracijska otopina | Multielement VI (Merck) |
| Izotopi | ⁶ Li, ⁷ Li, ²⁴ Mg, ⁸⁸ Sr |
| Unutarnji standard (10 µg/L) | ¹⁰³ Rh |
| Kolizijska komora | - |

3.3. Uzorci

Uzorci kurkume i mača zelenog čaja komercijalno su dostupni na hrvatskom tržištu. Svi uzorci su kupljeni u praškastom obliku pa nije bilo potrebno usitnjavanje.

3.4. Postupak za mikrovalno potpomognuto razaranje uzoraka kurkume i mača zelenog čaja

U svim postupcima razaranja uzoraka korištene su reakcijske posude od teflona (PTFE) koje su prije svakog postupka razaranja očišćene s HNO_3 ($w = 2\%$). Za mikrovalno potpomognuto razaranje izvagano je od 0,20 g do 0,25 g mase uzoraka praha kurkume ili mača zelenog čaja.

Kako bi se pronašli optimalni uvjeti razgradnje korištene su različite smjese reagensa i njihovih volumena:

A: 3 mL HNO_3 konc

B: 6 mL HNO_3 konc. (50:50 v/v) + 2 mL H_2O_2 ($c = 1 \text{ mol L}^{-1}$)

C: 1 mL HNO_3 konc + 4 mL H_2O + 2 mL H_2O_2 ($c = 1 \text{ mol L}^{-1}$)

D: 6 mL HNO_3 konc + 2 mL H_2O_2 ($c = 1 \text{ mol L}^{-1}$)

E: 1 mL HNO_3 konc + 3 mL HCl konc

Nakon mikrovalno potpomognute razgradnje uzorka, bistra otopina je prebačena u odmjernu tikvicu od 25 mL i nadopunjena ultračistom vodom do oznake. Slijepe probe su razorene i pripravljene za analizu na jednak način i istovremeno kao i uzorci kurkume i mača zelenog čaja. Uzorci su spremljeni na hladno, tamno i suho mjesto.

§ 4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Elementna analiza kurkume

4.1.1. Optimizacija postupka mikrovalno potpomognute razgradnje uzorka kurkume prije elementne analize

Elementna analiza uzorka kurkume metodom ICP-AES i metodom ICP-MS provedena je uz prethodno mikrovalno potpomognuto razaranje. U ovom radu, za razgradnju uzorka korištena je dušična kiselina i smjesa dušične s klorovodičnom kiselinom, sa i bez dodatka vodikovog peroksida. Budući da na razgradnju uzorka ne utječe samo odabir reagensa, nego i relativni udjeli svakog reagensa, razaranje je provedeno i pri različitim volumnim omjerima reagensa. Korišteno je pet različitih uvjeta razaranja kako bi se pronašli optimalni uvjeti koji daju najbolje rezultate (A: 3 mL $\text{HNO}_3_{\text{konc}}$, B: 6 mL HNO_3 (50:50 v/v) + 2 mL H_2O_2 (1 mol L^{-1}), C: 1 mL $\text{HNO}_3_{\text{konc}}$ + 4 mL H_2O + 2 mL H_2O_2 (1 mol L^{-1}), D: 6 mL $\text{HNO}_3_{\text{konc}}$ + 2 mL H_2O_2 (1 mol L^{-1}) i E: 1 mL $\text{HNO}_3_{\text{konc}}$ + 3 mL HCl_{konc}). U tablici 9 dani su rezultati masenih udjela elemenata za uzorak kurkume K1 pri različitim uvjetima razaranja.

Tablica 9. Maseni udjeli elemenata nakon mikrovalno potpomognutog razaranja uzorka kurkume K1 pri različitim uvjetima razaranja.

| Element | Uzorak kurkume K1 | | | | |
|--------------------------|--|--|---|-------------------------------------|--------|
| | w / mg kg ⁻¹ | | | | |
| | Reagens | | | | |
| A: HNO ₃ konc | B: HNO ₃ (50:50 v/v) + H ₂ O ₂ (1 mol L ⁻¹) | C: HNO ₃ konc + H ₂ O + H ₂ O ₂ (1 mol L ⁻¹) | D: HNO ₃ konc + H ₂ O ₂ (1 mol L ⁻¹) | E: HNO ₃ konc + HCl konc | |
| Ag | <LOD | 0,011 | 0,044 | <LOD | 0,009 |
| Al | 303 | 380 | 506 | 159 | 545 |
| As | 0,064 | 0,054 | 0,041 | 0,045 | 0,170 |
| Ba | 11,398 | 12,667 | 11,996 | 11,808 | 12,214 |
| Be | 0,003 | 0,006 | 0,003 | 0,001 | <LOD |
| Bi | <LOD | 0,03 | 0,03 | 0,10 | 0,03 |
| Ca | 1483 | 1538 | 1530 | 1688 | 1334 |
| Cd | 0,053 | 0,062 | 0,091 | 0,082 | 0,038 |
| Co | 0,506 | 0,546 | 0,582 | 0,527 | 0,597 |
| Cr | 1,309 | 2,155 | 1,375 | 1,146 | 2,554 |
| Cu | 14,425 | 7,134 | 12,246 | 17,461 | 14,208 |
| Fe | 162,9 | 453,1 | 381,0 | 147,0 | 727,47 |
| Ga | 0,75 | 0,84 | 0,86 | 0,75 | 0,76 |
| K | 29394 | 27670 | 29967 | 29341 | 21940 |
| Li | 0,119 | 0,148 | 0,227 | 0,084 | 0,119 |
| Mg | 3122 | 3055 | 3203 | 3118 | 2603 |
| Mn | 91,221 | 93,422 | 94,500 | 93,027 | 88,747 |
| Mo | 0,130 | 0,149 | 0,088 | 0,135 | 0,271 |
| Na | 415,2 | 436,2 | 406,9 | 387,2 | 353,24 |
| Ni | 1,203 | <LOD | 1,795 | 1,563 | 1,657 |
| Pb | 0,574 | 0,487 | 0,224 | <LOD | 0,318 |
| Rb | 4,5 | 4,8 | 4,7 | 4,6 | 4,64 |
| Se | 0,254 | 0,075 | <LOD | 0,097 | 1,603 |
| Sr | 16,1 | 17,2 | 16,9 | 16,4 | 16,7 |
| Te | <LOD | 0,002 | 0,003 | 0,002 | 0,018 |
| Tl | 0,017 | 0,021 | 0,071 | 0,020 | 0,013 |
| V | 0,910 | 1,310 | 1,225 | 0,777 | 1,128 |
| Zn | 26,2 | 24,2 | 28,2 | 23,9 | 22,82 |
| <i>t</i> vrijednost | - | 0,3 | | 0,3 | |

Dodatkom koncentrirane HNO₃ (smjesa A) u nekim uzorcima pojavio se talog pa je bilo potrebno filtriranje uzorka prije mjerenja. Postupkom sa smjesom reagensa B: 6 mL HNO₃ (50:50 v/v) i 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) i C: 1 mL HNO₃ konc + 4 mL H₂O + 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) dobivena je bistra otopina uzorka stoga je Studentovim testom provjereno postoje li značajne razlike u masenim udjelima elemenata za mikrovalno potpomognuto razorene uzorke pomoću navedenih smjesa reagensa. Pretpostavka da nema značajne razlike između srednjih vrijednosti je ispitana na nivou značajnosti (*t*₉₉₅) od 0,01. Na temelju Studentova testa uz razinu značajnosti

od 0,01 uočeno je da nema značajnih razlika u dobivenim masenim udjelima za sve makro- i mikroelemente u uzorcima nakon mikrovalnog razaranja uz dodatak smjese B i C.

Na jednak način uspoređene su vrijednosti za smjese reagensa C: 1 mL HNO₃ konc + 4 mL H₂O + 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) i D: 6 mL HNO₃ konc + 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) te je na temelju usporedbe tablične vrijednosti *t* Studentova testa uz razinu značajnosti od 0,01 uočeno je da nema značajnih razlika u dobivenim masenim udjelima za elemente u uzorcima nakon mikrovalnog razaranja navedenim smjesama reagensa, ali i svim ostalim kombinacijama reagensa (smjese B i D, smjese A i E, B i E te D i E). Na temelju rezultata može se zaključiti da se sadržaj analiziranih elemenata značajno ne razlikuje s obzirom na način pripreme uzorka prije mjerenja. Kako bi se izbjeglo rukovanje koncentriranim kiselinama (smjesa reagensa E) u daljnjem eksperimentalnom radu korišteno je mikrovalno potpomognuto razaranje uzoraka kurkume sa smjesom B.

Da bi se odredila sljedivost rezultata mjerenja masenih udjela elemenata korišteni su certificirani referentni materijali (CRM) pri uvjetima mikrovalno potpomognutog razaranja smjesom reagensa B (HNO₃ (50:50 v/v) + H₂O₂), a rezultati su prikazani u tablici 10 i uspoređeni s certificiranim vrijednostima.

Tablica 10. Rezultati elementne analize različitih CRM nakon mikrovalno potpomognutog razaranja sa smjesom reagensa B (HNO_3 (50:50 v/v) + H_2O_2) i usporedba udjela s certificiranim podacima.^{57,58,59,60}

| Element | w / mg kg ⁻¹ | | | | | | | |
|---------|-------------------------|------------------------|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|-----------------------|-----------|
| | SRM 1547 | | SRM 1573a | | SRM LGC7162 | | SRM - IAEA 392 | |
| | Certificirani podatci | Rezultati | Certificirani podatci | Rezultati | Certificirani podatci | Rezultati | Certificirani podatci | Rezultati |
| Ag | - | 1,169 | 0,017 | 0,633 | - | 1,701 | - | 0,512 |
| Al | 248,9 ± 6,5 | 102,237 | 598,4 ± 7,1 | 240,155 | 1000 | - | - | - |
| As | 0,062 ± 0,014 | 0,697 | 0,1126 ± 0,0024 | 0,229 | 0,28 | 0,274 | 0,175 | 0,129 |
| Ba | 123,7 ± 5,5 | 53,872 | - | 77,306 | 107 | 81,492 | - | 13,216 |
| Be | - | 0,0125 | - | 0,017 | - | 0,006 | - | 0 |
| Bi | - | 0,064 | - | 0,027 | - | 0 | - | 0,076 |
| Ca | 15590 ± 160 | 17580,881 | 50450 ± 550 | 68106,827 | 15300 | 9154,448 | 2680 | 23279,067 |
| Cd | 0,0261 ± 0,0022 | 0,044 | 1,517 ± 0,027 | 1,916 | 0,17 | 0,147 | 0,0173 | 0,253 |
| Co | 0,07 | 0,136 | 0,5773 ± 0,0071 | 0,735 | 0,47 | 0,239 | 3,33 | 0,192 |
| Cr | 1 | 2,97 | 1,988 ± 0,034 | 2,715 | 2,15 | 1,348 | 4,57 | 2,5 |
| Cu | 3,75 ± 0,37 | 2,963 | 4,70 ± 0,14 | 1,962 | 10 | - | 23,2 | 4,204 |
| Fe | 219,8 ± 6,8 | 162,37 | 367,5 ± 4,3 | 391,204 | 818 | 214,474 | 497 | 191,63 |
| Ga | - | 3,214 | - | 4,395 | - | 4,861 | - | 0,831 |
| K | 24330 ± 380 | 22560,245 | 26760 ± 480 | 49604,099 | 19600 | 18367,162 | 8383 | 54922,553 |
| Li | - | 0,0735 | - | 0,366 | 0,7 | 0,277 | - | 0,35 |
| Mg | 4320 ± 150 | 3168,907 | 12000 | 16079,206 | 3770 | 2991,399 | 2376 | 2860,99 |
| Mn | 97,8 ± 1,8 | 62,598 | 246,3 ± 7,1 | 337,365 | 171 | 129,33 | 67,5 | 40,283 |
| Mo | 0,0603 ± 0,0068 | 0,177 | 0,46 | 0,63 | 0,32 | 0,36 | - | 1,974 |
| Na | 23,8 ± 1,6 | 128,994 | 136,1 ± 3,7 | 328,881 | 210 | 217,282 | 680 | 851,647 |
| Ni | 0,689 ± 0,095 | 1,006 | 1,582 ± 0,041 | 1,004 | 2,6 | - | 0,571 | 0,7 |
| Pb | 0,869 ± 0,018 | 1,057 | - | 1,189 | 1,8 | 2,194 | 0,574 | 1,672 |
| Rb | 19,65 ± 0,089 | 11,765 | 14,83 ± 0,31 | 19,306 | - | 6,163 | - | 7,412 |
| Se | 0,120 ± 0,017 | 5,008 | 0,0543 ± 0,0020 | 2,844 | 0,04 | - | - | - |
| Sr | 53,0 ± 5,0 | 29,409 | 85 | 111,312 | 64 | 52,77 | - | 60,17 |
| Te | - | 1,5 × 10 ⁻³ | - | 0,001 | - | 0,061 | - | 0,001 |
| Tl | - | 0,0605 | - | 0,063 | - | 0,01 | - | 0,146 |
| V | 0,367 ± 0,038 | 0,1425 | 0,835 ± 0,034 | 0,608 | 1,8 | 0,437 | - | 0,215 |
| Zn | 17,97 ± 0,53 | 11,492 | 30,94 ± 0,55 | 35,249 | 24 | 9,053 | 128 | 43,988 |

Za većinu elemenata u korištenim certificiranim referentnim materijalima određena je sljedivost rezultata mjerenja masenih udjela elemenata pri uvjetima mikrovalno potpomognutog razaranja sa smjesom B.

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 9 i 10 može se zaključiti da metoda mikrovalno potpomognutog razaranja uzorka uz smjesu reagensa B od 6 mL HNO₃ (50:50 v/v) i 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) daje valjane rezultate elementne analize te je navedena optimalna smjesa reagensa B korištena u daljnjem radu za pripravu uzorka.

4.1.2. Rezultati elementne analize kurkume

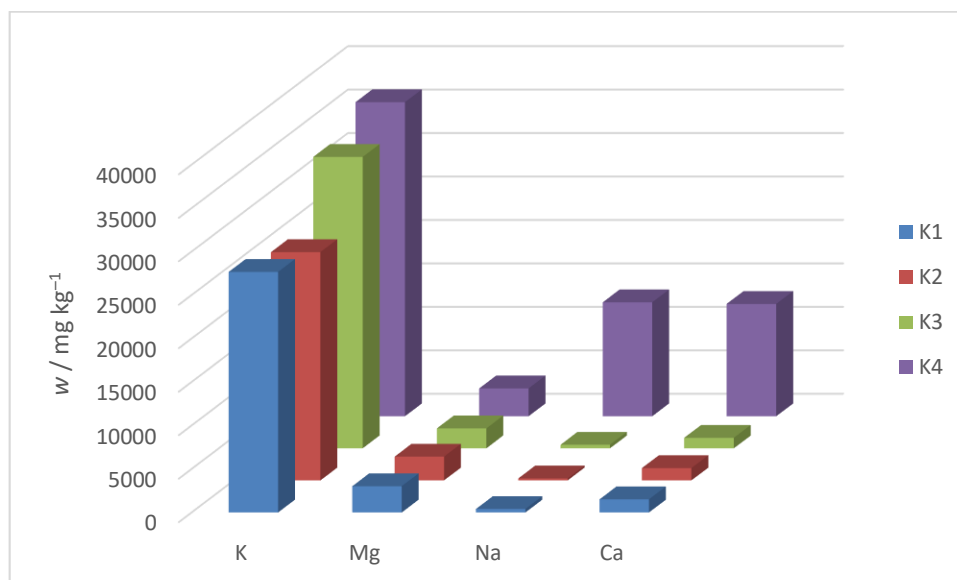
U literaturnom pregledu navedene su neke od najvažnijih karakteristika esencijalnih i toksičnih elemenata u prehrani i za zdravlje ljudskog organizma. Uzorci kurkume su nakon mikrovalno potpomognutog razaranja sa smjesom B od 6 mL HNO₃ (50:50 v/v) i 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) izmjereni dvjema metodama za elementnu analizu (ICP-MS i ICP-AES). Za većinu elemenata dobivene su podjednaki maseni udjeli korištenjem obje metode te je uzeta srednja vrijednost rezultata, dok je za određivanje udjela nekih mikroelemenata prisutnih u vrlo niskim masenim udjelima korištena samo metoda ICP-MS. Srednje vrijednosti masenih udjela makroelemenata u uzorcima kurkume dane su u tablici 11.

Tablica 11. Maseni udjeli makroelemenata u uzorcima kurkume (K1-K4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja.

| Element | UZORAK KURKUME | | | |
|---------|-------------------------|-------|-------|-------|
| | K1 | K2 | K3 | K4 |
| | w / mg kg ⁻¹ | | | |
| Ca | 1515 | 1411 | 1203 | 12915 |
| K | 27663 | 26250 | 33514 | 36127 |
| Mg | 3020 | 2730 | 2290 | 3198 |
| Na | 399 | 222 | 408 | 13104 |

Od makroelemenata važnih za čovjekovo zdravlje prisutni u kurkumi su Ca, K, Mg i Na. Najzastupljeniji element u svim uzorcima kurkume (K1 – K4) je K, u rasponu 26250-36127 mg kg⁻¹, nakon kojeg slijedi Mg s rasponom vrijednosti 2290-3198 mg kg⁻¹, a zatim Ca i Na. U uzorku K3 primijećene su veće vrijednosti za Ca i Na (12915 mg kg⁻¹ za Ca i 13104,3 mg kg⁻¹

za Na) od masenih udjela dobivenih u ostalim uzorcima (1203-1515 mg kg⁻¹ za Ca i 222,8-408,0 mg kg⁻¹ za Na). Radi bolje preglednosti, vrijednosti iz tablice 11 prikazane su i na slici 7.



Slika 7. Raspodjela makroelemenata u uzorcima kurkume (K1-K4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja.

U najvećem masenom udjelu u svim uzorcima kurkume prisutan je K (26250-36127 mg kg⁻¹). Maghrabi je odredio udio K od 24120 mg kg⁻¹ što je u skladu s dobivenim rezultatima, dok su Silva i sur. odredili 19900 mg kg⁻¹ K, što je nešto manje od rezultata dobivenih u okviru ovog rada.^{43,44}

Maseni udio Ca u uzorcima kurkume je u rasponu 1203-1515 mg kg⁻¹ i podjednak je literaturnim podacima (1200 mg kg⁻¹ i 1851 mg kg⁻¹).^{43,44} Izuzetak je K4 uzorak kurkume u kojem je dobiven devet puta veći udio u usporedbi s ostalim uzorcima (12915 mg kg⁻¹).

Maseni udio Mg u kurkumi je u rasponu 2290-3198 mg kg⁻¹ što je slično vrijednosti koju je dobio Maghrabi (2062 mg kg⁻¹), ali dvostruko veća od vrijednosti koje su dobili Silva i sur. (1200 mg kg⁻¹).^{43,44}

Literaturni podaci pokazuju znatno manje vrijednosti za udio Na (76-132,7 mg kg⁻¹) od dobivenih rezultata (222,8-13104,3 mg kg⁻¹).^{43,44}

Od mikroelemenata u uzorcima kurkume određeni su: Al, Ag, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Te, Tl, V i Zn, a vrijednosti njihovih masenih udjela dane su u tablici 12.

Tablica 12. Maseni udio mikroelemenata u uzorcima kurkume (K1-K4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja.

| Element | UZORAK KURKUME | | | |
|---------|-------------------------|---------|--------|--------|
| | K1 | K2 | K3 | K4 |
| | $w / \text{mg kg}^{-1}$ | | | |
| Al | 379 | 268 | 73 | <LOD |
| Ag | <LOD | 0,024 | 0,009 | 5,697 |
| As | 0,075 | 0,048 | 0,028 | 0,172 |
| Ba | 12,017 | 5,686 | 8,993 | 13,129 |
| Be | 0,002 | 0,002 | 0,001 | <LOD |
| Bi | 0,04 | 0,01 | 0,01 | 0,2 |
| Cd | 0,065 | 0,064 | 0,033 | 0,435 |
| Co | 0,552 | 0,404 | 0,29 | 0,737 |
| Cr | 1,708 | 0,664 | 0,834 | 5,001 |
| Cu | 13,095 | 6,217 | <LOD | 3,268 |
| Fe | 374,3 | 236 | 192,4 | 542,3 |
| Ga | 0,79 | 0,38 | 0,57 | 1,14 |
| Li | 0,139 | 0,042 | 0,055 | 0,467 |
| Mn | 92,183 | 185,251 | 59,065 | 76,319 |
| Mo | 0,155 | 3,478 | 0,09 | 2,268 |
| Ni | 1,211 | 0,906 | <LOD | 0,508 |
| Pb | 0,283 | 0,299 | 0,42 | 1,438 |
| Rb | 4,6 | 6 | 6,2 | 8,6 |
| Se | 0,389 | 0,097 | 0,06 | <LOD |
| Sr | 16,6 | 8,6 | 10 | 41 |
| Te | 0,004 | 0,002 | 0,01 | 0,009 |
| Tl | 0,028 | 0,018 | 0,007 | 0,296 |
| V | 1,07 | 0,962 | 0,807 | 1,043 |
| Zn | 25,1 | 39,7 | 8 | 28,4 |

Vrijednosti masenih udjela pojedinih mikroelemenata bile su ispod detekcijskih granica analitičkih metoda korištenih za elementnu analizu (LOD za Al $2,9 \text{ mg kg}^{-1}$, za Cu $0,022 \text{ mg kg}^{-1}$, za Ni $0,019 \text{ mg kg}^{-1}$ i za Se $0,17 \text{ mg kg}^{-1}$).⁵⁵

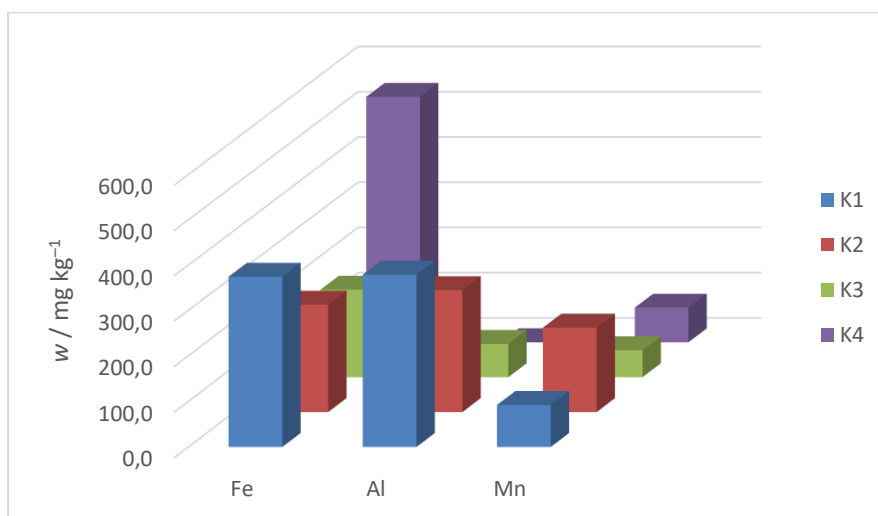
U usporedbi s masenim udjelima Al određenima u kurkumi u rasponu $73 - 379 \text{ mg kg}^{-1}$, veću vrijednost odredio je Maghrabi ($731,9 \text{ mg kg}^{-1}$).⁴³

Osim Al, u nešto višim masenim udjelima prisutni su i Fe u rasponu vrijednosti $192,4 - 542,3 \text{ mg kg}^{-1}$ i Mn u rasponu $59,065 - 185,251 \text{ mg kg}^{-1}$ što se slaže s podacima koje su dobili Silva i sur. (327 mg kg^{-1} za Fe i 193 mg kg^{-1} za Mn),⁴⁴ dok je Maghrabi odredio veću vrijednost za Fe od 726 mg kg^{-1} i dvostruko veću za Mn od $570,6 \text{ mg kg}^{-1}$ s obzirom na vrijednosti dobivene u okviru ovog rada.⁴³

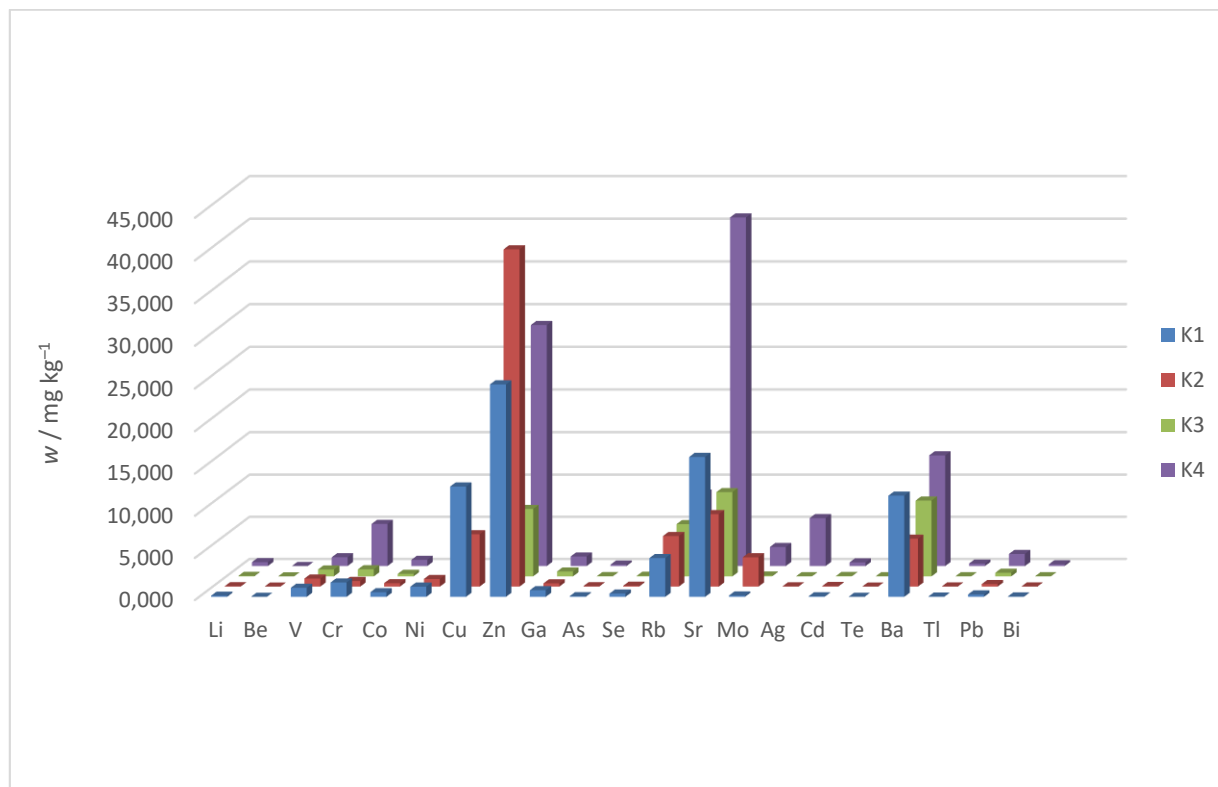
Od ostalih mikroelemenata u kurkumi prisutni u nešto višem masenom udjelu u odnosu na ostale su: Ba, Cu, Rb, Sr, Zn. Esencijalni mikroelementi nužni za normalno funkcioniranje brojnih enzima prisutni u kurkumi su Cu u rasponu 3,268-13,095 mg kg⁻¹ i Zn u rasponu 8,0-39,7 mg kg⁻¹ što je u skladu s literaturnim podacima (6,01 - 7,14 mg kg⁻¹ za Cu i 15,8-37,33 mg kg⁻¹ za Zn).^{43,44}

Ba, Sr i Rb nemaju bitnu ulogu za ljudsko zdravlje, a neki njihovi spojevi mogu biti toksični. Prisutni su u svim uzorcima kurkume i njihovi maseni udjeli su u rasponu: 5,686-13,129 mg kg⁻¹ za Ba, 8,6-41,0 mg kg⁻¹ za Sr i 4,6-8,6 mg kg⁻¹ za Rb. Udio Rb je manji od literaturnog podatka koji iznosi 30,5 mg kg⁻¹, a podatci za Ba podjednaki su kao u literaturi (20 mg kg⁻¹).⁴⁴ Maghrabi je odredio viši udio Ba koji iznosi 60,42 mg kg⁻¹, a Savić i sur. su odredili 0,11 mg kg⁻¹ Sr što je niža vrijednost u usporedbi s onima dobivenim u ovom radu.^{43,61}

Radi bolje preglednosti elementnog sastava kurkume, vrijednosti masenih udjela elemenata podijeljene su na elemente srednjih vrijednosti masenih udjela ($w > 59$ mg kg⁻¹) i elemente nižih masenih udjela, te su prikazani na slikama 8 i 9.



Slika 8. Raspodjela elemenata u uzorcima kurkume (K1-K4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja koji su prisutni u srednjem masenom udjelu ($w > 59$ mg kg⁻¹).



Slika 9. Raspodjela mikroelemenata ($w < 59 \text{ mg kg}^{-1}$) u uzorcima kurkume (K1-K4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja.

Na temelju rezultata prikazanih u tablici 12 i na slici 9 u uzorku K4 primijećeni su viši maseni udjeli Ag, Cr i Pb u odnosu na ostale ispitivane uzorke kurkume. Ag nema nikavu važnu funkciju u ljudskom organizmu, a u uzorku K4 je određen je maseni udio od $5,697 \text{ mg kg}^{-1}$ što se razlikuje od ostalih uzoraka u kojima je određen niži maseni udio ($0,009\text{-}0,024 \text{ mg kg}^{-1}$) koji je u skladu s podatkom kojeg su dobili Li i sur. ($0,3963 \text{ mg kg}^{-1}$).⁶²

Cr pripada u esencijalne mikroelemente i u uzorku K4 prisutan je u masenom udjelu od $5,001 \text{ mg kg}^{-1}$, dok ga u ostalim uzorcima ima u nešto nižem masenom udjelu ($0,664\text{-}1,708 \text{ mg kg}^{-1}$) koji je u skladu s literaturnim podacima ($1,00 - 2,68 \text{ mg kg}^{-1}$).^{43,44}

Jedan od najtoksičnijih elemenata koji uzrokuje brojne negativne učinke na organe i funkcije u organizmu je Pb. Li i sur. su dobili znatno niži maseni udio Pb ($0,0002622 \text{ mg kg}^{-1}$) od onog dobivenog u ovom istraživanju.⁶² U uzorku K4 je prisutno $1,438 \text{ mg kg}^{-1}$ Pb, što je nešto viša vrijednost od ostalih ispitivanih uzoraka, ali znatno manja od najvećeg dopuštenog masenog udjela u ljekovitom bilju prema WHO koja iznosi 10 mg kg^{-1} .²⁷

Prema WHO najveći dopušteni maseni udio Cd u ljekovitom bilju je $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$, a u K4 uzorku nalazi se $0,435 \text{ mg kg}^{-1}$ čime vrijednost masenog udjela Cd prelazi maksimalno

dopušteni.²⁷ Sličnu vrijednost za Cd odredio je Maghrabi (0,36 mg kg⁻¹).⁴³ Zbog dugog vremena zadržavanja u organizmu, Cd može izazvati oštećenja brojnih organa, ali i poremetiti sintezu nukleinskih kiselina i oksidativnu fosforilaciju te inhibirati rad mnogih enzima. Iz tog je razloga vrlo bitno određivanje elementnog sastava ljekovitog bilja koje se koristi u prehrani. S obzirom na količinu kurkume koju koristimo kao začin, vrijednost Cd koja je prisutna u K4 uzorku kurkume nije značajna ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje. U ostalim uzorcima kurkume maseni udio Cd je u rasponu 0,033-0,065 mg kg⁻¹ i slaže s rezultatom koji su dobili Silva i sur. (0,02 - 0,04 mg kg⁻¹) i te su vrijednosti značajno niže od najvećeg dopuštenog masenog udjela Cd u ljekovitom bilju koji iznosi 0,3 mg kg⁻¹.^{27,44}

4.2. Elementna analiza mača zelenog čaja

4.2.1. Optimizacija postupka mikrovalno potpomognute razgradnje uzorka mače zelenog čaja prije elementne analize

Kako bi odredili optimalne uvjete razaranja, jednako kao i za kurkumu, korišteno je pet različitih uvjeta razgradnje uzoraka mača zelenog čaja M1 (A: 3 mL HNO₃ konc, B: 6 mL HNO₃ (50:50 v/v) + 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹), C: 1 mL HNO₃ konc + 4 mL H₂O + 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹), D: 6 mL HNO₃ konc + 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) i E: 1 mL HNO₃ konc + 3 mL HCl konc). U tablici 13 dani su dobiveni rezultati za uzorak mača zelenog čaja M1 pri različitim uvjetima razaranja.

Tablica 13. Maseni udio elemenata nakon mikrovalno potpomognutog razaranja uzorka mača zelenog čaja M1 pri različitim uvjetima razaranja.

| Element | Uzorak mača zelenog čaja M1 | | | | |
|------------------------|-----------------------------|---|---|--|--|
| | $w / \text{mg kg}^{-1}$ | | | | |
| | Reagens | | | | |
| | A: HNO ₃ konc | B: HNO ₃ (50:50 v/v) + H ₂ O ₂ (1 mol L ⁻¹) | C: HNO ₃ konc + H ₂ O + H ₂ O ₂ (1 mol L ⁻¹) | D: HNO ₃ konc + H ₂ O ₂ (1 mol L ⁻¹) | E: HNO ₃ konc + HCl konc |
| Ag | 0,009 | 0,011 | 0,029 | 0,049 | 0,025 |
| Al | 1507 | 1418 | 1544 | 1506 | 1254 |
| As | 0,048 | 0,044 | 0,033 | 0,049 | 0,025 |
| Ba | 15,483 | 17,518 | 16,891 | 17,035 | 17,096 |
| Be | 0,003 | 0,006 | 0,004 | 0,004 | <LOD |
| Bi | <LOD | 0,03 | 0,00 | 0,01 | 0,01 |
| Ca | 3955 | 5698 | 4513 | 5219 | 3905 |
| Cd | 0,021 | 0,023 | 0,016 | 0,018 | 0,1 |
| Co | 0,114 | 0,126 | 0,108 | 0,113 | 0,129 |
| Cr | 1,083 | 1,458 | 0,486 | 0,88 | 4,544 |
| Cu | 29,514 | 26,81 | 30,938 | 32,24 | 31,121 |
| Fe | 191,8 | 111,9 | 69,4 | 22,6 | 252,44 |
| Ga | 0,92 | 1,04 | 0,98 | 1,01 | 0,89 |
| K | 18178 | 20914 | 21666 | 21366 | 16417 |
| Li | 0,173 | 0,207 | 0,21 | 0,21 | 0,192 |
| Mg | 2189 | 2547 | 2515 | 2487 | 2020 |
| Mn | 638,22 | 729,098 | 709,051 | 705,62 | 643,461 |
| Mo | 0,088 | 0,103 | 0,04 | 0,038 | 0,49 |
| Na | 24,6 | 78,3 | 26,2 | 41,9 | 34,69 |
| Ni | 3,276 | 3,276 | 3,329 | 3,434 | 3,477 |
| Pb | 0,352 | 0,43 | 0,086 | 0,426 | 0,228 |
| Rb | 25,9 | 28,9 | 28,5 | 27,6 | 27,61 |
| Se | 0,184 | 0,005 | 0,358 | 0,149 | 0,419 |
| Sr | 15,2 | 17,2 | 16,7 | 16,6 | 16,3 |
| Te | 0,001 | 0,005 | 0,005 | 0,00 | 0,013 |
| Tl | 0,017 | 0,023 | 0,014 | 0,028 | 0,019 |
| V | 0,152 | 0,163 | 0,156 | 0,177 | 0,789 |
| Zn | 21,1 | 18,3 | 22,4 | 17,5 | 24,34 |
| <i>t</i> vrijednost | - | 0,8 | | 0,2 | |

Jednako kao i pri mikrovalno potpomognutom razarnju uzorka kurkume, dodatkom koncentrirane HNO₃ (smjesa A) u nekim uzorcima pojavio se talog pa je bilo potrebno prethodno filtriranje uzorka prije instrumentnog mjerenja. Dodatkom smjese B: 6 mL HNO₃ (50:50 v/v) i 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) i smjese reagensa C: 1 mL HNO₃ konc + 4 mL H₂O + 2 mL H₂O₂ (1 mol L⁻¹) dobivena je bistra otopina uzorka. Studentovim je testom provjereno postoje li značajne razlike u masenom udjelu elemenata za mikrovalno potpomognuto razorene uzorke

mača zelenog čaja pomoću smjese različitih reagensa. Pretpostavka da nema značajne razlike između srednjih vrijednosti je ispitana na nivou značajnosti (t_{995}) od 0,01. Na temelju Studentova testa uz razinu značajnosti od 0,01 uočeno je da nema značajnih razlika u dobivenim masenim udjelima za sve makro- i mikroelemente u uzorcima nakon mikrovalnog razaranja uz dodatak smjese B i C.

Na jednak način uspoređene su vrijednosti za smjese reagensa C: 1 mL HNO_3 konc + 4 mL H_2O + 2 mL H_2O_2 (1 mol L^{-1}) i D: 6 mL HNO_3 konc + 2 mL H_2O_2 (1 mol L^{-1}) te je na temelju Studentova testa uz razinu značajnosti od 0,01 uočeno je da nema značajnih razlika u dobivenim masenim udjelima za elemente u uzorcima nakon mikrovalnog razaranja navedenim smjesama reagensa, ali i svim ostalim kombinacijama reagensa (smjese B i D, smjese A i E, B i E te D i E). Na temelju rezultata može se zaključiti da se sadržaj analiziranih elemenata ne razlikuje s obzirom na način pripreme uzorka mača zelenog čaja prije određivanja. Kako bi se izbjeglo rukovanje koncentriranim kiselinama (smjesa reagensa E), jednako kao i kod kurkume, u daljnjem eksperimentalnom radu korišteno je mikrovalno potpomognuto razaranja uzoraka mača zelenog čaja uz smjesu B.

4.2.2. Rezultati elementne analize mača zelenog čaja

U literaturnom pregledu je spomenuto da mjesto uzgoja i način obrade listova biljke *Camellia sinensis* uvelike utječu na elementni sastav, ali i udio ostalih biološki aktivnih spojeva. U okviru ovog rada provedena je elementna analiza mača zelenog čaja dvjema metodama za elementnu analizu (ICP-MS i ICP-AES) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja sa smjesom B: 6 mL HNO_3 (50:50 v/v) i 2 mL H_2O_2 (1 mol L^{-1}). Za većinu elemenata dobiveni su podjednaki maseni udjeli s obje metode te je uzeta srednja vrijednost rezultata, dok je za određivanje masenih udjela nekih mikroelemenata korištena metoda ICP-MS.

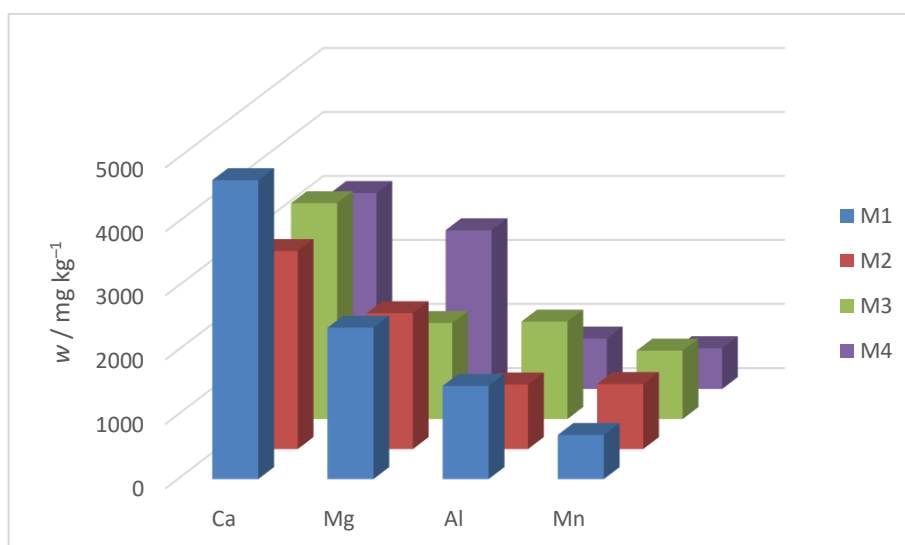
Od makroelemenata prisutnih u uzorcima mača zelenog čaja određeni su Al, Ca, K, Mg, i Mn, a njihovi maseni udjeli dani su u tablici 14. Najviše ima K u rasponu 18691 - 27652 mg kg^{-1} . Dobivena vrijednost K u okviru ovog rada je upola veća od one koju su dobili Koch i sur. (10754 mg kg^{-1}),⁴⁸ dok su Koláčková i sur. u “Asagiri” uzorku mača zelenog čaja dobili puno manju vrijednost za K koja iznosi 2750 mg kg^{-1} .⁵ Takvi rezultati mogu biti posljedica toga da je uzorak mača čaja iz literature niže kvalitete zbog nutritivno siromašnijeg tla na kojem se uzgaja, ali i drugačijeg način uzgoja i obrade biljke *Camellia sinensis* u odnosu na uzorke korištene u ovom radu.

Osim K, u uzorcima određeno je 785-1515 mg kg⁻¹ Al, 3060-4658 mg kg⁻¹ Ca, 1493 - 2478 mg kg⁻¹ Mg i 634,117-1061,851 mg kg⁻¹ Mn. Vrijednosti za Al koju su dobili Koláčková i sur. su znatno manje od onih dobivenih u okviru ovog rada (12,1 mg kg⁻¹), ali su primijećene dvostruko veće vrijednosti za Ca u odnosu na literaturne podatke (1916 mg kg⁻¹ i 2310 mg kg⁻¹).^{5,48} Navedeni rezultati za Mg u skladu su s literaturnim podacima (1760 mg kg⁻¹ i 2084 mg kg⁻¹), a vrijednosti za Mn koje su dobili Koláčková i sur. (17,1 mg kg⁻¹) su znatno manje od onih dobivenih u okviru ovog rada.^{5,48}

Tablica 14. Maseni udio makroelemenata u uzorcima mača zelenog čaja (M1-M4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja.

| Element | Uzorak mača zelenog čaja | | | |
|-----------|--------------------------------|-------|-------|-------|
| | M1 | M2 | M3 | M4 |
| | <i>w</i> / mg kg ⁻¹ | | | |
| Al | 1446 | 1001 | 1515 | 785 |
| Ca | 4658 | 3085 | 3367 | 3060 |
| K | 19708 | 26300 | 18691 | 27652 |
| Mg | 2352 | 2113 | 1493 | 2478 |
| Mn | 685 | 1009 | 1061 | 634 |

Radi lakše preglednosti rezultata, sve vrijednosti masenih udjela makroelemenata iz tablice 14, osim vrijednosti za K, prikazani su na slici 10, K je izbačen radi boljeg uvida jer je njegova vrijednost masenog udjela znatno viša u odnosu na ostale makroelemente.



Slika 10. Raspodjela makroelemenata u uzorcima mača zelenog čaja (M1-M4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja.

Od mikroelemenata prisutnih u nešto višem masenom udjelu u odnosu na ostale su: 5,687-21,052 mg kg⁻¹ Ba, 4,297-30,125 mg kg⁻¹ Cu, 42,2-129,6 mg kg⁻¹ Fe, 20,0 - 95,5 mg kg⁻¹ Na, 27,7-52,9 mg kg⁻¹ Rb, 8,4-17,3 mg kg⁻¹ Sr i 20,7-27,4 mg kg⁻¹ Zn (tablica 15). Esencijalni elementi nužni u prehrani, važni za mnoge funkcije u organizmu i općenito kod zdravlja ljudi u Cu, Fe, Na i Zn, dok Ba, Rb i Sr u određenim oblicima i pri određenom masenom udjelu mogu biti toksični.

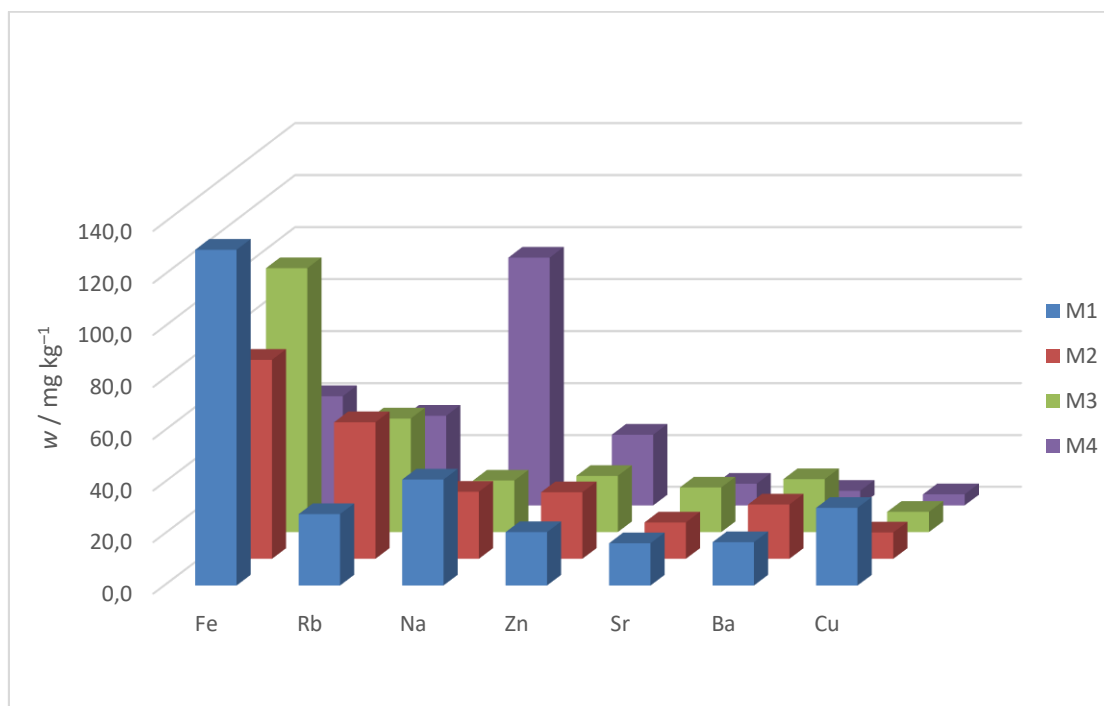
Vrijednosti za Ba, Cu i Fe dobivene u okviru ovog rada u skladu su s literaturom (7,02 mg kg⁻¹ za Ba, 7,38 - 23,6 mg kg⁻¹ za Cu i 112-154 mg kg⁻¹ za Fe), dok su vrijednosti za Na nešto manje od literaturnih podataka (123 - 125 mg kg⁻¹).^{5,48} Maseni udio Sr prisutnog u uzorku "Asagiri" kojeg su analizirali Koláčková i sur. je znatno manji (0,255 mg kg⁻¹) od onog dobivenog u ovom radu, a vrijednost za Zn dvostruko veća (73,0 mg kg⁻¹).⁵ Za Rb nisu pronađene vrijednosti za usporedbu, međutim Islam i Ebihara su u svojem istraživanju odredili maseni udio Rb u uzorcima klasičnog zelenog čaja i on je u rasponu 11,8 - 26,7 mg kg⁻¹ što je slično dobivenim vrijednostima u ovom radu.⁶³ Prisutna je mala razlika zbog drugačije obrade listova biljke *Camellia sinensis* iz koje se dobiva klasičan zeleni čaj i mača zeleni čaj, pa je time i elementi sastav nešto drugačiji.

Maseni udio mikroelemenata u uzorcima mača zelenog čaja (M1-M4) značajno se razlikuje pa su vrijednosti podjeljene u tablicama i slikama na one viših (tablica 15) i nižih (tablica 16).

Tablica 15. Maseni udio mikroelemenata u uzorcima mača zelenog čaja (M1-M4) u višem masenom udjelu nakon mikrovalno potpomognutog razaranja.

| Element | Uzorak mača zelenog čaja | | | |
|-----------|--------------------------|--------|--------|-------|
| | M1 | M2 | M3 | M4 |
| | w / mg kg ⁻¹ | | | |
| Ba | 16,805 | 21,052 | 20,531 | 5,687 |
| Cu | 30,125 | 10,201 | 7,861 | 4,297 |
| Fe | 129,6 | 76,9 | 101,8 | 42,2 |
| Na | 41,1 | 26 | 20 | 95,5 |
| Rb | 27,7 | 52,9 | 44 | 34,7 |
| Sr | 16,4 | 14,1 | 17,3 | 8,4 |
| Zn | 20,7 | 25,8 | 21,8 | 27,4 |

Radi bolje preglednosti, vrijednosti iz tablice 15 prikazane su na slici 11.



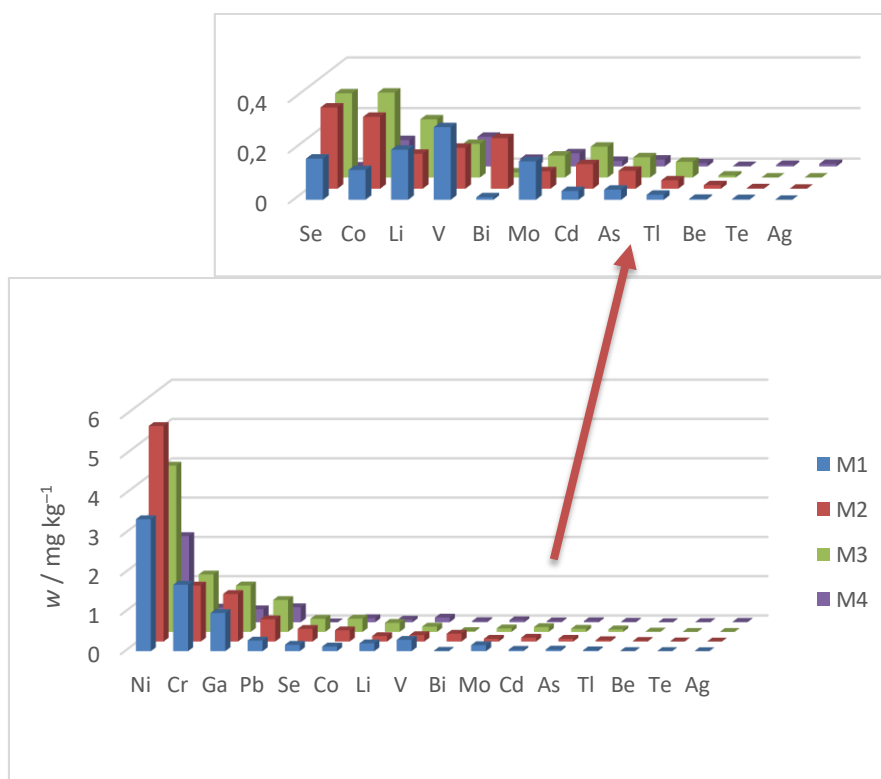
Slika 11. Raspodjela mikroelemenata u uzorcima mača zelenog čaja (M1-M4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja prisutnih u višim masenim koncentracijama.

U literaturnom dijelu je spomenuto da na rezultate elementne analize utječe geografsko područje u kojem se uzgaja biljka, temperatura i svjetlost, ali i onečišćenje zraka i vode. Kada je riječ o esencijalnim elementima, njihova slabija zastupljenost u mača zelenom čaju može biti i posljedica branja zrelijih listova biljke *Camellia sinensis*, a isto tako i nedovoljno dugog sazrijevanja listova bez pristunosti sunčeve svjetlosti.

Ostali mikroelementi prisutni u uzorcima mača zelenog čaja su: Ag, As, Be, Bi, Cd, Co, Cu, Cr, Ga, Li, Mo, Ni, Pb, Se, Te, Tl i V te su prikazani u tablici 16, a radi bolje preglednosti na slici 12.

Tablica 16. Maseni udio mikroelemenata u uzorcima mača zelenog čaja (M1-M4) u nižoj masenoj koncentraciji nakon mikrovalno potpomognutog razaranja.

| Element | Uzorak mača zelenog čaja | | | |
|---------|--------------------------|-------|-------|-------|
| | M1 | M2 | M3 | M4 |
| | $w / \text{mg kg}^{-1}$ | | | |
| Ag | <LOD | <LOD | 0,00 | 0,01 |
| As | 0,04 | 0,071 | 0,08 | 0,027 |
| Be | 0,004 | 0,014 | 0,008 | 0,002 |
| Bi | 0,01 | 0,2 | 0,02 | 0,03 |
| Cd | 0,035 | 0,097 | 0,122 | 0,022 |
| Co | 0,118 | 0,284 | 0,336 | 0,104 |
| Cr | 1,69 | 1,425 | 1,46 | 0,373 |
| Ga | 0,97 | 1,21 | 1,18 | 0,33 |
| Li | 0,198 | 0,138 | 0,23 | 0,066 |
| Mo | 0,152 | 0,069 | 0,087 | 0,052 |
| Ni | 3,358 | 5,484 | 4,228 | 2,193 |
| Pb | 0,27 | 0,567 | 0,811 | 0,381 |
| Se | 0,163 | 0,321 | 0,333 | <LOD |
| Te | 0,003 | 0,002 | 0,00 | 0,006 |
| Tl | 0,02 | 0,033 | 0,062 | 0,013 |
| V | 0,287 | 0,162 | 0,133 | 0,117 |



Slika 12. Raspodjela mikroelemenata u uzorcima mača zelenog čaja (M1-M4) nakon mikrovalno potpomognutog razaranja prisutnih u nižim masenim koncentracijama.

Na temelju prikazanih rezultata može se zaključiti da postoje značajne razlike između Ni ($2,193\text{--}5,484\text{ mg kg}^{-1}$) i ostalih mikroelemenata. U nešto nižem masenom udjelu, a ipak višem u odnosu na ostale, prisutni su Cr, Ga i Pb.

Još jedan od esencijalnih elemenata bitnih za ljudsko zdravlje je Ni, no prevelike koncentracije mogu biti toksične. Koláčková i sur. odredili su značajno manju količinu Ni u uzorku mača zelenog čaja ($0,228\text{ mg kg}^{-1}$).⁵ U okviru ovog rada je pronađen maksimalni maseni udio Ni u uzorku M2 od $5,484\text{ mg kg}^{-1}$, no samo 15 % Ni se apsorbira gastrointestinalnim putem što ispijanjem mača čaja ne predstavlja rizik za ljudsko zdravlje.⁶⁴

Vrijednosti Cr dobivene u ovom radu ($0,373\text{--}1,690\text{ mg kg}^{-1}$) su veće od one koju su dobili Koláčková i sur. ($0,0211\text{ mg kg}^{-1}$), ali se slažu s onom koju su dobili Koch i sur. ($2,32\text{ mg kg}^{-1}$).^{5,48}

Podatak za Ga nije naveden u literaturi, a udio Pb određen u okviru ovog rada ($0,270\text{--}0,811\text{ mg kg}^{-1}$) u mača zelenom čaju ne predstavlja opasnost s obzirom da najveći dopušteni maseni udio prema WHO iznosi 10 mg kg^{-1} .²⁷ Koláčková i sur. su također odredili Pb u nižem masenom udjelu od dopuštenog, no njihov iznosi $0,00005 \pm 0,00001\text{ mg kg}^{-1}$ što je značajno niži od onog određenog u okviru ovog rada.⁵

Čaj se kao napitak može pripremati na različite načine pa količina unesenih elemenata u organizam može varirati ovisno o načinu pripreme čaja (temperatura vode, vrijeme ekstrakcije i sl.). S obzirom da je mača čaj u obliku finog praha, količina elemenata i drugi biološki aktivnih spojeva koje unesemo ispijanjem mača čaja je veća nego kod klasičnog zelenog čaja u obliku listića kod kojeg je ekstrakcija nešto manja nego kod praha mača čaja. Većina ljekovitih biljaka najčešće se koristi upravo za pripremu čaja, no mača se može koristiti u kulinarstvu u slatkim i slanim jelima, u zdravim napitcima od voća i povrća itd. Osim što konzumiranjem mača zelenog čaja možemo unijeti dovoljne količine određenih esencijalnih elemenata, isto tako možemo i one toksične za organizam. Vrijednosti toksičnih elemenata određene u okviru ovog rada su puno manje od najveće dopuštene vrijednosti tih elemenata u ljekovitom bilju koje je propisala Svjetska zdravstvena organizacija, a ona iznosi $0,3\text{ mg kg}^{-1}$ za Cd i 10 mg kg^{-1} za Pb pa iz tog razloga ne postoji opasnost za zdravlje.²⁷

§ 5. ZAKLJUČAK

U okviru ovog diplomskog rada provedena je elementna analiza kurkume i mača zelenog čaja metodom ICP-AES i metodom ICP-MS. Na temelju rezultata pripreme uzoraka mikrovalno potpomognutim razaranjem odabrani su optimalni uvjeti za elementnu analizu. Najbolji rezultati dobiveni su korištenjem smjese reagensa B: HNO_3 (50:50 v/v) i H_2O_2 (1 mol L^{-1}).

Iz rezultata elementne analize može se zaključiti da se metodom ICP-AES i metodom ICP-MS u uzorcima kurkume i mača zelenog čaja može odrediti 28 elemenata.

Od esencijalnih elemenata važnih za čovjekovo zdravlje u uzorcima kurkume prisutnih u višem masenom udjelu su K, Ca, Mg i Na, dok se Fe i Mn ističu među elementima prisutnima u nižem udjelu. Jedan od najtoksičnijih elemenata prisutnih u ljekovitom bilju je Pb, ali u uzorcima kurkume nije pronađeno u masenom udjelu iznad dopuštenog (10 mg kg^{-1}).

U jednom uzorku pronađeno je 0,435 mg kg^{-1} Cd što prelazi maksimalnu dopuštenu vrijednost od 0,3 mg kg^{-1} , međutim zbog količine kurkume koju konzumiramo kao začim, udio Cd određen u uzorku nije značajan i ne predstavlja opasnost za ljudsko zdravlje.

Elementnom analizom utvrđeno je da je mača zeleni čaj dobar izvor esencijalnih elemenata, osobito Ca, K, Mg i Mn. Toksični elementi poput Cd i Pb nisu pronađeni u udjelu iznad dopuštenog u analiziranim uzorcima pa pijenjem mača zelenog čaja nema opasnosti od trovanja toksičnim elementima.

Na temelju rezultata određivanja makro- i mikroelemenata u uzorcima kurkume i mača zelenog čaja može se zaključiti da su dobar izvor nekih esencijalnih elemenata te da ne postoji opasnost od trovanja toksičnim elementima.

§ 6. LITERATURNI IZVORI

1. I. Kolak, Z. Šatović, H. Rukavina, I. Rozić, *Sjemenarstvo* **14** (5) (1997) 341–353
2. C. S. Nwankwo *Int. J. Eng. Res.* **5** (10) (2014) 1085–1089
3. B. Kocaadam, N. Şanlıer, *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* **57** (13) (2017) 2889–2895
4. K. Jakubczyk, J. Kochman, A. Kwiatkowska, J. Kałduńska, K. Dec, D. Kawczuga, K. Janda, *Foods* **9** (2020) 483–493
5. T. Koláčková, D. Sumczynski, L. Zálešáková, L. Šenkárová, J. Orsavová, N. Lanczová, *J. Food Compos. Anal.* **92** (2020) 103581–103616
6. C. Musial, A. Kuban-Jankowska, M. Gorska-Ponikowska, *Int. J. Mol. Sci.* **21** (2020) 1744 – 1755
7. K. Chan, *Chemosphere* **52** (2003) 1361–1371
8. D. Kantoci, *Glasnik zaštite bilja* **6** (2009) 132–134
9. G. D. Gentscheva, T. Stafilovb, E. H. Ivanovaa, *Eurasian J. Anal. Chem.* **5** (2) (2010) 104 – 111
10. M. Özcan, *Food Chem.* **84** (2004) 437–440
11. P. S. C. da Silva, L. S. Francisconi, R. D. M. R Gonçalves, *J. Braz. Chem. Soc.* **27** (12) (2016) 2273–2289
12. National Research Council (US) Committee on Diet and Health, *Diet and Health: Implications for Reducing Chronic Disease Risk*, National Academy Press, Washington D.C. 1989, str. 367–411.
13. E. O. Ahaotu E.O, M. Lawal, *J. Food Nutr. Res.* **6** (2019) 1–4
14. A. Bazzi, J. O. Nriagub, A. M. Linderb, *J. Environ. Monit.* **10** (2008) 1226–1232
15. M. M. Özcan, M. Akbulut, *Food Chem.* **106** (2007) 852–858
16. M. Zengin, M. M. Özcan, U. Cetin, S. Gezgin, *J. Sci. Food Agric.* **88** (2008) 581–589
17. S. Milanović, I. Jovanović, O. Valčić, *Vet. glasnik* **69** (1-2) (2015) 75–89
18. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499992/> (datum pristupa 14. listopada 2020.)
19. A. B. G. Lansdown, *Curr. Probl. Dermatol.* **33** (2006) 17–34
20. S.C. Gad, T. Pham, *Encyclopedia of Toxicology*, Academic Press, Amsterdam, Boston, Heidelberg, 3 (2014) str. 909–911.
21. C. R. Chitambar, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **7** (2010) 2337–2361

22. J. O. Nriagu, *Environmental Pollution and Health*, Amsterdam, Elsevier, 2 (2019) str. 415–423.
23. Z. Zdrojewicz, E. Popowicz, J. Winiarski, *Pol. Merkur Lekarski*. **41** (242) (2016) 115–118
24. S. B. Goldhaber, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **38** (2003) 232–242
25. S. Ahuja, K. M. Alsante, *Handbook of Isolation and Characterization of impurities in Pharmaceuticals*, Academic Press, Amsterdam (2003) str. 80–83
26. L. Friberg, G. F. Nordberg, V. B. Vouk, *Handbook on the Toxicology of Metals*, Elsevier, Amsterdam, 2 (1986)
27. WHO (1998) *Quality control methods for medicinal plant materials*, Geneva
- 28 P. Cvjetko, I. Cvjetko, M. Pavlica, *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* **61** (1) (2010) 111–119
29. I. Kralj, *Moguća povezanost i izloženost aluminija i Alzheimerove bolesti*, Diplomski rad, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, 2014.
30. G. T. Johnson, T. R. Lewis, W. D. Wagner, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **32** (2) (1975) 239 – 245.
31. A. Taylor, *Biol. Trace Elem. Res.* **55** (1996) 231–239
32. J. Kravchenko, T. Kravchenko, T. H. Darrah, R. K. Miller, H. K. Lyrely, A. Vengosh, *Environ. Geochem. Health* **36** (4) (2014) 797–814
33. S. P. Nielsen, *Bone* **35** (2004) 583–588
34. S. J. Genuis, T. P. Bouchard, *Environ. Geochem. Health* **2012** (2012) 1–10
35. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92752/#> (datum pristupa 14. listopada 2020.)
36. <https://sites.evergreen.edu/plantchemeco/turmeric-curcuma-longa-has-a-long-history-of-health-benefits/> (datum pristupa 14. prosinca 2020.)
37. K. V. Peter, *Handbook of herbs and spices*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, (2019) str. 297–308.
38. S. C. Gupta, B. Sung, J. H. Kim, S. Prasad, S. Li, B. B. Aggarwal, *Mol. Nutr. Food Res.* **57** (2013) 1510–1528
39. S. J. Hewlings, D. S. Kalman, *Foods* **6** (2017) 92–103
40. S. Li, W. Yuan, G. Deng, P. Wang, P. Yang, B. B. Aggarwal, *Pharm. Crop.* **2** (2011) 28–54
41. R. F. Tayyem, D. D. Heath, W. K. Al-Delaimy, C. L. Rock, *Nutr. Cancer* **55** (2) (2006) 126–131
42. V. Soleimani, A. Sahebkar, H. Hosseinzadeh, *Phytother. Res.* **32** (6) (2018) 985–996

43. I. A. Maghrabi, *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* **8** (36) (2014) 893–898
44. P. S. C. Silva, L. S. Francisconi, R. D. M. R. Gonçalves, *J. Braz. Chem. Soc.* **27** (12) (2016) 2273–2289
45. C. Dietz, M. Dekker, B. Piqueras-Fiszman, *Int. Food Res. J.* **99** (1) (2017) 72–83
46. https://www.freepik.com/premium-photo/instant-matcha-green-tea-black-bowl-leaf-white_8697597.htm#page=1&query=matcha%20green%20tea&position=15 (datum pristupa 15. prosinca 2020.)
47. D. Komes, D. Horžić, A. Belščak, K. Kovačević Ganić, I. Vulić, *Food Res. Int.* **43** (1) (2010) 167–176
48. W. Koch, W. Kukula-Koch, Ł. Komsta, Z. Marzec, W. Szwer, K. Głowniak, *Molecules* **23** (7) (2018) 1689–1708
49. <https://journals.plos.org/plosone/article/figure?id=10.1371/journal.pone.0204856.g001> (datum pristupa 18. siječnja 2021.)
50. G. Bonuccelli, F. Sotgia, M. P. Lisanti, *Aging* **10** (8) (2018) 1867–1883
51. K. Unno, D. Furushima, S. Hamamoto, K. Iguchi, H. Yamada, A. Morita, M. Pervi, Y. Nakamura, *Heliyon* **5** (5) (2019) 1653–1659
52. C. B. Boss, K. J. Fredeen, *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, Perkin Elmer Corporation, Shelton CT, 3 (2004)
53. R. Thomas, *Practical Guide to ICP-MS*, Marcel Dekker, New York (2004) str. 1–100.
54. S. C Wilschefski, M. R Baxter, *Clin. Biochem. Rev.* **40** (3) (2019) 115–133
55. M. Zeiner, A. Kuhar, I. Juranović Cindrić, *Molecules* **24** (2019) 1877–1891
56. I. Juranović Cindrić, M. Zeiner, M. Požgaj, T. Šilić i G. Stinger, „Elemental characterisation of the medical plant *Alchemilla Velebitica*”, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **31** (2015) 274–278
57. SRM 1547; *Peach leaves* (2019) National Institute of Standards and Technology; U.S. Department of Commerce: Gaithersburg, MD.
58. SRM 1573a; *Tomato leaves* (2018) National Institute of Standards and Technology; Chemical Sciences Division, Gaithersburg, MD.
59. IAEA-392; *Trace, minor and major elements in algae* (2005) International Atomic Energy Agency; Analytical Quality Control Services, Vienna, Austria.

60. LGC7162; *Strawberry leaves* (2009) National Measurement System Valid Analytical Measurement Programme; Department of Trade and Industry, Middlesex, UK.
61. S. Savić, S. Petrović, M. Petronijević, A. Cvetanović, Ž. Petronijević, *Adv. Technol.* **8** (1) (2019) 27–32
62. S. Li, W. Yuan, G. Deng, P. Wang, P. Yang, B. Aggarwal, *Pharm. Crop.* **2** (2011) 28–54
63. M. A. Islam, M. Ebihara, *Arab. J. Chem.* **10** (1) (2017) 677–682
64. WHO (2000) *Regional Office for Europe*, Kopenhagen, Danska.

§ 7. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci

Ime i prezime: Monika Šoltić

Datum rođenja: 14. ožujka 1997.

Mjesto rođenja: Čakovec

Obrazovanje

2004-2011. Osnovna škola Mursko Središće

2011-2015. Gimnazija Josipa Slavenskog Čakovec

2015-2018. Preddiplomski studij kemije, *Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku*

Sudjelovanja u popularizaciji znanosti

2017. Festival znanosti Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

2017. Smotra Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

2018. Festival znanosti Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku