

»Mladi za napredek Maribora 2019«

36. srečanje

POVEZAVA MED BARVO IN VSEBNOSTJO ŽELEZA V ZELENJAVI

Kemija in kemijska tehnologija

Raziskovalna naloga

Avtor: KATJA CUNDRIČ

Mentor: SANJA CVAR

Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

Število točk: 161

Mesto: 3

Priznanje: zlato

Maribor, Februar 2019

Povzetek

Namen moje raziskovalne naloge je bil ugotoviti, ali obstaja povezava med barvo zelenjave in vsebnostjo železa v njej. Zanimalo me je, ali temnejši deli iste vrste zelenjave vsebujejo več železa kot njeni svetlejši deli. Merjenja sem se lotila z UV-VIS spektrofotometrijo, s pomočjo katere sem izmerila intenziteto obarvanosti ekstraktov petih različnih vrst zelenjave, razporejenih v pet barvnih odtenkov zelene barve in koncentracijo železa v njih ter dobljene vrednosti primerjala. Vzorce sem pred meritvami koncentracije železa morala obdelati, ker pa obstaja več različnih postopkov, sem morala najti najprimernejšega. Metoda, ki se je dobro obnesla, je bila upepelitev vzorcev zelenjave in reakcija železovih ionov s tiocianatnimi ioni v rdeč kompleks, katerega koncentracijo lahko spektrofotometrično izmerimo. Ugotovila sem, da med intenziteto obarvanosti in koncentracijo železa v vzorcih iste vrste zelenjave obstaja pozitivna korelacija.

Zahvala

Predvsem bi se rada zahvalila svoji mentorici, brez katere mi takšne raziskovalne naloge nikoli ne bi uspelo narediti. Zahvaliti se moram za vso pomoč pri iskanju virov, za vodstvo in razlago pri eksperimentalnem delu ter za ves čas in trud, ki mi ga je posvetila.

Zahvaljujem pa se seveda tudi vsem ostalim, ki so me med delom zvesto podpirali.

Kazalo vsebine

1. UVOD	7
1.1 Hipoteza.....	7
1.2 Raziskovalna metoda dela	7
2. TEORETIČNI DEL	9
2.1 Vpliv železa na človeka	9
2.2 Vloga železa pri rasti rastlin in njihovem metabolizmu	10
2.3 Predstavitev postopka	11
3. PRAKTIČNI DEL	14
3.1 Pripomočki in kemikalije.....	14
3.2 Merjenje obarvanosti vzorca	15
3.3 Določanje koncentracije železa v vzorcih	23
3.3.1 Umeritvena krivulja	24
3.3.2 Merjenje koncentracije železa v vzorcih.....	26
4. REZULTATI IN RAZPRAVA.....	30
5. DRUŽBENA ODGOVORNOST	37
6. ZAKLJUČEK	38
7. VIRI IN LITERATURA	39
7.1 Internetni viri:	39
7.2 Knjižni viri:.....	40
7.3 Viri slik:.....	40

Kazalo slik

Slika 1: List solate (vir: lasten)	16
Slika 2: Vzorci solate razporejeni po barvi (vir: lasten).....	16
Slika 3: Vzorci peteršilja razporejeni po barvi (vir: lasten)	18
Slika 4: Vzorci brstičnega ohrovta razporejeni po barvi (vir: lasten)	20
Slika 5: Vzorci brokolija razporejeni po barvi (vir: lasten)	21

Slika 6: Raztopine za umeritveno krivuljo (vir: lasten)	25
---	----

Kazalo grafov

Graf 1: Zelenost ekstraktov solate (vir: lasten)	17
Graf 2: Zelenost ekstraktov peteršilja (vir: lasten).....	18
Graf 3: Zelenost ekstraktov špinače (vir: lasten)	19
Graf 4: Zelenost ekstraktov brstičnega ohrovta (vir: lasten).....	20
Graf 5: Zelenost ekstraktov brokolija (vir: lasten).....	22
Graf 6: Zelenost ekstraktov pora (vir: lasten)	23
Graf 7: Umeritvena krivulja (vir: lasten).....	26
Graf 8: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri peteršilju (vir: lasten).....	31
Graf 9: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri špinači (vir: lasten)	32
Graf 10: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri brstičnem ohrovtu (vir: lasten)	33
Graf 11: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri brokoliju (vir: lasten)	34
Graf 12: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri poru (vir: lasten)	35

Kazalo tabel

Tabela 1: Masa vzorcev solate (vir: lasten).....	16
Tabela 2: Masa vzorcev peteršilja (vir: lasten)	18
Tabela 3: Masa vzorcev špinače (vir: lasten).....	19
Tabela 4: Masa vzorcev brstičnega ohrovta (vir: lasten)	20
<i>Tabela 5: Mase vzorcev brokolija (vir: lasten)</i>	<i>21</i>
Tabela 6: Mase vzorcev pora (vir: lasten).....	23
Tabela 7: razmerje med koncentracijo, prostornino in absorbanco (vir: lasten).....	25
Tabela 8: Vsebnost železa v vzorcih peteršilja (vir: lasten).....	27
Tabela 9: Koncentracija železa v vzorcih špinače (vir: lasten).....	27
Tabela 10: Koncentracija železa v vzorcih brstičnega ohrovta (vir: lasten)	28
Tabela 11: Koncentracija železa v vzorcih brokolija (vir: lasten)	28
Tabela 12: Koncentracija železa v vzorcih pora (vir: lasten).....	29
Tabela 13: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v peteršilju (vir: lasten).....	31

Tabela 14: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v špinaci (vir: lasten)	32
Tabela 15: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v brstičnem ohrovtu (vir: lasten)	33
Tabela 16: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v brokoliju (vir: lasten).....	34
Tabela 17: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v poru (vir: lasten)	35

1. UVOD

Železo opravlja pomembno vlogo v veliko procesih v našem telesu. Sodeluje pri prenosu in shranjevanju kisika, sintezi DNK, metabolizmu nekaterih hranil ...Skratka, brez njega bi težko preživeli dalj časa, zato je pomembno, da ga zaužijemo dovolj. Dobimo ga lahko z žitnimi in mesnimi izdelki, ribami, sadjem in zelenjavo. (Prehrana.si)

Večje potrebe po železu imajo vegetarijanci, saj iz rastlinske prehrane dobivajo le nehemsko železo. Morajo se potruditi, da jedo zelenjavo, ki vsebuje čim več železa in drugih snovi, ki jih v takšni prehrani primanjkuje. (Superhrana, 2013)

Na to temo lahko najdemo veliko knjig in spletnih strani z nasveti, ki naj bi pomagali najti najbolj raznoliko in okusno prehrano, s katero bi uspeli nadomestiti snovi, ki nam primanjkujejo. Obstaja veliko različnih diet in prehranskih dodatkov, ki pa včasih ne učinkujejo dovolj. Še posebej na internetu hitro naletimo na neresnice. V preteklosti se je širilo prepričanje, da je špinača kar 10-krat bolj bogata z železom, kot je v resnici, saj je prišlo do napake v meritvah. Na podlagi tega je nastala celo risanka Popaj, s katero so hoteli ljudi navaditi na uživanje velikih količin špinače, da bi s tem zagotovili zadosten vnos železa.

Tako sem jaz naletela na prepričanje, da je za zaužitje dovoljšnje količine železa med drugim potrebno jesti veliko zelenolistne zelenjave. (Superhrana.si)

Ko sem raziskovala naprej sem naletela več spletnih strani, ki so zapisale, da je potrebno uživati zelenjavo s temnimi listi: »Če ste vegetarijanec, pojejte več fižola in drugih stročnic, zelenjave s **temno zelenimi listi**, jajc in orehov.« (Aktivni.si) in »Največ železa najdemo v jetrih, mesu in mesnih izdelkih, stročnicah, žitih, morski hrani, **temno zeleni zelenjavi** in posušenem sadju.« Zanimalo me je, ali so ti nasveti resnični in ali temnejši deli iste zelenjave res vsebujejo več železa.

1.1 Hipoteza

Temneje zeleno obarvani vzorci iste vrste zelenjave vsebujejo več železa kot svetleje obarvani.

1.2 Raziskovalna metoda dela

Vsebnost železa lahko izmerimo. Pri zelenjavi to lahko naredimo s spektrofotometrijo po tem, ko vzorce ustrezno obdelamo. Ekstraktu zelenjave dodamo raztopine reagentov, ki z železom

tvorijo obarvane spojine. Več železa kot je v vzorcu zelenjave, intenzivneje je obarvana raztopina z reagenti. S spektrofotometrijo pa nato intenziteto te barve izmerimo in izračunamo koncentracijo železa v vzorcu zelenjave po predhodni umeritvi.

2. TEORETIČNI DEL

2.1 Vpliv železa na človeka

Železo na prvi pogled ne deluje kot pomemben element za življenje, toda v resnici v našem telesu opravlja pomembno vlogo. Sodeluje pri:

- prenosu in hrambi kisika in elektronov,
- je kofaktor pri metabolizmu aminokislin, maščob, alkohola, vitamina A in sulfita.
- sodeluje pri sintezi DNK

Za izvrševanje teh procesov je priporočen dnevni vnos železa za odraslega človeka okoli 14 g. Takšno količino železa vnesemo v telo, če zaužijemo skodelico kuhane špinacije (180 g), 30 g ovsenih kosmičev, eno jajce (68 g), 40 g sojinega sira ter telečji zrezek (150 g). Ženske potrebujejo zaradi izgube krvi med menstruacijo več železa (18 mg), po obdobju menopavze pa ga potrebujejo okoli 10 mg. Potrebe po železu so povečane tudi med nosečnostjo in dojenjem, saj je nujno potrebno za normalen razvoj otroka. Več železa morajo zaužiti tudi ljudje, ki se prehranjujejo izključno z vegetarijansko prehrano, saj iz nje dobivajo le nehemsko železo. (Prehrana.si)

Največ železa lahko namreč dobimo iz živil živalskega izvora, saj ga ta vsebujejo v hemski obliki, kar pomeni, da so v obliki Fe^{2+} ionov, ki so ukleščeni v hem in tako tvorijo hemoglobin. V živilih rastlinskega izvora najdemo nehemsko železo, ki vsebuje Fe^{3+} ione, ki pa ga človek bistveno težje izkoristi, saj se železo iz rastlin slabše absorbira.

Metabolizem železa se precej razlikuje od metabolizma drugih snovi, saj je njegova količina v telesu nadzorovana zgolj z absorpcijo. Poleg tega pa kar 90 % železa, dobimo endogeno – predvsem z razgradnjo rdečih krvničk. (Prehrana.si)

Prenizki in previsoki vnosi železa

Pomanjkanje železa sodi med najpogostejše prehransko pomanjkanje na svetu. Kaže se kot izguba apetita, pri večjem pomanjkanju pa izgubimo fizično zmogljivost in imunsko odpornost,

kar se opazi v večji občutljivosti organizma. Najpogostejši vzroki za hudo pomanjkanje železa so izgube krvi, nezadostni prehranski vnos in motnje absorpcije železa. Posebej nevarno je pomanjkanje železa med nosečnostjo in zgodnjim otroštvom, saj lahko povzroči zaplete pri nosečnosti in nepravilen razvoj otroka. (Prehrana.si)

Železo je prisotno v veliko različnih živilih, ampak večinoma v majhnih količinah. Največ ga najdemo v jetrih, mesu in mesnih izdelkih, stročnicah, žitih, morski hrani, temno zeleni zelenjavi in posušenem sadju. Vsebnost železa v rastlinskih živilih je precej odvisna od vsebnosti železa v zemlji. (Prehrana.si)

Iz mešane prehrane se absorbira 14-18 % železa, iz rastlinske hrane pa le približno 5-12%. Pri vsejedih ljudeh vnos hemskega železa predstavlja približno 10-15% vnosa železa, pri ljudeh, katerih prehrana vsebuje veliko mesa in mesnih izdelkov pa lahko predstavlja tudi preko 50% absorbiranega železa. (Prehrana.si)

Glavni vir železa v prehrani pri večini prebivalstva predstavljajo nehemske oblike železa, kar so žita in žitni izdelki, stročnice, zelenjava in sadje. Absorpcijo železa nekatere snovi zavirajo, spodbuja pa jo vitamin C, zato je priporočljivo, da se poleg živil bogatih z železom uživa tudi taka, ki vsebujejo ta vitamin. (Prehrana.si)

2.2 Vloga železa pri rasti rastlin in njihovem metabolizmu

Rastlini nujno potrebni (esencialni) elementi so mineralna hranila, brez katerih rastlina ne more normalno zaključiti svojega življenjskega kroga, saj so sestavni del molekul, ki so potrebne za obstoj rastline. Takšni elementi, ki jih rastlina vsebuje največ, so vodik, ogljik in kisik, ki jih pridobi iz zraka in vode. Tudi železo spada med esencialne elemente, vendar ga rastline vsebujejo bistveno manj – le okoli 2,0 $\mu\text{mol/g}$, zato spada med t.i. mikroelemente, ki jih rastlina pridobiva iz tal. (Mineralna prehrana rastlin)

Železo je za rastline zelo pomembno, ker sodeluje pri fotosintezi, fiksaciji dušika, sestavi mitohondrijev, sintezi klorofila in vzdrževanju struktur in funkcij kloroplastov. Kljub temu, da je tako pomemben faktor pri fotosintezi, pa ga v samem klorofilu ne najdemo. Ta je sicer sestavljen na podoben način kot hemoglobin, ki uklešči Fe^{2+} ion med molekule hema. Pri klorofilu je način ukleščenja enak, le elementi so zamenjani in je namesto železa ukleščen Mg^{2+} . Železo pri oksidativnih reakcijah, kot je dihanje, sodeluje kot kofaktor za encime zaradi svoje sposobnosti sprejemanja in oddajanja elektronov (pretvorba iz Fe^{2+} v Fe^{3+} in obratno).

Delež mineralov v tleh lahko določimo s opazovanjem rasti rastlin, saj različni elementi nanjo vplivajo na različne načine. Večinoma zemlja vsebuje veliko železa, vendar večinoma v Fe^{3+} obliki z zelo nizko topnostjo, zato ga rastline ne morejo dobro izkoristiti. Prav tako ga lahko dobro absorbirajo le, če je pH tal dovolj nizek. V nasprotnem primeru pride do pomanjkanja železa in rastline niso več dovolj učinkovite pri razvijanju in stabilizaciji klorofila, kar pripelje do rumenenja listov in počasnejše rasti. Simptome najprej opazimo na mlajših delih rastline – mladih listih in vršičkih. Najbolj opazen simptom je enakomerna obledelost listov, ki ji pravimo kloroza. Ta problem poskušajo odpraviti z umetnim dodajanjem železa v zemljo in genskimi spremembami.

Kloroza nastaja zaradi pomanjkanja železa, da pa se zaradi večje količine železa listi obarvajo temneje, pa ni dokazano, saj je v takem primeru v listih sicer več pigmenta, vendar se spremenijo tudi nekateri drugi dejavniki.

Železo je težka kovina in je v velikih količinah strupen in rastlini škoduje. Prevelik vnos povzroči zmanjšanje sinteze v listih in razgradnjo beljakovin. Poleg tega pa lahko železo s sprejemanjem in oddajanjem elektronov povzroči nastanek prostih radikalov, ki uničijo celico. Da bi rastline to preprečile, so razvile proces v katerem železo povezujejo z beljakovinami. (Role of iron in plant growth and methabolism, 2015)

2.3 Predstavitev postopka

Za določanje koncentracije železa v hrani obstaja več različnih postopkov. Najbolj natančna izmed njih je ICP-OES metoda, ki temelji na pošiljanju vzorca skozi plazmo, da se začne zaradi preskokov elektronov med orbitalami z različno energijo, sproščati energija v obliki svetlobe. Na podlagi njene valovne dolžine, ki je odvisna od vrste elementa v katerem je prišlo do preskoka, lahko z merjenjem absorbance določimo vrsto in količino vsakega posameznega elementa v vzorcu. Ta metoda je zelo draga, zato lahko opremo zanjo najdemo le v nekaterih večjih ustanovah.

Naslednja prav tako zelo natančna metoda je atomska absorpcijska spektroskopija (AAS), ki prav tako temelji na merjenju absorbance. Vzorec je potrebno osvetliti s posebnim virom svetlobe, ki povzroči vzbujeno stanje atomov in nastajanje ionov določenega elementa. Za vsak element moramo uporabiti drug vir svetlobe, zato je tudi ta metoda zelo draga in večina šol zanjo nima primerne opreme.

Metoda s katero sem delala, je bila vidna UV-VIS spektrofotometrija, saj imamo opremo, ki je potrebna za njeno izvajanje, na voljo v šolskem laboratoriju. Najpomembnejši člen pri tej metodi je spektrofotometer. To je naprava, ki pošlje snop svetlobe skozi raztopino v kiveti in izmeri absorbanco – količino in valovno dolžino svetlobe, ki jo raztopina zadrži - in trasmitanco – svetlobo in valovno dolžino, ki preide skozi raztopino. Svetlobo s katero obsevamo raztopino, sestavljajo fotoni, ki imajo določeno količino energije, ki jo lahko oddajo molekulam raztopine. Ko so te obsevane, se jim spremenijo električna in magnetna polja, pri tem pa absorbirajo energijo. (TutorVista.com)

Elektromagnetni spekter je sestavljen iz različnih elektromagnetnih valovanj, saj molekule absorbirajo energijo na različnih valovnih dolžinah. Količina absorbirane energije je odvisna od količine energije s katero so molekule obsevane in od strukture molekule in njenih vezi. Tako lahko na podlagi absorbance določimo energijo in vezi v molekuli in količino te vrste molekul v vzorcu. (TutorVista.com)

Trasmitanco in asorbanco spektrofotometer izračuna po naslednjih enačbah, kjer A pomeni absorbanco, T trasmitanco, P količino svetlobe, ki jo raztopina prepusti in P_0 količino svetlobe, ki jo prepusti »prazna« raztopina s katero smo umerili spektrofotometer:

$$T = P / P_0$$
$$A = - \log (T)$$

Vedeti moramo, da bo valovna dolžina oz. barva, ki jo raztopina absorbira, ravno nasprotna tisti, ki jo ljudje zaznamo s prostim očesom. Merjene valovne dolžine so med 300 nm in 700 nm, kar je v našem vidnem spektru, saj nas v tem primeru ostale ne zanimajo. (TutorVista.com)

Da lahko izmerimo koncentracijo železa v vzorcih z UV-VIS spektrofotometrijo, jih moramo pred tem ustrezno pripraviti. Obstaja več različnih postopkov, jaz pa sem preizkusila dva.

Najprej sem izbrala takšnega, pri katerem bi za merjenje koncentracije železa in intenzitete obarvanosti uporabila iste sveže vzorce. Tak postopek je hitrejši in natančnejši, saj obojne meritve opravimo na istih kosih zelenjave.

Da lahko izmerimo koncentracijo železa s spektrofotometrijo, potrebujemo ekstrakte vzorcev, ki jim dodamo raztopine vodikovega nitrata, natrijevega acetata in 1,10-fenantrolina s katerimi vzpostavimo okolje, kjer se ekstrakt obarva glede na koncentracijo železa.

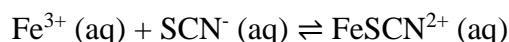
Obarvanje povzroči 1,10-fenantrolin, ki reagira z Fe^{2+} ioni in jih uklešči v oranžno-rdečo spojino. Natrijev acetat poskrbi za stalni pH 3.5, ki je potreben za reakcijo, hidroksilamin

hidroklorid pa Fe^{3+} ione pretvori v Fe^{2+} , saj lahko reagirajo le ti. (Spectrophotometric Determination of Iron for Highschools.PDF)

Ta postopek je odličen za določanje koncentracije železa v pitni vodi in drugih zmesih, ki ne vsebujejo klorofila in drugih obarvanih snovi. V mojem primeru je klorofil namreč povzročil povečanje absorbance na nekaterih valovnih dolžinah in s tem nepravilne oziroma nenatančne rezultate.

Bila sem prisiljena uporabiti drug postopek, pri katerem vzorce upepelimo. Pri tem klorofil in druge organske spojine namreč razpadejo. Minerali, med njimi tudi železo, zaradi visoke temperature tališča ostanejo v pepelu. Edina sprememba pri železu se zgodi v njegovem oksidacijskem številu, saj se vsi Fe^{2+} ioni pretvorijo v Fe^{3+} .

Tudi pri tem postopku moramo vzorcem dodati različne raztopine. Poskrbeti moramo, da se snovi, ki med upepeljevanjem niso razpadle, dobro raztopijo, za kar je najbolj primerna kislina HCl. Nato moramo vzorcu dodati KSCN, ki ima podobno vlogo kot fenantrolin v prejšnjem postopku. Pri reakciji KSCN z železom se raztopina, v kateri je vzorec, namreč obarva rdeče. Ta reakcija poteka po naslednji enačbi: (Kemija za gimnazije 2, 2010)



Intenziteta rdeče barve je odvisna od koncentracije železovih ionov, zato lahko z merjenjem njene intenzitete s postopkom spektrofotometrije ugotovimo tudi koncentracijo železa. Spektrofotometrija temelji na Beer-Lambertovem zakonu, ki pravi, da je absorbanca odvisna od valovne dolžine, vrste raztopine, debeline kivete in s tem raztopine in koncentracije. Iz tega sledi, da je absorbanca premo sorazmerna s koncentracijo. V enačbi A predstavlja absorbanco, ϵ absorpcijski koeficient, l debelino in c koncentracijo:

$$A = \epsilon \times l \times c$$

Na podlagi tega bi koncentracijo lahko izračunali, ampak je absorpcijski koeficient neznan. Zato smo koncentracijo ugotovili s pomočjo umeritvene krivulje.

3. PRAKTIČNI DEL

Da sem ugotovila ali obstaja povezava med barvo zelenjave in količino železa, ki je v njej, sem morala oboje najprej izmeriti. Intenziteto obarvanosti in vsebnost železa sem izmerila šestim različnim vzorcem zelenjave (solati, peteršilju, špinači, brstičnemu ohrovту, brokoliju in poru). Od teh je primerljivih pet vzorcev, saj sem vzorec solate obdelala po drugačnem postopku za merjenje koncentracije železa. Najprej sem namreč namerava uporabiti metodo pri kateri uporabimo sveže vzorce, ampak zaradi barve klorofila nisem mogla dobiti natančnih rezultatov. Ostale vzorce sem zato obdelala z metodo pri kateri jih upepelim, da klorofil in ostale organske snovi razpadejo. Postopek merjenja obarvanosti vzorcev pa je ostal isti.

3.1 Pripomočki in kemikalije

- UV-VIS Spektrofotometer (Vernier) in pripadajoče kivete
- Računalnik in program Logger Pro
- Tehtnica (Kern EW, $\pm 0,01$ g)
- Analizna tehtnica (Kern ABJ, $\pm 0,0001$ g)
- Žarilna peč (Auro dent)
- Polnilne pipete (2,5 mL, $\pm 0,010$ mL; 5 mL, $\pm 0,03$ mL; 10 mL, $\pm 0,04$ mL; 20 mL, $\pm 0,05$ mL)
- Merilne pipete (10 mL in 20mL)
- Merili valj (25 mL)
- Merilne bučke (500 mL, $\pm 0,250$ mL; 50 mL, $\pm 0,060$ mL)
- Čaše
- Filtrirni papir (Macherey - Nagel, Black ribbon)
- Stekljeni liji
- Kovinsko stojalo z obroči
- Epruvete in stojalo za epruvete
- Terilnice in pestila
- Deionizirana voda (šolski laboratorij)
- Zelenjava (solata, peteršilj, špinača, brstični ohrovt, brokoli, por)
- Kalijev tiocianat (KSCN, p.a., Kemika Zagreb)
- Železov(III) nitrat(V) nonahidrat ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \times 9\text{H}_2\text{O}$, p.a., Sigma – Aldrich)

- Klorovodikova kislina (HCl, p.a., 37%, Honeywell)

3.2 Merjenje obarvanosti vzorca

Da sem vzorcu lahko izmerila intenziteto obarvanosti, sem iz njega morala pripraviti vodni ekstrakt. Najprej sem vsak vzorec zelenjave razdelila na pet barvnih odtenkov, jih stehtala in poskrbela, da so imeli vsi enako maso, nato sem vsakega razdelila na dva dela. En del vsakega drugače obarvanega vzorca bom potrebovala za merjenje obarvanosti, drugi del pa za merjenje koncentracije železa. Dele vzorcev za merjenje obarvanosti sem dala vsakega v svojo terilnico in jih čim bolj zmečkala s pestilom. Dobila sem kašasto snov, ki sem jo nato zalila z 20 mL deionizirane vode in filtrirala. Med filtracijo sem na računalnik priključila Vernierov UV-VIS spektrofotometer in ga umerila z deionizirano vodo. Za merjenje sem uporabljala program Logger Pro.

V kiveto sem najprej nalila na videz najtemnejši vzorec in ga vstavila v spektrofotometer. Če je bila absorbanca prevelika, sem vse vzorce te zelenjave razredčila s še dodatnimi 20 mL deionizirane vode in jim nato izmerila absorbanco.

SOLATA

Prve meritve sem opravila na solati. Uporabila sem le en velik list, ki je bil od sredine proti robu vedno temnejši, zato ga je bilo lahko razdeliti na pet barvnih odtenkov. Poskrbela sem, da so tehtali približno enako, ker je bilo okoli 3 g, kot je razvidno iz spodnje tabele (tabela 1). Za solato sem uporabila iste ekstrakte za merjenje zelenosti in koncentracije železa, zato mi je tako majhna količina zadostovala za oboje. Ekstrakte sem pripravila po prej opisanem postopku.



Slika 1: List solate (vir: lasten)

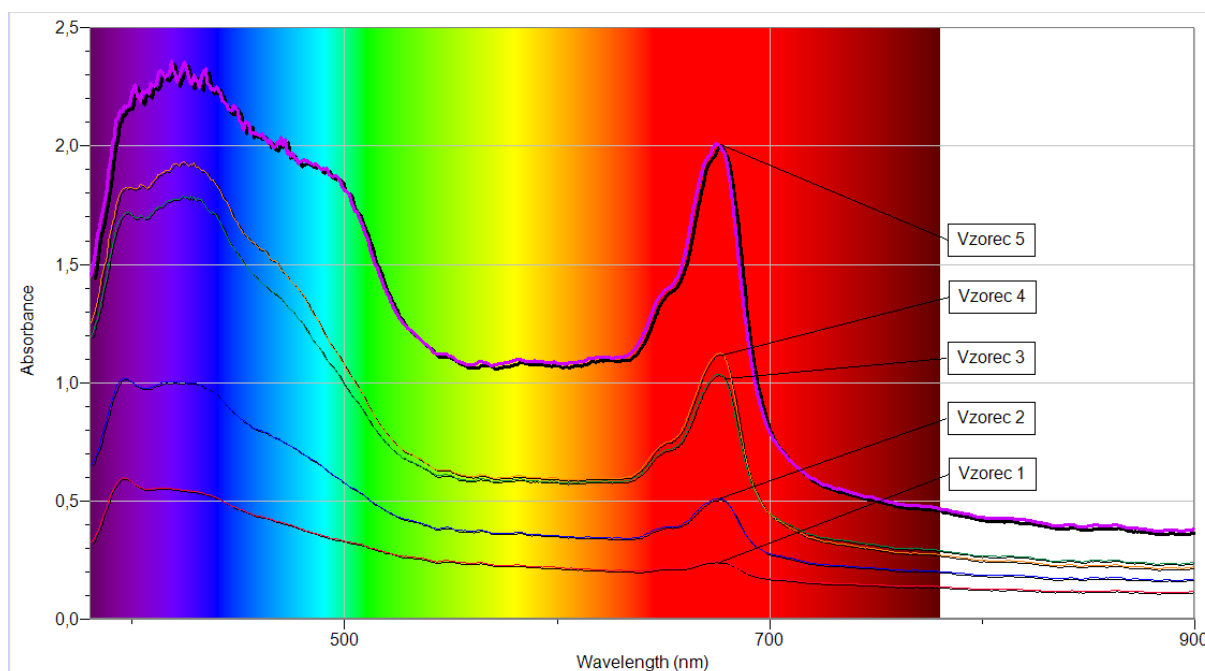
Tabela 1: Masa vzorcev solate (vir: lasten)

Vzorec	Masa vzorca (g)
1	3,01
2	3,00
3	3,01
4	3,00
5	3,00



Slika 2: Vzorci solate razporejeni po barvi (vir: lasten)

Po merjenju sem dobila spodnji graf (graf 1). Razvidno je, da je absorbanca najvišja v območjih rdeče in vijolične oziroma modre barve. Rdeča barva je komplementarna zeleni barvi ekstrakta zaradi klorofilov, ki jih vsebuje, vijolična barva pa je komplementarna rumeno-oranžni barvi zaradi vsebnosti karotenoidov v ekstraktu. Vsaka snov namreč absorbira določene valovne dolžine, naše oko pa lahko zazna le svetlobo ostalih valovnih dolžin. Za oceno zelenosti bom opazovala območje grafa med 650 nm in 700 nm, kar je na območju rdeče barve, ki je glede na barvni krog nasprotna zeleni.



Graf 1: Zelenost ekstraktov solate (vir: lasten)

PETERŠILJ

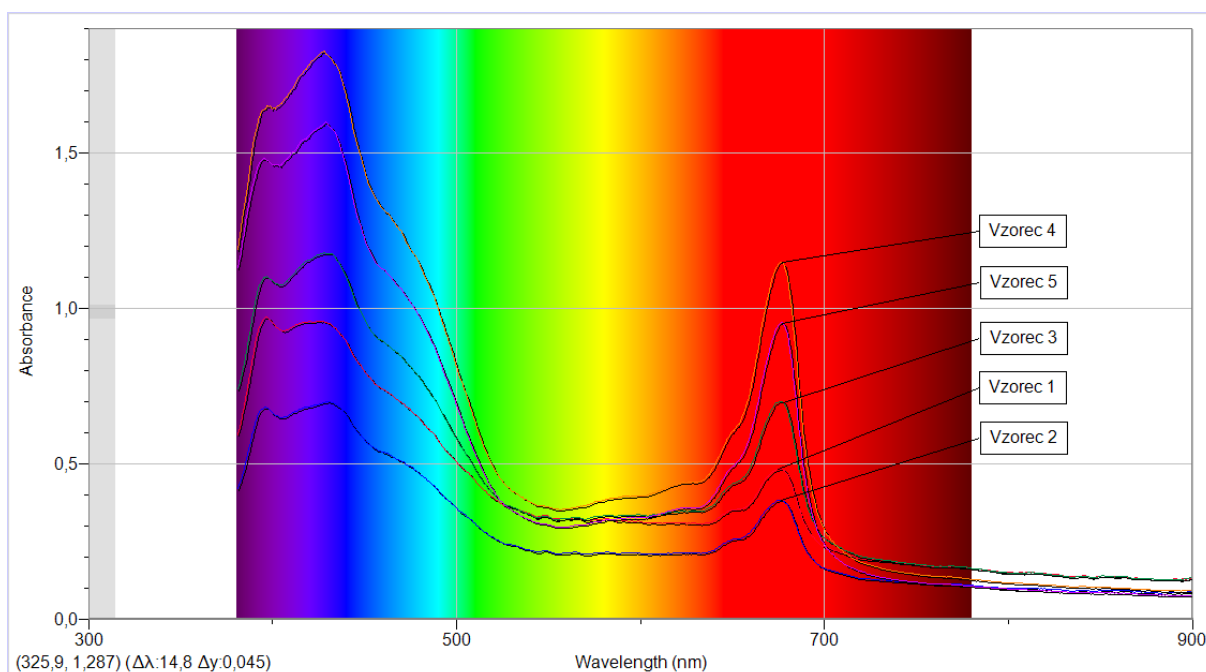
Za naslednje meritve sem uporabila peteršilj, ki sem ga imela več saj sem morala imeti dovolj veliko količino vzorcev za ločene meritve zelenosti in koncentracije železa. Mase vzorcev za meritve obarvanosti so razvidne iz spodnje tabele (tabela 2). Za meritve sem uporabila opisani postopek in dobila spodnji graf (graf 2).



Slika 3: Vzorci peteršilja razporejeni po barvi (vir: lasten)

Tabela 2: Masa vzorcev peteršilja (vir: lasten)

Vzorec	Masa vzorca (g)
1	3,01
2	3,05
3	3,05
4	3,05
5	3,04



Graf 2: Zelenost ekstraktov peteršilja (vir: lasten)

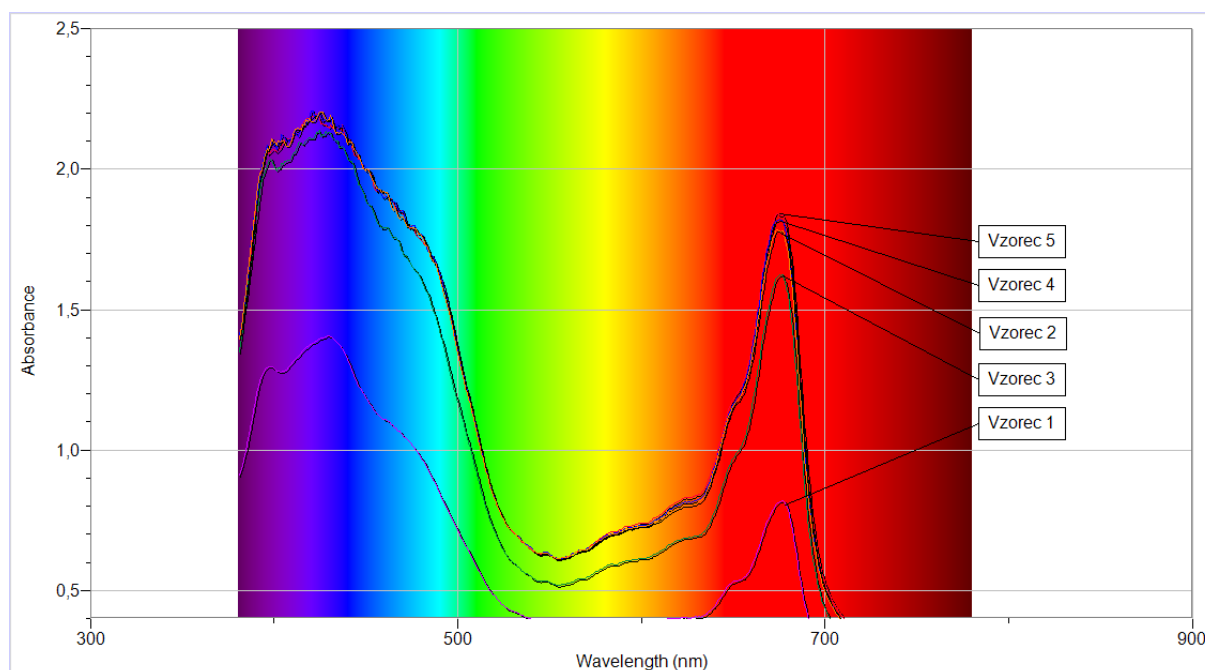
Deli peteršilja se po barvi niso toliko razlikovali kot pri solati, zato mi jih ni uspelo razporediti po vrsti. Vzorec 1, 2 in 3 so bila stebila, ki pa niso bila toliko svetlejša kot sem pričakovala.

ŠPINAČA

Mase vzorcev so razvidne iz spodnje tabele (tabela 3). Za meritve sem uporabila opisani postopek in dobila spodnji graf (graf 3).

Tabela 3: Masa vzorcev špinače (vir: lasten)

Vzorec	Masa vzorca (g)
1	2,88
2	3,14
3	3,00
4	3,12
5	3,09



Graf 3: Zelenost ekstraktov špinače (vir: lasten)

Pri špinači sem imela največ problemov pri ločevanju po barvi, saj se listi niso dovolj razlikovali. Ločila sem stebela od listov in stebela poimenovala Vzorec 1, saj njihova masa ni bila dovolj velika, da bi iz njih naredila več vzorcev. Iz grafa je razvidno, da je Vzorec 1 odločno svetlejši, med ostalimi pa ni velikih razlik, kar sem tudi pričakovala. Vsi ekstrakti so bili zelo temni, zato sem jih morala razredčiti z dodatnimi 20 mL deionizirane vode.

BRSTIČNI OHROVT

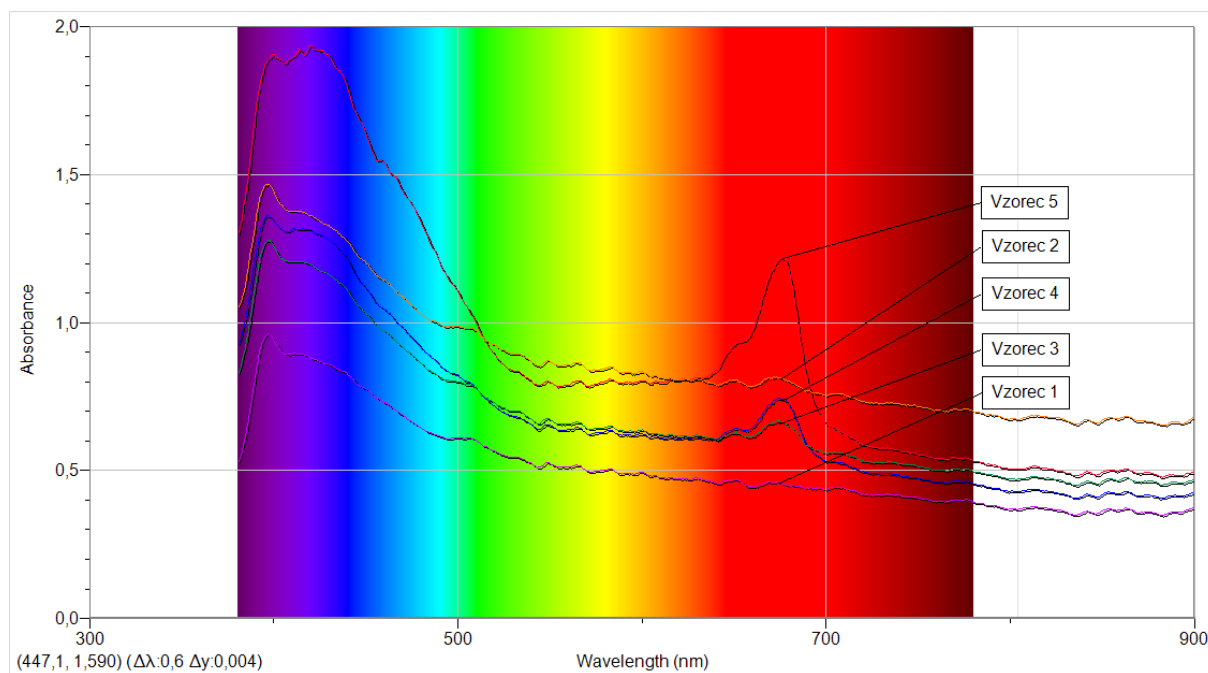
Mase vzorcev so razvidne iz spodnje tabele (tabela 4). Za meritve sem uporabila opisani postopek in dobila spodnji graf (graf 4). Ekstrakte sem morala razredčiti z 20 mL deionizirane vode.



Tabela 4: Masa vzorcev brstičnega ohrovtja (vir: lasten)

Vzorec	Masa vzorca (g)
1	2,98
2	3,02
3	3,04
4	3,02
5	3,98

Slika 4: Vzorci brstičnega ohrovtja razporejeni po barvi (vir: lasten)



Graf 4: Zelenost ekstraktov brstičnega ohrovtja (vir: lasten)

Presenetljivo je, da kljub temu da se mi je ločevanje vzorcev po barvi najprej navidezno uspelo, so meritve pokazale drugače. Predvidevam, da so to povzročili svetli deli vsakega lista, ki jih nisem odstranjevala.

BROKOLI

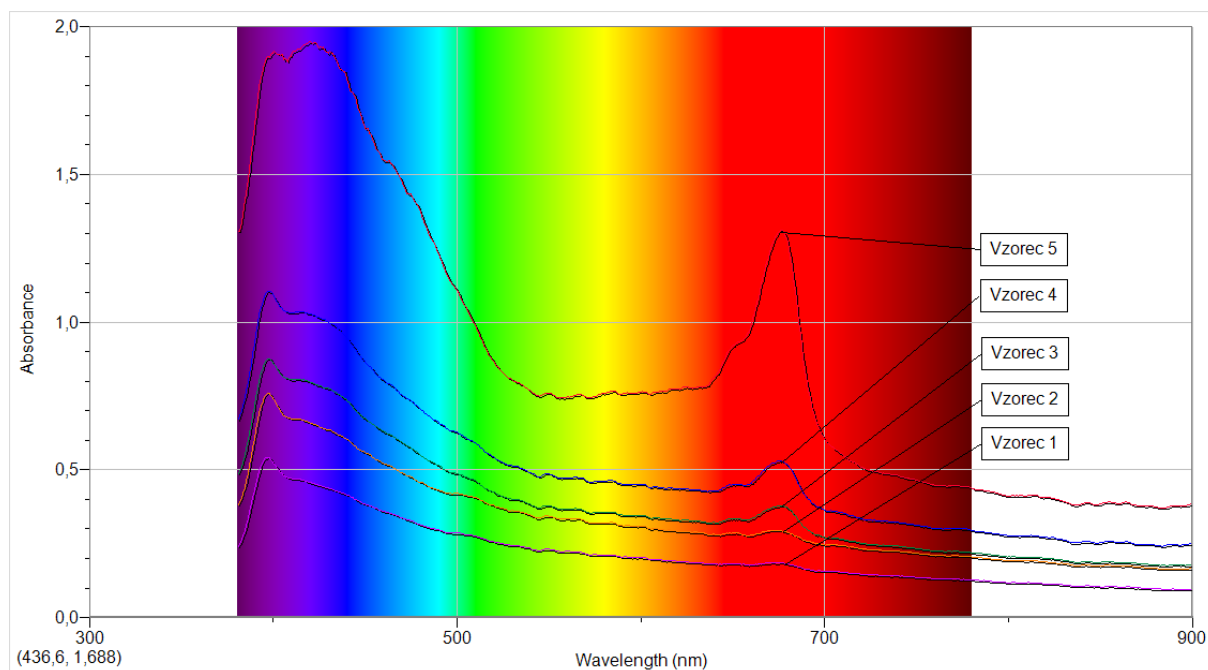
Mase vzorcev so razvidne iz spodnje tabele (tabela 5). Za meritve sem uporabila opisani postopek in dobila spodnji graf (graf 5). Ekstrakte sem morala razredčiti z 20 mL deionizirane vode.



Slika 5: Vzorci brokolija razporejeni po barvi (vir: lasten)

Tabela 5: Mase vzorcev brokolija (vir: lasten)

Vzorec	Masa vzorca (g)
1	3,02
2	3,02
3	3,03
4	3,06
5	3,04



Graf 5: Zelenost ekstraktov brokolija (vir: lasten)

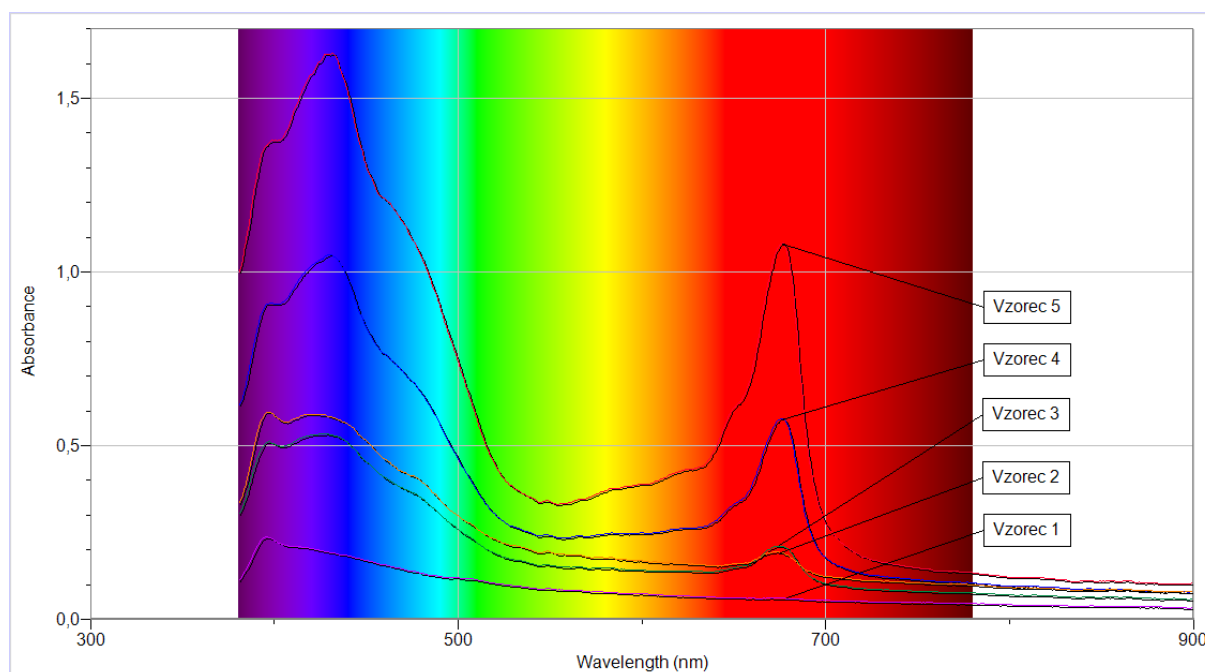
Brokoli je enakomerno temnel od osrednjega stebela do vrha, zato sem ga razdelila tako, da je vzorec 1 osrednje steblo, vzorca 2 in 3 sta manjša stebelca, vzorec 4 so deli tik pod temnimi bunkicami, vzorec 5 pa sestavljajo zelo temne bunkice na vrhu, kar se odlično vidi v grafu (graf 5).

POR

Mase vzorcev so razvidne iz spodnje tabele (tabela 6). Za meritve sem uporabila opisani postopek in dobila spodnji graf (graf 6). Ekstrakte sem morala razredčiti z 20 mL deionizirane vode.

Tabela 6: Mase vzorcev pora (vir: lasten)

Vzorec	Masa vzorca (g)
1	3,00
2	3,00
3	3,01
4	3,00
5	3,02



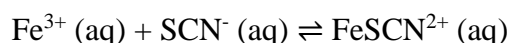
Graf 6: Zelenost ekstraktov pora (vir: lasten)

3.3 Določanje koncentracije železa v vzorcih

Ta postopek se od prvega precej razlikuje. Obstaja jih več in jaz sem najprej izbrala takšnega, pri katerem sem uporabila iste vzorce kot za merjenje intenzitete barve – takrat so bili vzorci solate. Ker je metoda zaradi klorofila in premajhne vsebnosti železa v zelenjavi neuporabna, sem se odločila za drugi postopek.

Ta temelji na reakciji med Fe^{3+} ioni in KSCN , saj je njun produkt rdeče barve, katere intenziteta je odvisna od koncentracije ionov FeSCN^{2+} , ta pa od začetnih koncentracij ionov Fe^{3+} in SCN^-

(tiocianatnih ionov). Začetne koncentracije železa so bile različne, SCN^- ionov pa enake. (Kemija za gimnazije 2, 2010) Reakcija poteka po tej enačbi:



Intenziteta rdeče barve je odvisna od koncentracije železovih ionov, zato lahko z merjenjem njene intenzitete s postopkom spektrofotometrije ugotovimo tudi koncentracijo železa.

3.3.1 Umeritvena krivulja

Umeritveno krivuljo sem pripravila tako, da sem pripravila raztopine s znano koncentracijo železa in jim izmerila absorbanco ter podatke s Programom Logger Pro postavila v graf. Tako bom lahko vzorcem izmerila njihovo absorbanco in koncentracijo preprosto odčitala iz grafa oziroma izračunala iz enačbe umeritvene premice.

Priprava raztopin

Izhodiščno raztopino Fe^{3+} s koncentracijo 0,00100 mol/L sem pripravila tako, da sem stehtala 0,2020 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, raztopila v 30 ml HCl, 2,0 mol/L, prenesla v 500 ml merilno bučko in dopolnila z deionizirano vodo do oznake.

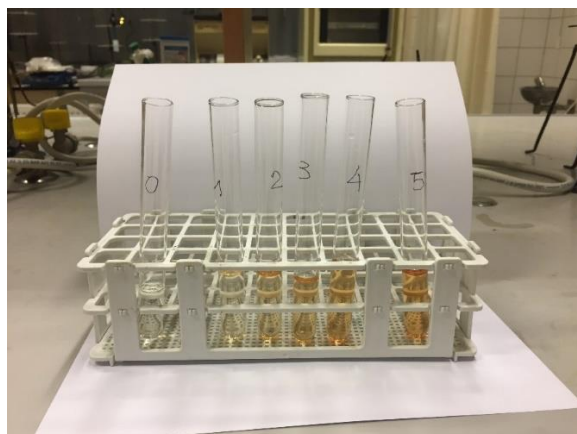
Raztopino KSCN s koncentracijo 1,50 mol/L sem pripravila tako, da sem stehtala 7,29 g KSCN, raztopila v manjši količini deionizirane vode, prenesla v 50 ml merilno bučko in dopolnila z deionizirano vodo do oznake.

Raztopino HCl s koncentracijo 2,0 mol/L sem pripravila tako, da smo 85 ml koncentrirane HCl previdno dolivala v 300 ml deionizirane vode, prenesla v 500 ml merilno bučko in dopolnila z vodo do oznake.

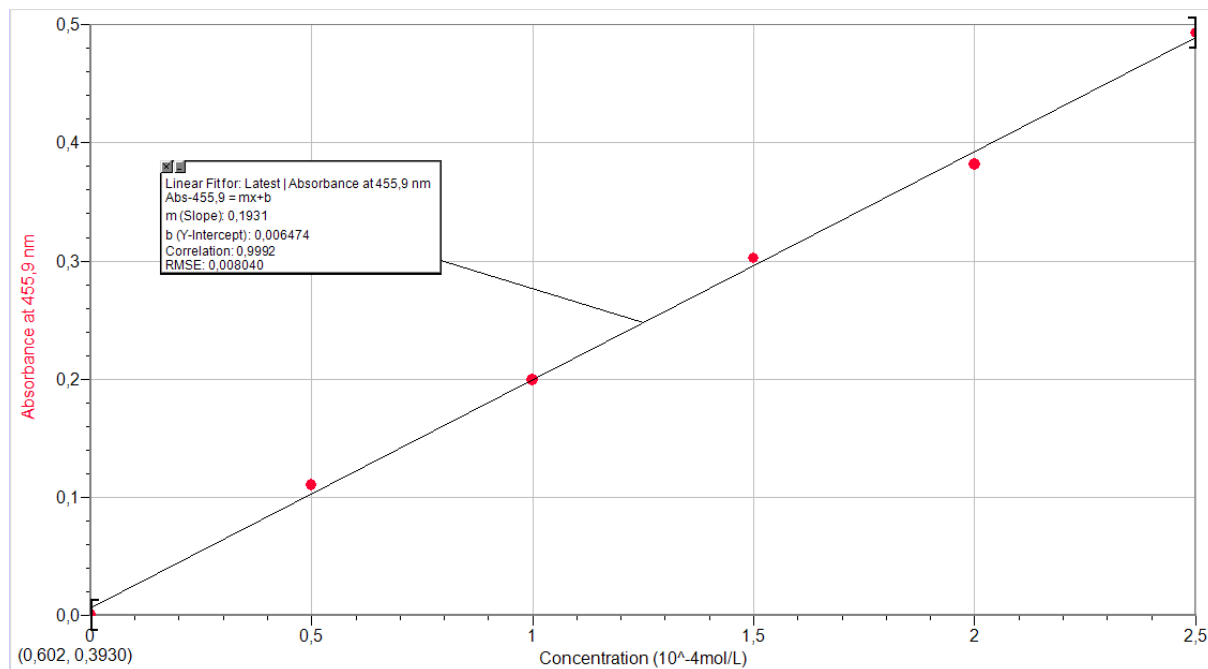
Znane raztopine Fe^{3+} sem pripravila iz različnih prostornin izhodiščne raztopine Fe^{3+} , ki sem jim dodala toliko mL 2,0 M HCl, da je bila skupna prostornina 10 mL (tabela 7). Nato sem tik pred meritvijo absorbance dodala 2,50 mL 1,50 M KSCN in premešala. Nastala je blede rdeča raztopina, ki pa ni obstojna, zato jo je potrebno takoj izmeriti.

Tabela 7: razmerje med koncentracijo, prostornino in absorbanco (vir: lasten)

Množinska koncentracija standardne raztopine Fe ³⁺ (10 ⁻⁴ mol/L)	Prostornina izhodiščne raztopine Fe ³⁺ 0,00100 mol/L (mL)	Prostornina raztopine HCl, 2,0 mol/L (mL)	Absorbanca pri 455,9 nm
0	0	10,00	0
0,50	0,50	9,50	0,110
1,00	1,00	9,00	0,199
1,50	1,50	8,50	0,302
2,00	2,00	8,00	0,382
2,50	2,50	7,50	0,493



Slika 6: Raztopine za umeritveno krivuljo (vir: lasten)



Graf 7: Umeritvena krivulja (vir: lasten)

3.3.2 Merjenje koncentracije železa v vzorcih

Stehtane vzorce zelenjave upepelimo v žarilni peči pri 270 °C, kar traja tri ure. Minerali, med njimi tudi železo, zaradi visoke temperature tališča ostanejo v pepelu. Edina sprememba pri železu se zgodi v njegovem oksidacijskem številu, saj se vsi Fe^{2+} ioni pretvorijo v Fe^{3+} . Vzorce je po ohlajanju potrebno zdrobiti s stekleno palčko in z dodajanjem 2,0 M HCl poskrbeti, da se ves pepel raztopi. Nato vzorce filtriramo in 5 mL vsakega filtrata pipetiramo v epruvete. Dodamo 2,5 mL 1,5 M KSCN in s spektrofotometrom čim hitreje izmerimo absorbanco, da raztopina ne zbledi ter iz grafa programa Logger Pro odčitamo koncentracijo železa.

PETERŠILJ

Prvi vzorec je bil vzorec peteršilja. Za meritve sem uporabila zgoraj opisani postopek.

Tabela 8: Vsebnost železa v vzorcih peteršilja (vir: lasten)

Vzorec	Masa čaše(g)	Masa svežega vzorca (g)	Absorbaca pri 455,9nm
1	104,86	6,02	0,137
2	96,13	6,07	0,230
3	106,48	6,00	0,143
4	104,84	7,11	0,435
5	120,40	7,03	0,260

ŠPINAČA

Tabela 9: Koncentracija železa v vzorcih špinače (vir: lasten)

Vzorec	Masa čaše(g)	Masa svežega vzorca (g)	Masa upepeljenega vzorca in čaše (g)	Absorbaca pri 455,9nm
1	104,86	7,97	105,18	0,483
2	106,62	7,99	107,00	0,501
3	104,84	8,01	105,23	0,570
4	105,93	8,00	106,36	0,664
5	120,40	8,00	120,85	0,608

BRSTIČNI OHROVT*Tabela 10: Koncentracija železa v vzorcih brstičnega ohrovt (vir: lasten)*

Vzorec	Masa čaše(g)	Masa svežega vzorca (g)	Absorbaca pri 455,9nm
1	104,78	24,96	0,327
2	704,14	25,01	0,250
3	106,99	24,97	0,225
4	104,96	25,06	0,472
5	96,13	25,00	0,317

BROKOLI*Tabela 11: Koncentracija železa v vzorcih brokolija (vir: lasten)*

Vzorec	Masa čaše(g)	Masa svežega vzorca (g)	Absorbaca pri 455,9nm
1	106,91	30,06	0,205
2	100,67	29,48	0,218
3	106,99	29,72	0,241
4	104,97	30,01	0,415
5	104,79	30,05	0,580

POR*Tabela 12: Koncentracija železa v vzorcih pora (vir: lasten)*

Vzorec	Masa čaše(g)	Masa svežega vzorca (g)	Masa upepeljenega vzorca in čaše (g)	Absorbaca pri 455,9nm
1	104,94	6,97	105,25	0,166
2	104,84	7,01	105,19	0,188
3	120,35	7,07	120,72	0,236
4	106,45	7,09	106,75	0,332
5	107,07	7,04	107,43	0,265

4. REZULTATI IN RAZPRAVA

Po opravljenem eksperimentalnem delu sem izračunala koncentracijo železa v vzorcih iz absorbance. Povezavo med absorbanco in koncentracijo Fe^{3+} prikazuje enačba umeritvene premice:

$$A = 0,1931 \times c(Fe^{3+}) + 0,006474$$

Koncentracijo Fe^{3+} v vzorcih (merjeno v 10^{-4} mol/L) izračunamo po enačbi:

$$c(Fe^{3+}) = \frac{A - 0,006474}{0,1931}$$

Primer izračuna za špinačo, vzorec 1:

$$c(Fe^{3+}) = \frac{0,608 - 0,006474}{0,1931} = 3,12 \times 10^{-4} \frac{mol}{L}$$

V 10,0 mL raztopine pepela v HCl je masa železa:

$$\begin{aligned} n(Fe^{3+}) &= c(Fe^{3+}) \times V(\text{raztopine pepela}) = 3,12 \times 10^{-4} \frac{mol}{L} \times 0,0100L \\ &= 3,12 \times 10^{-6} mol \end{aligned}$$

$$m(Fe^{3+}) = n(Fe^{3+}) \times M(Fe^{3+}) = 3,12 \times 10^{-6} mol \times 55,85 \frac{g}{mol} = 1,74 \times 10^{-4} g$$

Pepel smo pridobili iz 7,97 g sveže špinače. Vsebnost železa v 100 g špinače je:

$$x = \frac{m(Fe^{3+})}{m(\text{špinače})} = \frac{1,74 \times 10^{-4} g}{7,97 g} = \frac{2,18 \times 10^{-3} g}{100 g} = \frac{2,18 mg}{100 g}$$

Na enak način sem izračunala vsebnost železa v vseh vzorcih v petih vrstah zelenjave. Rezultati so predstavljeni v spodnjih tabelah (tabele 13, 14, 15, 16, 17).

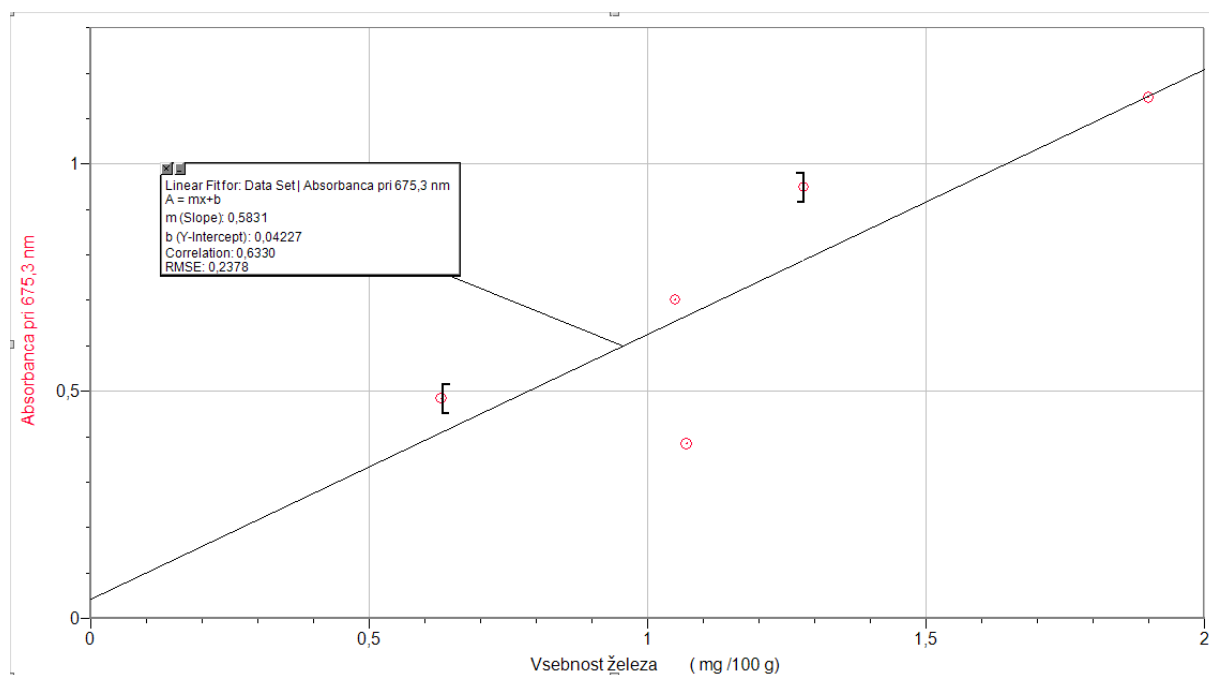
Nato sem pregledala spektre zelenosti ekstraktov zelenjave (grafi 2, 3, 4, 5, 6), določila valovno dolžino v rdečem območju, pri kateri je bila absorbanca najvišja in absorbanco za vsak vzorec odčitala. Rezultati so predstavljeni v spodnjih tabelah (tabele 13, 14, 15, 16, 17).

Za vsako vrsto zelenjave sem nato naredila graf, ki prikazuje povezavo med intenziteto obarvanosti in koncentracijo železa v vzorcih (grafi 8, 9, 10, 11, 12).

PETERŠILJ

Tabela 13: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v peteršilju (vir: lasten)

Vzorec	Absorbanca pri 675,3 nm	Vsebnost železa (mg /100 g)
1	0,484	0,63
2	0,384	1,07
3	0,702	1,05
4	1,146	1,90
5	0,949	1,28



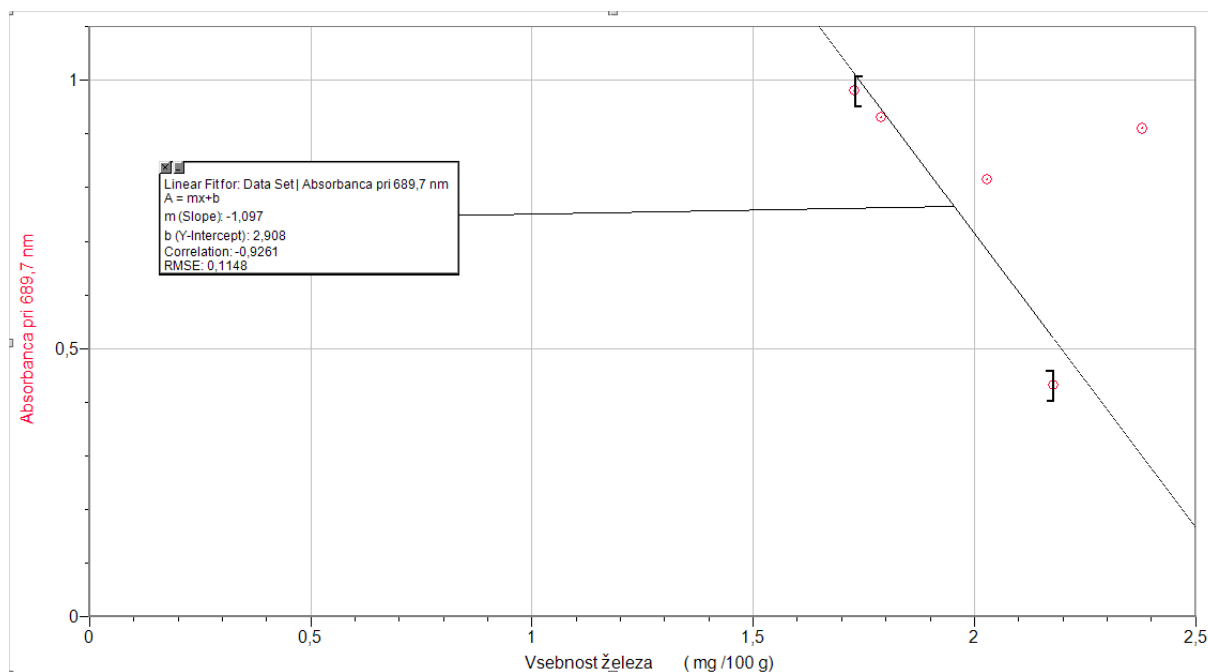
Graf 8: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri peteršilju (vir: lasten)

Iz grafa 8 in tabele 13 je razvidno, da med koncentracijo železa in intenziteto barve pri peteršilju vsekakor obstaja korelacija. Glede na to, da so bili vzorci razporejeni po obarvanosti glede na videz in smo meritve opravljali v šolskem laboratoriju, kar pomeni, da meritve ne morejo biti zelo natančne, je korelacija precej velika, 0,633.

ŠPINAČA

Tabela 14: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v špinaci (vir: lasten)

Vzorec	Absorbanca pri 689,7 nm	Vsebnost železa (mg /100 g)
1	0,431	2,18
2	0,910	2,38
3	0,815	2,03
4	0,930	1,79
5	0,980	1,73



Graf 9: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri špinaci (vir: lasten)

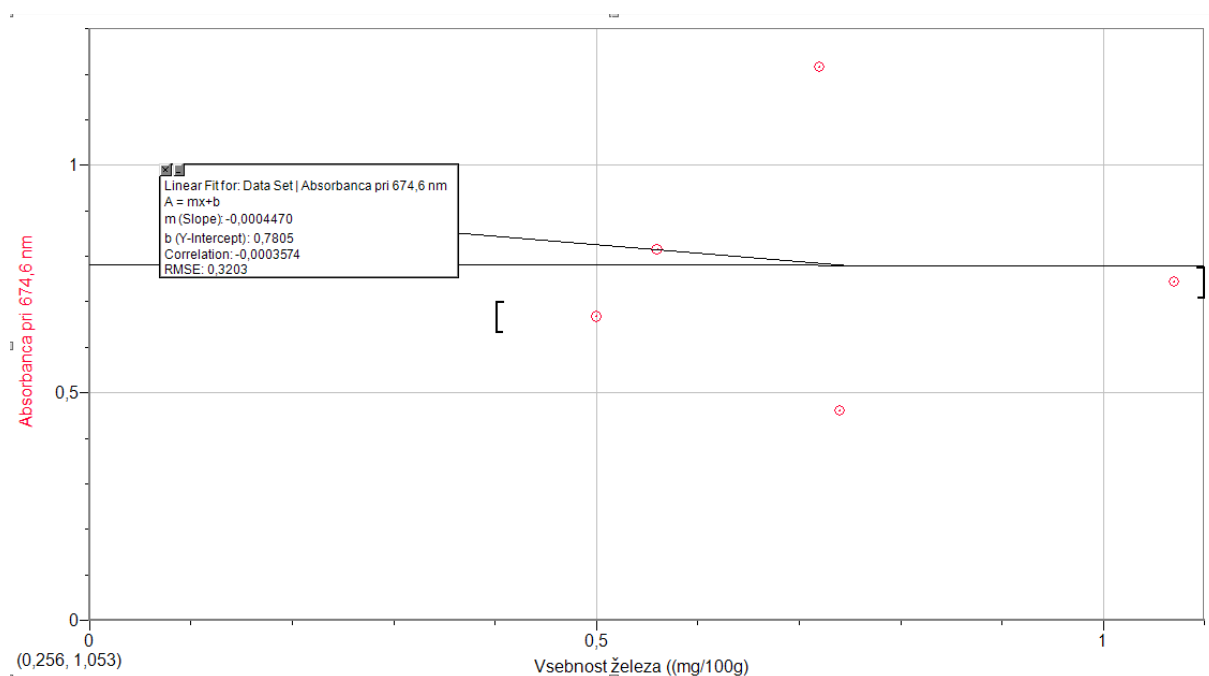
Za špinaco sem pravilno predvidevala, da korelacije ne bo, saj so si bili njeni listi preveč podobni in jih tako nisem mogla dovolj natančno razporediti po barvi. Edini vzorec, ki je odstopal, je bil vzorec 1, ki presenetljivo vsebuje veliko železa kljub svetlejši obarvanosti.

Predvidevam, da je železo v špinači razporejeno precej enakomerno in na barvo špinače sicer vpliva, vendar manjšo intenziteto obarvanosti ekstrakta v vzorcu 1 najverjetneje povzročata dejstvo, da so ga sestavljala stebelca, ki vsebujejo manj klorofila.

BRSTIČNI OHROVT

Tabela 15: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v brstičnem ohrovtu (vir: lasten)

Vzorec	Absorbanca pri 674,6 nm	Vsebnost železa (mg/100g)
1	0,460	0,74
2	0,815	0,56
3	0,667	0,50
4	0,743	1,07
5	1,216	0,72



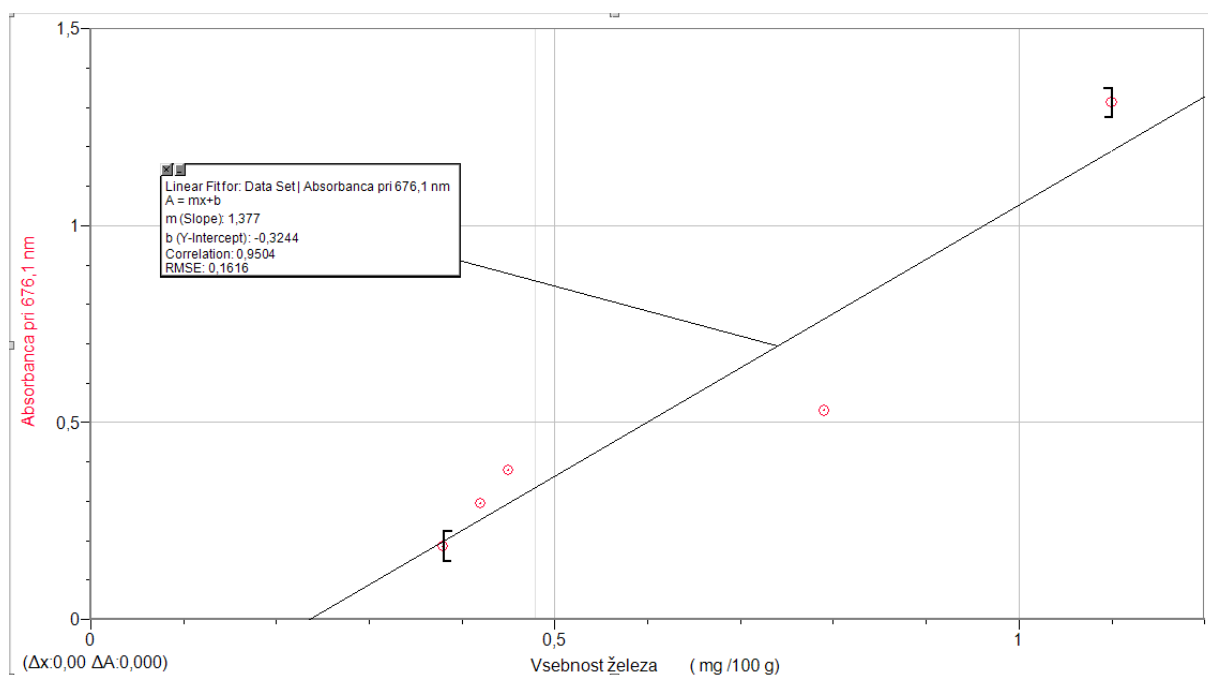
Graf 10: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri brstičnem ohrovtu (vir: lasten)

Pri brstičnem ohrovtu korelacije ni, prav tako pa mi ni uspelo pravilno razporediti vzorcev glede na barvo, kar je razvidno iz meritev spektrov narejenih ekstraktov (graf 4). Ta odstopanja pripisujem svetleje obarvanim delom listov, ki jih nisem odstranila.

BROKOLI

Tabela 16: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v brokoliju (vir: lasten)

Vzorec	Absorbanca pri 676,1 nm	Vsebnost železa (mg/100g)
1	0,186	0,38
2	0,294	0,42
3	0,379	0,45
4	0,530	0,79
5	1,313	1,10



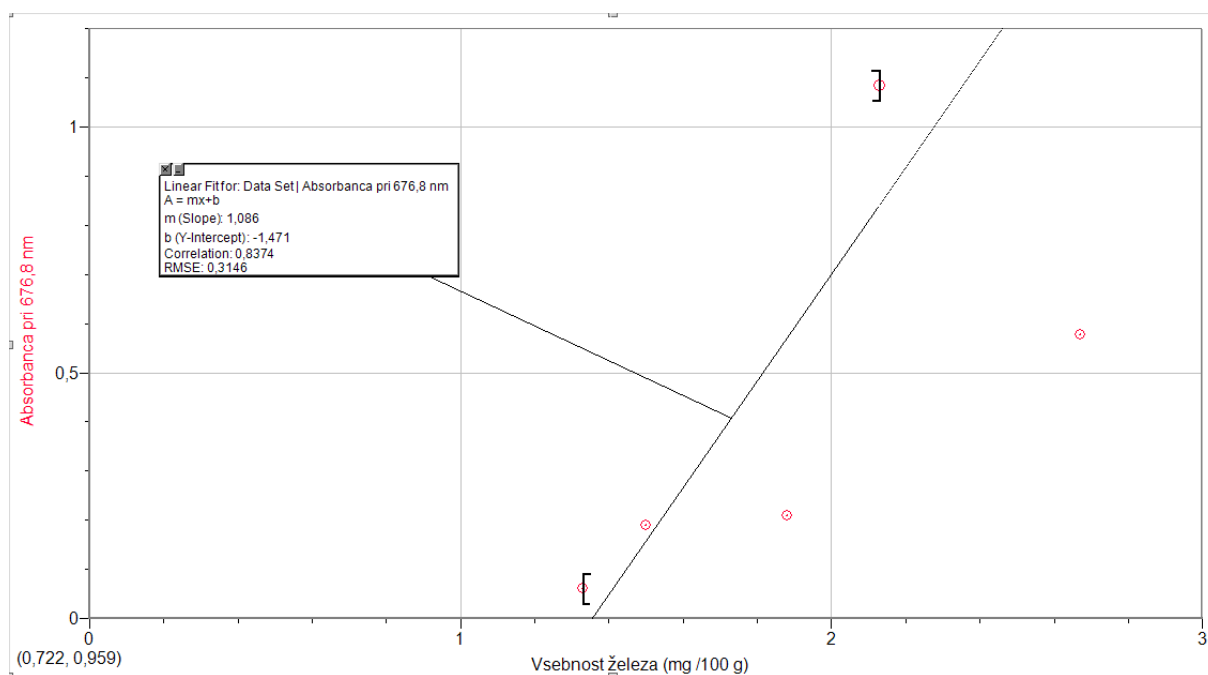
Graf 11: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri brokoliju (vir: lasten)

Vzorci brokolija mi je uspelo razdeliti in izmeriti najbolj natančno, kar je razvidno iz zelo velike korelacije, 0,950. Ta vzorec tako najbolj potrjuje mojo hipotezo.

POR

Tabela 17: Primerjava intenzitete barve in koncentracije železa v poru (vir: lasten)

Vzorec	Absorbanca pri 676,8 nm	Vsebnost železa (mg /100 g)
1	0,061	1,33
2	0,190	1,50
3	0,209	1,88
4	0,578	2,67
5	1,084	2,13



Graf 12: Korelacija med koncentracijo železa in absorbanco pri poru (vir: lasten)

Tudi v vzorcih pora je korelacija med zelenostjo ekstrakta in vsebnostjo železa visoka, 0,837. Moti jo le koncentracija železa v vzorcu 4, ki nekoliko odstopa. Predvidevam, da so to povzročile nečistoče, ki so vsebovale železo, ki so po nesreči zašle v vzorec. Najverjetneje so se primešale, če sem pomotoma uporabila laboratorijsko opremo, ki ni bila popolnoma čista ali pa se je železo primešalo, ko sem vzorce rezala, saj sem uporabljala kovinski nož. Da bi se temu izognila, bi v morebitnih ponovitvah poskusa uporabljala plastične ali keramične nože.

Iz zbranih meritev sem poskušala razbrati tudi korelacijo med zeleno obarvanostjo in vsebnostjo železa med različnimi vrstami zelenjave, ki pa ni zanesljiva. To pripisujem dejstvu, da na zelen videz različnih vrst zelenjave ne vpliva le vsebnost klorofila, ampak tudi vsebnost ostalih barvil, ki se v različnih vrstah zelenjave precej razlikuje.

Spektroskopska metoda za merjenje koncentracije železa v upepeljenih vzorcih, ki jih nato obdelamo s HCl in KSCN, se je izkazala za učinkovito. Dobljeni rezultati so primerljivi s podatki iz literature, vendar so nekoliko nižji. (<http://apjcn.nhri.org.tw/>) (Iron Food Fact Sheet, British Dietetic Association) Domnevam, da je na to vplivala velikost delcev zelenjave, ki smo jih pripravili za upepelitev in morda premalo zdrobljen pepel, kar je povzročilo, da se morda ni raztopil ves prisoten Fe^{3+} . V primeru ponovitve poskusov bi do natančnejših rezultatov prišli, če bi vzorce zelenjave najprej posušili in zmleli in šele nato upepelili.

5. DRUŽBENA ODGOVORNOST

V sodobnem času se je ozaveščenost o pomenu zdrave in uravnotežene prehrane precej povečala. Marsikdo je začel svoji prehrani posvečati več pozornosti, kar vključuje tudi iskanje informacij in nasvetov. Nekateri pri tem postanejo preveč zagnani in si lahko nevede s pretiranimi dietami tudi škodujejo. Zato je pomembno, da nasvete in navodila dobimo iz zanesljivih virov.

Moja raziskava bi v današnji družbi najbolj pomagala predvsem veganom in vegetarijancem ter drugim ljudem, ki so izpostavljeni pomanjkanju železa. Potrdila sem, da nasvet, da jejmo čim več temno zelene zelenjave, velja.

Tako bi tudi podobne raziskave lahko pomagale dokazati kateri nasveti delujejo in so najbolj uresničljivi. Tudi sama si kot športnica želim čim več zanesljivih informacij o zdravi prehrani, ki bi jih strokovnjaki s področja prehrane in medicine predstavili čim bolj poljudno in zanimivo.

6. ZAKLJUČEK

Korelacija med intenziteto obarvanosti in koncentracijo železa v vzorcih se je pokazala v treh vrstah zelenjave od petih, kar je dovolj, da potrdi mojo hipotezo, da temneje zeleno obarvani vzorci iste vrste zelenjave vsebujejo več železa, kot svetleje obarvani vzorci. Predvidevam, da korelacija pri nekaterih vrstah zelenjave ni možna oziroma je majhna, saj železo ni neposredno vezano na klorofil in se zato lahko v enaki koncentraciji nahaja tudi v svetleje obarvanih delih rastline.

Primerjava različnih vrst zelenjave ne da jasne korelacije med zelenostjo in koncentracijo železa, saj na zelen videz različnih vrst zelenjave ne vpliva le vsebnost klorofila, ampak tudi vsebnost ostalih barvil, ki se v različnih vrstah zelenjave precej razlikuje.

Kljub temu menim, da je nasvet, da je jejmo čim več temno zelene zelenjave, koristen.

7. VIRI IN LITERATURA

7.1 Internetni viri:

- Biotehniška fakulteta. *Mineralna prehrana rastlin* (digitalni dokument). Dostopno na naslovu: http://www.bf.uni-lj.si/fileadmin/groups/2711/Gradiva_Vodnik_Predavanja_Bolonja/Vodnik_P_Bolonja_AG-UNI-Fiziologija_rastlin_Minerali-1del-2008-09.pdf [uporabljeno 5.2.2019]
- Carleton University. *Spectrofotometric determination of iron* (digitalni dokument). Dostopno na naslovu: <https://carleton.ca/chemistry/wp-content/uploads/speclab.pdf> [uporabljeno 4.2.2019]
- Narain, R. in Ilango. V. *Analysis of iron content of selected vegetarian food items in Dubai, UAE* (digitalni dokument). (Birla Institute of Technology & Science, Pilani Dubai Campus Dubai International Academic City, Dubai). 2015. Dostopno na naslovu: <http://www.ijset.net/journal/674.pdf> [uporabljeno 4.2.2019]
- Prehrana.si. *Železo* (spletna stran). Dostopno na naslovu: <https://www.prehrana.si/sestavine-zivil/minerali/zelezo> [uporabljeno 4.2.2019]
- Rout, G. R. in Sahoo. S. *Role of iron in plant growth and metabolism* (spletna stran). 2015. Dostopno na naslovu: <http://www.agrsci.jp/ras/article/view/12/25> [uporabljeno 5.2.2019]
- TutorVista.com. *UV visible spectrophotometer* (spletna stran). Dostopno na naslovu: <https://chemistry.tutorvista.com/inorganic-chemistry/uv-visible-spectrophotometer.html> [uporabljeno 6.2.2019]
- NHRI. *Iron* (spletna stran). Dostopno na naslovu: <http://apjcn.nhri.org.tw/server/info/books-phds/books/foodfacts/html/data/data5e.html> [uporabljeno 7.2.2019]
- British Dietetic Association. *Iron Food Fact Sheet* (digitalni dokument). Dostopno na naslovu: https://www.bda.uk.com/foodfacts/iron_food_fact_sheet.pdf [uporabljeno 7.2.2019]

7.2 Knjižni viri:

- Bukovec, N. *Kemija za gimnazije 2*: učbenik za 2. letnik gimnazij. 1. natis. Ljubljana: DZS, 2010. ISBN 978-961-02-0078-9
- Wolfe, D. *Superhrana*: hrana in zdravilo prihodnosti. 1. natis. Brezovica pri Ljubljani: Založba Cangura, 2013. ISBN 978-961-6769-61-7

7.3 Viri slik:

- Slika 1: List solate (vir: lasten)
- Slika 2: Vzorci solate razporejeni po barvi (vir: lasten)
- Slika 3: Vzorci peteršilja razporejeni po barvi (vir: lasten)
- Slika 4: Vzorci brstičnega ohrovta razporejeni po barvi (vir: lasten)
- Slika 5: Vzorci brokolija razporejeni po barvi (vir: lasten)
- Slika 6: Raztopine za umeritveno krivuljo (vir: lasten)