

Određivanje kontaminanata u hrani pomoću ICP-MS

Vidaković, Domagoj

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:182:023431>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-19**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku - Odjel za kemiju

Sveučilišni prijediplomski studij kemija

Domagoj Vidaković

**ODREĐIVANJE KONTAMINANATA U
HRANI POMOĆU ICP-MS**

Završni rad

Mentor: doc.dr.sc. Olivera Galović

Neposredni voditelj: dipl.ing.preh.teh. Dominika Maričić

Osijek, 2024. godina

Naziv sveučilišta : Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku – Odjel za kemiju
Naziv studija : Sveučilišni prijediplomski studij Kemija
Znanstveno područje : Prirodne znanosti
Znanstveno polje : Kemija
Znanstvena grana : Analitička kemija

ODREĐIVANJE KONTAMINANATA U HRANI POMOĆU ICP-MS

DOMAGOJ VIDAKOVIĆ

Rad je izrađen na: Sveučilištu u Osijeku – Odjel za kemiju
Mentor: doc. dr. sc. Olivera Galović
Neposredni voditelj: dipl.ing.preh.teh. Dominika Maričić

Sažetak: Kontaminanti u hrani su sve tvari koje mogu štetno utjecati na ljudsko zdravlje i na okoliš. S obzirom na prirodu onečišćenja, dijele se na fizikalne, biološke i kemijske. Do zagađenja može doći u svakom dijelu proizvodnje i konzumiranja hrane, od uzgoja stoke ili bilja do pripreme hrane u kuhinji. Najčešći kemijski kontaminanti u hrani su teški metali, skupina elemenata u koju se svrstava olovo, nikal, živa, kadmij, arsen, aluminij i cink. Teško su razgradivi u prirodi i predstavljaju opasnost za ljudsko zdravlje, kao i zdravlje ostalih živih bića u okolišu. Najpouzdanija metoda za određivanje koncentracije teških metala u hrani je spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu. Ovom metodom je eksperimentalno određena koncentracija olova, arsena i kadmija u uzorku mrkve. Izmjerena koncentracija arsena u uzorku je manja od 0.01 mg/kg, koncentracija olova iznosi 0.0515 mg/kg, a koncentracija kadmija iznosi 0.0445 mg/kg. Količine navedenih metala u uzorku manje su od najveće dopuštene količine određene zakonom Republike Hrvatske. Konzumiranje mrkve koja je služila kao uzorak je sigurno te ne bi došlo do trovanja teškim metalima.

Ključne riječi : spektrometrija masa, kontaminanti, teški metali, trovanje, hrana, ekosustav

Jezik izvornika: hrvatski jezik

Završni rad obuhvaća: 32 stranice, 9 slika, 4 tablice i 39 literaturnih navoda

Rad prihvaćen: 11. srpnja 2024. godine

Stručno povjerenstvo za ocjenu rada:

1. izv.prof.dr.sc. Elvira Kovač-Andrić, predsjednica
2. doc.dr.sc. Olivera Galović, mentorica i članica
3. izv.prof.dr.sc. Martina Šrajer Gajdošik, članica
4. izv.prof.dr.sc. Marija Jozanović, zamjena člana

Rad je pohranjen: Knjižnica Odjela za kemiju, Kuhačeva 20, 31000 Osijek
Repozitorij Odjela za kemiju, Osijek

University Name: **Josip Juraj Strossmayer University in Osijek – Department of Chemistry**

Name of study programme: **University Undergraduate study programme in Chemistry**

Scientific area: Natural sciences

Scientific field: Chemistry

Scientific branch: Analytical chemistry

DETERMINATION OF FOOD CONTAMINANTS USING ICP-MS

DOMAGOJ VIDA KOVIĆ

The paper was created on: Department of Chemistry

Supervisor: Olivera Galović, Ph. D., assistant prof

Co-supervisor: Dominika Maričić, mag. ing. techn. aliment.

Abstract: Food contaminants are any substances that can negatively impact human health and the ecosystem. There are three types of contaminants based on the type of pollution – physical, biological and chemical. Contamination may occur in every step of food production or consumption. Most common chemical contaminants are heavy metals. They are a group of elements that consist of lead, nickel, mercury, cadmium, arsenic, aluminum and zinc. Heavy metals are hardly biodegradable and they represent a great danger to human health, as well as health of all other living beings in the environment. The most reliable method for determining an amount of heavy metals present in food is inductively coupled plasma mass spectrometry. Using this method, concentrations of lead, mercury and arsenic were experimentally measured in a carrot sample. Measured concentration of arsenic is less than 0.01 mg/kg, concentration of lead amounted to 0.0515 mg/kg, and concentration of cadmium was 0.0445 mg/kg. Concentration of aforementioned metals is smaller than the highest allowed amount which is regulated by the law of Republic of Croatia. It is safe to consume the carrot which served as a sample and there would be no heavy metal poisoning when eating it.

Keywords: mass spectrometry, contaminants, heavy metals, poisoning, food, ecosystem

Original language: Croatian language

Thesis includes: 32 pages, 9 figures, 4 tables and 39 references

Thesis accepted: July 11, 2024

Reviewers:

1. Elvira Kovač-Andrić, PhD., associate prof., chairman
2. Olivera Galović, PhD., assistant prof., mentor and member
3. Martina Šrajer Gajdošik, PhD., associate prof., member
4. Marija Jozanović, PhD., associate prof., alternate member

Thesis deposited in: Library of the Department of Chemistry, Ulica Franje Kuhača 20, Osijek

Repository of the Department of Chemistry, Osijek

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem neposrednoj voditeljici Dominiki Maričić i tvrtki Inspecto na ukazanom povjerenju i pomoći, za danu priliku za rad na uređaju ICP-MS i za podučavanje o radu u laboratoriju sa uređajem ICP-MS.

1 SADRŽAJ

2	Uvod.....	1
3	Literaturni pregled.....	2
3.1	Kontaminanti u hrani.....	2
3.1.1	Fizikalni kontaminanti.....	2
3.1.2	Biološki kontaminanti.....	3
3.1.3	Kemijski kontaminanti.....	4
3.2	Teški metali u hrani.....	4
3.2.1	Izvori onečišćenja hrane teškim metalima.....	5
3.2.2	Živa.....	6
3.2.3	Olovo.....	6
3.2.4	Kadmij.....	6
3.2.5	Nikal.....	7
3.2.6	Cink.....	7
3.2.7	Arsen.....	7
3.2.8	Aluminij.....	8
3.3	Zakonska regulativa teških metala u hrani.....	8
3.4	Metode određivanja kontaminanata u hrani.....	11
3.4.1	Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti.....	11
3.4.2	Enzimski povezan imunosorbentni test.....	12
3.4.3	Ramanova spektroskopija.....	13
3.4.4	UV/Vis Spektroskopija.....	14
3.5	Uloga ICP-MS u određivanju kontaminanata.....	17
3.6	Princip rada ICP-MS.....	18
4	Eksperimentalni dio.....	20
4.1	Pribor.....	20
4.2	Kemikalije.....	20
4.3	Priprema uzoraka za ICP-MS.....	21
4.3.1	Uzorci za analizu.....	21
4.3.2	Mehaničko usitnjavanje i vaganje uzorka.....	21
4.3.3	Mikrovalna digestija.....	22
4.4	Priprema standarda za ICP-MS.....	24
4.5	Unošenje uzoraka u ICP-MS.....	24
4.6	Analiza pripremljenih uzoraka.....	26
5	Rezultati i rasprava.....	27
5.1	Odvaga uzorka mrkve.....	27
5.2	Koncentracija arsena, olova i kadmija u uzorcima mrkve.....	27
6	Zaključak.....	29
7	Popis literature.....	30

2 UVOD

Kontaminanti u hrani su sve tvari koje svojom prisutnošću u hranidbenim proizvodima mogu negativno utjecati na ljudsko zdravlje i na ostala živa bića u okolišu. Ovisno o svojstvima i prirodi onečišćenja, postoje tri podvrste kontaminanata – fizikalni, kemijski i biološki [1]. Hrana se može onečistiti u bilo kojem dijelu proizvodnje i obrađivanja te u transportu, pripremi i konzumiranju. Unošenje kontaminirane hrane može imati različite posljedice, a njihova težina ovisi o količini i vrsti prisutnog kontaminanta. Lakši oblici trovanja su bol u trbuhu, povraćanje i osjećaj slabosti, dok se teži oblici trovanja mogu očitovati kao zloćudni tumori, trajna oštećenja dišnog, krvožilnog ili živčanog sustava, koma ili smrt. Najčešći kontaminanti u hrani dolaze u obliku virusa, a zaslužni su za preko 50 % svih slučajeva trovanja hranom u svijetu [2]. Još neki česti kontaminanti u hrani su bakterije i teški metali. Teški metali su skupina elemenata u koju se svrstava olovo, nikal, živa, kadmij, arsen, aluminij i cink. Dospijevaju u okoliš najčešće putem industrijskih aktivnosti te kemijskih pesticida i gnojiva. Predstavljaju veliki problem za okoliš zato što su teško biorazgradivi i mogu ostati u tlu desetke godina. Kroz poljoprivredu ili usponom kroz hranidbeni lanac dospijevaju u ljudsku hranu. Dugotrajno konzumiranje hrane zagađene teškim metalima ostavlja teške posljedice na dišni, živčani i krvožilni sustav, a može biti smrtonosno. Jedna od najučinkovitijih metoda određivanja količine teških metala u hrani je spektrometrija masa uz induktivno spregnutu plazmu (engl. *Inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS*). Ova metoda koristi plazmu argona kako bi uzorak pretvorila u ione koji se potom mjere pomoću spektrometra masa. Jedna od najvećih prednosti ove metode je izuzetno niska granica detekcije elemenata u uzorku, do 0.1 ppt (engl. *Parts per trillion*) [3].

Cilj ovog završnog rada je odrediti koncentraciju teških metala u uzorku mrkve pomoću metode ICP-MS, usporediti dobivene rezultate sa zakonski najvišim dozvoljenim količinama teških metala i uvidjeti jesu li razine teških metala u uzorku mrkve dozvoljene ili previsoke.

3 LITERATURNI PREGLED

3.1 KONTAMINANTI U HRANI

Kontaminanti u hrani su tvari koje se mogu pronaći u hrani, a štete ljudskom zdravlju. Postoje tri vrste kontaminanata, ovisno o prirodi onečišćenja: fizikalni, biološki i kemijski [1].

3.1.1 Fizikalni kontaminanti

Fizikalni kontaminanti podrazumijevaju strane objekte u hrani. U hranu dopijevaju tijekom obrade, proizvodnje ili pakiranja proizvoda. Neki fizikalni kontaminanti ne moraju nužno biti toksični, ali mogu i dalje predstavljati opasnost od gušenja ili posjekotine. Fizikalni kontaminanti mogu imati više različitih izvora, a to su: građevina u kojoj se hrana proizvodi, strojevi za obradu ili pakiranje, ambalaža, osoblje koje rukuje hranom i štetočine.

Kontaminanti nastali od građevine u kojoj se hrana proizvodi se odnose na dijelove ili čestice građevinskog otpada poput komadića oljuštene boje, žbuke, cigle ili krhotina stakla. Stvaraju se samo kada je građevina već u lošijem stanju i kada se vodi nedovoljna briga o popravcima zgrade u kojoj se postrojenje nalazi.

Neispravna i prljava mehanička oprema može zagađati hranu vijcima, maticama i ostalim manjim dijelovima stroja.

Ambalaže za hranu poput plastičnih omota, folija, limenki i kutija sadrže male dijelove koji mogu onečistiti hranu. Najčešći kontaminanti nastali od ambalaže su krhotine stakla, uzica te komadići plastike i drveta.

Radnici tijekom rukovanja hranom mogu onečistiti hranu nedovoljnom brigom o higijeni ili nepažnjom. Dlake kose, dijelovi noktiju, lak za nokte i trepavice su najčešći kontaminanti u hrani čiji je uzrok nemarno osoblje.

Postrojenja koja nisu prošla kroz dezinfekciju i deratizaciju mogu imati problem sa štetočinama. Najčešće štetočine unutar tvornica hrane su miševi, štakori i insekti. Miševi i štakori mogu ostavljati dlake i sekret u hrani. Insekti hranu mogu zagađati jajašcima ili u njoj čitavi obitavati kao kontaminant. Najčešći su slučaj fizikalnog zagađenja u voću i povrću.

Fizikalni kontaminanti su vrsta onečišćenja hrane koju je najlakše spriječiti. Kako bi se izbjeglo fizikalno zagađenje hrane, moraju se provoditi određene mjere opreza. Radnici trebaju voditi

brigu o higijeni i često dezinficirati radne površine. Strojevi i uređaji za obradu hrane moraju biti redovito održavani. Građevina u kojoj se proizvodi hrana treba biti sanitarno ispravna – popravci se moraju obaviti čim brže te se mora obavljati redovna deratizacija i dezinfekcija prostora [4].

3.1.2 Biološki kontaminanti

Do biološkog onečišćenja hrane dolazi kada patogeni dođu u kontakt s hranom ili životinjom koja se koristi za uzgoj hrane. Biološki kontaminanti uključuju bakterije, viruse i druge mikroorganizme. Najčešće se mogu pronaći u sirovom mesu, štetočinama i na površini odjeće radnika.

Bakterije iz roda *Campylobacter*, bakterija *Salmonella* i *Escherichia Coli* su tri najčešće bakterije koje se mogu pronaći u hrani. Bakterija *Salmonella* uzrokuje salmonelozu, a najčešće se pronalazi u nevaljalim jajima i peradi. Rod *Campylobacter* odgovoran je za trovanja povezana s neobrađenim mlijekom, nedovoljno termički obrađenom piletinom i pitkom vodom. *E. Coli* se povezuje s bolestima uzrokovanim nepasteriziranim mlijekom, nedovoljno termički obrađenim mesom i kontaminiranim voćem i povrćem.

Broj vrsti virusa koji se šire hranom je malen, ali oni uzrokuju najveći broj slučajeva trovanja hranom. *Norovirus* je vrlo zarazna vrsta virusa koja se prenosi kontaminiranom hranom ili pićem. Iako u većini slučajeva zaraze dolazi do relativno laganih simptoma (bol u truhu, proljev, povraćanje), *Norovirus* je zaslužan za oko 50 % svih slučajeva trovanja hranom u svijetu. Može pogoditi bilo koga. Hrana se može zagađati ovim virusom u bilo kojem trenutku obrade ili pripreme. *Hepatitis A* je virus koji se može širiti kroz onečišćenu hranu ili piće, čak i ako je hrana zamrznuta. Najčešća hrana kroz koju se *Hepatitis A* širi su voće, povrće i školjkaši. Visoko je zarazan i uzrokuje upalu jetre [2].

Od ostalih štetnih mikroorganizama u hrani najčešće su plijesni i parazitski rod crva *Trichinella*. Plijesni nastaju na površinama hrane koja nije dobro uskladištena ili hrani kojoj je istekao rok valjanosti. Otpuštaju mikotoksine, toksične spojeve koji se mogu pronaći u 25 % žitarica u svijetu [5]. Rod *Trichinella* pogađa domaće svinje, a konzumiranjem nedovoljno termički obrađenog svinjskog mesa ljudi se mogu zaraziti te dobiti bolest trihinelozu. Lakši simptomi uključuju proljev, povraćanje i bol u truhu, dok se u težim slučajevima crv ućahuri u mišićima. Simptomi težih slučajeva trovanja su edemi, konjuktivitis, vrućica, slabost i bol u mišićima [6].

Širenje bioloških kontaminanata može se spriječiti higijenom radnika i potrošača hrane, redovitom dezinfekcijom radnih površina za proizvodnju hrane, pregledima stoke, pasterizacijom i dovoljnom termičkom obradom hrane prije konzumiranja.

3.1.3 Kemijski kontaminanti

Kemijsko zagađenje hranom događa se kada neželjeni kemijski spojevi dođu u kontakt s hranidbenim proizvodima. Ovisno o koncentraciji, kemijska zagađenja hranom mogu biti vrlo opasna i dovesti do trovanja. Kemijski kontaminanti dijele se na tri podvrste ovisno o njihovom izvoru: prirodni toksini, kontaminanti iz okoliša i kontaminanti nastali obrađivanjem hrane [7].

Prirodni toksini se odnose na sve štetne kemijske spojeve nastale prirodnim procesima u nekim organizmima. Neki od toksina uključuju glikoalkaloide nastale u krumpirima, mikotoksine koji su nastali djelovanjem plijesni na žitaricama, voću i povrću te tetrodotoksin, jak neurotoksin koji se može pronaći u ribama [8].

Kontaminanti iz okoliša su sve štetne kemijske tvari koje su otpuštene u zrak, vodu ili tlo obično kao rezultat industrijskih ili poljoprivrednih aktivnosti. Mogu ući i kretati se kroz hranidbeni lanac. Zbog široke raširenosti uzrokovane tokom kroz okoliš, mogu se pronaći i u biljkama i u životinjama. Uključuju poliklorirane bifenile, klorirane i fosfatne pesticide i teške metale.

Prilikom obrađivanja hrane može doći do zagađenja ili nastanka novih štetnih tvari. Nemarnim korištenjem sredstava za čišćenje, maziva za strojeve i kemikalija za deratizaciju i dezinfekciju postoji mogućnost onečišćenja hrane. Pretjeranom termičkom obradom hrane dolazi do razvitka akrilamida ili furana [7].

3.2 TEŠKI METALI U HRANI

Velik dio metala visoke gustoće nije toksičan, osim u pretjeranim koncentracijama. Neki od njih su esencijalni elementi za život ljudi – magnezij, željezo, kalcij, natrij, kobalt, bakar, cink, mangan, molibden i kalij. No, postoji niz metala koji predstavljaju problem za okoliš i za zdravlje ljudi. Ta skupina metala se često naziva „teškim metalima“. U teške metale spadaju živa, olovo, kadmij, nikal i cink. Uz njih se mogu ubrojiti i arsen i aluminij, elemente koji su vrlo slični teškim metalima s toksikološkog stajališta. Velik problem ovih elemenata leži u tome što su teško razgradivi u prirodi, što mogu zagađiti tlo i ostati u okolišu desetke ili stotine

godina. Kada se ispuste u okoliš mogu se akumulirati u tlu, biljkama i ostalim organskim tkivima. Njihova koncentracija u živim bićima raste u hranidbenom lancu – što je neki organizam u višoj poziciji u hranidbenom lancu, to je veća koncentracija teških metala u organizmu. Postoji mnogo načina na koji metali mogu dospjeti u hranidbene proizvode, te je potrebno pažljivo pratiti koncentraciju metala u hranidbenim proizvodima [9].

3.2.1 Izvori onečišćenja hrane teškim metalima

Hrana se može zagaditi teškim metalima na više načina: kontaminacijom tla na kojem se hrana proizvodi, otpadnim muljem, kemijskim gnojivima i pesticidima koji se koriste u poljoprivredi, rudarskim i industrijskom djelatnostima [10].

Fosfor se koristi kao sastojak u proizvodnji mnogih organskih i anorganskih gnojiva. Fosfor isto igra ključnu ulogu u akumulaciji teških metala u plodnom tlu. Prekomjernim korištenjem gnojiva koje sadrže fosfor nastaju fosfatni spojevi koji imobiliziraju teške metale u tlu [10]. Povećana koncentracija teških metala u tlu uzrokuje smanjenu plodnost tla, što znači da će rast i produktivnost biljaka biti snižena [11].

Teški metali se mogu suspendirani prenositi u rijekama ili jezerima, te prilikom poplave ili visokih mijena velike količine suspendiranih teških metala u vodi i/ili mulju se mogu prenijeti na obradivo tlo. U vrijeme najveće rudarske aktivnosti (druga polovica devetnaestog stoljeća), jedan od najčešćih izvora onečišćenja aluvijalnih tala su bili sedimenti metalnih rudnika. Pri obrađivanju minerala, ruda i kamena izvađenog iz rudnika, stvarao se sediment finih čestica rudnog otpada koji se između ostalog mogao sastojati od teških metala. Ovakva vrsta otpada se kroz povijest često znala ispuštati u obližnje rijeke ili jezera, zagađujući te vodene površine, a time i sva tla koja su se nalazila uz te rijeke [12]. Ovakva vrsta zagađenja ima dvojak negativni utjecaj na kvalitetu hrane: onečišćuje se voda, a time i svi vodeni organizmi od planktona do ribe koja se lovi radi prehrane, a tako i biljke koje bi se uzgajale na aluvijalnim tlima uz zagađenu rijeku. Biljke su korijenjem iz tla upijale vodu i minerale potrebne za njihov metabolizam, a u isto vrijeme su apsorbirale i teške metale koji se nalaze u tom tlu.

3.2.2 Živa

Živa je vrlo toksičan teški metal koji se u prirodi nalazi u svom elementarnom stanju ili u obliku soli. Ne bi se trebala prirodno pojavljivati u hranidbenom lancu, no antropogenim djelovanjem može dospjeti u vodene površine, najčešće u obliku metil-žive. Metil-živa je neurotoksin koji može uzrokovati brojne poremećaje u ljudskom tijelu. Čovjekovo djelovanje najčešće podrazumijeva industrijsku aktivnost – ispuštanje otpadnih voda industrijskih postrojenja u obližnju rijeku ili jezero. Organizmi koji žive u vodi apsorbiraju metil živu, te se ona penje uz hranidbeni lanac u kojem dospijeva do riba. Kontaminirane ribe se hvataju i služe kao izvor hrane. Najpoznatiji primjer trovanja živom je Minamata bolest, neurodegenerativna bolest koja je uzrokovana trovanjem metil-živom iz ribe [13].

3.2.3 Olovo

Olovo je teški metal koji se nalazi u Zemljinoj kori i u mineralima. Ima širok spektar primjene: koristilo se u baterijama, bojama i pigmentima, obojanom staklu, nakitu, igračkama, kozmetici, municiji te pri lemljenju. Olovo se koristilo kao glavna komponenta u vodovodnim cijevima zato što je dugotrajnije i savitljivije od željeza. Moguće je da se olovo akumuliralo u obradivom tlu preko cijevi koje su služile za navodnjavanje obradivog tla. Biljke su apsorbirale olovo koje se nakupljalo u obradivom tlu. Trovanje olovom je bilo izraženije u prošlosti, no i danas može predstavljati veliku opasnost. Olovo se u ljudskom tijelu može akumulirati u zubima i kostima tijekom dugačkog perioda vremena. Oštećuje živčani sustav, jetru i bubrege. Posebno je opasno za trudnice i malu djecu. Tijekom trudnoće olovo se može ispustiti iz kostiju uz kalcij za stvaranje kostiju fetusa. Izlaganje fetusa povećanoj koncentraciji olova usporava i umanjuje njegov rast. Ako se mala djeca otruju olovom, može doći do vrlo ozbiljnih posljedica kao što je oštećenje mozga i središnjeg živčanog sustava, uzrokujući komu ili smrt [14].

3.2.4 Kadmij

Kadmij je teški metal koji se najčešće oslobađa tijekom taljenja drugih metala poput cinka, olova i bakra. Uglavnom se koristi u proizvodnji punjivih baterija u mobitelima i drugoj bežičnoj opremi. U hranu (većinom biljke poput krumpira i salata) može doći putem toksičnog sedimenta nanesenog rijekom bogatom toksinima, iz fosfatnih gnojiva te taloženjem u tlo iz zraka zagađenog kadmijem zbog stvaranja prašine prilikom obrađivanja metala u rudnicima.

Kadmij može utjecati na bubrege, pluća i kosti. Manjim unosom kadmija dolazi do glavobolje, iritacije trbuha, povraćanja i proljeva. Veći unos kadmija (najčešće tijekom duljeg vremenskog razdoblja) putem hrane može uzrokovati oštećenja bubrega, srca i jetre te u ozbiljnim slučajevima uzrokovati smrt [15].

3.2.5 Nikal

Nikal je teški metal koji se prirodno nalazi u Zemljinoj kori, no može se pronaći u tragovima u zraku, vodi, tlu i biosferi. Prosječna koncentracija nikla u Zemljinoj kori je 0.008%. Nikal se nalazi i u spojevima poput niklovog klorida i niklovog sulfata, koji su sastavni dijelovi niklovih ruda. Najveći izvor nikla su antropogene djelatnosti – spaljivanje nafte i ugljena, metalurgija i ostale industrijske djelatnosti. Nikal se u hrani većinom nalazi u biljkama. Dugoročna izloženost trovanju niklom uzrokovana konzumiranjem kontaminirane hrane može dovesti do problema krvožilnog sustava, zloćudnih tumora i oštećenja dišnog sustava [16].

3.2.6 Cink

Cink je metal koji se nalazi u ljudskom tijelu te je vrlo bitan za enzimске reakcije u metabolizmu vitamina A, ekspresiji DNK te stabilizaciji staničnih membrana. Prekomjeren unos cinka može se manifestirati povraćanjem, proljevom i bolovima u truhu. Dugoročni prekomjerni unos cinka može dovesti do oštećenja i zatajenja krvožilnog sustava te do oštećenja dišnog sustava. Iako je najčešći oblik trovanja cinkom udisanje u industrijskom postrojenjima prilikom metalurških procesa, cink prisutan u zraku može se taložiti u tlo i vezati za biljke koje služe za prehranu [17].

3.2.7 Arsen

Arsen je element koji se može prirodno pronaći u mineralima, tlu, vodi i biosferi u vrlo malim koncentracijama. Pronalazi se u obliku arsenovog(III) oksida i arsenovog(V) oksida. Arsen se u problematično velikim količinama u zraku (preko $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$) nalazi najčešće zbog čovjekovog djelovanja – industrijski procesi poput metalurgije, rudarstva i proizvodnih postrojenja mogu ispuštati velike količine arsena u atmosferu. Arsen se može pronaći u prašini koja se taloži, a ispiranjem kišom te otjecanjem kišnice dospijeva do podzemnih voda. Najčešća trovanja arsenom su uzrokovana onečišćenom vodom, no može se pronaći i u hrani u koju dospijeva navodnjavanjem žitarica onečišćenom vodom ili korištenjem onečišćene vode kao pića za

stoku. Na taj način dolazi do taloženja arsena u biljkama i životinjama. Neki pesticidi u svom sastavu imaju arsen ili njegove spojeve. Unos hrane zagađene arsenom tijekom duljeg perioda vremena može dovesti do ozbiljnih posljedica za zdravlje. Trovanje arsenom uzrokuje oštećenja dišnog sustava, srca i bubrega. Bez pravilne skrbi, trovanje arsenom može biti smrtonosno [18].

3.2.8 Aluminij

Aluminij je metal koji je sveprisutan – pronalazi se u Zemljinoj kori, zraku, tlu i vodi te ga se u određenoj količini može pronaći u biosferi. Ima vrlo široku primjenu u svakodnevnom životu, njegova potražnja je uvijek visoka. Najčešće u prekomjernim količinama u okoliš dospjeva u obliku industrijskog otpada, gdje se ispušta u vodene tokove putem kojih dolazi do podzemnih voda. Najčešći izvor aluminija u hrani je u voću i povrću. Izloženost aluminiju nosi kompleksne posljedice – inhibiciju enzima poput superoksid-dismutaze 1, glutation-peroksidaze i 1-alfa-hidroksilaze, promjena sinteze proteina i funkcije nukleinskih kiselina, proizvodnja reaktivnih kisikovih vrsta te negativan utjecaj na mišiće, kosti, bubrege, jetra, dišni i živčani sustav. Stupanj trovanja aluminijem može se odrediti analizom krvi, urina, kose, noktiju i znoja [19].

3.3 ZAKONSKA REGULATIVA TEŠKIH METALA U HRANI

Kako bi se izbjegla otrovanja i kobne posljedice na cijeli hranidbeni lanac i ekosustav, ustanovljeni su zakoni koji reguliraju maksimalnu količinu teških metala u prehrambenim namirnicama. Pošto su teški metali toksični i u malim količinama, većina NDK (najvećih dopuštenih količina) će se kretati do nekoliko mg/kg (miligrama metala po kilogramu navedene hrane).

Propisane su hitne mjere u slučaju kada nadležno tijelo utvrdi da hrana za ljude ili hrana za životinje može predstavljati ozbiljan rizik za zdravlje ljudi, životinja ili okoliš. Štetna hrana se odmah uklanja iz prodaje, a stavlja se privremena zabrana stavljanja te hrane na tržište. Zabranjuje se uporaba te hrane za ljude ili životinje. [20]. 1979. godine uspostavljen je međunarodni sustav brzog uzbunjivanja za hranu i hranu za životinje (engl. *Rapid Alert System for Food and Feed*, RASFF) kao mreža za izvještavanje o izravnom ili neizravnom riziku za zdravlje ljudi nastalo od hrane ili hrane za životinje. Članovi RASFF-a su sve države članice EU-a, zemlje EGP-a (Norveška, Lihtenštajn i Island), Europska agencija za sigurnost hrane i Europska komisija, kao upravitelj sustava. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu ima

organiziranu mrežnu stranicu koja izvještava potrošače o svim namirnicama koje su opozvane sa tržišta zbog utvrđene štetnosti [21].

Ovisno o vrsti hrane i metala, propisane su maksimalne dozvoljene količine pojedinog teškog metala u hrani. U tablicama 1 i 2 prikazane su najviše dozvoljene količine (NDK) za olovo i kadmij.

Tablica 1. Najviše dozvoljene količine (NDK) olova u nekim prehrambenim proizvodima [22]

Pb	Naziv hrane	NDK (mg/kg ili mg/L)
3.1.1.1.	Brusnice, ribiz, bazgine bobice i plodovi planike	0,2
3.1.1.2.	Voće, osim brusnica, bazginih bobica i plodova planika	0,1
3.1.2.1.	Korjenasto i gomoljasto povrće, osim svježeg đumbira i svježe kurkume	0,1
3.1.7.	Mahunarke	0,1
3.1.9.2.	Divlje gljive	0,8
3.1.11.	Žitarice	0,2
3.1.15.1.	Mišićno meso riba	0,3
3.1.15.4.	Školjkaši	1,5
3.1.17.	Med	0,1
3.1.18.	Masti i ulja	0,1

Tablica 2. Najviše dozvoljene količine (NDK) kadmija u nekim prehrambenim proizvodima [22]

Cd	Naziv hrane	NDK (mg/kg, ili mg/L)
3.2.1.1.	Voće, osim proizvoda iz točaka 3.2.1.2., 3.2.1.3. i 3.2.1.4.	0,05
3.2.1.2.	Agrumi, jezgričavo voće, koštuničavo voće, stolne masline, kivi, banana, mango, papaja i ananas	0,02
3.2.1.3.	Bobičasto i sitno voće, osim proizvoda iz točke 3.2.1.4.	0,03
3.2.1.4.	Maline	0,04
3.2.1.5.1.	Orašasti plodovi, osim proizvoda iz točke 3.2.1.5.2.	0,2
3.2.1.5.2.	Pinjoli	0,3
3.2.2.1.	Korjenasto i gomoljasto povrće, osim proizvoda iz točaka 3.2.2.2., 3.2.2.3., 3.2.2.4., 3.2.2.5., 3.2.2.6. i 3.2.2.7.	0,1
3.2.2.2.	Cikla	0,06
3.2.2.3.	Celer korjenaš	0,15
3.2.2.4.	Hren, pastirnjak, turovac/bijeli korijen	0,2
3.2.2.5.	Rotkve, osim jestivog šilja	0,02
3.2.2.6.	Jestivi šilj	0,1
3.2.2.7.	Tropski korijeni i gomolji, korijen peršina, repa	0,05
3.2.6.2.	Špinat i slični listovi, sadnice gorušice i svježe začinsko bilje	0,2
3.2.7.	Mahunarke	0,02
3.2.9.3.	Divlje gljive	0,5

3.4 METODE ODREĐIVANJA KONTAMINANATA U HRANI

Određivanje prisutnosti i koncentracije kontaminanata u hrani vrlo je bitno kako bi se izbjeglo konzumiranje onečišćene hrane koje može uzrokovati ozbiljne zdravstvene probleme. Radi detekcije i kvantifikacije kontaminanata u hrani razvijeno je mnoštvo metoda, a najčešće se koriste tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High performance liquid chromatography*, *HPLC*) enzimski povezan imunosorbentni test (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, *ELISA*), Ramanova spektroskopija, UV/Vis spektroskopija i ICP-MS. Svaka pojedina metoda se primjenjuje u analizi hrane ovisno o vrsti traženog kontaminanta i vrsti hranidbenog proizvoda koji se analizira.

3.4.1 Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti

HPLC je analitička metoda koja se koristi za identifikaciju, razdvajanje i kvantifikaciju spojeva u organskim, anorganskim, biološkim i polimerskim uzorcima. Zasniva se na kemijskim interakcijama između tvari koja se analizira i stacionarne faze u koloni.

Mobilna faza se pumpa kroz kolonu u kojoj se nalazi stacionarna faza. Mali volumen uzorka se injektira u tok mobilne faze. Stacionarna faza se sastoji od mnogo sitnih čestica koje imaju veliku površinu kako bi se povećao broj interakcija uzorka i stacionarne faze. Kada tvari u uzorku dođu u kontakt sa stacionarnom fazom, zadržavaju se u njoj određenu količinu vremena prije nego što se eluiraju. To vrijeme se naziva retencijsko vrijeme ili vrijeme zadržavanja. Ono ovisi o sastavu mobilne faze, svojstvima stacionarne faze i prirodi uzorka. Komponente s različitim svojstvima će isto tako imati različito vrijeme zadržavanja, što znači da se komponente mogu razdvojiti iz smjese.

Nakon što se tvar iz uzorka eluira, prepoznaje se pomoću detektora koji je smješten na kraju kolone. Detektor šalje podatke u računalno sučelje za svaku tvar koja se eluira.

Najčešća otapala su voda, metanol i heksan, a najčešće stacionarne faze sastoje se od silika gela i alumina gela.

Kromatografija na normalnim fazama koristi polarnu stacionarnu fazu i nepolarnu mobilnu fazu, a koristi se ako je tvar koja se analizira polarna. Polarna tvar će se adsorbirati na stacionarnoj fazi i trebat će joj dulje vremena da se eluira.

Kromatografija na obrnutim fazama koristi nepolarnu stacionarnu fazu i polarnu mobilnu fazu, a koristi se ako je tvar koja se analizira nepolarna. Nepolarnim tvarima će vrijeme zadržavanja u kromatografiji na obrnutim fazama biti dulje [23].

HPLC ima mogućnost analizirati sve najzastupljenije konstituente hrane – proteine, lipide, bjelančevine, ugljikohidrate i vitamine. Može razotkriti dodavanje stranih nutrijenata u hranidbene proizvode te detektirati toksične organske spojeve, proteine i aminokiseline [24].

Velika prednost HPLC-a je vrlo niska granica detekcije koja omogućava prepoznavanje kontaminanta u vrlo niskom koncentracijama. Isto tako, može prepoznati vrlo velik broj toksina u hrani. No, ova metoda je skupa i zahtijeva visoku razinu stručnosti osoblja koji rukuju uređajem.

3.4.2 Enzimski povezan imunosorbentni test

Enzimski povezan imunosorbentni test (ELISA) može detektirati širok raspon bioloških molekula povezujući ih antitijelima na kojima se nalaze enzimi. ELISA analize najčešće se izvode na ploči.

Na ploču za analizu prvo se nanese antitijelo, a zatim uzorak koji se analizira. Ako se u uzorku nalazi biološka molekula koju se želi detektirati, vezat će se na antitijelo – tražena molekula (antigen) se imobilizira. Idući korak je ispiranje ostalih molekula, nakon kojeg će na ploči ostati samo antigen imobiliziran antitijelom.

Nadalje se na ploču dodaje drugo antitijelo koje na sebe ima vezan enzim. Drugo antitijelo će stvoriti vezu s antigenom i nakon drugog ispiranja na ploči ostaju dva antitijela s antigenom između njih. Potom se dodaje bezbojni supstrat koji u reakciji s enzimom promijeni boju. Promjena boje supstrata omogućava detekciju antigena.

Postoje tri vrste ELISA-e – Direktna, indirektna i „sendvič“ ELISA. U prethodna dva odlomka je objašnjena „sendvič“ ELISA, koja između dva antitijela zarobi antigen. U direktnoj ELISA-i antigen se odmah imobilizira za ploču bez korištenja prvog antitijela, dok je korak dodavanja antitijela s enzimom jednak „sendvič“ ELISA-i. Indirektna ELISA isto tako ne koristi prvo antitijelo za imobilizaciju antigena, no nakon imobilizacije na antigen prvo veže primarno antitijelo, a zatim sekundarno koje sadrži enzim. Dodavanje bezbojnog supstrata radi promjene boje je jednako u svim podvrstama ELISA-e.

Promjena boje dokazuje prisutnost tražene molekule, a kvantifikacija tj. određivanje koncentracije se mjeri pomoću spektrofotometrije. Što je intenzitet obojenja ploče veći, koncentracija tražene molekule je veća.

ELISA je vrlo učinkovita metoda za detekciju i kvantifikaciju bioloških toksina u hrani – mikotoksina poput aflatoksina, vomitoksina i fumonizina B1. Isto tako, može detektirati biljne toksine poput ricina i bakterije poput Salmonelle [25].

ELISA se danas smatra zlatnim standardom i najučinkovitijom metodom za detekciju bakterijskih i proteinskih kontaminanata u hrani. Proces analize je brz (90 minuta), granica detekcije je niska i potrebni enzimi su stabilni tj. imaju dugačak rok trajanja. Međutim, ELISA ne može detektirati više kontaminanata odjednom nego samo jedan po jedan. Za ELISA analizu potrebna je skupa oprema i visoka razina stručnosti – ova metoda se teško može izvoditi izvan laboratorija. Razvoj novih antitijela i antigena je skup i dugotrajan proces zbog visoke specifičnosti molekula [25].

3.4.3 Ramanova spektroskopija

Prilikom kontakta monokromatskog svjetla s uzorkom, svjetlo se može apsorbirati, transmitirati ili raspršiti. Ramanova spektroskopija proučava raspršenje svjetlosti prilikom dodira s uzorkom. Raspršenje može biti elastično (Rayleighovo) i neelastično (Ramanovo).

Elastično raspršenje se događa kada se pomoću monokromatske svjetlosti elektron u uzorku pobudi iz osnovnog u pobuđeno stanje, a zatim vrati nazad u osnovno. Prilikom povratka u osnovno stanje, elektron emitira svjetlost frekvencije jednake onoj koja ga je pobudila. Neelastično raspršenje je pojava gdje se elektron pobuđuje monokromatskom svjetlosti u virtualno stanje, ali se umjesto osnovnog vraća u pobuđeno stanje, time emitirajući svjetlost niže frekvencije od početne. Pojava neelastičnog raspršenja je vrlo rijetka, događa se u 1 od 10^8 elektrona. Pomoću neelastičnog raspršenja moguće je identificirati molekule. Granica detekcije Ramanove spektroskopije je vrlo niska, može biti i jedna molekula u cijelom uzorku.

Unutar uređaja za Ramanovu spektrometriju izvor monokromatskog zračenja (laser) kroz leću obasjava uzorak. Zatim se raspršeno svjetlo usmjerava prema filteru i potom ulazi u spektrometar. Unutar spektrometra svjetlo se pomoću leća i optičke rešetke razdvaja po valnim duljinama i šalje u detektor. Detektor prepoznaje različite valne duljine zraka svjetlosti i prikazuje ih u računalnom sučelju u obliku spektra. Svaka molekula ima jedinstven Ramanov spektar [25].

Postoji nekoliko tehnika Ramanove spektroskopije, a to su disperzivna Ramanova spektroskopija, Ramanova spektroskopija s Fourierovim transformacijama i spektroskopija površinski pojačanog Ramanovog raspršenja. Disperzivna Ramanova spektroskopija je najraširenija podvrsta - koristi intenzivnu monokromatsku svjetlost najčešće dobivenu laserskim zračenjem. Vrlo je prikladna za uzorke u vodenoj otopini i analize na povišenoj temperaturi. Ramanova spektroskopija s Fourierovim transformacijama koristi infracrveni spektrometar s Fourierovim transformacijama (engl. *Fourier Transformation Infra Red*, FTIR) za analizu svjetlosti. FTIR spektrometar prikazuje vrlo jasan i visoko razlučiv i precizan spektar koji omogućuje vrlo točno određivanje molekula u uzorku. Površinski pojačana Ramanova spektroskopija raspršenu svjetlost šalje kroz dielektrični filter građen od čvrstog materijala. Pomoću elektromagnetskih svojstava nanočestica u filteru, signal svjetlosti se može pojačati do 10^{14} puta. Ima vrlo nisku granicu detekcije i učinkovitije kvantificira molekule u uzorku [26].

Tehnike Ramanove spektroskopije koriste se za određivanje bioloških i kemijskih kontaminanta na voću i povrću, u mesu i mliječnim proizvodima. Na površini voća i povrća Ramanova spektroskopija može detektirati i klasificirati štetne mikroorganizme poput *E.Coli*. Sa stopostotnom preciznošću razlikuje patogene i nepatogene mikroorganizme. Moguće je detektiranje ostataka pesticida na površini voća i povrća i u voćnom soku u preciznosti od 10 ppm (engl. *Parts per million*).

Moguće je prepoznavanje patvorenih mliječnih proizvoda smanjene kvalitete koji sadrže povišene količine sirutke ili drugih masnoća. U mliječnim proizvodima se može nalaziti i melamin, kemikalija koja se koristi u proizvodnji plastike. U hranu može dospjeti slučajno tijekom proizvodnje ili namjerno, kako bi se umjetno povisile hranidbene vrijednosti mliječnih proizvoda. Ramanova spektroskopija vrlo brzo može detektirati i kvantificirati melamin.

Ramanova spektroskopija koristi se za određivanje kvalitete mesa i ribe tako što u uzorku mjeri razine proteina, masnoća karotenoida i kolagena. S lakoćom detektira biološke kontaminante u mesu.

Velik broj tehnika, niska granica detekcije i široka primjena u prehrambenoj industriji čine Ramanovu spektroskopiju potentnom metodom za određivanje kontaminanata u hrani [26].

3.4.4 UV/Vis Spektroskopija

Ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija ili UV-Vis spektroskopija je vrlo česta spektroskopska metoda koja se koristi u prehrambenoj industriji. Temelji se na principu da molekule u

vidljivom i ultraljubičastom spektru apsorbiraju različite količine svjetlosnog zračenja ovisno o njihovoj strukturi i veličini.

UV-Vis spektrofotometar se sastoji od izvora zračenja, monokromatora, difrakcijske rešetke ili prizme, prostora za uzorak, detektora i računalnog sučelja. Izvor zračenja u monokromatoru su najčešće deuterijske lampe, lampe s halogenim elementima i ksenonske lampe. Ove lampe koriste se jer pokrivaju potrebne valne duljine u UV i vidljivom spektru svjetlosti. Svjetlost iz izvora zračenja pada na monokromator koji prevodi polikromatsku svjetlost u svjetlosnu zraku koja ima jednu valnu duljinu. Svjetlosna zraka određene valne duljine se zatim cijepa na dvije zrake jednakog intenziteta – jedna prolazi kroz uzorak, a druga kroz referentnu otopinu. Nakon prolaska kroz uzorak i referentnu otopinu, svjetlosne zrake dolaze do detektora. Detektori svjetlosno zračenje pretvaraju u električni impuls, koji se prikazuje u računalnom sučelju kao rezultat [27].

Kada molekule u otopini apsorbiraju svjetlost, intenzitet svjetlosnog zračenja koje prolazi kroz otopinu će biti manji. Usporedbom intenziteta svjetlosnog zračenja uzorka i referenta, dobiva se transmitancija. Transmitancija je udio upadnog zračenja određene valne duljine koji je prošao kroz medij na koji pada zračenje, a iznos transmitancije može biti između 0 i 1 [28].

Apsorbancija je logaritam omjera intenziteta upadnog zračenja i propuštenog zračenja kroz uzorak. Može se opisati jednadžbom 1:

$$A = \log\left(\frac{U}{P}\right) \quad (1)$$

gdje je U intenzitet upadnog zračenja, a P intenzitet propuštenog zračenja. Prilikom analize, potrebno je voditi računa da kivete u koje se stavlja uzorak budu čiste i da budu izrađene od materijala koji je prikladan za mjerenje u željenom području. Apsorbancija se može izračunati i preko transmitancije pomoću jednadžbe 2:

$$A = -\log T. \quad (2)$$

Povezivanjem s Beer-Lambert-ovim zakonom, apsorbancija molekule se može povezati sa koncentracijom analita. Beer-Lambert-ov zakon prikazan je jednadžbom 3:

$$A = \epsilon bc \quad (3)$$

gdje ϵ predstavlja molarni apsorpcijski koeficijent – konstantu i poznatu vrijednost prilikom određivanja koncentracije uzorka. Najčešća mjerna jedinica je $\text{Lcm}^{-1}\text{mol}^{-1}$. Ovisi o valnoj

duljini svjetlosnog zračenja. Simbol b predstavlja duljinu optičkog puta svjetlosti kroz uzorak (širinu posude u kojoj se uzorak nalazi), a izražava se u cm. A predstavlja apsorbanciju, koja nema mjernu jedinicu, a c je molarna koncentracija uzorka izražena u mol/L [29].

U prehrambenoj industriji UV/Vis spektroskopija se koristi u identificiranju i određivanju koncentracije kemijskih kontaminanata. Teški metali poput kadmija i bakra su toksini koji se često mogu naći u hrani, a mogu se detektirati i kvantificirati pomoću UV/Vis spektroskopije.

Sintetičke boje poput indigokarmina, košenil crvenog A i azo-bojila se dodaju u hranu kako bi joj promijenile boju. Bojanje hrane je nekim proizvođačima važno jer hrana izraženije boje kupcima djeluje privlačnije, upadljivije i ukusnije. U visokim količinama sintetičke boje za hranu imaju toksična i kancerogena svojstva. Uzorak obojene hrane pripremi se za UV/Vis spektrometriju otapanjem u vodi. UV/Vis metodom mogu se precizno identificirati bojila i odrediti njihove koncentracije. Ova procedura se pokazala kao učinkovita metoda koja se može primijeniti u rutinskim analizama koncentracije sintetičkih boja u hrani.

Policiklički aromatski ugljikovodici (engl. *Polycyclic aromatic hydrocarbons*, PAH) su velika skupina organskih spojeva u koju se svrstavaju molekule s dva ili više spojena aromatska prstena. Najčešće se formiraju tijekom nepotpunog sagorijevanja pri termičkoj obradi hrane ili raznim drugim industrijskim procesima. Pošto se stvaraju pri visokoj temperaturi, najzastupljeniji su u pečenoj hrani i uljima. Zbog njihovih kancerogenih svojstava bitno je redovito provjeravati prisutnost PAH u hrani, pogotovo onoj namijenjenoj za roštilj ili druge vrste pečenja.

Istraživanje koje je provedeno na suncokretovom i maslinovom ulju te mesu i ribi s roštilja pokazano je kako roštiljanje povećava koncentraciju PAH. Koristeći UV-Vis spektroskopiju zajedno s HPLC metodom, vrlo precizno se može odrediti koncentracija PAH u navedenim proizvodima [27].

Pri korištenju UV/Vis metode kompleksniji uzorci hrane predstavljaju problem zbog složenih bioloških molekula koje se nalaze u uzorku. Složene biološke molekule mogu maskirati traženi analit u uzorku i time poremetiti rezultate mjerenja. Određene tvari u uzorku mogu raspršivati svjetlost, kvareći vrijednost izmjerene apsorbancije. Zbog navedenih problema, UV/Vis spektroskopija je najefektivnija kada se upari s nekom drugom, više specifičnom analitičkom metodom.

3.5 ULOGA ICP-MS U ODREĐIVANJU KONTAMINANATA

ICP-MS je analitička metoda u kojoj se induktivno spregnuta plazma koristi kao ionizacijski izvor, a detekcija se vrši spektrometrijom masa [30]. Koristi se za elementarnu analizu uzoraka u medicini, geologiji, metalurgiji i prehrambenoj industriji. Dvije najveće prednosti ICP-MS-a su vrlo niska granica detekcije i mogućnost prepoznavanja velikog broja elemenata.

Jedini elementi koje ICP-MS ne može detektirati su vodik, helij, neon, argon, dušik i kisik. Vodik i helij ne mogu biti detektirani zato što se nalaze ispod granice najmanje mase koju spektrometar masa detektira. Kisik, dušik i argon su u visokom udjelu prisutni u plazmi i zraku i stoga njihova identifikacija u uzorku nije moguća. Neon se ne može ionizirati u plazmi argona i zato ga nije moguće detektirati pomoću ICP-MS [31]. Na slici 1. su u periodnom sustavu elemenata obojani svi elementi koje ICP-MS može detektirati.

The image shows a periodic table where elements detectable by ICP-MS are highlighted. The highlighted elements are:

- Group 11: Cu, Ag, Au
- Group 12: Zn, Cd, Hg
- Groups 13-10: B, Al, Ga, In, Tl, Sn, Pb, Bi, Po, At, Rn, Fr, Ra, Ac, Th, Pa, U, Np, Pu, Am, Cm, Bk, Cf, Es, Fm, Md, No, Lr
- Groups 3-10: Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Kr, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Xe, Cs, Ba, La, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Po, At, Rn, Fr, Ra, Ac, Th, Pa, U, Np, Pu, Am, Cm, Bk, Cf, Es, Fm, Md, No, Lr
- Groups 11-18: Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Kr, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Xe, Cs, Ba, La, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Po, At, Rn, Fr, Ra, Ac, Th, Pa, U, Np, Pu, Am, Cm, Bk, Cf, Es, Fm, Md, No, Lr
- Actinides (Ac to Lr) and Lanthanides (La to Lu) are also highlighted.

 Elements not highlighted (H, He, Li, Be, Na, Mg, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Kr, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Xe, Cs, Ba, La, Hf, Ta, W, Re, Os, Ir, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Po, At, Rn, Fr, Ra, Ac, Th, Pa, U, Np, Pu, Am, Cm, Bk, Cf, Es, Fm, Md, No, Lr) are not detectable by ICP-MS.

Slika 1. Elementi koji se mogu detektirati pomoću ICP-MS [31]

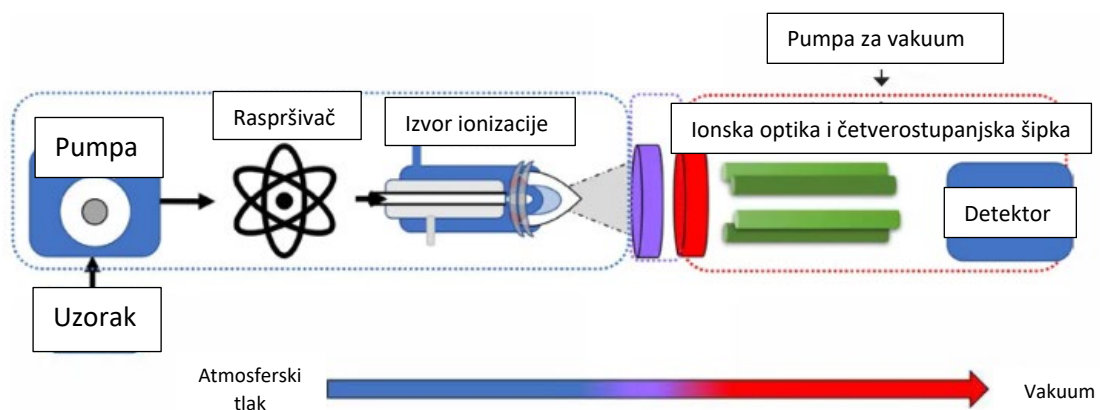
Granica detekcije ICP-MS-a je 0.1 ppt, što je do 100 puta manja vrijednost od zakonski propisanih NDK teških metala u hrani. Iz ovog razloga ICP-MS je izuzetno korisna analitička metoda u prehrambenoj industriji. Može odrediti prisutnost i koncentraciju svih štetnih metala u hranidbenom proizvodu. Metali se u hrani mogu pronaći u obliku oksida, u elementarnom stanju ili u obliku organometalnih spojeva. Bez obzira na oblik u kojem se metal nalazi u hrani, može se detektirati i kvantificirati pomoću ICP-MS [32].

Pri analizi uzoraka ICP-MS metodom, u isto vrijeme mjeri se prisutnost i koncentracija svih traženih elemenata u uzorku – nije potrebno ponavljati analizu za svaki traženi element pojedinačno. Sama analiza traje oko 2 sata, a priprema uzorka za analizu može potrajati između jednog i dva sata.

Najveći nedostaci ICP-MS metode su cijena uređaja i ostale potrebne opreme i kemikalija. Isto tako, potrebna je visoka stručna sprema za osoblje koje upravlja uređajem.

3.6 PRINCIP RADA ICP-MS

ICP-MS udružuje princip induktivno spregnute plazme na visokoj temperaturi zajedno s masenom spektrometrijom kako bi se postigla visoka osjetljivost i precizno određivanje koncentracije elemenata u uzorku. Uređaj za ICP-MS, čiji se shematski prikaz nalazi na slici 2, sastoji se od idućih temeljnih dijelova – pumpe za uvođenje uzorka, raspršivača, izvora ionizirane plazme, vakuumskih pumpi, ionskih leća, četverostupanjske šipke i detektora [33,34].



Slika 2. Shematski prikaz glavnih dijelova ICP-MS uređaja [34].

Uzorak u ICP-MS uvodi se pomoću automatskog uzorkivača. Mali volumen uzorka (svega jedna kap) se prenosi do pumpe [35].

Pumpa ubrizgava uzorak u raspršivač, dio uređaja koji pretvara uzorak u fini aerosol uz pomoć mlaza plinovitog argona [36]. Nastali aerosol zatim putuje do sustava za ionizaciju.

Sustav za ionizaciju se sastoji od baklje i zavojnice. Baklja ICP-MS-a grije aerosol na temperaturu od 6000 K i stvara plazmu. Zavojnica pomoću električne struje stvara jako magnetsko polje koje inducira sudare između slobodnih elektrona i atoma argona. Tim sudarima nastaju ioni i slobodni elektroni. Oni pomažu i plazmu pri visokoj temperaturi [37].

Optički sustav se sastoji od ionskih leća čija je glavna funkcija fokusiranje iona na četverostupanjsku šipku (engl. *Quadrupole*) i uklanjanje zaostalih neželjenih neutralnih materijala iz plazme. Odstranjivanjem nečistoća iz plazme omogućuje se veća preciznost spektra. Čist i precizan spektar će prikazivati jasne vrhove (engl. *Peak*) koji predstavljaju prisutnost i koncentraciju neke tvari, dok će neprecizni spektri imati puno interferencija – stvorit će se „šuma“ vrhova iz koje je jako teško očitati koncentracije traženih tvari u uzorku. Ionske leće su prvi dio uređaja koji se mora nalaziti pod vakuumom. [3,38].

Četverostupanjska šipka sastoji se od četiri elektrode između kojih se primjenjuje napon. Stvara se električno polje pod čijim će se utjecajem ioni rasporediti ovisno o njihovom omjeru mase i naboja. Tako raspoređeni ioni putovat će do detektora [3]. Kada se ioni sudare s detektorom, otpuštaju energiju koju detektor prepoznaje, amplificira i zatim šalje u računalno sučelje u obliku električnog impulsa. Svaki element otpušta svojstvenu količinu energije po kojoj ga se može razlikovati od drugih elemenata [34].

Nakon što su ioni detektirani, grafički se prikazuje maseni spektrometar u kojem se uzima omjer naboja i mase iona te intenzitet zaprimljenog signala. Intenzitet signala nekog iona direktno je proporcionalan koncentraciji tog iona u uzorku [39].

4 EKSPERIMENTALNI DIO

4.1 PRIBOR

U eksperimentalnom određivanju koncentracije teških metala u uzorcima hrane koristi se sljedeći pribor:

- Mlin
- Analitička vaga
- Mikropipete
- Plastične posude Falcon
- Teflonske kivete
- Odvijač
- Plastični nastavci za mikropipete
- Plastična žlica
- Mikrovalni uređaj Milestone Ethos Easy
- Agilent technologies ICP-MS 7900

4.2 KEMIKALIJE

Pri eksperimentalnom određivanju koncentracije teških metala u uzorcima hrane potrebne su sljedeće kemikalije:

- Ultračista voda (Arium® sustav za ultračistu vodu)
- Plinoviti argon 5.0 (čistoća veća od 99,999%) – Proizvođač: Messer, Njemačka
- Plinoviti helij 5.0 (čistoća veća od 99,999%) – Proizvođač: Messer, Njemačka
- Koncentrirana dušična kiselina (Trace Grade) - Proizvođač: Carl Roth, Njemačka
- Koncentrirana klorovodična kiselina (Trace Grade) - Proizvođač: Carl Roth, Njemačka
- Koncentrirani vodikov peroksid (Trace Grade) - Proizvođač: Carl Roth, Njemačka
- Multielementni standard (Trace Grade) (Sastoji se od elemenata Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr, Tl, Zn u koncentraciji od 1000 µg/L) – Proizvođač: Merck, Njemačka

4.3 PRIPREMA UZORAKA ZA ICP-MS

4.3.1 Uzorci za analizu

Uzorak za analizu je došao zapakiran u plastičnu ambalažu. U plastičnoj ambalaži se nalazilo 500 grama prethodno oguljene i očišćene mrkve u duguljastim komadićima duljine oko 4 centimetra. Uzorak se pažljivo raspakirao, a zatim prenio u mlin za mehaničko usitnjavanje.

4.3.2 Mehaničko usitnjavanje i vaganje uzorka

Uzorak se prvo stavi u mlin, gdje se mehanički usitni kako bi odvaga i prenošenje u teflonske kivete bila lakša. Slike 3. i 4. prikazuju mlin u kojem se uzorak mrkve mehanički usitnio iz duguljastih komada u sitne komadiće. Uzorak se zatim prenese u čistu plastičnu vrećicu i važe. Prije vaganja bitno je kalibrirati analitičku vagu radi maksimalne preciznosti mjerenja.



Slika 3. Uzorak mrkve u mlinu prije mehaničkog usitnjavanja



Slika 4. Uzorak mrkve u mlinu nakon mehaničkog usitnjavanja

Prilikom prenošenja uzorka iz plastične vrećice u teflonsku kivetu na vagi, mora se koristiti plastična žlica – korištenje metalne žlice može kontaminirati uzorak metalima te na kraju dati netočan rezultat. U teflonske kivete se odvaže 0.45 - 0.55 grama uzorka. Treba paziti da uzorci budu na dnu kivete, a ne na stjenkama kivete. Između svakog vaganja potrebno je čistiti pribor za odvagu, a ako se odvaže previše uzorka u kivetu, ostatak koji se izvadi van se baca. Ove mjere osiguravaju točnost i preciznost mjerenja. Teflonske kivete se označe brojevima kako bi se uzorak mogao pratiti tijekom analize. Prva dva uzorka sadrže samo uzorak mrkve, dok je u

treći uzorak namjerno dodan 1 mL multielementnog standarda SS, označen sa SP (eng. *Spike*) kako bi dobili veći odaziv ICP-MS-a i time potvrdili točnost mjerenja.

4.3.3 Mikrovalna digestija

Nakon što su uzorci mrkve odvagani u teflonske kivete, slijedi mikrovalna digestija. Mikrovalna digestija koristi se za spaljivanje proteina, masnoća i ostalih organskih tvari koje bi mogle interferirati s analitima i na taj način izazvati pogrešku u mjerenju. Na taj način u uzorku će ostati samo anorganske komponente (metali), a digestijom se uklanjaju sve organske tvari.

Priprema uzoraka za mikrovalnu digestiju – Uzorcima u teflonskim kivetama dodaje se 7 mL koncentrirane dušične kiseline i 1 mL vodikovog peroksida (30 %). Ovaj postupak vrijedi za uzorke hrane za ljude, hrane za životinje i vode. Zatim se pričekava nekoliko minuta da se odvije reakcija između dodanih tvari i uzorka. Nakon što se odvila reakcija digestije organskih tvari pomoću dušične kiseline i vodikovog peroksida, kivete se fiksiraju u okvire pomoću čepa i odvijača. Pri fiksiranju kivete u okvir, radi stabilnosti se postavljaju u postolje vidljivo na slici 5. Slika 6. prikazuje kivetu koja je fiksirana čepom u okvir.



Slika 5. Postolje i odvijač kojim se teflonske kivete fiksiraju u okvir



Slika 6. Teflonska kiveta fiksirana u okvir

Nakon što su učvršćene u okvir, teflonske kivete se stavljaju u mikrovalni uređaj Milestone prikazan na slici 7., koji ih je zagrijavao 40 minuta. Temperatura u kućištu mikrovalnog uređaja se tijekom zagrijavanja podigne na oko 60 °C, dok je temperatura unutar teflonskih kiveta podignuta do 210 °C. Slika 8. prikazuje ekran na mikrovalnom uređaju Milestone pomoću kojega se u svakom trenutku digestije može pratiti temperatura unutar kiveta i uređaja. Nakon

zagrijavanja treba ostaviti uzorke da se ohlade do sobne temperature. Nakon hlađenja uzorci se prenose u plastične posude Falcon od 50 mL. Teflonske kivete se ispiru deioniziranom vodom kako ne bi zaostao uzorak. Deionizirana voda u teflonskoj kiveti prenese se u plastičnu posudu s uzorkom. Uzorak se nadopuni vodom do oznake od 50 mL. Bitno je označiti plastične posude tako da je poznato u kojoj se posudi nalazi određeni uzorak.



Slika 7. Mikrovalni uređaj Milestone



Slika 8. Grafički prikaz temperature i vremena u mikrovalnom uređaju Milestone

4.4 PRIPREMA STANDARDA ZA ICP-MS

ICP-MS-u je potreban set kalibracijskih uzoraka prije nego krene s mjerenjem količine metala u uzorcima. Početni standard koncentracije od 1000/100000 $\mu\text{g/L}$ priprema se pipetiranjem 1 mL multielementnog standarda (SS) (kod S(162/RT-601)), 0,5 mL HNO_3 i nadopuniti do 10 mL ultračistom vodom (UČV). Zatim se od SS i koncentrirane dušične kiseline pripremaju radne kalibracijske otopine A, B, C, D, E, F i G. Ispod su navedene radne otopine i kemikalije potrebne za njihovu primjenu.

- Radna kalibracijska otopina A (0 $\mu\text{g/L}$): 0 mL SS + 0,5 mL HNO_3 (razr. u tikvici do 50 mL s ultra čistom vodom (UČV))
- Radna kalibracijska otopina B: (0,1-10 $\mu\text{g/L}$): 1 mL Mix E + 0,5 mL HNO_3 (razr. do 50 mL UČV)
- Radna kalibracijska otopina C: (0,5-50 $\mu\text{g/L}$): 250 μL Mix G + 0.5 mL HNO_3 (razr. do 50 mL UČV)
- Radna kalibracijska otopina D: (2/200 $\mu\text{g/L}$): 1 mL Mix G + 0.5 mL HNO_3 (razr. do 50 mL UČV)
- Radna kalibracijska otopina E: (5/500 $\mu\text{g/L}$): 250 μL SS + 0.5 mL HNO_3 (razr. do 50 mL UČV)
- Radna kalibracijska otopina F: (20/2000 $\mu\text{g/L}$): 1 mL SS + 0.5 mL HNO_3 (razr. do 50 mL UČV)
- Radna kalibracijska otopina G: (100/10000 $\mu\text{g/L}$): 5 mL SS + 0.5 mL HNO_3 (razr. do 50 mL UČV)

4.5 UNOŠENJE UZORAKA U ICP-MS

U automatski uzorkivač prvo se stavlja multielementni standard, potom radne kalibracijske otopine od A do G, zatim uzorci i njihova pripadajuća razrjeđenja te na kraju otopina QC (engl. *Quality check*) kao treća i zadnja provjera ispravnosti nakon uzoraka. Svaki uzorak se mora razrijediti tako da rezultat bude u granicama kalibracije. Ako je uzorak izvan granica kalibracije tj. previše niske ili visoke koncentracije, doći će do pogreške i mjerenje će biti netočno.

ICP koristi vrlo čisti plin argon i male količine helija pri određivanju koncentracije metala u uzorku. Mora se voditi redovita briga o potrošnji i preostaloj količini argona kako ga tijekom

analize ne bi ponestalo. Na slici 9. je prikazan spremnik na kojem se može očitati količina preostalog argona.



Slika 9. Spremnik argona koji je potreban za rad ICP-MS uređaja

4.6 ANALIZA PRIPREMLJENIH UZORAKA

Program na računalu stvara kalibracijski pravac za svaki element koji se analizira koristeći njihove koncentracije u uzorcima kao vrijednosti. Druga vrijednost koja tvori kalibracijski pravac je koncentracija traženih elemenata u otopini multielementnog standarda. Rezultati se usporedno s kalibracijskim pravcima prikazuju i tablično. Ako je neka vrijednost koncentracije previsoka, iskače od prosjeka kalibracijskog pravca. Svi rezultati koji nisu u skladu s kalibracijskim pravcem se zacrvene u tablici. Po završetku analize u računalnom programu se nalaze sve vrijednosti koncentracija traženih elemenata u obliku tablice i kalibracijskih pravaca. Cjelokupna analiza traje oko 2 sata.

Po završetku rada nekada se treba isprati ICP-MS radi dugovječnosti, čistoće i ispravnosti komponenti uređaja. Za to se koristi uzorak za ispiranje (engl. *Rinse*), tj. vodena otopina dušične kiseline (2 %). Osim uzoraka za ispiranje, ICP se može čistiti ultračistom vodom (pomoću pamučnih štapića) i 2% otopinom Citranoxa. Citranox je službeno sredstvo za čišćenje ICP uređaja tvrtke Agilent, koja je i proizvela uređaj na kojem su se mjerili podaci.

5 REZULTATI I RASPRAVA

5.1 ODVAGA UZORKA MRKVE

Tablica 3. Prikaz odvage uzoraka

Broj uzorka	Masa uzorka (g)	Vrsta uzorka
1	0,4742	mrkva
2	0,5208	mrkva
3 + SP	0,5140	mrkva

U tablici 3. prikazane su mase odvaganih uzoraka mrkve. Masa svih uzoraka se nalazi unutar zadanog raspona (0.45 – 0.55 g). Pošto su mase svih uzoraka slične, rezultati mjerenja koncentracije metala će biti precizni.

5.2 KONCENTRACIJA ARSENA, OLOVA I KADMIJA U UZORCIMA MRKVE

U Tablici 4. prikazani su rezultati određivanja koncentracije arsena, olova i kadmija u uzorku mrkve dobivenih pomoću ICP-MS.

Tablica 4. Dobivene koncentracije određenih teških metala u uzorku mrkve

Broj uzorka	Koncentracija arsena u uzorku	Koncentracija olova u uzorku	Koncentracija kadmija u uzorku
1	manje od granice kvantifikacije	0.063 mg/kg	0.046 mg/kg
2	manje od granice kvantifikacije	0.04 mg/kg	0.043 mg/kg
3 + SP	0.19 mg/kg	0.218 mg/kg	0.222 mg/kg

U uzorku 1 i 2 koncentracija arsena je manja od granice kvantifikacije. To znači da je koncentracija arsena previše malena da bi ju ICP-MS mogao odrediti, no i dalje može odrediti prisutnost tog iona. Granica kvantifikacije za ovo mjerenje je iznosila 0.01 mg/kg, što znači da je koncentracija arsena u ovim uzorcima manja od 0.01 mg/kg. Koncentracija arsena u uzorku 3 iznosi 0.19 mg/kg, što je barem 19 puta više od uzorka 1 i 2. Količina arsena u mrkvama nije zakonski regulirana.

Koncentracija olova u uzorku 1 iznosi 0.063 mg/kg, dok je po zakonskoj regulativi najveća dozvoljena količina olova u povrću 0.1 mg/kg. To znači da se u uzorku 1 nalazi 63 % količine olova od najveće dozvoljene količine. U uzorku 2 koncentracija olova iznosi 0.04 mg/kg, što je 40 % najveće dozvoljene količine olova regulirane zakonom. Koncentracija olova u uzorku 3 iznosi 0.218 mg/kg, što je 2.18 puta veća količina od dozvoljene. Prosječna koncentracija olova u uzorku iznosi 0.0515 mg/kg, što znači da je uzorak po zakonu ispravan.

Uzorak 1 sadrži 0.046 mg/kg kadmija, dok je po zakonskoj regulativi najveća dozvoljena količina kadmija 0.1 mg/kg. U uzorku 1 se nalazi 46 % od najveće dozvoljene količine kadmija regulirane zakonom. Uzorak 2 sadrži 0.043 mg/kg ili 43 % NDK kadmija. U uzorku 3 se nalazi 0.222 mg/kg kadmija, 2.22 puta veća količina od zakonom propisane najveće dozvoljene količine. Prosječna količina kadmija u uzorku iznosi 0.0445 mg/kg.

Uzorak mrkve u prosjeku sadrži manje količine olova i kadmija od NDK, što ga čini zakonski ispravnim za tržište i konzumiranje. Uzorak 3 je sadržavao veće količine sva 3 promatrana metala iz razloga što je dodan *Spike*, čime je potvrđena točnost mjerenja.

6 ZAKLJUČAK

Hrana se može kontaminirati štetnim i otrovnim tvarima na više načina: prekomjernim korištenjem pesticida i umjetnih gnojiva u poljoprivredi, prašinom nastalom rudarskim i metalurgijskim procesima te ispuštanjem industrijskog otpada u rijeke, jezera i mora.

Teški metali su skupina otrovnih tvari koje mogu kružiti u ekosustavu i napredovati kroz hranidbeni lanac dok ne dođu do hrane za čovjeka. Mogu uzrokovati ozbiljne zdravstvene poremećaje, bolesti i smrt. Zato je u hrani bitno moći odrediti koncentraciju teških metala, a ICP-MS metoda je pogodna za precizno mjerenje količine metala u uzorku.

U ovome radu se u analiziranom uzorku mrkve pomoću ICP-MS metode odredila količina arsena, olova i kadmija. Koncentracija arsena u uzorku je manja od razine kvantifikacije, što znači da je manja od 0.01 mg/kg. Koncentracija olova iznosi 0.0515 mg/kg, a koncentracija kadmija iznosi 0.0445 mg/kg. Usporedivši ove rezultate s najvećim dozvoljenim količinama metala u hrani, promatrani uzorak sadrži manje olova i kadmija od NDK te je sukladan sa zakonskom regulativom. To znači da konzumiranjem mrkve koja je služila kao uzorak nema opasnosti od trovanja mjerenim metalima.

7 POPIS LITERATURE

- [1] TDI Packsys, Food Contamination: The 3 Most Common Types, 2024., URL: <https://www.tdipacksys.com/blog/food-contamination-3-most-common-types/> (28.6.2024.)
- [2] J. M. Lorenzo, P. E. Munekata, R. Dominguez, M. Pateiro, J. A. Saraiva i D. Franco, *Innovative Technologies for Food Preservation, Inactivation of Spoilage and Pathogenic Microorganisms*, Prvo izdanje, Campinas, **2018**. stranice 25-51.
- [3] Z. Ying, Što je ICP-MS, 29.9.2022., URL: <https://antiteck.com/hr/što-je-icp-ms/> (9.6.2024.)
- [4] Bromley, Physical contamination of food, 2024., URL: <https://www.bromley.gov.uk/leaflet/260988/8/798/d> (28.6.2024.)
- [5] United States Department of Agriculture, Molds on Food: Are They Dangerous?, 22.8.2013., URL: <https://www.fsis.usda.gov/food-safety/safe-food-handling-and-preparation/food-safety-basics/molds-food-are-they-dangerous> (28.6.2024.)
- [6] United States Center for Disease Control and Prevention, Trichinellosis, 7.6.2024. URL: <https://www.cdc.gov/dpdx/trichinellosis/index.html> (28.6.2024.)
- [7] European Food Safety Authority, Chemical contaminants in food and feed, 10.1.2024., URL: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/chemical-contaminants-food-feed> (28.6.2024.)
- [8] A.S.P. Tang, An Overview of Natural Toxins in Food, 11.6.2007., URL: https://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_pub/multimedia_pub_fsf_11_02.html (28.6.2024.)
- [9] AGQ Labs, Heavy Metals in foods, 23.1.2019., URL: <https://www.agqlabs.us.com/heavy-metals-in-foods/> (9.6.2024.)
- [10] A. Alengebawy, S. T. Adbelkhalek, S. R. Qureshi i M. Wang, Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications, *Toxics*, **2021.**, 9., 42
- [11] Ai P., Jin K., Alengebawy A., Elsayed M., Meng L., Chen M., Ran Y. Effect of application of different biogas fertilizer on eggplant production: Analysis of fertilizer value and risk assessment, *Environ. Technol. Innovation*, **2019.**, 19, 101019
- [12] B. J. Alloway, *Heavy Metals in Soils: Sources of Heavy Metals and Metalloids in Soils*, Treće izdanje, Glasgow, Chapman & Hall, **1990**. 28.-29.
- [13] B. Gworek, O. Bemowska-Kalabunm M. Kijenska, J. Wrzosek-Jakubowska, Mercury in Marine and Oceanic Waters – a Review, *Water, Air, Soil, Pollut.* **2016.**, 227, 371
- [14] World Health Organization, Lead poisoning, 11.8.2023., URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health> (9.6.2024.)
- [15] Better Health Channel, Cadmium, 31.8.2012., URL: <https://www.betterhealth.vic.gov.au/health/healthyliving/cadmium> (9.6.2024.)

- [16] Public Health England, Nickel – Toxicological overview, 2009., URL: https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a7e0302ed915d74e622386f/Nickel_Toxicological_Overview_phe_v1.pdf (9.6.2024.)
- [17] U. M. Agnew, T. L. Slesinger, *Zinc Toxicity*, Treasure Island, Florida, StatPearls Publishing, **2022.**, 21-22
- [18] Cleveland Clinic, Arsenic poisoning, 10.2.2023., URL: <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/24727-arsenic-poisoning> (9.6.2024.)
- [19] M. R. Rahimzadeh, M. R. Rahimzadeh, S. Kazemi, R. J. Amiri, M. Pirzadeh, A. A. Moghadamnia, Aluminum Poisoning with Emphasis on its Mechanism and Treatment of Intoxication, *Emer. Med. Int.* **2022.**, 1480553
- [20] Republika Hrvatska, Ministarstvo poljoprivrede, šumarstva i vodnoga gospodarstva, prijedlog zakona o hrani s konačnim prijedlogom zakona, Zagreb, veljača 2007. URL: <https://vlada.gov.hr/UserDocsImages//2016/Sjednice/Arhiva//217.-01.pdf> (9.6.2024.)
- [21] Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Centar za sigurnost hrane, RASFF, URL: <https://www.hapih.hr/csh/rasff/> (13.6.2024.)
- [22] Uredba Komisije (EU) 2023/915 od 25. travnja 2023. o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani i o stavljanju izvan snage Uredbe (EZ) br. 1881/2006, URL: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2023/915/oj/hrv> (8.7.2024.)
- [23] Obrnuta faza, HPLC/UHPLC – Tekućinska kromatografija (ultra) visoke djelotvornosti, URL: <https://www.obrnutafaza.hr/hplcuhplc.html> (5.7.2024.)
- [24] M. Swartz, HPLC DETECTORS: A BRIEF OVERVIEW, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **2010.**, 33., 1130-1150.
- [25] R. S. Rodriguez, T. L. O'Keefe, C. Froehlich, R.E. Lewis, T.R. Sheldon, C.L. Haynes, Sensing food contaminants: advances in analytical methods and techniques, *Anal. Chem.*, **2021.**, 93., 23-40.
- [26] D. Yan, Y. Ying, Applications of Raman Spectroscopy in Agricultural Products and Food Analysis: A Review, *Appl. Spectrosc. Rev.*, **2011.**, 46., 539-560.
- [27] F. Haque, S.Y. Bubli, M.S. Khan, *Techniques to Measure Food Safety and Quality: Sensory Properties of Foods and Their Measurement Methods*, Prvo izdanje, Berlin, Springer Nature, **2021.**, 177-185.
- [28] Kemijski rječnik, Transmitancija, 2023., URL: <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=transmitancija> (5.7.2024.)
- [29] Kemijski rječnik, Apsorbancija, 2023., URL: <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=apsorbancija> (28.6.2024.)
- [30] Institut Ruđer Bošković, HR ICP-MS – spektrometar masa visoke razlučivosti uz induktivno spregnutu plazmu, Element 2 Thermo, 2019., URL: <https://www.irb.hr/Istrazivanja/Kapitalna-oprema/HR-ICP-MS-spektrometar-masa-visoke-razlucivosti-uz-induktivno-spregnutu-plazmu-Element-2-Thermo> (5.7.2024.)

- [31] Agilent, An Introduction to the Fundamentals of Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS), URL: <https://www.agilent.com/en/product/atomic-spectroscopy/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms/what-is-icp-ms-icp-ms-faqs> (9.6.2024.)
- [32] P. Sadighara, M. Jahanbakhsh, Z. Nazari, P. Mostashari, The organotin contaminants in food: Sources and methods for detection: A systematic review and meta-analysis, *Food Chem. X*, **2021.**, *30.*, 997-1001.
- [33] S. C. Wilschefski, M. R. Baxter, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects, *Clin. Biochem. Rev.*, **2019.**, *40.*, 115-133.
- [34] P. Atkins, R. Thomas, Energy and Elements, Part III: Understanding and Choosing an ICP-MS, *Cannabis Science and Technology*, **2023.**, *6.*(3), 21-27.
- [35] M. C. Carvalho, W. Eickhoff, M. Drexler, Open-source autosampler for elemental and isotopic analyses of solids, *HardwareX*, **2020.**, *8.*, E00123
- [36] Agilent, ICP-MS Nebulizers & Nebulizer Accessories, Nebulizers for ICP-MS, URL: <https://www.agilent.com/en/product/atomic-spectroscopy/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms/icp-ms-nebulizers/nebulizers-for-icp-ms> (9.6.2024.)
- [37] Agilent, ICP-MS Torches & Torch Supplies, RF Coils for ICP-MS, URL: <https://www.agilent.com/en/product/atomic-spectroscopy/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms/icp-ms-torches-rf-coils/rf-coils-for-icp-ms> (9.6.2024.)
- [38] Agilent, ICP-MS Ion Lenses & ORS (Octopole Reaction System) Supplies, Ion Lenses for ICP-MS, URL: <https://www.agilent.com/en/product/atomic-spectroscopy/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms/icp-ms-ion-lenses-ors-octopole-reaction-system-supplies/ion-lenses-for-icp-ms> (9.6.2024.)
- [39] ThermoFisher Scientific, ICP-MS Systems and Technologies, URL: <https://www.thermofisher.com/hr/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/trace-elemental-analysis-tea-information/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms-information/icp-ms-systems-technologies.html> (9.6.2024.)