

# Određivanje cinka, bakra i selena u pseudožitaricama metodom induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom

---

Vuković, Lucija; Maleš, Željani; Barišić, Karmela; Ilijaš, Anamarija; Verbanac, Donatella

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2022, 78, 219 - 227**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:619315>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-02-28**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



# Određivanje cinka, bakra i selena u pseudožitaricama metodom induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom

LUCIJA VUKOVIĆ<sup>1</sup>, ŽELJAN MALEŠ<sup>2</sup>, KARMELA BARIŠIĆ<sup>3</sup>, ANAMARIJA ILIJAŠ<sup>4</sup>, DONATELLA VERBANAC<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, A. Kovačića 1, 10 000 Zagreb

<sup>2</sup>Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zavod za farmaceutsku botaniku, Schrottova 39, 10 000 Zagreb

<sup>3</sup>Sveučilište u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju, Domagojeva 2, 10 000 Zagreb

<sup>4</sup>Sample Control d.o.o., Puškarićeva 18, 10250 Lučko

5-6  
2022

## Determination of zinc, copper and selenium in pseudocereals by the method of inductively coupled plasma with mass spectrometry

**Abstract** *Pseudograins are a group of grains with a better nutritional profile than traditional grains such as corn, rice, or wheat. When it comes to the macronutrients, they are superior compared to other ingredients. They represent the source of biologically valuable amino acids, lipids and indigestible carbohydrates, which serve as prebiotic. Moreover, they have essential micronutrient composition, including trace elements – zinc, copper, and selenium. These elements were quantitatively determined in pseudograins such as buckwheat, quinoa, amaranth, and millet by the Inductive Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). Herein we report the results obtained. All examined pseudograins contain a substantial amount of zinc, copper and selenium. A significant amount of*

*copper is present in the buckwheat ( $0.59 \pm 0.00$  mg/100g) and selenium in amaranth ( $31.73 \pm 2.43$  mg/100g), which makes over 40% of the Recommended Daily Allowance (RDA).*

*These microelements have an irreplaceable role in the physiological functioning of our organism, and their lack or excess can lead to numerous pathological conditions. Therefore, the pseudograins are an excellent source of these microelements and should be included in the everyday diet.*

*(<sup>1</sup>University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry, A. Kovačića 1, 10 000 Zagreb, Croatia, <sup>2</sup>University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Pharmaceutical Botany, Schrottova 39, 10 000 Zagreb, Croatia, <sup>3</sup>University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry, Department of Medical Biochemistry and Hematology, Domagojeva 2, 10 000 Zagreb, Croatia, <sup>4</sup>Sample Control d.o.o., Puškarićeva 18, 10250 Lučko)*

## Uvod

Danas, živeći u vrlo užurbanom svijetu često opterećeni svakodnevnim obavezama i nedostatkom vremena, pravilna i kvalitetna prehrana bitnija je nego ikad. Jedan je od temeljnih elemenata zdravlja na koje možemo utjecati, što izravno pridonosi cjelokupnoj kvaliteti života. Upravo iz toga razloga, osviještenost o namirnicama koje unosimo prehranom sve više raste. Stoga ne čudi da pseudožitarice, nekoć zaboravljena skupina namirnica koja u posljednjih nekoliko godina opravdano dobiva sve veću pozornost, postaje sveprisutna.

Njihov uzgoj započeo je još prije nove ere, a pojedine vrste primjenjivale su i drevne civilizacije Maja, Inka i Azteka (1). Nutritivno su bogatije od tradicionalnih žitarica, kao što su pšenica, riža i kukuruz, sadrže nešto manje ugljikohidrata, ali više proteina i lipida, kao i vitamina i minerala te topljivih i netopljivih prehrambenih vlakana (2).

U sastav proteina tih namirnica ulaze esencijalne aminokiseline koje su visoke bioraspodivnosti, u povoljnom omjeru, bez ograničavajućih aminokiselina. Ograničavajuće aminokiseline su one koje su u pojedinoj namirnici prisutne u najmanjoj količini, zbog čega ne dolazi do dovoljne i pravilne sinteze proteina. U skupini žitarica, lizin je često ograničavajuća aminokiselina, dok je u skupini pseudožitarica prisutan u dovoljnoj količini potrebnoj za pravilnu sintezu proteina kod odraslih osoba, ali i djece u rastu i razvoju. Nizak je udio prolamina u proteinima, stoga su pseudožitarice pogodna zamjena za namirnice koje sadrže gluten (1), što je posebno važno za ljude oboljele od celijakije.

Pseudožitarice sadrže i širok spektar mikronutrijenata – vitamina i minerala. Oni su osobito važni za pravilno funkcioniranje cijelog organizma. Od vitamina su u većoj mjeri prisutni vitamini A, E, B6 i folna kiselina, dok se od minerala

ističu fosfor, kalcij, kalij, magnezij i željezo. Posebno treba istaći mikroelemente u trgovima – cink, bakar i selen (2). Oni imaju važnu ulogu u antioksidacijskom sustavu organizma, kao i u pravilnoj funkciji imunosnoga sustava te brojnim drugim fiziološkim procesima, a upravo kroz unos pseudožitarica možemo osigurati dio preporučenoga dnevnog unosa.

U ovom radu su prikazane vrijednosti fiziološki važnih elemenata u trgovima: cinka, bakra i selena izmjerenih metodom induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom (*Inductive Coupled Plasma Mass Spectrometry – ICP-MS*) te su iste uspoređene s podatcima iz literature.

## Eksperimentalni dio

### Uzorci za analizu

Uporabljani su uzorci heljde, kvinoje i prosa iz standardnoga uzgoja, nabavljeni u trgovačkim centrima. Osim tih uzoraka, rabljeni su i uzorci iz tzv. „BIO“ uzgoja što podrazumijeva da je proizvod uzgajan u ekološkim uvjetima, bez upotrebe pesticida te da ne sadrži teške metale. Primijenjeni uzorci iz „BIO“ uzgoja (heljda, kvinoja, amarant i proso) kupljeni su u specijaliziranoj trgovini za „BIO“ proizvode, dok je uzorak „BIO“ amaranta nabavljen u veledrogeriji.

### Priprema uzoraka

Uzorci su prvotno samljeveni pomoću mehaničkoga mlina (*FOSS Cemotec 1090 – Hilleroed, Danska*). Zatim je na analitičkoj vagi (*OHAUS Pioneer PA224C – Greifensee, Švicarska*) odvagano po 2 grama svakoga uzorka plastičnim čašicama koje su sastavni dio kiveta u kojima se provodi spaljivanje. Čašice su prije samoga postupka vaganja zajedno s kivetama podvrgnute postupku čišćenja s 5 mL koncentrirane dušične kiseline (*LabExpert/KEFO d.o.o. – Ljubljana-Črnuče, Slovenija*) i 5 mL destilirane vode uz zagrijavanje u mikrovalnoj peći (*BERGHOF Speedwave Xpert – Eningen, Njemačka*). Nakon vaganja uslijedila je priprema uzoraka za spaljivanje. Čašice s izvaganim uzorcima ubačene su u očišćene kivete te je u svaku dodano po 1 mL 30 %-tnog vodikovog peroksida (*Lach-Ner – Neratovice, Češka*) i 3 mL *TraceSELECT* ≥69 %-tne dušične kiseline (*Honeywell – Charlotte, Sjeverna Karolina, SAD*). Zatim su pripremljene kivete s uzorcima postavljene u mikrovalnu peć te je pokrenut program spaljivanja u trajanju od 40 minuta, pod tlakom od 35 bara uz zagrijavanje do 190 °C. Po završetku postupka spaljivanja i hlađenja, sadržaj svake kivete prebačen je u zasebnu *Falcon* kivetu volumena 50 mL. U svaku *Falcon* kivetu s uzorkom dodano je 700 µL *TraceSELECT* 43–47 %-tne klorovodične kiseline (*Honeywell – Charlotte, Sjeverna Karolina, SAD*), 250 µL standarda zlata (1000 µg/mL Au u 20 % HCl; *Agilent Technologies*

– Santa Clara, Kalifornija, SAD) te je ostatak volumena do 50 mL nadopunjen destiliranom vodom. Uzorci su kao takvi pripremljeni za mjerenje na uređaju ICP-MS Agilent 7800 (Agilent Technologies – Santa Clara, Kalifornija, SAD).

### Princip metode

Sadržaj cinka, bakra i selena u pseudožitaricama određen je metodom induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom. Metoda induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom temelji se na djelovanju plina, najčešće argona ili helija, koji se na vrlo visokoj temperaturi, koja može iznositi i do 10 000 K, ionizira i pretvara u plazmu. Uz visoku temperaturu i napon dolazi do ubrzanoga gibanja kationa argona i elektrona pod utjecajem električnoga polja u nastaloj plazmi te velikoga broja sudara iona plina, pri čemu nastaje vrlo visoka energija ionizacije. Nastala energija ionizacije dovoljna je za kidanje kemijskih veza između atoma različitih molekula u uzorku, odnosno za atomizaciju molekula elemenata u tragovima. Zbog toga što im je prva energija ionizacije niža od prve energije ionizacije plina (argona ili helija), gotovo svi atomi periodnoga sustava elemenata se pod utjecajem visoke temperature plazme i ioniziranoga plina ioniziraju. Nastali ioni odvajaju se metodom masene spektrometrije. Odvajanje se temelji na omjeru mase i naboja te se najčešće odvija pomoću kvadrupola filtera masa. Odvojeni ioni dolaze do detektora te nastaje signal koji detektirane ione obilježava u *jedinicama po sekundi (counts per second – CPS)*. CPS se odnose na broj iona koji detektor zabilježi u jednoj sekundi. Vrijednost CPS se prevodi u jedinicu koncentracije na temelju prethodno napravljene kalibracije standarda, iz koje se izvodi kalibracijska krivulja pomoću koje se očitaju dobivene koncentracije pojedinih elemenata u uzorku (3).

### Mjerenje

Položaji uzoraka najprije su upisani u *Microsoft Excel* tablicu povezanom sa softwareom ICP-MS-a (*Agilent 7800*), uzorci su zatim postavljeni na upisane položaje u uređaj za automatsko uzorkovanje povezan s ICP-MS-om, pušten je argon potreban za ionizaciju uzoraka te je pokrenuta kalibracija nakon koje je uslijedilo mjerenje. Mjerenje je odrađeno u triplikatu.

### Obrada rezultata

Dobivenim rezultatima mjerenja u triplikatu izraženim kao CPS izračunata je srednja vrijednost i standardna devijacija. Konačni je rezultat prikazan kao (*mg/100 g; µg/100 g*) svakoga elementa od interesa (cink, bakar i selen) u odabranim uzorcima namirnica (heljda, kvinoja, amarant i proso).

## Rezultati i rasprava

### Sadržaj cinka, bakra i selena u pseudožitaricama

Određivanje količine cinka, bakra i selena u pseudožitaricama metodom induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom provedeno je u triplikatu. U tablici 1. rezultati su prikazani kao srednja vrijednost uz standardnu devijaciju. Izmjerene vrijednosti mikroelemenata ne odstupaju značajno od vrijednosti navedenih u literaturi za pojedine pseudožitarice (4).

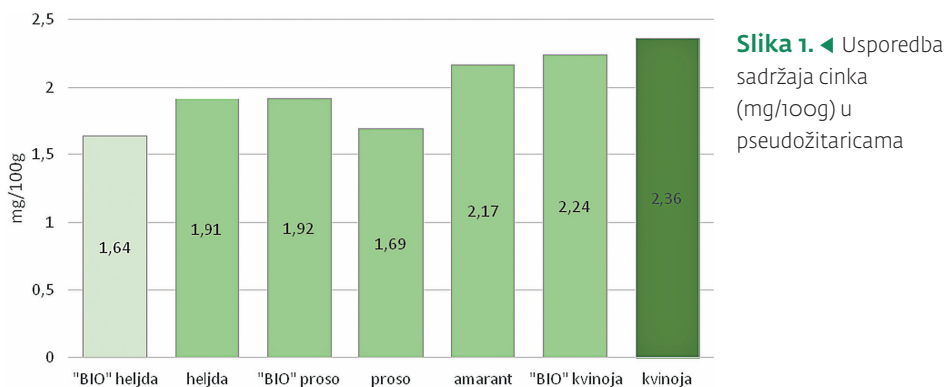
**Tablica 1.** ► Rezultati kvantitativne analize cinka (mg/100g), bakra (mg/100g) i selena (µg/100g) u pseudožitaricama u triplikatu, srednje vrijednosti i standardne devijacije

	„BIO“ heljda	heljda	„BIO“ kvinoja	kvinoja	„BIO“ amarant	„BIO“ proso	proso
čink	1,64±0,24	1,91±0,04	2,24±0,08	2,36±0,55	2,17±0,03	1,92±0,14	1,69±0,17
bakar	0,46±0,11	0,59±0,00	0,48±0,01	0,44±0,02	0,49±0,02	0,47±0,10	0,33±0,11
selen	4,50±3,70	4,03±3,31	6,90±5,54	3,63±1,00	31,73±2,43	6,97±5,68	7,90±4,87

### Sadržaj cinka u pseudožitaricama

Izmjereni sadržaj cinka u uzorcima pseudožitarica iznosi od 1,64 do 2,36 mg na 100 g pojedine vrste pseudožitarice (tablica 1.). Usporedba srednjih vrijednosti rezultata određivanja cinka u 100 g uzorka pseudožitarica također je prikazana vertikalnim stupčastim dijagramom (slika 1.). U uzorku „BIO“ heljde izmjerena je najniža količina cinka, 1,64 mg na 100 g uzorka, dok ga je u uzorku kvinoje najviše, 2,36 mg cinka na 100 g uzorka kvinoje. Treba istaknuti da na apsorpciju cinka utječe fitinska kiselina, također prisutna u pseudožitaricama, koja smanjuje njegovu bioraspoloživost na način da veže čink u gastrointestinalnom traktu (5). Iz toga razloga, preporučeni dnevni unos cinka ovisi o dnevnom unosu fitinske kiseline te može iznositi od 7,5 do 12,7 mg (6). Iako je u organizmu prisutan u vrlo maloj količini od svega 50 µg/kg (7), čink je uključen u brojne katalitičke, strukturne i regulacijske funkcije u različitim fiziološkim procesima. Ima iznimno važnu ulogu u održavanju integriteta cjelokupnoga imunosnog sustava. Također sudjeluje u aktivaciji i inhibiciji brojnih enzima i transkripcijskih čimbenika djelujući kao njihov kofaktor, diferencijaciji i proliferaciji stanica, apoptozi, sintezi i popravku DNA i RNA, staničnoj signalizaciji, stabilizaciji strukture stanične membrane, održavanju izvanstaničnoga matriksa, a pokazuje i antioksidacijsko djelovanje (7, 8). Djeluje i na središnji živčani sustav gdje sudjeluje u regulaciji sna i pamćenja (9) te pridonosi održavanju mentalnoga zdravlja (8).

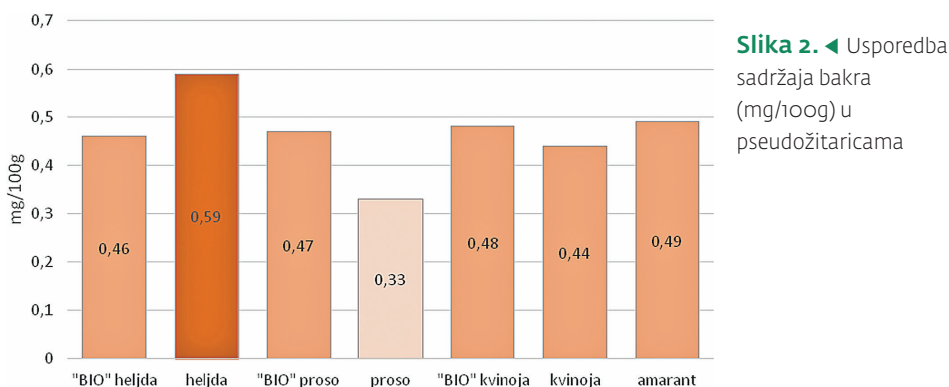
Manjak kao i suvišak cinka dovode do neravnoteže u izvođenju navedenih fizioloških procesa, a posljedično i do narušavanja cjelokupne homeostaze organizma, stoga je za pravilno odvijanje fizioloških funkcija nužna optimalna koncentracija cinka (8, 10).



Slika 1. ◀ Usporedba sadržaja cinka (mg/100g) u pseudožitaricama

### Sadržaj bakra u pseudožitaricama

Usporedba srednjih vrijednosti rezultata određivanja bakra na 100 g pojedinih pseudožitarica prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (slika 2.). U proso je izmjereno 0,33 mg bakra na 100 g uzorka, što je najniža količina u odnosu na ostale uzorke. U heljdi je izmjereno 0,59 mg bakra na 100 g uzorka, što iznosi oko 40 % preporučenog dnevnog unosa (6). Iako je bakar u ljudskom organizmu prisutan u tragovima, u količini od približno 100 mg (11, 12), bitan je kofaktor u brojnim enzimima što ga čini esencijalnim mikronutrijentom (11, 13). Jedan od procesa u kojima sudjeluje je oksidacijska fosforilacija, u kojemu



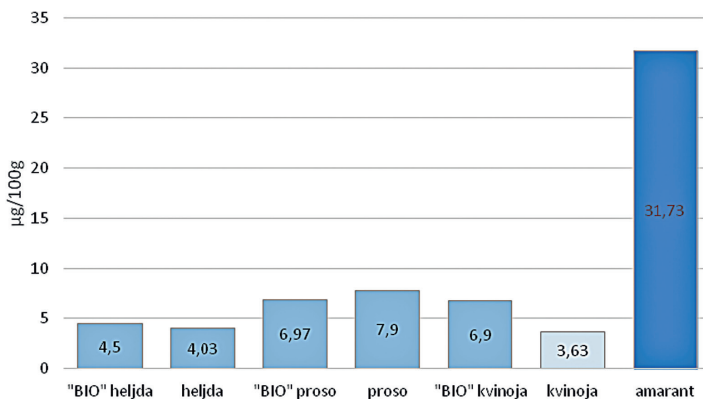
Slika 2. ◀ Usporedba sadržaja bakra (mg/100g) u pseudožitaricama

ima funkciju kofaktora enzima citokrom-oksidade. Sudjeluje i u procesu apsorpcije željeza kao sastavni dio transportnoga proteina ceruloplazmina te u obrani organizma od slobodnih radikala kao dio antioksidacijskoga sustava (14).

### Sadržaj selenia u pseudožitaricama

Usporedba srednjih vrijednosti rezultata prikazana je vertikalnim stupčastim dijagramom (slika 3.). Pseudožitarica u kojoj je izmjeren najniži sadržaj selenia je kvinoja. Sadrži 3,63  $\mu\text{g}$  selenia na 100 g uzorka, dok ga je u uzorku „BIO“ kvinoje gotovo tri puta više. Značajno viši sadržaj selenia u odnosu na ostale uzorke izmjeren je u amarantu, čak 31,73  $\mu\text{g}$  na 100 g, što čini 45 % preporučenog dnevnog unosa koji iznosi 70  $\mu\text{g}$  za odrasle osobe (6). Viša vrijednost sadržaja selenia u odnosu na ostale pseudožitarice, koja je potvrđena i u literaturi (4), objašnjena je svojstvom nakupljanja selenia koje je uočeno kod amaranta. Takvo svojstvo nakupljanja selenia posebno dolazi do izražaja ukoliko je amarant uzgojen na tlu obogaćenom selenom, što ga čini potencijalnom funkcionalnom namirnicom s visokim sadržajem selenia (15).

Slika 3. ► Usporedba sadržaja selenia ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) u pseudožitaricama



Kao i cink i bakar, selen je u ljudskom organizmu prisutan u vrlo malim količinama, stoga se također ubraja u skupinu esencijalnih elemenata u tragovima (16).

Iako je prisutan u vrlo niskoj koncentraciji u organizmu, ima ulogu u brojnim fiziološkim procesima u kojima sudjeluje kao antioksidans, utječe na metabolizam hormona štitnjače, oksido-redukcijske reakcije te na reproduktivni i imunostni sustav (17, 18).



## Zaključak

Pseudožitarice (heljda, kvinoja, amarant i proso) skupina su namirnica visoke nutritivne kvalitete, stoga njihovo uključivanje u prehranu može povoljno utjecati na cjelokupno zdravlje. Imaju povoljan omjer makronutrijenata (ugljikohidrata, masti i proteina) te su dobar izvor mikronutrijenata (vitamina i minerala) kao i ostalih bioaktivnih spojeva kao što su bio- i polifenoli te flavonoidi.

Metodom induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom (ICP-MS) u ispitivanim uzorcima pseudožitarica određena je značajna količina cinka, bakra i selena, mikroelemenata važnih za odvijanje brojnih fizioloških procesa u organizmu. Izmjereni sadržaj cinka u uzorcima pseudožitarica iznosi od 1,64 do 2,36 mg na 100 g uzorka, ovisno o vrsti pseudožitarice. Treba uzeti u obzir da je bioraspoloživost cinka u pseudožitaricama smanjena zbog prisutnosti fitinske kiseline koja djeluje inhibirajuće na apsorpciju, na način da veže cink u gastrointestinalnom traktu, stoga se sukladno sadržaju fitinske kiseline određuje preporučeni dnevni unos cinka. Pseudožitarice, posebno heljda, su osim cinka također i dobar izvor bakra. Kroz unos 100 g heljde osiguravamo čak 40 % preporučenog dnevnog unosa bakra. Po visokom sadržaju selena ističe se amarant, koji sadrži 31,73 µg selena na 100 g uzorka amaranta, što iznosi 45 % preporučenog dnevnog unosa. Manjak navedenih mikroelemenata, kao i njihov suvišak, mogu dovesti do raznih fizioloških poremećaja u organizmu te biti podloga za razvoj brojnih kroničnih bolesti.

**Napomena i zahvala** – autori su članovi IRI projekta: „FoodForensics – Izrada neuronskih mreža (umjetne inteligencije) i razvoj naprednih analitičkih metoda kao alata za forenzičko ispitivanje hrane, dodataka prehrani i ljekovitog bilja“ (KK.01.2.1.02.0142)

1. Valcárce Yamani B, Caetano da Silva Lannes S. Applications of Quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd.) and Amaranth (*Amaranthus* Spp.) and Their Influence in the Nutritional Value of Cereal Based Foods. *Food Public Health*. 2012; 2:265–275.
2. Bekkering CS, Tian L. Thinking Outside of the Cereal Box: Breeding Underutilized (Pseudo) Cereals for Improved Human Nutrition. *Front Genet*. 2019; 10:1289.
3. Wilschefski SC, Baxter MR. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clin Biochem Rev*. 2019; 40:115–133.
4. Nutrition Data. <https://www.nutritiondata.self.com>, datum pristupa: 11.6.2021.
5. Roohani N, Hurrell R, Kelishadi R, Schulin R. Zinc and its importance for human health: An integrative review. *J Res Med Sci*. 2013; 18:144–157.

6. Dietary Reference Values for the EU. <https://efsa.gitlab.io/multimedia/drvs/index.htm>, datum pristupa: 3.7.2021.
7. Lin PH, Sermersheim M, Li H, Lee PHU, Steinberg SM, Ma J. Zinc in Wound Healing Modulation. *Nutrients*. 2017; 10:16.
8. Skrajnowska D, Bobrowska-Korczak B. Role of Zinc in Immune System and Anti- Cancer Defense Mechanisms. *Nutrients*. 2019; 11:2273.
9. Cherasse Y, Urade Y. Dietary Zinc Acts as a Sleep Modulator. *Int J Mol Sci*. 2017; 18:2334.
10. Wessels I, Maywald M, Rink L. Zinc as a Gatekeeper of Immune Function. *Nutrients*. 2017; 9(12):1286.
11. Bost M, Houdartb S, Oberlib M, Kalonji E, Huneau JF, Margaritis I. Dietary copper and human health: Current evidence and unresolved issues. *J Trace Elem Med Biol*. 2016; 35:107–115.
12. Collins JF, Klevay LM. Copper. *Adv Nutr*. 2011; 2:520–522.
13. Kirsipuu T, Zadorožnaja A, Smirnova J, Friedemann M, Plitz T, Tõugu V, Palumaa P. Copper(II)-binding equilibria in human blood. *Sci Rep*. 2020; 10:5686.
14. Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology. *Copper*. *Biomed Pharmacother*. 2003; 57:399–411.
15. Mabeyo PE, Manoko MLK, Gruhonjic A, Fitzpatrick PA, Landberg G, Erdélyi, Nyandoro SS. Selenium Accumulating Leafy Vegetables Are a Potential Source of Functional Foods. *Int J Food Sci*. 2015; 2015:549676.
16. Roman M, Jitaru P, Barbante C. Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*. 2014; 6:25–54.
17. Avery JC, Hoffmann PR. Selenium, Selenoproteins and Immunity. *Nutrients*. 2018; 10:1203.
18. Thomson CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *Eur J Clin Nutr*. 2004; 58:391–402.

*Primljeno 29. studenoga 2021.*