



Hrvatsko biološko društvo
Societas biologorum croatica

BioZnalac

časopis učeničkih istraživanja iz biologije



2025.



Pokrovitelj:



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Biološki odsjek

ISSN 1849-837X

BIOZNALAC



časopis ućenićkih istraživanja iz biologije

Izdavać

Hrvatsko biološko društvo

Rooseveltovo trg 6 , 10000 Zagreb

URL: <http://www.hbd-sbc.hr/>

E-mail: info@hbd-sbc.hr

SOCIETAS BIOLOGORUM CROATICA



Hrvatsko biološko društvo

ISSN 1849-837X

Uredništvo časopisa Bioznalac

Glavni urednik

Mirela Sertić Perić, mirela.sertic.peric@biol.pmf.hr

Operativni urednik

Irena Labak, ilabak@biologija.unios.hr

Recenzenti

Mirela Sertić Perić

7. i 8. razred: Diana Vlahović i Dorotea Vrbanoć Lisac

1. i 2. razred: Zorana Katanić i Marko Šafran

3. i 4. razred: Vlatka Mićetić Stanković i Ivna Štolfa Čamagajevac

Web urednik

Renata Horvat, renata.horvat@biol.pmf.hr

Bioznalac je elektronićki časopis na web stranici HBD-a
i izlazi najmanje jednom godišnje

SADRŽAJ

Bioznanac 2025.

Državno natjecanje iz biologije 2025. Poreč, 6. - 9. travnja 2025.

Članak	Autori	Naslov rada	Razred	Mentor	Naziv škole	Stranice
1	Julija Margeta Lea Ret	Tradicijom do zdrave prehrane	7.	Pavić M.	Osnovna škola Vladimir Nazor, Čepin	1 - 7
2	Marko Mikecin Ena Sić	Utjecaj mikrovalova na brzinu klijanja i rasta klice cikle i rotkvice	7.	Glavaš K.	Osnovna škola Đure Deželića Ivanić-Grad, Ivanić-Grad	7 - 15
3	Magdalena Ljubić Gabrijela Kolarić	Grah (<i>Phaseolus vulgaris</i> , L) pod zračenjem – kako elektromagnetska polja mijenjaju prirodu	7. 8.	Međeral Ozimec P.	Osnovna škola Stjepana Radića Brestovec Orehovički, Brestovec Orehovički	16 - 23
4	Katarina Belačić Hana Nekich	Klice graha – superhrana budućnosti	8.	Glavaš K.	Osnovna škola Đure Deželića Ivanić-Grad, Ivanić-Grad	24 - 31
5	Maja Meštrović	Kreativnost kao alat za očuvanje zdravlja: utjecaj na krvni tlak i puls	8.	Međeral Ozimec P.	Osnovna škola Stjepana Radića Brestovec Orehovički, Brestovec Orehovički	32 - 40
6	Eva Grgić	Utjecaj tjelesne aktivnosti na kratkoročno pamćenje	8.	Majstorović V., Pilipović A.	Osnovna škola Svete Ane u Osijeku, Osijek	41 - 50
7	Nika Grgić	Antimikrobna svojstva algi Jadranskog mora	2.	Medić K.	II. gimnazija, Zagreb	51 - 63
8	Petra Cvitković Klara Tabak	Ispitivanje genotoksičnosti i citotoksičnosti zračenja UV lampi za nokte	2.	Alujević I.	III. gimnazija, Split	64 - 78
9	Ana Crnogaj Lara Funtek	Promjene u reljefu zubne cakline: Utjecaj gaziranih i zaslađenih pića	3.	Vrbanović Lisac D.	V. Gimnazija, Zagreb	79 - 86
10	Fran Fabek	Usporedba utjecaja konvencionalnih i "zelenih" deterdženata na rast i razvoj biljaka	3.	Marceljak Ilić M.	XV. Gimnazija, Zagreb	87 - 100
11	Leonarda Marjanović	Antimikrobno djelovanje srebra	4.	Samardžić M.	Gimnazija „Fran Galović“, Koprivnica	101 - 109
12	Emma Tomić	Utjecaj gorenja plastike na klijavost i rast pšenice te aktivnost gujavica u tlu	8.	Rebrina J.	OŠ „Mladost“, Osijek	110 - 117

Tradicijom do zdrave prehrane

Julija Margeta, 7. razred

Lea Ret, 7. razred

Osnovna škola Vladimir Nazor, Čepin

Mentor: **Monika Pavić**

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi kvalitativna i tehnološka svojstva mesa crnih slavonskih i hibridnih svinja te utvrditi sadržaj i profil najznačajnijih masnih kiselina u mesu ovih svinja. Istraživanje je provedeno na ukupno 20 uzoraka mesa, 10 od crnih slavonskih i 10 od hibridnih svinja. Od kvalitativnih i tehnoloških parametara utvrđeni su pH vrijednost, električna provodljivost, površina najdužeg leđnog mišića (MLD), boja i otpuštanje mesnog soka. U pogledu sadržaja i profila masnih kiselina utvrđeni su udjeli najznačajnijih masnih kiselina iz SFA (engl. Saturated Fatty Acids; zasićene masne kiseline), MUFA (engl. Monounsaturated Fatty Acids; jednostruko nezasićenih masnih kiselina) i PUFA (engl. Polyunsaturated Fatty Acids; višestruko nezasićenih masnih kiselina) skupina, ukupni sadržaj istih te omjeri omega-6 (n-6) i omega-3 (n-3) masnih kiselina. Meso crnih slavonskih svinja imalo je značajno bolja kvalitativna i tehnološka svojstva: više pH vrijednosti, tamniju boju, nižu električnu provodljivost te niže vrijednosti otpuštanja mesnog soka. Utvrđene razlike bile su na razini visoke do vrlo visoke statističke značajnosti. Što se tiče sadržaja i profila masnih kiselina, u mesu crnih slavonskih svinja utvrđeni su niži udjeli zasićenih masnih kiselina (SFA) te značajno viši udjeli jednostruko (MUFA) i višestruko (PUFA) nezasićenih masnih kiselina, a posebno najznačajnijih kao što su oleinska, linolna i linolenska kiselina. Utvrđeni omjer n-6/n-3 bio je statistički značajno niži u mesu crnih slavonskih svinja u odnosu na meso hibridnih svinja. Dobiveni rezultati ukazuju na značajno bolja kvalitativna, tehnološka i nutritivna svojstva mesa crne slavonske svinje u odnosu na meso hibridnih svinja. Konzumiranjem mesa autohtonih pasmina svinja, uzgojenih na tradicionalni način, u značajnoj se mjeri može utjecati na poboljšanje zdravstvenog statusa potrošača te na prevenciju bolesti suvremenog čovjeka.

Ključne riječi: *crna slavonska svinja; masne kiseline MUFA; PUFA n-6/n-3; zdravlje*

UVOD

Posljednjih desetljeća svjedočimo značajnim promjenama u prehrambenim navikama stanovništva. Zbog porasta životnog standarda, ubrzanog načina života te dostupnosti relativno jeftine, industrijski proizvedene i procesuirane hrane, sve više ljudi zanemaruje tradicionalne namirnice i način pripreme hrane. Hrana je postala sredstvo zadovoljenja osjeta gladi pri čemu se zanemaruje njezin zdravstveni učinak na ljudski organizam (Vandello i sur., 2024). Stoga ne čudi da se većina bolesti tzv. „modernog čovjeka“ kao što su bolesti kardiovaskularnog sustava, dijabetes i pretilost, povezuje s vrstom i načinom konzumiranja hrane (Wright i Aronne, 2012). Posebno su značajne promjene kod djece školskog uzrasta koja sve više konzumiraju tzv. „brzu hranu“ i pekarske proizvode, a u kombinaciji sa sjedilačkim načinom života i vremenom provedenim za računalima i mobitelima dolazi do značajnog razvoja pretilosti te se danas smatra da gotovo jedna trećina djece školske dobi u Europskoj uniji ima prekomjernu tjelesnu težinu (WHO European Regional Obesity Report, 2022). Kada se govori o hrani koja izravno utječe na razvoj prekomjerne težine i pretilosti, u prvi plan se stavljaju one namirnice koje u sebi imaju visoki sadržaj masti, tj. sadržaj masnih kiselina i to tzv. zasićenih masnih kiselina (Saturated Fatty Acids – SFA) kao i omjer između jednostruko nezasićenih (Monounsaturated Fatty Acids – MUFA) i višestruko nezasićenih (Polyunsaturated Fatty Acids – PUFA), tzv. omega-6 (n-6) i omega-3 (n-3) masnih kiselina. Veća zastupljenost zasićenih u odnosu na nezasićene masne kiseline u prehrani ljudi te nepovoljan odnos n-6/n-3 masnih kiselina u izravnoj je povezanosti s razvojem gore navedenih bolesti (Subošić i sur., 2024).

Svinjsko meso spada u tu skupinu namirnica bogatih zasićenim masnim kiselinama kao i n-6 nezasićenim masnim kiselinama. Iako svinjetina ima visoku nutritivnu vrijednost, uočena je

povezanost učestale konzumacije svinjskog mesa s pojavom nekih kroničnih bolesti. Svinjsko meso se najviše konzumira širom svijeta, a visoka zastupljenost u prehrani rezultira visokim unosom n-6, a niskim unosom n-3 masnih kiselina čime se povisuje i sadržaj kolesterola u krvi. Međutim, postoji tzv. dobar kolesterol s visokim sadržajem lipoproteina – HDL kolesterol (High Density Cholesterol) i tzv. loš kolesterol s niskim sadržajem lipoproteina – LDL kolesterol (Low Density Cholesterol). HDL kolesterol povoljno utječe na ljudsko zdravlje, a LDL kolesterol može imati štetne posljedice. Nepovoljan (visoki) omjer n-6/n-3 masnih kiselina i visoki sadržaj LDL kolesterola smatraju se glavnim uzročnikom pojave kardiovaskularnih bolesti (Dugan i sur., 2015). Ovi nepovoljni omjeri zabilježeni su u svinjetini koja se dobiva od svinja koje se danas proizvode u hibridnim uzgojima na svinjogojskim farmama i koje se koriste u širokoj potrošnji. Međutim, sadržaj i količina masnih kiselina u svinjskom mesu dijelom su uvjetovane i genetskim čimbenicima te načinom držanja i hranidbe. Postoje pasmine svinja koje u mesu imaju značajno veći udio tzv. poželjnih ili zdravih masnih kiselina i povoljan (niži) omjer n-6/n-3 masnih kiselina, kao i visoki sadržaj HDL kolesterola te se konzumacijom takvog mesa mogu postići poželjni učinci na zdravlje potrošača (Kušec i sur., 2022). Uglavnom se tu radi o tradicionalnim i autohtonim pasminama svinja koje se drže na specifičan način (držanje na otvorenome) i hrane specifičnom hranom (žitarice, ispaša i dr.). Jedna od takvih pasmina je i autohtona hrvatska pasmina – crna slavonska svinja (slika 1).



Slika 1 Crna slavonska svinja (Foto: Autori)

Crna slavonska svinja ubraja se u tzv. prijelazne ili kombinirane pasmine svinja (za proizvodnju mesa i masti). Nastala je u drugoj polovici 19. stoljeća, a postupci oplemenjivanja i poboljšanja ove pasmine provedeni su i početkom 20. stoljeća. Ova pasmina nastala je na pustari Orlovnjak, na imanju grofa Karla Pfeiffera te se zbog toga često u narodu naziva i fajferica. Grof Pfeiffer pokušao je stvoriti svinju koja će biti bolja od tadašnjih pasmina svinja, prije svega u pogledu ranozrelosti, plodnosti te u boljoj mesnatosti. Crna slavonska svinja ubraja se u masno-mesni tip svinje. Odlikuje se čvrstom konstitucijom, dobrom otpornošću i prilagodljivosti ekstenzivnim uvjetima držanja. Plodnost joj se kreće od 6 do 10 prasadi u leglu, a udio mišićnog tkiva u trupu kreće se između 30 i 40 %. U kontroliranim uvjetima smještaja i hranidbe, te uz primjerenu tehnologiju proizvodnje, fajferica prasi i više od 10 prasadi u leglu, a udio mišićnog tkiva u trupu može dosegnuti i 50 %. Jedno od najznačajnijih svojstava ove pasmine je izuzetna kakvoća mišićnog i masnog tkiva koje je pogodno za preradu i proizvodnju tradicionalnih suhomesnatih proizvoda (kulen, šunka, kobasica, slanina, čvarak). Crna slavonska svinja se odlikuje visokim udjelom intramuskularne masti i povoljnim sadržajem masnih kiselina, posebice jednostruko i višestruko nezasićenih (MUFA i PUFA) te povoljnim n-6/n-3 omjerom. Najznačajnije masne kiseline koje utječu na povoljan n-6/n-3 omjer i tzv. „zdravu mast“ kod crne slavonske svinje su palmitinska, stearinska, oleinska, linolna i linolenska kiselina (Kušec i sur., 2022).

Cilj ovog istraživačkog projekta je utvrditi razlike u kvalitativnim i tehnološkim svojstvima svinjskog mesa te količini, sadržaju i omjeru masnih kiselina u mesu dobivenom od crnih slavonskih svinja i

hibridnih svinja uzgojenih na farmi. Hipoteza ovog istraživanja je da će se utvrditi razlika u tehnološkim i kvalitativnim svojstvima svinjskog mesa između ispitivanih skupina na način da će meso crne slavonske svinje imati bolja kvalitativna i tehnološka svojstva u odnosu na meso od hibridnih svinja te izrazito povoljniji sadržaj i profil masnih kiselina kao i povoljniji omjer n-6/n-3 masnih kiselina.

METODE

Istraživanje je provedeno na ukupno 20 uzoraka svinjskog mesa, po 10 uzoraka od crne slavonske svinje – fajferice i 10 uzoraka mesa od hibridnih svinja. Uzorak mesa izuzet je od najdužeg leđnog mišića (*Musculus longissimus dorsi* – MLD) (slika 2).



Slika 2 Uzorci MLD-a od crne slavonske svinje (lijevo) i hibridne svinje (desno) (Foto: Autori)

Uzorci mesa crnih slavonskih svinja u vlasništvu privatnog posjednika s područja Slavonije, hibridnih klaoničkih težina, dobiveni su 24 sata nakon klanja i hlađenja u klaonici, a uzorci mesa hibridnih svinja dobiveni su također 24 sata nakon klanja i hlađenja u klaonici. Svi uzorci su bili u svježem stanju. U školskom laboratoriju utvrđeni su sljedeći parametri kakvoće svinjskog mesa (slika 3): pH vrijednost 24 sata nakon klanja, električna provodljivost mesa, otpuštanje mesnog soka EZ DripLoss metodom, boja mesa te površina presjeka najdužeg leđnog mišića metodom planimetriranja. Od svakog uzorka izuzeto je 100 g mesa i u Laboratoriju za analizu animalnih proizvoda Fakulteta agrobiotehničkih znanosti analiziran je sadržaj i profil masnih kiselina.

pH vrijednost mesa 24 sata nakon klanja izmjerena je digitalnim pH-metrom (Foodcare Meat pH meter, Hanna Instruments Ltd.). Električna provodljivost (EC) utvrđena je pomoću LF Star uređaja. EZ-DripLoss metoda podrazumijeva stavljanje uzorka mesa u kontejnere s poklopcem koji su prethodno vagani. Sami kontejneri sadrže pregrade ispod poklopca kako bi dodirna površina uzorka i kontejnera bila minimalna. Kontejneri se skladište u periodu od 24 sata na temperaturi od 4 do 6°C te se nakon 24 sata uzorak mesa vadi iz kontejnera, posuši s upijajućim papirom i važe. Izračun se provodi oduzimanjem mase kontejnera s mesnim iscjetkom od mase praznog kontejnera i množenjem razlike sa 100. Zatim se taj broj dijeli s razlikom dobivenom oduzimanjem mase kontejnera s mesom i mesnim iscjetkom od mase praznog kontejnera.



Slika 3 Mjerenja kvalitativnih svojstava mesa (Foto: Autori)

Boja mesa (CIE) u MLD-u utvrđena je 24 sata *post mortem* Minolta kolorimetrom (model CR 400, Minolta Camera Co. Ltd., Osaka Japan), pri čemu L* vrijednost predstavlja element crvene boje (vrijednosti od 0-100), a* elemente od zelene do crvene, a b* vrijednost od plave do žute boje. Kao standard upotrijebljena je bijela pločica (L*= 93,30; a*= 0,32; b*= 0,33). Promjer optičke leće bio je 8 mm; osvjetljenje D65, a standardno opažanje 10°. Za određivanje profila masnih kiselina uzorci su pripremljeni na mikrovalnome uređaju MARS 436-GC (CEM Corporation, Matthews, Sjeverna Karolina, SD) primjenom mikrovalova snage 1200 W. Na kraju procesa uzorci su ekstrahirani u pentanu, prebačeni u vijalicu i čuvani u zamrzivaču do analize na plinskome kromatografu. Kromatografska analiza provedena je na plinskome kromatografu SCION 436 (SCION Instruments, Goes, Nizozemska) opremljenom plameno-ionizacijskim detektorom (FID- flame ionization detector) (slika 4).



Slika 4 Plinski kromatograf SCION 436-GC

Za separaciju masnih kiselina korištena je FAMEWAX (Restek Corporation, Bellefonte, Pennsylvania, SAD) kapilarna kolona (30 m x 0,32 mm (unutarnji promjer) x 0,25 µm (debljina filma)). Volumen uzorka za injektiranje bio je 1 µL, a radni uvjeti sljedeći: temperatura injektora 230 °C, temperatura detektora 230 °C, protok plina nosioca (vodik) 2,5 m/min. Temperaturni program pećnice programiran je na sljedeći način – od 50 do 160 °C: 20 °C/min, od 160 do 225 °C: 10 °C/min, uz zadržavanje na 225 °C 9 minuta. Ukupno trajanje analize iznosilo je 21 minutu. Za identifikaciju pojedinačnih masnih kiselina u kromatogramu korištena je standardna smjesa 37 masnih kiselina (Food Industry FAME Mix, Restek Corporation, Bellefonte, Pennsylvania, SAD). Udjeli pojedinačnih masnih kiselina prikazani su kao postotak ukupnih masnih kiselina u lipidima. Nakon očitavanja kromatograma izračunava se udio pojedinih masnih kiselina u ukupnim mastima mesa iz omjera površine relevantnoga pika prema ukupnoj površini pikova svih masnih kiselina.

Statistička obrada dobivenih rezultata provedena je u programu Microsoft Excell for Windows (Microsoft Office 2023). Od parametara su izračunati i prikazani srednja vrijednost ($\bar{x}$) standardna devijacija (s), a značajnost razlika između skupina utvrđena je t-testom.

REZULTATI

U tablici 1 prikazane su utvrđene vrijednosti kvalitativnih svojstava najdužeg leđnog mišića (MLD-a) od crne slavonske svinje i od hibridnih svinja.

Tablica 1 Kvalitativna svojstva najdužeg leđnog mišića (MLD-a)

Svojstva	Najduži leđni mišić - MLD						p
	Crna slavonska svinja			Hibridna svinja			
	M	SD	SE	M	SD	SE	
pH ₂₄	5,89	0,10	0,03	5,51	0,10	0,02	**
EP ₂₄ , mS/cm ²	3,79	0,16	0,03	7,21	0,11	0,03	***
CIE L*	47,36	3,42	2,11	60,91	3,15	0,67	**
CIE a*	13,69	2,78	1,32	19,56	1,88	0,45	*
CIE b*	5,24	1,46	0,65	8,99	1,68	0,43	*
Površina mišića, cm ²	32,38	2,11	0,32	41,17	1,98	0,25	**
EZ ₂₄ drip, %	1,74	0,87	0,17	2,68	1,84	0,39	**
EZ ₄₈ drip, %	3,43	1,70	0,41	8,19	3,65	0,51	***

M – prosječna vrijednost; SD – standardna devijacija; SE – standardna pogreška; p – statistička značajnost: * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001



Iz tablice je vidljivo da su u najdužem leđnom mišiću crnih slavonskih svinja utvrđene statistički visoko značajno ($p < 0,01$) više vrijednosti pH 24 sata nakon klanja u odnosu na iste vrijednosti utvrđene u MLDu hibridnih svinja. Utvrđene vrijednosti ukazuju na vrlo dobru kvalitetu mesa crnih slavonskih svinja (referentna vrijednost pH_{24} za dobru kvalitetu mesa kreće se između 5,60 i 6,00; Hoffman, 1994), dok utvrđena pH vrijednost hibridnih svinja ukazuje na lošija kvalitativna svojstva, tj. na moguću pojavu blijedog, mekanog i vodnjikavog (BMV) mesa koje je nepovoljno svojstvo sa stanovišta konzumacije i prerade (referentna vrijednost pH_{24} za lošiju kvalitetu mesa kreće se između 5,30 i 5,55; Hoffman, 1994). Utvrđene vrijednosti električne provodljivosti također su na tragu rezultata dobivenih za pH vrijednost i ukazuju na vrlo dobru kvalitetu mesa crne slavonske svinje, dok vrijednosti utvrđene za hibridne svinje ponovo upućuju na sumnju o BMV mesu jer prema Hoffmanu (1994), EP vrijednosti iznad 7 mS/cm^2 upućuju na BMV sumnjivo meso. Utvrđene razlike između skupina bile su statistički vrlo visoko ($p < 0,001$) značajne u korist mesa crne slavonske svinje. Utvrđena CIE L* vrijednost boje kod mesa crne slavonske svinje bila je statistički visoko značajno ($p < 0,01$) niža od mesa hibridnih svinja što ukazuje na tamniju boju mesa koja je poželjno kvalitativno svojstvo. Statistički značajne razlike ($p < 0,05$) utvrđene su i za CIE a* i CIE b* vrijednosti, u korist mesa crne slavonske svinje. Površina MLD-a, utvrđena planimetriranjem, bila je statistički vrlo značajno ($p < 0,01$) manja kod crne slavonske svinje u odnosu na površinu MLD-a hibridnih svinja. Utvrđene vrijednosti otpuštanja mesnog soka (EZ Drip) bile su statistički vrlo do vrlo visoko značajno niže ($p < 0,01$ i $p < 0,05$) kod mesa crne slavonske svinje u odnosu na meso hibridnih svinja što također ukazuje na bolja kvalitativna svojstva i manje gubitke (kalo) prilikom čuvanja.

U tablici 2 prikazani su rezultati analize sadržaja i profila masnih kiselina u MLD-u crnih slavonskih i hibridnih svinja. Iz tablice 2 je vidljivo da su u mastima MLD-a crnih slavonskih svinja utvrđen značajno niži ($p < 0,05$) sadržaj palmitinske te visoko značajno ($p < 0,01$) niži sadržaj stearinske kiseline, dviju najvažnijih zasićenih masnih kiselina. S druge strane, utvrđen je visoko značajno ($p < 0,01$) viši udjel nezasićenih masnih kiselina kao što su oleinska (n-9) i linolna (n-6) te vrlo visoko značajno ($p < 0,001$) viši udjel linolenske kiseline (n-3). Ukupni sadržaj zasićenih masnih kiselina (SFA) u mastima MLD-a bio je visoko značajno ($p < 0,01$) niži kod crnih slavonskih svinja u odnosu na hibridne svinje, a udjel ukupnih jednostruko (MUFA) i višestruko (PUFA) nezasićenih masnih kiselina bio je statistički značajno ($p < 0,05$) viši kod crnih slavonskih u odnosu na hibridne svinje.

Tablica 2 Sadržaj i profil masnih kiselina u najdužem leđnom mišiću (MLD-u) crnih slavonskih i hibridnih svinja (g/100 g)

Svojstva	Najduži leđni mišić - MLD						p
	Crna slavonska svinja			Hibridna svinja			
	M	SD	SE	M	SD	SE	
C16:0 (palmitinska kiselina)	21,44	1,19	0,13	25,48	2,21	0,19	*
C18:0 (stearinska kiselina)	7,22	0,68	0,03	10,35	0,15	0,01	**
C18:1 n-9 (oleinska kiselina)	54,82	2,14	2,41	46,38	4,49	0,22	**
C18:1 n-6 (linolna kiselina)	4,08	0,17	0,12	2,54	0,09	0,08	**
C18:3 n-3 (linolenska kiselina)	0,31	0,03	0,01	0,16	0,02	0,01	***
Ukupno SFA	34,53	1,96	1,87	49,15	2,14	0,04	**
Ukupno MUFA	54,14	3,57	4,56	41,36	2,36	0,05	*
Ukupno PUFA	11,33	1,11	0,25	9,59	1,13	0,01	*
Ukupno n-6	9,21	0,31	0,16	7,67	0,18	0,13	*
Ukupno n-3	1,24	0,08	0,02	0,97	0,17	0,01	*
n-6/n-3	5,48	6,56	0,24	8,16	1,14	0,21	**

M – prosječna vrijednost; SD – standardna devijacija; SE – standardna pogreška; P – statistička značajnost: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Statistički značajne razlike između ispitivanih svinja utvrđene su i za ukupni sadržaj n-6 i n-3 masnih kiselina gdje je vidljivo da su svinje crne slavonske pasmine u mastima MLD-a imale značajno viši ($p < 0,05$) udjel ovih masnih kiselina u odnosu na hibridne svinje. I konačno, omjer n-6/n-3 bio je statistički visoko značajno niži ($p < 0,01$) u mesu svinja crne slavonske pasmine u odnosu na meso hibridnih svinja.



RASPRAVA

Dobiveni rezultati istraživanja ukazuju da meso crne slavonske svinje ima puno bolja kvalitativna svojstva od mesa hibridnih svinja. Izmjerene pH vrijednosti pokazuju da je meso hibridnih svinja sumnjivo na blijedo, mekano i vodnjikavo meso dok se za meso crnih slavonskih svinja može reći da je izmjerena pH vrijednost u granicama koje definiraju meso visoke kakvoće. Do sličnih rezultata u svojim istraživanjima došli su Senčić i sur. (2011) koji navode da su u mesu svinja crne slavonske pasmine utvrđene značajno bolje pH vrijednosti i odnosu na meso svinja pasmine landras. Značajno tamnija boja mesa, kao jedan od ključnih kriterija poboljšane kvalitete mesa, a koja je utvrđena kod uzoraka crne slavonske svinje povezuje se s načinom držanja na otvorenome. Butko i sur. (2007) navode da ekstenzivan način držanja crnih slavonskih svinja utječe na tamniju boju mesa zbog veće prokrvljenosti mišića tijekom konstantnog kretanja svinja na pašnjačkim površinama. Isti razlog, ali kada je u pitanju električna provodljivost (EP) kao kriterije kvalitete mesa, navode Kušec i sur. (2022), navodeći da meso crnih slavonskih svinja ima značajno niže vrijednosti električne provodljivosti u odnosu na hibridne svinje i navode da svaka EP vrijednost koja je iznad 7 mS/cm^2 ukazuje na meso sumnjivo na blijedo, mekano i vodnjikavo (BMV). Manja površina presjeka MLD-a, utvrđena planimetriranjem, može se povezati s pasminskim tipom jer crna slavonska svinja spada u skupinu kombiniranih pasmina (mesnomasni tip), za razliku od konvencionalnih hibridnih svinja koje su selekcionirane na visoki udjel mišićnog tkiva u trupu te imaju i veće mesne partije (Wilkinson i sur., 2013). Otpuštanje mesnog soka također je povezano s načinom držanja te pasminskim tipom, a značajno niže vrijednosti otpuštanja mesnog soka kod mesa crnih slavonskih svinja u svojim istraživanjima utvrdili su i Gvozdanović i sur. (2019). Autori navode da su način držanja, hranidba, pasminski tip i dob pri klanju najznačajniji čimbenici koji definiraju kvalitetno i zrelo svinjsko meso.

Što se tiče utvrđenog sadržaja i profila masnih kiselina u uzorcima MLD-a, iz rezultata je jasno vidljivo da se u mesu crne slavonske svinje nalazi povoljan i poželjan sadržaj i profil najvažnijih masnih kiselina. Sadržaj zasićenih masnih kiselina, palmitinske i stearinske, značajno je niži u mesu crnih slavonskih nego u mesu hibridnih svinja. Ayuso i sur. (2020) navode da se u mesu autohtonih iberijskih svinja također nalazi značajno niži sadržaj stearinske i palmitinske kiseline i povezuju to s pasminskim tipom te specifičnim načinom držanja iberijskih svinja – tzv. Montanera sustav na otvorenome i hranidba žirom plutnjakom. Autori navode da se kod većine autohtonih pasmina koje pripadaju mesno-masnom tipu može zamijetiti ova pojava te da meso ovih svinja ima značajne nutritivne prednosti u odnosu na meso hibridnih svinja koje je bogato zasićenim masnim kiselinama. Latin i sur. (2022) navode da je najzastupljenija SFA kiselina u mastima crne slavonske svinje palmitinska kiselina (C16: 0) te da genotip ima značajan učinak na sastav SFA u mastima crne slavonske svinje. Značajno viši udjeli jednostruko i višestruko nezasićenih masnih kiselina, utvrđeni u mesu crne slavonske svinje, u odnosu na meso hibridnih svinja ukazuju na poboljšanu nutritivnu vrijednost, što posredno ima utjecaja i na zdravstvenu dobrobit prilikom konzumacije ovakvog mesa. Zamora-Rojas i sur. (2013) utvrdili su značajno više vrijednosti MUFA i PUFA u mesu iberijskih svinja držanih u Dehesa i Montanera sustavu u usporedbi s mesom svinja pasmine durok i landras. Autori također navode da su genotip, način držanja i hranidba ključni čimbenici u dizajniranju, sa zdravstvenog i nutritivnog stajališta, povoljnog sadržaja i profila MUFA i PUFA u mesu svinja, a poseban značaj u tome imaju oleinska i linolenska kiselina. Latin i sur. (2022) navode da je oleinska kiselina najdominantnija masna kiselina iz MUFA skupine u mastima crne slavonske svinje, a linolna iz skupine PUFA. Što se tiče omjera n-6/n-3, utvrđene su značajno niže vrijednosti u mesu crnih slavonskih svinja u odnosu na meso hibridnih svinja, a dobiveni omjer vrlo je blizu preporučenim vrijednostima međunarodne zdravstvene organizacije koja smatra da je n-6/n-3 koji je manji od 4 najpovoljniji omjer ovih skupina aminokiselina (utvrđen u ekstra djevičanskom maslinovom ulju) kada se govori o pozitivnim učincima na zdravlje čovjeka (WHO European Regional Obesity Report, 2022). Fanalli i sur. (2022) navode da je kod većine hibridnih pasmina svinja omjer n-6/n-3 u rasponu između



7,2 i 12,6 te navode da postoje hranidbene strategije koje mogu djelomično utjecati na smanjenje tog omjera (dodavanje određenih nutrijenata bogatih MUFA i PUFA), međutim, kako dalje navode, značajnije poboljšanje omjera n-6/n-3 redovito je popraćeno s pogoršanjem kvalitativnih i tehnoloških svojstava svinjetine.

ZAKLJUČCI

Na temelju svega iznesenog može se zaključiti:

- Meso crne slavonske svinje ima značajno bolja kvalitativna i tehnološka svojstva u usporedbi s mesom hibridnih svinja;
- Rezultat je to genetskih čimbenika i načina držanja na otvorenom prostoru te specifične hranidbe temeljene na žitaricama i ispaši;
- Meso crnih slavonskih svinja ima vrlo povoljan sadržaj i profil istih te da konzumiranje mesa crne slavonske svinje, sukladno preporukama WHO o pozitivnom učinku nezasićenih masnih kiselina, može utjecati na poboljšanje zdravstvenog statusa potrošača i prevenciju od bolesti nastalih kao posljedica suvremenog načina života i prehrane.

LITERATURA

- Ayuso D., Gonzales A., Pena F. 2020. Effect of fattening period length on intramuscular and subcutaneous fatty acid profiles in Iberian pigs finished in the Montanera sustainable system. *Sustainability* 12(19): 7937.
- Butko D., Senčić Đ., Antunović Z., Šperanda M., Steiner Z. 2007. Pork carcass composition and the meat quality of the Black Slavonian Pig - the endangered breeds in the indoor and outdoor keeping system. *Agriculture* 13(1): 167–171.
- Dugan M.E.R., Vahmani P., Turner T.D., Mapiye C., Juarez M., Prieto N., Beaulieu A.D., Zijlstra R.T., Patience J.F., Aalhus J.L. 2015. Pork as a source of Omega-3 (n-3) fatty acids. *Journal of Clinical Medicine* : 1999–2011.
- Fanalli S.L., da Silva B.P.M., Petry B., Santana M.H.A., Polizel H.G.H., Antunes R.C., de Almeida V.V., Moreira G.C.M., Luchiari Filho A., Coutinho L.L., Balieiro J.C.C., Reecy J.M., Koltes J., Koltes D., Cesar A.S.M. 2022. Dietary fatty acids applied to pig production and their relation to the biological processes: a review. *Livestock Science* 265: 105092.
- Gvozdanović K., Kundid J., Margeta V., Galović D., Margeta P., Radišić Ž. 2019. Utjecaj genotipa na svojstva polovica i kvalitetu mesa tovljenika crnih slavonskih svinja i njihovih križanaca s durom uzgajanih u ekstenzivnom sustavu. *Stočarstvo* 73(1-2): 3–10.
- Hofmann K. 1994. What is quality? Definition, measurement and evaluation of meat quality. *Meat Focus International* 3(2): 73–82.
- Kušec G., Komlenić M., Gvozdanović K., Sili V., Krvavica M., Radišić Ž., Kušec I.D. 2022. Carcass composition and physicochemical characteristics of meat from pork chains based on native and hybrid pigs. *Processes* 10: 370.
- Latin K., Mastanjević K., Raguž N., Bulaić M., Lužaić R., Heffer M., Lukić B. 2022. Differences in fatty acid profile and physical-chemical composition of Slavenska slanina—dry cured smoked bacon produced from Black Slavonian Pig and modern pigs. *Animals* 12(7): 924.
- Senčić Đ., Samac D., Antunović Z. 2011. Utjecaj proizvodnog sustava na fizikalno-kemijska i senzorska svojstva mesa crnih slavonskih svinja. *Meso* 13(1): 32–35.
- Subošić B., Kotur-Stevuljević J., Bogavac-Stanojević N., Zdravković V., Ješić M., Kovačević S., Đuričić I. 2024. Circulating fatty acids associate with metabolic changes in adolescents living with obesity. *Biomedicine* 12(4): 883.
- Vandello J.A., Bosson J.K., Caswell T.A. 2024. Healthful eating as a manhood threat. *Journal of Men's Health* 20(1): 42–56.
- WHO European Regional Obesity Report. 2022. <https://news.un.org/en/story/2023/05/1136547>, pristupljeno 20.12.2024.
- Wilkinson S., Lu Z.H., Megens H.J., Archibald A.L., Haley C., Jackson I.J., Groenen M.A.M., Crooijmans R.P.M.A., Ogden R., Wiener P. 2013. Signatures of diversifying selection in European pig breeds. *PLOS Genetics* 9(4): e1003453.
- Wright S.M., Aronne L.J. 2012. Causes of obesity. *Abdominal Imaging* 37: 730–732.
- Zamora-Rojas E., Garrido-Varo A., De Pedro-Sanz E., Guerrero-Ginel J.E., Pérez-Marín D. 2013. Prediction of fatty acids content in pig adipose tissue by near infrared spectroscopy: at-line versus insitu analysis. *Meat Science* 95: 503–511.

Utjecaj mikrovalova na brzinu klijanja i rasta klice cikle i rotkvice

Marko Mikecin, 7. razred

Ena Sić, 7. razred

Osnovna škola Đure Deželića Ivanić-Grad, Ivanić-Grad

Mentor: Kaja Glavaš

SAŽETAK

Elektromagnetsko zračenje obuhvaća širok spektar elektromagnetskih valova. Mikrovalovi imaju valnu duljinu 1 mm do 1 m. Nedugo nakon otkrića mikrovalova počela je i njihova praktična primjena. Danas se mikrovalovi koriste u mikrovalnim pećnicama, mobilnoj telefoniji (GSM, WLAN, Bluetooth), astronomiji, komunikacijskim satelitima i radarima. Frekvencije mikrovalova slične su frekvencijama kojima titraju atomi i molekule u tvarima. Upotrebljavaju se pri proučavanju atomske i molekularne strukture tvari te za mjerenje svojstva tvari. Ako se u prostoru gdje prolazi mikroval nađe elektrizirana čestica, ona će se pokrenuti pod djelovanjem mikrovala na račun njegove energije, a val će oslabiti za toliko izgubljene energije. Energija koju mikroval posjeduje može u biološkome tkivu pokrenuti slobodne elektrizirane i polarizirane čestice, ali ne može sama izvršiti ionizaciju niti razbiti molekule i tako promijeniti kemijski sastav sredine kroz koju prolazi. Zbog toga se mikrovalovi svrstavaju u neionizirajuće elektromagnetsko zračenje. Cilj ovog istraživanja jest utvrditi kako mikrovalovi utječu na brzinu klijanja sjemena i rast klice cikle i rotkvice. U istraživanju je sjeme izloženo mikrovalnom zračenju 15 s, 30 s, 45 s, 60 s i 90 s te su rezultati uspoređeni s kontrolnom skupinom koja nije bila izložena mikrovalnom zračenju. Istraživanje je provedeno pod kontroliranim uvjetima temperature, vode i svjetlosti. Sjemenke su nakon zračenja stavljene u vrećice s patentnim zatvaračem (na navlaženi papirnati ručnik) i odložene na tamno mjesto. Promjene u brzini klijanja su praćene svakodnevno te se nakon pojave klica počelo s mjerenjem duljine klica. Zaključeno je da sjeme cikle i rotkvice koje je bilo izloženo mikrovalnom zračenju 15 s klija brže od sjemena koje nije bilo izloženo zračenju, izloženost zračenju u trajanju 30 s usporava klijanje, dok se klijavost znatno smanjuje ako je sjeme izloženo zračenju 45 s. Kod duže izloženost mikrovalnom zračenju (60 s i 90 s) sjeme cikle i rotkvice uopće nije proklijalo.

Ključne riječi: sjeme; mikrovalno zračenje; tama; klijanje

UVOD

Povratkom povrća u centar pažnje često se spominju nove supernamirnice koje imaju brojne prednosti za zdravlje. Za svoje istraživanje odabrali smo ciklu i rotkvicu zbog njihove crvene boje. Poznato je da crveno povrće poboljšava rad srca, snižava kolesterol, usporava starenje, ima antitumorska svojstva i značajnu ulogu u snižavanju krvnog tlaka (Lesinger, 2003). Upravo želja da saznamo više o crvenom korjenastom povrću te da usporimo starenje organizma konzumiranjem crvenog povrća tijekom cijele godine, bila je pokretač za naše istraživanje. Ovim istraživanjem željeli smo saznati možemo li korištenjem mikrovalnog zračenja ubrzati klijanje sjemena cikle i rotkvice kako bismo skratili vrijeme potrebno za rast ovog korjenastog povrća. Klijanje je fiziološki proces koji započinje osiguravanjem povoljnih uvjeta okoline, prvenstveno vlage i topline, a može se podijeliti u četiri faze (Benko, 2024): 1) upijanje vode i bubrenje sjemena, 2) stvaranje ili aktiviranje enzima koji povećavaju aktivnost metabolizma, 3) izduživanje stanica klicinog korijenka i probijanje korijenka kroz sjemenu lupinu i 4) nastavak rasta klice i klijanca.

Embrio unutar sjemenke je strukturalno i fiziološki pripremljen za stvaranje nove biljke te je opskrbljen rezervama hranjivih tvari koje podržavaju rast klice do pojave prvih listova i prelaska na autotrofni način prehrane. Klijavost sjemena ovisi o brojnim čimbenicima koje dijelimo na (Kuzmić, 2024) abiotičke (vlaga, temperatura, svjetlost, tlo), biotičke (veličina i tip sjemena, starost sjemena, porijeklo sjemena) i antropološke (berba, dorada, skladištenje, predstjetveni tretmani). Sjeme će proklijati samo



ako su zadovoljeni svi okolišni uvjeti uključujući odgovarajuću količinu vode, odgovarajući raspon temperatura i prisustvo ili odsustvo svjetlosti, ovisno o vrsti biljke. Do tog trenutka sjeme ostaje u stanju mirovanja (Bewley, 1997). Jedan od najvažnijih čimbenika za klijanje jest voda jer proces klijanja počinje unosom vode u suho sjeme i završava pojavom klice. Upijanje vode izaziva bubrenje sjemena i povećava aktivnost hormona i enzima te zbog toga dolazi do sinteze proteina i razgradnje škroba u jednostavne šećere koji su neophodni za rast i razvoj klice. Klijanje sjemena niske kvalitete često je sporije što čini klice osjetljivijima na nepovoljne klimatske uvjete smanjujući ukupnu klijavost i uzrokujući nepravilan rast klica. Zbog toga se provode brojna istraživanja s ciljem ubrzavanja klijanja i povećanja tolerancije sjemena na nepovoljne uvjete tijekom klijanja. Postoje različiti predstavljeni tretmani koji mogu ubrzati proces klijanja sjemena. Ti tretmani potiču raniju i bržu aktivaciju enzima, mobilizaciju uskladištenih hranjivih tvari i transport hidroliziranih spojeva do embrija te replikaciju DNA (Grzesik i Janas, 2014).

Tijekom prošlog stoljeća istraživao je utjecaj elektromagnetskog zračenja na različite biološke i životne procese. Studije o elektromagnetskim zračenjima uključivale su različite raspone frekvencija pa tako i mikrovalnu i radiofrekvenciju. Radiofrekvencijsko zračenje je neionizirajuće elektromagnetsko zračenje koje djeluje kroz apsorpciju na molekularnoj razini. Identifikacija, evaluacija i procjena utjecaja mikrovalova i radiofrekvencije je složena i kontroverzna zbog nepostojanja jasnih dokaza o utjecaju i interakciji mikrovalova i radiofrekvencije sa biosustavom. Sa stajališta biofizike i inženjerskih znanosti mikrovalovi nemaju nikakav biološki utjecaj, nego samo potiču zagrijavanje materijala (Banik, 2003). Radio frekvencija (RF) se odnosi na opseg elektromagnetskih frekvencija koje se koriste u bežičnim komunikacijskim sustavima i pokriva širok raspon frekvencija, obično od 3 kHz do 300 GHz. Radiofrekvencijske signale karakterizira sposobnost da putuju na velike udaljenosti i prolaze kroz prepreke što ih čini idealnima za komunikacijske sustave. Mikrovalovi su podskup radio frekvencija u rasponu od 300 MHz do 300 GHz i imaju valnu duljinu između 1 mm i 1 m. Jedna od najpoznatijih uporaba mikrovalova je u mikrovalnim pećnicama koje se svakodnevno upotrebljavaju u kućanstvima diljem svijeta. Osim što se u kućanstvima koriste za pripremanje hrane, koriste se i za zagrijavanje u industrijske i medicinske svrhe. Radni prostor mikrovalne pećnice obložen je metalnim zidovima visoke provodnosti te omogućava da se energija mikrovalova, nakon jedne ili više refleksija od zidova utroši na zagrijavanje hrane. Osim toga, metalni zidovi sprečavaju izlazak mikrovalova iz pećnice kako oni ne bi ugrozili korisnika (Puharić, 2016).

Zanimanje za učinke visokofrekventnih elektromagnetskih valova na biološke materijale potječe još od kraja XIX. stoljeća, dok je zanimanje za utjecaj visokofrekventnih valova na biljni materijal počelo 1920-ih. Učinci mikrovalnog zračenja ovise o učestalosti i duljini trajanja zračenja. Kraća izloženost mikrovalovima ima dobar učinak na klijavost sjemena, dok duža izloženost smanjuje rast biljke (Fisayomi i sur., 2021). Mnogi raniji pokusi na biljnom materijalu bili su usredotočeni na utjecaj radiofrekvencija na sjeme. U mnogim slučajevima kratka izloženost zračenju rezultirala je povećanom klijavostu i snagom klijanca u nastajanju, dok bi dugo izlaganje obično rezultiralo propadanjem sjemena (Chen i Wang, 2004). Brodie i sur. (2011) opisali su istraživanje u kojem je uočeno da izlaganje elektromagnetskom polju frekvencija 750 kHz i 3 MHz nije uzrokovalo oštećenja sjemenki pšenice čak niti nakon 80 minuta zračenja, dok je izloženost elektromagnetskim poljima od 5 MHz smanjila klijavost na 54 % u usporedbi s kontrolnim uzorcima čija je klijavost bila 88,6 %. U većini objavljenih istraživanja tretman mikrovalovima korišten je za dezinfekciju sjemena prije sjetve. Mnogi istraživači uspješno su



koristili tretman elektromagnetskim zračenjem iz područja radiovalnog (10 – 40 MHz) i mikrovalnog dometa (2,45 GHz) na sjemenu gorušice, pšenice, soje, graška i riže nastojeći ukloniti mikroorganizme prije skladištenja sjemena. Amirnia (2014) opisuje istraživanje u kojem je mikrovalnim zračenjem (2,45 GHz) tretirano sjeme soje s ciljem poboljšanja raspodjele triglicerida u ovojnici sjemena. Svrha istraživanja bila je procijeniti učinke mikrovalnog zračenja na klijavost i rast klijanca sjemena soje. Abu-Elsaoud (2015) otkrio je da mikrovalno zračenje utječe na rast, razvoj i klijanje sjemena pšenice. Mikrovalovi niskog intenziteta nemaju veći utjecaj na rast i razvoj biljaka, dok zračenje mikrovalovima većeg intenziteta smanjuje i usporava klijanje sjemena. U radu objavljenom 2015. godine u časopisu *Bioznalac* ispitivan je utjecaj zalijevanja vodom koja je bila izložena mikrovalnom zračenju na rast i razvoj biljaka. Rezultati su pokazali da zalijevanje sjemenki takvom vodom usporava i smanjuje klijavost te negativno utječe na rast i razvoj mladih biljaka (Mandić i Franjević, 2015).

Cikla (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) je dvogodišnja biljka koja u prvoj godini stvara vegetativne organe: korijen, stabljiku i listove, a u drugoj generativne organe: cvijet, plod i sjeme. Kao hrana i lijek cikla se koristi više od dvije tisuće godina. U povijesti bila je poznata kao lijek protiv malarije, koristila se kao lijek za snižavanje tjelesne temperature, prehlade i gripe te kao sredstvo za regulaciju krvnog tlaka. U svom sastavu sadrži vitamine te brojne makro i mikroelemente. Često ju nazivaju biljkom „vitalnosti“: bogata je folatima, željezom, magnezijem, vitaminom C i kalijem. Istraživanja pokazuju da svježi sok od cikle ima pozitivan učinak na bolji protok krvi u mozgu, poboljšava prijenos signala u živčanim stanicama i rad mozga. Prema obliku može biti okrugla i cilindrična. Pripada biljkama dugog dana – svjetlost utječe na prinos i na kvalitetu korijena cikle. U prvim fazama razvoja cikla ima velike zahtjeve za vlagom – da bi sjeme klijalo treba upiti vode u količini 100 – 170 % od vlastite mase (Jurišić, 2023).

Rotkvica (*Raphanus sativus* L.) je jednogodišnja biljka, a smatraju je i drevnom biljkom jer se uzgaja više od 3000 godina. Za vrijeme starih Rimljana služila je kao sredstvo plaćanja, dok su je stari Grci prinosili kao žrtvu bogovima. Dugo se koristila u tradicionalnoj kineskoj medicini te je bila važan dio liječenja u Egiptu i staroj Grčkoj. Rotkvica ima odlična antigljivična i antibakterijska svojstva. Pomaže ljudima koji se bore s astmom i tegobama dišnih puteva. Idealna je u borbi protiv žutice jer vraća razine bilirubina na normalnu razinu te pomaže u regulaciji rada mokraćnog sustava. Zbog prisutnosti antocijana posjeduje i antitumorska svojstva (kod raka debelog crijeva, želuca, bubrega i grla). Važna je i za zdravlje kože jer pomaže učinkovitosti enzima koji sudjeluju u proizvodnji kolagena. Lišće rotkvice bogato je željezom i idealno je za podizanje razine željeza kod osoba koje pate od anemije. Sije se i uzgaja u hladnijem razdoblju godine - proljeće i jesen (Babić, 2023).

Cilj ovog istraživanja jest utvrditi kako mikrovalovi utječu na brzinu klijanja sjemena i rast klice cikle i rotkvice. Pretpostavke su da će sjeme koje je izloženo mikrovalnom zračenju 15 s ili 30 s klijati brže od sjemena koje nije izloženo mikrovalnom zračenju te da sjeme koje je izloženo mikrovalnom zračenju 45 s ili duže neće proklijati i propast će.

METODE

Istraživanje je provedeno u prosincu 2024. i siječnju 2025. godine. U istraživanju su praćene promjene varijabli u kontroliranim uvjetima – zavisne varijable: brzina klijanja sjemena i duljina klice; nezavisne varijable: sjeme cikle i rotkvice i vrijeme izloženosti mikrovalnom zračenju; kontrolirani uvjeti: voda, temperatura i svjetlost.

Korišteni su sljedeći materijali: sjeme cikle i rotkvice (proizvođač: Green Garden, 6 x 10 sjemenki za obje vrste), mikrovalna pećnica (Panasonic - snaga 700 W), papirnati ručnici, voodootporni marker, vrećice s patentnim zatvaračem (12 komada), voda, ravnalo, mobitel (za fotografiranje), dnevnik za vođenje bilješki i šprica od 20 mL (za mjerenje volumena vode).

U svaku od 12 pripremljenih vrećica stavljen je bijeli papirnati ručnik (presavijen dva puta) tako da leži ravno te je dodano 25 mL vode (papirnati ručnik je ravnomjerno vlažan, ali ne mokar). Vrećice s patentnim zatvaračima označene su voodootpornim markerom prema slijedećem rasporedu. U kontrolnu vrećicu (K-cikla-0) stavljeno je 10 sjemenki cikle. Vrećica je zatvorena i pohranjena u ladicu stola. Deset sjemenki cikle položeno je na papirnati ručnik i izloženo mikrovalnom zračenju u trajanju od 15, 30, 45, 60 i 90 sekundi. Nakon izlaganja, sjemenke su stavljene u odgovarajuće, prethodno označene vrećice (slika 1):

- ☞ (MW-cikla-15): sjemenke izložene mikrovalnom zračenju 15 s
- ☞ (MW-cikla-30): sjemenke izložene mikrovalnom zračenju 30 s
- ☞ (MW-cikla-45): sjemenke izložene mikrovalnom zračenju 45 s
- ☞ (MW-cikla-60): sjemenke izložene mikrovalnom zračenju 60 s
- ☞ (MW-cikla-90): sjemenke izložene mikrovalnom zračenju 90 s

Sve vrećice su zatvorene i pohranjene u ladicu stola. Postupak je zatim ponovljen sa sjemenkama rotkvice.



Slika 1 Vrećice sa pripadajućim sjemenom cikle (Autor: M. Mikecin)

Vrećice sa sjemenom promatrane su svakodnevno tijekom 10 dana te je praćen početak klijanja sjemena i rast klice. Promjene su bilježene u dnevnik i fotografirane kamerom mobitela. Rast klice mjeren je pomoću ravnala te je zbog nejednolikog rasta izračunata prosječna duljina klice (za svaki dan) prema formuli za aritmetičku sredinu:

$$D_{(\text{prosječna})} = (D_1 + D_2 + \dots + D_n)/n$$

$D_{(\text{prosječna})}$ - prosječna duljina klice
 $D_1, D_2, \dots, D_n$ - duljine pojedinih klica
 n – ukupan broj klica

Uspoređeno je vrijeme potrebno za klijanje sjemena cikle s vremenom potrebnim za klijanje sjemena rotkvice te izveden zaključak o vremenu potrebnom za klijanje navedenih vrsta sjemena.

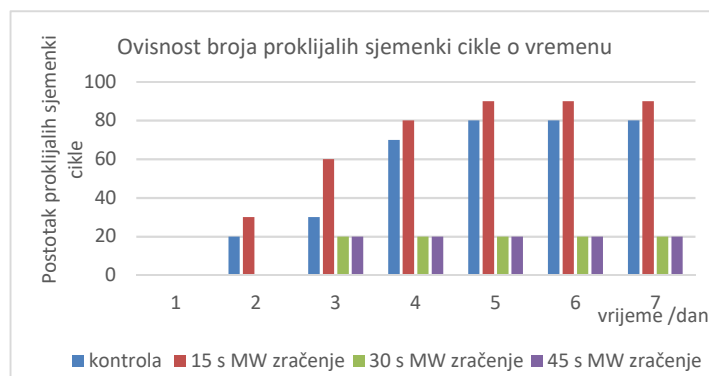
Klijavost sjemena za svaku od 12 vrećica sa sjemenom cikla i rotkvice izračunata je prema formuli:

$$\text{Klijavost sjemena} = (\text{broj proklijalih sjemenki} / \text{ukupan broj sjemenki}) \times 100 \%$$

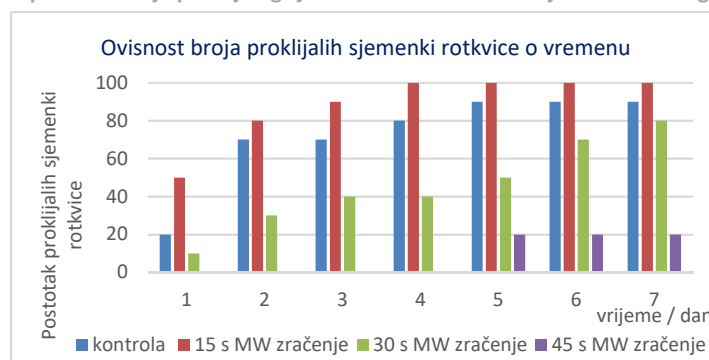
REZULTATI

Uočeno je da sjemenke cikla i rotkvice klijaju različitom brzinom te da izloženost mikrovalnom zračenju utječe na brzinu klijanja sjemena. Klijavosti sjemena cikla i rotkvice za kontrolnu skupinu i skupine sa sjemenom izloženim djelovanju mikrovalnog zračenja u trajanju 15 s, 30 s, 45 s i 90 s prikazane su tablično u prilogu 1. Iako je istraživanje trajalo deset dana, nakon sedmog dana nije uočeno pojavljivanje novih klica te podaci za preostale dane nisu navedeni.

Klijavost sjemena bila je najveća nakon izlaganja mikrovalnom zračenju u trajanju od 15 sekundi (slike 2 i 3). Dulje izlaganje mikrovalnom zračenju rezultiralo je usporenim klijanjem, a u nekim slučajevima do klijanja uopće nije došlo. Ipak, sjeme rotkvice izloženo mikrovalnom zračenju u trajanju od 30 sekundi pokazalo je klijavost od 80 %.



Slika 2 Usporedba broja proklijalog sjemena cikla ovisno o duljini mikrovalnog zračenja



Slika 3 Usporedba broja proklijalog sjemena rotkvice ovisno o duljini mikrovalnog zračenja

S mjerenjem duljine klica započelo se već prvi dan za rotkvicu te drugi dan za ciklu a prekinuto je deseti dan jer su se pojavili listovi. Rast klica cikla i rotkvice bio je neujednačen i u istoj vrećici mogle su se vidjeti klice različitih duljina. Zbog nejednolikog rasta izračunata je prosječna duljina klice (za svaki dan) prema formuli za aritmetičku sredinu:

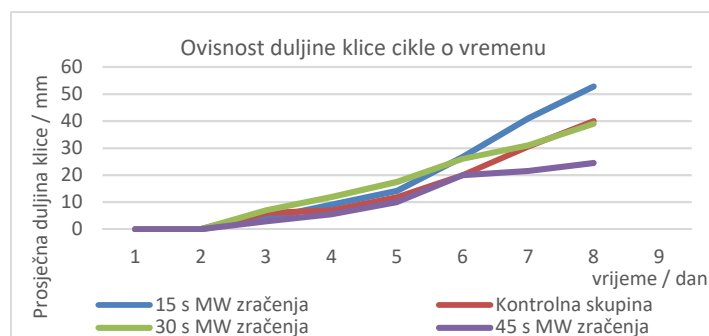
$$D_{(\text{prosječna})} = (D_1 + D_2 + \dots + D_n)/n$$

Podaci o prosječnim duljinama klica cikla i rotkvice navedeni su u tablici 2.

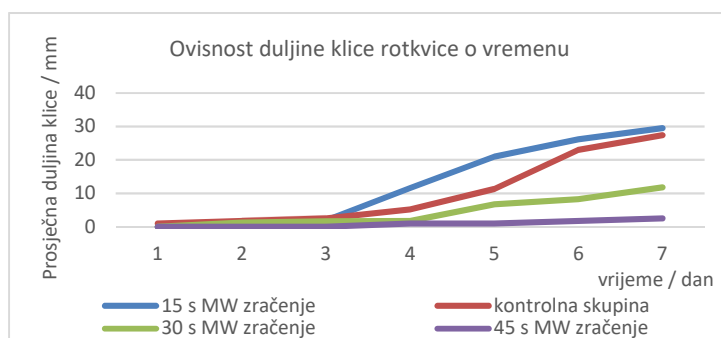
Tablica 2 Prosječna duljina klice cikle i rotkvice po danima

Izloženost mikrovalnom zračenju / s	PROSJEČNA DULJINA KLICE PO DANIMA /mm						
	Cikla						
	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan	7. dan
0	0	6,00	7,00	11,80	20,00	30,50	40,00
15	0	4,00	9,16	14,14	26,71	41,00	52,80
30	0	7,00	12,00	17,50	26,00	31,00	39,00
45	0	3,00	5,50	10,00	20,00	21,50	24,50
60	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0
	Rotkvica						
	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan	7. dan
	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan	7. dan
0	1	1,8	2,56	5,20	11,30	23,00	27,40
15	0	1,0	1,91	11,60	21,00	26,14	29,50
30	0	1,3	1,67	1,75	1,90	6,70	8,28
45	0	0	0	1,00	1,00	1,75	2,50
60	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0

Nakon izračuna prosječnih duljina klica grafički su prikazane brzine rasta klice cikle i rotkvice za sjeme koje je bilo izloženo mikrovalnom zračenju 15 s, 30 s i 45 s (slike 4 i 5). Podaci za sjeme koje je bilo izloženo mikrovalnom zračenju 60 s i 90 s nisu prikazani jer sjemenke nisu proklijale.



Slika 4 Ovisnost duljine klice cikle po danima, ovisno o vremenu izloženosti mikrovalnom (MW) zračenju



Slika 5 Ovisnost duljine klice rotkvice po danima, ovisno o vremenu izloženosti mikrovalnom (MW) zračenju

Na osnovu rezultata zaključeno je da klice cikle i rotkvice najbolje rastu ako se sjeme izloži mikrovalnom zračenju 15 s. Izloženost MW zračenju u trajanju od 30 s kod cikle nema većeg utjecaja na brzinu rasta klice, dok se kod rotkvice brzina rasta klice usporava. Dulje izlaganje MW zračenju nije pokazalo dobre rezultate te je sjeme propadalo ako je bilo izloženo zračenju duljem od 45 s.



RASPRAVA

Brojna istraživanja proteklih godina proučavala su utjecaj mikrovalnog zračenja na klijanje i rast biljaka. Većina istraživanja bila je orijentirana na zaštitu sjemena. Amirnia (2014) je u svojim istraživanjima zaključio da izloženost manjim količinama mikrovalnog zračenja povoljno utječe na klijanje i razvoj biljke. Brzina klijanja i rasta klice ovisi o povoljnim uvjetima okoline. Da bi sjemenke proklijale, potrebna im je voda. Kontrolna skupina u istraživanju nam je pokazala koliko vremena je potrebno da bi sjemenka proklijala u normalnim uvjetima.

Praćenjem brzine klijanja i rasta klice cikle i rotkvice utvrđeno je da izloženost mikrovalnom zračenju u trajanju od 15 s povoljno utječe na klijanje sjemena rotkvice i cikle. Sjeme koje je bilo izloženo mikrovalnom zračenju 15 s imalo je bolju klijavost od kontrolnog sjemena, što možemo objasniti činjenicom da je zagrijavanje vjerojatno malo otvorilo sjemenu lupinu dopuštajući tako ulazak vode i brže klijanje. Sjeme koje je bilo izloženo mikrovalnom zračenju 30 s i 45 s pokazalo je slabiju klijavost, dok sjeme izloženo mikrovalnom zračenju 60 s i 90 s nije uopće proklijalo. Moguće objašnjenje za propadanje sjemena je da je voda u sjemenu toliko apsorbirala mikrovalove da je prokuhala, a osušeno sjeme ne može proklijati ni ako mu se kasnije doda voda. Drugi mogući razlog propadanja sjemena je da su mikrovalovi uništili esencijalne masti koje su sjemenu potrebne za rast.

Klijanje sjemena rotkvice je puno brže od klijanja sjemena cikle (Benko, 2024) što smo potvrdili i našim istraživanjem jer je rotkvica počela klijati već prvi dan, dok je cikla počela klijati tek drugi dan. Brže klijanje sjemena rotkvice možemo povezati s tanjom sjemenom lupinom i bržim upijanjem vode. U oba slučaja klijavost sjemena je bila bolja ako je sjeme prije klijanja bilo izloženo mikrovalnom zračenju 15 s. Ovim istraživanjem također smo dokazali da kratkotrajna izloženost mikrovalnom zračenju može ubrzati klijanje sjemena i rasta klice, dok duže izlaganje može dovesti do propadanja sjemena. Dobiveni rezultati djelomično potvrđuju pretpostavku da će sjeme izloženo mikrovalnom zračenju 15 s ili 30 s klijati brže od sjemena koje nije izloženo zračenju jer su rezultati klijavosti za izloženost mikrovalnom zračenju 30 s u usporedbi s kontrolnom skupinom lošiji. Također je djelomično potvrđena i pretpostavka da izloženost mikrovalnom zračenju o trajanju od 45 s ili duže dovodi do propadanja sjemena, jer je izloženost zračenju 45 s smanjila klijavost sjemena na 20 %, a tek dulje izlaganje mikrovalnom zračenju (60 s i 90 s) dovelo je do propadanja sjemena. Rast klice za obje vrste sjemena brži je kad se sjeme izloži mikrovalnom zračenju 15 s.

Za razliku od istraživanja u kojem je dokazano propadanje sjemena zalijevanog vodom izloženom mikrovalnom zračenju (Mandić i Franjević, 2015), ovim istraživanjem potvrđeno je da izloženost zračenju u trajanju od 15 s povoljno utječe na klijanje i rast klice cikle i rotkvice.

Kada bismo ponavljali istraživački rad, u istraživanje bismo uključili i sjeme drugog povrća crvene boje (rajčica, crvena paprika) te bi radili ispitivanja s različitom snagom mikrovalova (100 – 500 W).

Preporučili bismo svim ljudima korištenje više crvenog povrća i voća u prehrani jer takvo voće i povrće zbog prisutnosti antocijana posjeduje antitumorska svojstva.

ZAKLJUČCI

Na temelju rezultata istraživanja donijeli smo sljedeće zaključke:

- ☛ Kratko izlaganje sjemena mikrovalnom zračenju može imati pozitivan učinak na klijanje sjemena cikle i rotkvice;



- ☞ Izloženost sjemena mikrovalnom zračenju u trajanju od 15 s doprinosi bržem klijanju sjemena i bržem rastu klice;
- ☞ Izloženost sjemena mikrovalnom zračenju u trajanju od 30 s nema većeg utjecaja na brzinu rasta klice cikle, dok se kod rotkvice rast klice usporava;
- ☞ Izloženost sjemena mikrovalnom zračenju u trajanju od 45 s ili duže dovodi do propadanja sjemena.

ZAHVALA

Zahvaljujemo učiteljici Hrvatskog jezika, Ivani Krešo, za lektoriranje teksta istraživačkog rada.

LITERATURA

- Abu-Elsaoud A.M. 2015. Effect of microwave electromagnetic radiofrequency on germination and seedling growth consequences of six wheat *Triticum aestivum* cultivar. *Advances in Environmental Biology* 9 (24): 270–273.
- Amirnia R. 2014. Effect of microwave radiation on germination and seedling growth of soybean (*Glycine max*) Seeds. *Advances in Environmental Biology* 8(24): 311–314.
- Benko B. 2024. O čemu sve ovisi klijavost sjemena povrća? *Gospodarski list*. <https://gospodarski.hr/rubrike/povrcarstvo-rubrike/o-cemu-sve-ovisi-klijavost-sjemena-povrca/>, pristupljeno 7.1.2025.
- Babić Z. 2023. Rotkvice: Mala, ali ljekovita eksplozija vitamina i minerala! Uklopite ju u svoju prehranu uz ove zanimljive i jednostavne recepte. <https://krenizdravo.dnevnik.hr/prehrana/zdravi-recepti/rotkvice-zasto-je-dobra-zazdravlje-priprema-recepti>, pristupljeno 8.12.2024.
- Banik S., Bandyopadhyay S., Ganguly S. 2003. Bioeffect of microwave - a brief review. *Bioresource Technology* 87(2): 155–157.
- Bewley J.D. 1997. Seed germination and dormancy. *The Plant Cell* 9(7): 1055–1057.
- Brodie G., Lancaster C., Ryan C. 2011. Microwave technologies as part of integrated weed management strategy: a review. *Internacional Journal of Agronomy* 2012(1): 1–5.
- Chen Z., Wang X. 2004. Study on biology effect of microwave pretreatment seeds of *Isatis indigotica*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* 6(24): 1057–1058.
- Fisayomi O.O., Adeyinka A.A., Oluwatosin A.J., Oyindamola O.F., Adeniyi A. 2021. Effects of low and medium microwave radiation on germination of bean maize seedlings. *Internacional Journal of Academic Multidisciplinary Research (IJAMR)* 5(9): 197–200.
- Ghiyasi M., Amirnia R., Tajbakhsh M., Gortapeh A.H., Valizadegan O. 2011. Effect of microwave radiation on germination and seedling growth of soybean (*Glycine max*) seeds, Conference publication. <https://www.researchgate.net/publication/316351917>, pristupljeno 8.12.2024.
- Grzesik M., Janas R. 2014. Physiological method for improving seed germination and seedling emergence of root parsley in organic systems, *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering* 59: 80–81.
- Jurišić M. 2023. Cikla. *Agroklub*. <https://www.agroklub.com/sortna-lista/povrce/cikla136/>, pristupljeno 8.12.2024.
- Kuzmić D. 2024. Aktivacija potencijala klijavosti dalmatinskog buhača primjenom koherentnog zračenja, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu. Agronomski fakultet.
- Lesinger I. 2003. Ljekovita biljka – Cikla. <https://www.scribd.com/doc/202288931/Ljekovita-biljka-Cikla>, pristupljeno 9.1.2025.
- Mandić M., Franjević Ž. 2015. Utjecaj mikrovalova na rast i razvoj biljaka. *Bioznalac* 1: 124–132.
- Puharić I. 2016. Mikrovalovi i njihove primjene. Završni rad, Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Odjel za Fiziku.



Prilog 1 Klijavost sjemena cikle i rotkvice po danima

Izloženost mikrovalnom zračenju / s	POSTOTAK PROKLIJALIH SJEMENKI						
	Cikla						7. dan
	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan	
0	0	0	30	70	80	80	80
15	0	0	60	80	90	90	90
30	0	0	20	20	20	20	20
45	0	0	20	20	20	20	20
60	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0
	Rotkvica						7. dan
	1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan	
0	20	70	70	80	90	90	90
15	50	80	90	100	100	100	100
30	10	30	40	40	50	70	80
45	0	0	0	0	20	20	20
60	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0

Grah (*Phaseolus vulgaris*, L) pod zračenjem – kako elektromagnetska polja mijenjaju prirodu

Magdalena Ljubić, 7. razred

Gabrijela Kolarić, 8. razred

Osnovna škola Stjepana Radića Brestovec Orehovički, Brestovec Orehovički

Mentor: Petra Međeral Ozimec

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja je analizirati utjecaj elektromagnetskog zračenja emitiranog od računala na rast i razvoj graha odnosno istraživanjem će se usporediti moguće morfološke promjene u biljkama graha izloženim elektromagnetskom zračenju s biljkama graha koje nisu izložene zračenju. Ukupno je posađeno 20 sjemenki graha (*Phaseolus vulgaris* L). Kontrolna skupina od 10 sjemenki je imala sve životne uvjete potrebne za rast i razvoja, dok je drugih 10 sjemenki uz sve životne uvjete bilo izloženo elektromagnetskom zračenju. Prema dobivenim rezultatima provedenog istraživanja izveli su se zaključci: elektromagnetsko zračenje pospješuje klijavost, rast i razvoj biljke, ali se javljaju morfološke promjene u boji (svjetlija je), izgledu („zgužvan“) i površini lista (manji su za 30 % u odnosu na kontrolnu skupinu). Promjene se uočavaju i u stabljici – visoka je, svjetlija i lako puca. Svjetlija nijansa zelene boje u listovima i stabljikama u odnosu na boju listova i stabljike kontrolne skupine dovodi do zaključka da biljke pod utjecajem zračenja računala imaju manje kloroplasta.

Ključne riječi: elektromagnetsko zračenje; grah (*Phaseolus vulgaris*, L); računalo

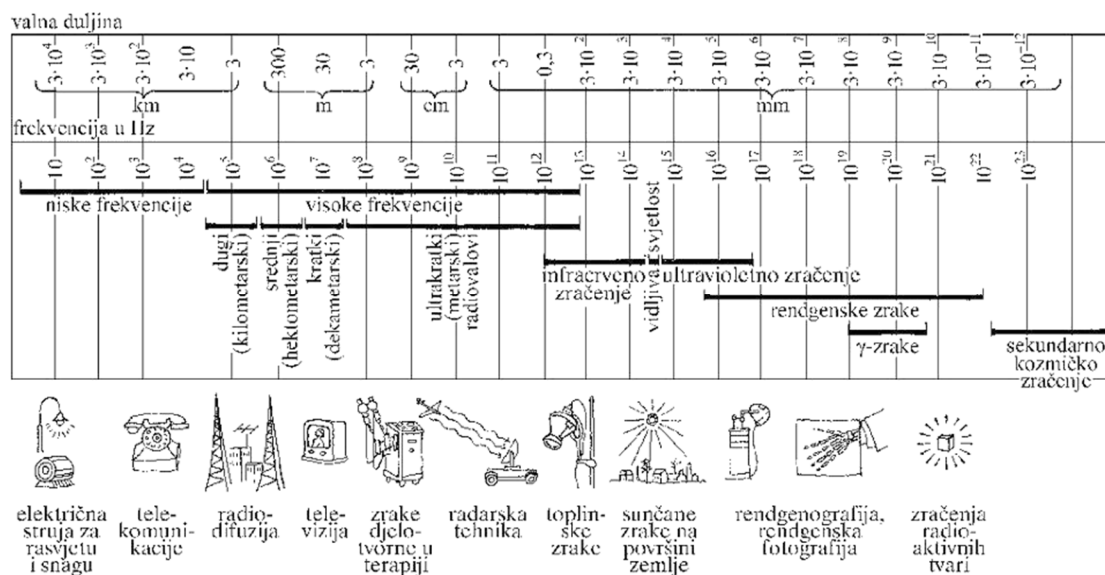
UVOD

Svakodnevno smo okruženi tehnologijom. Nema osobe koja nema mobitel uz sebe veći dio dana, a kod kuće barem u jednoj od prostorija nalazi se kompjuter ili laptop koji je ili u stanju mirovanja ili u upotrebi. Na većini radnih mjesta nalazi se po nekoliko kompjutera u uredima – tako su i u učionicama naše škole prisutne pametna ploča i minimalno jedan laptop koji rade cijelu smjenu. Sva ta tehnologija zrači elektromagnetsko zračenje.

Pojam „elektromagnetsko zračenje“ podrazumijeva emisiju elektromagnetskih valova (ili čestica) iz nekog radioaktivnog izvora. Uz prirodno elektromagnetsko zračenje (magnetsko polje Zemlje, elektrostatičko polje atmosfere, prirodna radioaktivnost, Sunčeva svjetlost, sva zračenja iz Svemira) postoji i umjetno elektromagnetsko zračenje (elektromagnetski valovi) koje potječe iz izvora načinjenih ljudskom rukom poput mobilnih telefona, bežičnih telefona, bežičnog Interneta, baznih Wi-Fi stanica (Hrvatska enciklopedija, 2025). Ova umjetno stvorena zračenja pripadaju radiofrekvencijskim poljima od 300 Hz do 300 GHz (10^9 Hz) (Kordić, 2020). Bez obzira o kojem zračenju je riječ, sva djeluju na živa bića (slika 1).

Teško je odrediti mjeru u kojoj umjetna zračenja elektromagnetskog spektra predstavljaju zdravstvenu prijetnju, jer se pojedini učinci mogu manifestirati sa značajnom vremenskom odgodom i/ili povezati s drugim rizičnim čimbenicima prisutnima u suvremenoj populaciji poput stresa, loših prehrambenih navika, smanjene tjelesne aktivnosti (Poplašen i sur., 2015).

Ova intrigantna tema je dulji niz godina predmet brojnih istraživanja. Na stranicama Hrvatske udruge za zaštitu od elektromagnetskog zračenja (HUZEZ, 2025) mogu se naći navedeni različiti linkovi na istraživačke radove koji upozoravaju kako zračenje mobilnih telefona može izazvati tumor mozga ili da pripomaže u razvoju raka.



Slika 1 Spektar elektromagnetskih valova

(izvor: <https://enciklopedija.hr/clanak/elektromagnetski-valovi>)

Jedan od istraživačkih projekata pod nazivom „Utjecaj elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na klijavost i rast pšenice *Triticum* sp.“ (Bosančić i Prosenečki, 2015) iznosi pozitivne rezultate utjecaja elektromagnetskog zračenja računala na klijavost pšenice poput uspješnije klijavosti i bržeg rasta. Čak je navedeno da su ozračene biljke dulje bile zdravijeg izgleda i zelenije u odnosu na neozračene biljke.

Kako bi se provjerio utjecaj elektromagnetskog zračenja na živa bića, u ovom radu se kao predstavnik živih bića upotrijebio grah visoki trešnjevac (lat. *Phaseolus vulgaris*, L). Razlog za odabir vrste je što se već godinama sadi u našem kraju.

Grah dolazi iz Južne Amerike, a u Europu je unesen u 16. stoljeću. To je jednogodišnja biljka te je najpoznatiji predstavnik porodice mahunarki (Fabaceae). Ubraja se u povrće s najhranjivijim tvarima zbog visokog udjela bjelancevina (26 %), masti (2,1 %) i ugljikohidrata (52 %) te sadrži sve potrebne aminokiseline. Iz tog razloga je prozvan „mesom siromaha“ (Kolar-Fodor, 2009). Stabljika graha je tanka i uspravna. Korijen je vretenast s brojnim kvržicama (nastale u simbiozi s dušičnim bakterijama – vežu dušik iz okoliša). Listovi su naizmjenični na dugim peteljcima. Svaki list je sastavljen od tri lisice ušiljenog vrha. Cvjetovi su dvospolni. Nakon oprašivanja stvaraju se mahune koje sadrže više sjemenki bubrežastog oblika (Plantea, 2025).

Cilj ovog istraživanja je analizirati utjecaj elektromagnetskog zračenja emitiranog od računala na rast i razvoj graha, odnosno istraživanjem će se usporediti moguće morfološke promjene u biljkama graha izloženim elektromagnetskom zračenju s biljkama graha koje nisu izložene zračenju. Prema navedenom cilju, izvedeno je nekoliko pretpostavki (hipoteza): (i) elektromagnetsko zračenje računala utjecat će na rast graha, povećavajući brzinu rasta i kvalitetu biljaka u odnosu na kontrolnu skupinu; (ii) grah izložen elektromagnetskom zračenju računala ima veći postotak klijanja i brži razvoj u odnosu na grah koji nije izložen zračenju; (iii) elektromagnetsko zračenje može uzrokovati promjene u morfološkim osobinama (karakteristikama) biljke graha poput visine stabljike, broj listova, boja listova, površina listova u odnosu na kontrolnu skupinu; (iv) elektromagnetsko zračenje komputera uzorkovat će manji broj kloroplasta u stanicama listova u odnosu na kontrolnu skupinu.

METODE

Istraživanje je provedeno od studenog 2024. do siječnja 2025. godine. Za istraživanje odabran je domaći grah visoki trešnjevac (lat. *Phaseolus vulgaris*). Razlog za odabir vrste je što se već godinama sadi u našem kraju.

Postupak

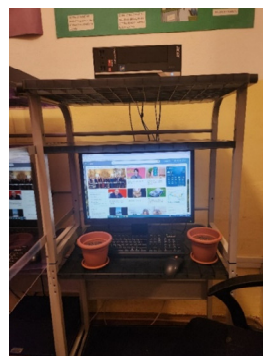
Sjemenke graha stajale su u vodi oko 12 sati kako bi nabubile. Pripremljene su četiri jednake teglice. Svaka teglica je imala tanjurić promjera 10 cm. U svaku teglicu stavljeno je točno 500 g zemlje iz školskog vrta. U svaku teglicu posađeno je 5 sjemenki graha, ukupno 20 (slika 2).

Dvije teglice su stavljene u ured školske pedagoginje na stalažu, a dvije teglice u informatički praktikum uz stalno upaljeno računalo (udaljenost od monitora je 19 cm). Računalo i stalaža su se nalazili u blizini prozora. Obje prostorije imaju okrenute prozore prema zapadu. Sve teglice imaju jednake životne uvjete, osim što dvije teglice u informatičkom praktikumu imaju stalno prisutno elektromagnetsko zračenje računala. Računalo radi 24 sata, većinom je u stanju mirovanja (slika 3). Tijekom dana se po nekoliko puta radilo na računalu po minimalno 15 minuta. Svaki treći dan u sve tanjuriće se ulijevalo 28 mL vode.

Treba napomenuti da je pedagoginja bila odsutna za vrijeme promatranja rasta i razvoja graha te je njezin laptop u uredu bio isključen. Kabinet informatike se više ne upotrebljava za vježbe iz informatike.



Slika 2 Vaganje zemlje i sadnja sjemenki graha (*Phaseolus vulgaris*, L.) (foto M.LJ.)



Slika 3 Teglice s posađenim grahom u kabinetu informatike (foto M.LJ.)

Od prvog dana sadnje pratilo se vrijeme klijanja biljke, brzina rasta stabljike (prilog 1), pojava prvih listova te broj listova pojedine stabljike (prilozi 2 i 3). Pred kraj praćenja rasta i razvoja biljke, izmjerila se površina listova te se usporedila boja listova biljaka.

Na web stranici Edutorija (Soucie i Katalenac, 2024) navedeno je kako površinu lista nije moguće točno odrediti jer rubovi listova nisu ravne linije. Zbog toga se svaki list precrtao na milimetarski papir kako bi što preciznije odredili njegovu površinu (slika 4). Prebroje se kvadratići koje zauzima list te se prema tom broju izračuna površina.

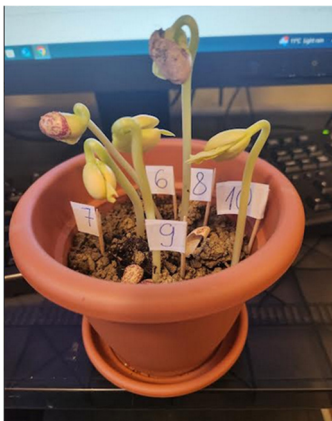


Slika 4 Iscrtavanje lista graha na milimetarski papir (fotografija G. K.)

Na kraju istraživanja ubere se po dva lista svake stabljike graha i od njih se radi nekoliko preparata presjeka lista. Pod povećanjem 40x izmjeri se ravnalom širina vidnog polja. Dobiveni broj se podijeli s 10 za povećanje od 400x (najveće povećanje mikroskopa). Dobiveni broj se uvrsti u matematičku formulu površine kruga $P = r^2\pi$. Potom se broje kloroplasti na izračunatoj površini vidnog polja. Uspoređuje se broj kloroplasta listova stabljike koje su rasle u informatičkom kabinetu pod utjecajem elektromagnetskog zračenja s brojem kloroplasta listova stabljike koje su rasle u uredu pedagoginje.

REZULTATI

Sjemenke graha kontrolne skupine većinom su proklijale 19. studenog 2024., dok su sjemenke postavljene uz računalo počele klijati već 15. studenog. Kako je sjemenka klijala, tako je dobila i oznaku – sjemenka koja je prva proklijala je dobila oznaku broj 1, druga proklijala sjemenka je dobila oznaku broj 2 i tako dalje (slika 5). Praćenje rasta i razvoja stabljike te listova se usporedilo između jedinki koje su proklijale određenim redoslijedom.



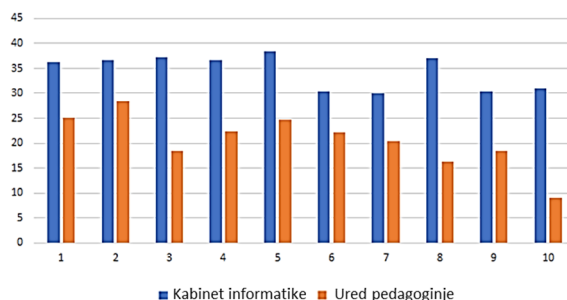
Slika 5 Oznake uz stabljike redoslijedom kako su proklijale i rasle na dan 20. 11. 2024. (kabinet informatike) (fotografija G.K.)

Rast stabljike se bilježio od 18. 11. (jedinke u kabinetu informatike), odnosno od 20. 11. 2024. (jedinke u uredu pedagoginje). U prvih tjedan dana brži rast imaju biljke graha koje rastu u praktikumu (prilog 2). Ispostavilo se da se njih trebalo zalijevati svaki dan, a ne svaki treći dan kako je bilo u planu. Pretpostavlja se da je češće zalijevanje bilo potrebno zbog topline koju je ekran računala emitirao. Kontrolna skupina je u početku sporije rasla (prilog 1) i nju se zalijevalo svaki treći dan.

Nakon devetnaestog dana prestalo se pratiti rast i razvoj jedinki jer su se pojedine stabljike graha zbog visine prelomile. Prema sakupljenim i obrađenim podacima, uočilo se da su stabljike graha u kabinetu informatike bile prosječno za 10-ak cm više nego stabljike jedinki iz ureda pedagoginje (slika 6).

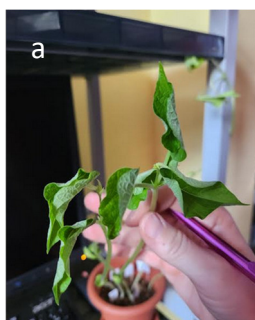
Grah (*Phaseolus vulgaris*, L) pod zračenjem- kako elektromagnetska polja mijenjaju prirodu

Mentor:
Međeral Ozimec P.

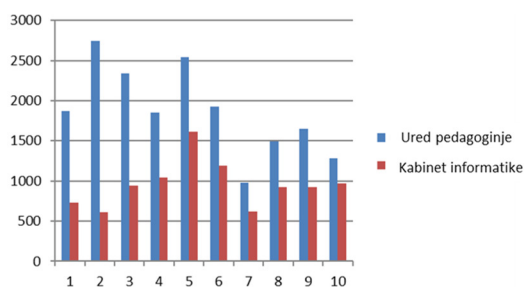


Slika 6 Usporedba prosječne visine stabljika graha 19. dana od dana klijanja

Izgled, boja te veličina listova su se jako razlikovali između dvije grupe. Za razliku od velikih i širokih listova na jedinkama graha u uredu pedagoginje, listovi stabljika koje su rasle uz računalo su bili užji, manji, izgledali su kao da su smežurani (slika 7). U prosjeku, površina listova biljaka iz ureda pedagoginje su se kretali između 1600 mm² do 2400 mm² dok se površina listova jedinki iz kabineta informatike kretao između 900 mm² i 1000 mm² (slika 8). To bi bila razlika u površini listova 30 %. Zelena boja listova je bila puno svjetlija u odnosu na jedinke graha koje su rasle u uredu pedagoginje.

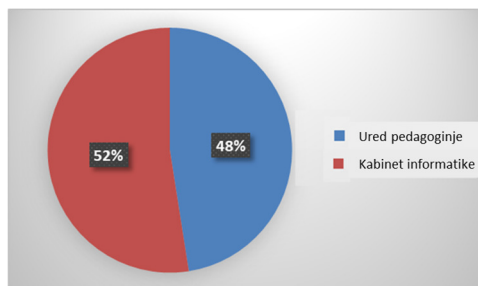


Slika 7 Usporedba izgleda i boje listova biljaka graha iz kabineta informatike (a) i ureda pedagoginje (b), 26. 11. 2024. (fotografije M.LJ.)



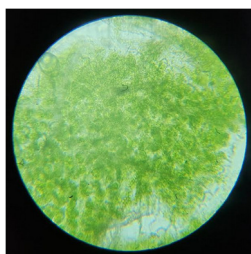
Slika 8 Usporedba prosječne površine listova biljke graha u mm²

Prosječno, broj listova na stabljikama koje su rasle u kabinetu informatike i uredu pedagoginje su podjednako zastupljeni na jedinkama graha (slika 9).



Slika 9 Prosječan broj listova na stabljikama graha

Usporedba broja kloroplasta u stanicama lista ovih dviju skupina nije uspjela. Pojavio se problem izrade tankog prereza lista. Koliko se god trudili i pronalazili ideje kako što tanje prerezati list (stavljanjem lista između poprečno prerezanog pluta i mrkve), nismo uspjele dobiti dovoljno jasan prerez koji bi se mogao mikroskopirati (slika 10).



Slika 10 Fotografija prereza lista stabljike koja je rasla u uredu pedagoginje (povećanje 400x) (fotografija M.LJ.)

Umjesto toga, odlučilo se usporediti boju stabljike i boju listova preko palete boja (slika 11). I bez te usporedbe jasno se vidi da su sve jedinke koje su rasle u uredu pedagoginje zelenije u odnosu na jedinke iz kabineta informatike. To dovodi do zaključka da jedinke graha iz ureda pedagoginje imaju više kloroplasta nego jedinke iz kabineta informatike.



Slika 11 Usporedba boje stabljike i listova: stabljika iz kabineta informatike (a) i ureda pedagoginje (b); listovi iz kabineta informatike (c) i ureda pedagoginje (d) (fotografije M.LJ., G.K.)

RASPRAVA

U ovom istraživanju promatrane jedinke biljke graha visoki trešnjevac (*Phaseolus vulgaris*, L.) imale su osigurane jednake životne uvjete u kabinetu informatike i uredu pedagoginje. Nezavisna varijabla koja je utjecala na rast i razvoj jedinki je bilo elektromagnetsko zračenje koje je emitiralo računalo u kabinetu informatike.



Rezultati promatranja klijanja te rasta i razvoja jedinki graha su potvrdili pretpostavke da će grah izložen elektromagnetskom zračenju računala imati veći postotak klijanja te brži rast i razvoj u odnosu na grah koji mu nije izložen. Ovi rezultati se poklapaju s rezultatima koji su dobiveni u radu „Utjecaj elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na klijavost i rast pšenice *Triticum* sp.“ (Bosančić i Prosenečki, 2015) i „Što biljke slušaju?“ (Mikalević i Pačalat, 2017).

Međutim, gledajući rezultate razvoja, površinu i boju listova te čvrstoću stabljike, uočavaju se razlike s prethodno spomenutim istraživanjima. U ovom istraživanju listovi su bili svijetlo zeleni i izgledali su kao da su „zgužvani“ što nije slučaj s kontrolnom skupinom. Rezultati mjerenja površine listova graha koji su bili pod utjecajem elektromagnetskog zračenja ukazuju da je površina listova manja za 30 % u odnosu na listove biljaka koje nisu bile pod tim utjecajem. Osim boje listova, i boja stabljike je bila svjetlija u odnosu na stabljike biljaka koje nisu bile pod utjecajem zračenja. Iako su sve stabljike u kabinetu informatike bile vezane zbog svoje visine i tanjeg promjera u odnosu na jedinke iz ureda pedagoginje, one su se lako lomile. Ovime je potvrđena naša pretpostavka da će se kao posljedica zračenja javiti morfološke promjene u visini i čvrstoći stabljike te u boji, površini i obliku lista. Za razliku od biljaka kojima zračenje ne smeta, nego ga čak i upijaju, poput vrste *Spatiphyllum* (Goreta, 2020), zračenje ovoj biljci nepovoljno djeluje na rast i razvoj.

Zbog tehničkih problema nije bilo mogućnosti ostvariti brojanje kloroplasta u listovima. Međusobnom usporedbom boje stabljike i listova promatranih skupina moglo bi se zaključiti da svijetlije jedinke iz kabineta informatike imaju manje kloroplasta u odnosu na jedinke koje su rasle bez tog utjecaja.

Svi dobiveni podaci ovog rada ukazuju da elektromagnetsko zračenje nije bezazleno. Zadnjih godina se često priča o utjecaju zračenja na živa bića. Radi što bolje zaštite zdravlja od utjecaja elektromagnetskog zračenja i Ministarstvo zdravstva je u veljači 2018. godine, na svojim stranicama postavila edukativni video s upozorenjem o štetnosti elektromagnetskih polja i savjetima za korištenje mobitela (Ministarstvo zdravstva, 2025). Ljudi imaju dulji životni vijek u odnosu na većinu ostalih živih bića pa je teško procijeniti je li za loše zdravstveno stanje krivo zračenje (HUZEZ, 2025) ili su za loše zdravstveno stanje „krivi“ način života (stres, prehrana, odmaranje) ili genetsko nasljeđe..

Usporedbom dobivenih rezultata ovog rada s nekolicinom radova sa sličnom temom, uočavaju se pojedine nepodudarnosti u rezultatima. Razlog tome može biti vrsta biljke koja se promatrala (pšenica, grašak, grah), broj i kvaliteta sjemenki pa čak i uvjeti odnosno izvori zračenja, udaljenost od izvora zračenja.

ZAKLJUČCI

Prema dobivenim rezultatima provedenog istraživanja mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- ☛ Potvrđena je pretpostavka da će veći postotak graha prije proklijati i brže rasti i razvijati se ako je izložen elektromagnetskom zračenju računala;
- ☛ Kod graha izloženom elektromagnetskom zračenju uočene su morfološke promjene u boji lista – svjetliji su u odnosu na kontrolnu skupinu, izgledu – „zgužvan“ te površini lista – manja je za 30 % u odnosu na kontrolnu skupinu;
- ☛ Stabljika graha koji je rastao uz elektromagnetsko zračenje je puno viša i tanja nego kod kontrolne skupine te je lako pucala;
- ☛ Ukupan broj listova je kod graha izloženog elektromagnetskom zračenju i graha koji je imao sve životne uvjete je podjednaka;



- Broj kloroplasta po mm^2 je nije izbrojan zbog tehničkih poteškoća, ali se boja lista i stabljike usporedila sa skalom boja – usporedbom sa skalom je dokazano da su biljke iz ureda pedagoginje zelenije što dovodi na zaključak da te jedinice imaju više kloroplasta.

LITERATURA

- Bosančić I., Prosenečki, I. 2015. Utjecaj elektromagnetskog zračenja mobitela i računala na klijavost i rast pšenice *Triticum* sp. Bioznanac 1: 104–113.
- HUZEZ. 2025. Štetnost i zdravstveni rizici elektromagnetskog zračenja. Hrvatska udruga za zaštitu od elektromagnetskog zračenja. <https://www.huzez.hr/stetnost-i-zdravstveni-rizici-elektromagnetskog-zracenja/>, pristupljeno 2.1.2025.
- Hrvatska enciklopedija. 2025. Elektromagnetski valovi. Leksikografski zavod Miroslav Krleža. <https://enciklopedija.hr/clanak/elektromagnetski-valovi>, pristupljeno 5.1.2025.
- Goreta D. 2020. Spatofilum – zašto svi poslovnjaci drže ovu biljku na radnom stolu? <https://green.hr/spatofilum-zasto-svi-poslovnjaci-drze-ovu-biljku-na-radnom-stolu/>, pristupljeno 21.2.2025.
- Plantea. 2025. Grah (*Phaseolus vulgaris*, L.). Plantea- portal entuzijasta za prirodu 2012.-2025. <https://www.plantea.com.hr/grah/>, pristupljeno 4.1.2025.
- Kolar- Fodor, S. 2009. Grah – *Phaseolus vulgaris*. <https://www.biovrt.com/grah-phaseolus-vulgaris/>, pristupljeno 4.1.2025.
- Kordić A. 2020. Biološki učinci elektromagnetskog zračenja u urbanom okruženju. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:119:619483>, pristupljeno 2.1.2025.
- Mikalević N., Pačalat H. 2017. Što biljke slušaju. Bioznanac 3: 1–10.
- Ministarstvo zdravstva. 2025. Komunikacija Ministarstva zdravstva sa stanovništvom RH vezano za utjecaj elektromagnetskih polja na zdravlje ljudi. <https://zdravlje.gov.hr/o-ministarstvu/djelokrug-1297/sanitarna-inspekcija/zastita-od-zracenja/komunikacija-ministarstva-zdravlja-sa-stanovnistvom-rh-vezano-za-utjecaj-elektromagnetskih-polja-na-zdravlje-ljudi/1782>, pristupljeno 21.2.2025.
- Poplašen D., Brumen V., Bučan D. 2015. Djelovanje elektromagnetskog zračenja na ljudski organizam. Sigurnost 57: 371–374.
- Soucie T., Katalenac I. 2024. Matematika 5., 7.3. Površina kvadrata i pravokutnika. https://edutorij-admin-api.carnet.hr/storage/extracted/fb7c1cc0-218d-4fcd-8d9e-907676cd18f6/html/224_povrsina_kvadrata_i_pravokutnika.html, pristupljeno 12.12.2024.

PRILOZI

Prilog 1 Podaci rasta stabljike u uredu pedagoginje

Datum	Stabljika 1	Stabljika 2	Stabljika 3	Stabljika 4	Stabljika 5	Stabljika 6	Stabljika 7	Stabljika 8	Stabljika 9	Stabljika 10
20.11.	2.4 cm	3.5 cm	0.3 cm	3.2 cm	2.4 cm	1 cm	1.1 cm	0.1 cm	/	/
21.11.	6.5 cm	8 cm	0.9 cm	5.5 cm	5.7 cm	3.1 cm	4 cm	0.2 m	/	/
22.11.	13 cm	19 cm	2.5 cm	10.5 cm	17.9 cm	7 cm	9.4 cm	0.8 cm	1 cm	0.5 cm
25.11.	29 cm	27.5 cm	20.4 cm	26 cm	28 cm	25 cm	23.5 cm	16 cm	16 cm	1.1 cm
26.11.	31 cm	34 cm	23 cm	28 cm	30 cm	28 cm	26 cm	21 cm	19 cm	4.6 cm
27.11.	38.5 cm	41.4 cm	25 cm	33 cm	34.5 cm	32 cm	27 cm	25 cm	19.8 cm	6.5 cm
2.12.	55.6 cm	66.2 cm	57.5 cm	50 cm	54.4 cm	59 cm	51.8 cm	50 cm	36.2 cm	32.9 cm

Prilog 2 Podaci rasta stabljike u praktikumu informatike

Datum	Stabljika 1	Stabljika 2	Stabljika 3	Stabljika 4	Stabljika 5	Stabljika 6	Stabljika 7	Stabljika 8	Stabljika 9	Stabljika 10
19.11.	5 cm	6 cm	7 cm	4 cm	4.5 cm	4.5 cm	4.4 cm	5 cm	4.7 cm	3.1 cm
20.11.	12.8 cm	14.8 cm	15.1 cm	12 cm	11.9 cm	10 cm	9 cm	12.5 cm	9.9 cm	8.9 cm
21.11.	19.9 cm	23 cm	22 cm	19.1 cm	20.5 cm	15.5 cm	12.9 cm	20.5 cm	14.1 cm	17 cm
22.11.	29 cm	32.5 cm	32 cm	28.5 cm	30.5 cm	22 cm	21.5 cm	31.4 cm	21 cm	28 cm
25.11.	49.5 cm	37.5 cm	50.5 cm	49 cm	54 cm	38 cm	39.8 cm	51.5 cm	36 cm	51 cm
26.11.	49 cm	51 cm	51 cm	52 cm	57 cm	42 cm	41 cm	46 cm	40 cm	23 cm
27.11.	54.5 cm	57 cm	51 cm	54.5 cm	55 cm	48 cm	47.5 cm	56.5 cm	48 cm	52 cm
2.12.	71 cm	71.9 cm	69.1 cm	74.5 cm	74.3 cm	62 cm	64 cm	73.6 cm	69.5 cm	65 cm

Klice graha – superhrana budućnosti

Katarina Belačić, 8. razred

Hana Nekich, 8. razred

Osnovna škola Đure Deželića Ivanić-Grad, Ivanić-Grad

Mentor: Kaja Glavaš

SAŽETAK

U današnjem svijetu sve veći broj ljudi prepoznaje važnost povezanosti prehrane i zdravlja zbog čega raste zanimanje za funkcionalnu hranu. Funkcionalna hrana je obogaćena hranjivim tvarima i bioaktivnim spojevima te pruža dodatne dobrobiti za zdravlje poput jačanja imuniteta, smanjenja rizika od bolesti i poboljšanja općeg stanja organizma. Klice postaju sve popularniji izbor za obogaćivanje prehrane funkcionalnom hranom jer je sam proces uzgoja jednostavan i isplativ te ih svatko može uzgojiti kod kuće. Cilj našeg istraživanja jest utvrditi kako izloženost svjetlosti djeluje na brzinu klijanja i rast klica različitih vrsta graha. U istraživanju su korištene tri vrste graha: mungo, azuki i crnookica. Istraživanje je provedeno tijekom prosinca 2024. i siječnja 2025. godine, a sjemenke su prilikom klijanja bile izložene svjetlu i tami. Sjemenke su klijale u staklenkama i u razdoblju klijanja su triput dnevno ispirane vodovodnom vodom. Promatran je početak klijanja sjemenki te je nakon klijanja svakodnevno ravnalom mjerena duljina klica graha. Zaključeno je da sve sjemenke graha brže klijaju ako se nalaze u tamnom prostoru te da je za uzgoj klica najbolje odabrati mungo ili azuki grah jer brzo klijaju i njihove klice su spremne za uporabu već za četiri do pet dana. Grah crnookica nije se pokazao kao dobar izbor za proizvodnju klica jer sjemenke, osim što imaju malu klijavost, propadaju brzo nakon klijanja.

Ključne riječi: sjemenke graha; klijanje; funkcionalna hrana

UVOD

Približavanjem zime često slušamo da se povećava broj ljudi koji traže liječničku pomoć te su bolnice i domovi zdravlja pretrpani pacijentima koji traže pomoć zbog različitih tegoba. To je uglavnom povezano s padom imuniteta, odnosno oslabljenim imunološkim sustavom. Naša škola nije izuzetak te iz godine u godinu tijekom prosinca, siječnja i veljače veliki broj učenika zbog bolesti ostaje kod kuće. Naša želja da naučimo više o jačanju imunološkog sustava dovela nas je do spoznaja o klicama, superhrani budućnosti koja ne samo da bitno doprinosi jačanju našeg imunološkog sustava nego posjeduje i brojne druge prednosti (Koloper, 2023). Kinezi su prvi prepoznali ljekovita svojstva izdanaka različitih sjemenki prije 5000 godina. Klice su primjenjivali u liječenju različitih bolesti: kožnih oboljenja, probavnih smetnji i bolesti mišića pa su na svoja preokooceanska putovanja često nosili i naklijavali mungo grah. Njegove su klice konzumirali u raznim jelima jer su osjećali da im one daju veliku količinu energije i obilje hranjivih tvari. Kinezi su donijeli u Ameriku ideju o ukusnim i zdravim jelima s klicama, no pravo se zanimanje za klice javilo devedesetih godina prošlog stoljeća kada su počela znanstvena istraživanja kojima je potvrđeno njihovo snažno djelovanje (Lenard, 2013).

Iz dana u dan klice postaju sve popularnije diljem svijeta zbog svojih hranjivih vrijednosti, ljekovitih svojstava i jednostavnosti pripreme. Nutricionisti ih nazivaju vitaminsko-mineralnim bombama jer se klijanjem količine minerala i vitamina uvećavaju za četiri do deset puta u odnosu na sjemenke prije početka klijanja. Osim toga, klice sadrže nukleinske kiseline i enzime koji pokreću izmjenu tvari, regeneriraju stanice i jačaju imunološki sustav. Neke od dobrobiti konzumiranja klica su: antioksidativno i antivirusno djelovanje, sposobnost djelovanja protiv dijabetesa, uloga u regulaciji kolesterola i borbi protiv pretilosti te sprečavanje ateroskleroze. Klice su lako probavljive pa je iskoristivost vitamina koje sadrže daleko veća nego kod vitaminskih pripravaka dobivenih sintetskim putem, a imaju i nježan okus i hrskavu strukturu (Cukrov, 2010).



Klijanje je početni stupanj razvoja biljke pa se priroda pobrinula da upravo klice sadrže visoku koncentraciju hranjivih tvari koje će poduprijeti zdrav razvoj biljke. U prvih sedam dana klijanja klice stvaraju visoku koncentraciju riboflavina, tiamina i folne kiseline te vitamina A, C, E i K. Jedan su od najboljih izvora minerala – bogate su kalcijem, magnezijem i fosforom, kao i mineralima u tragovima kao što su selen, jod i cink (Mateljan, 2008). Danas postoje brojna istraživanja o terapijskim prednostima proklijale hrane, a s nedavnom epidemijom korona-virusa zabilježen je porast potražnje za funkcionalnom hranom koja jača imunitet (Koloper, 2023). Kako društvo postaje svjesnije povezanosti životnih navika i prehrane sa zdravljem, potražnja za hranom sve je više orijentirana prema funkcionalnoj hrani (od strane potrošača) te prema unapređenju metoda za poboljšanje funkcionalnosti hrane (od strane proizvođača). Funkcionalna hrana je ona koja osim nutritivnih potreba nudi i brojne dobrobiti za zdravlje. Trenutno je dostupan veliki izbor hrane koja potječe od raznih sjemenki, uključujući klice lucerne, heljde, crvenog kupusa i brokule koja su stekle veliku popularnost i konzumiraju se diljem svijeta.

Pojam „klice“ označava „proizvod dobiven klijanjem sjemena i njegova razvoja u vodi ili drugom mediju, ubran prije razvitka pravih listova i namijenjen konzumaciji kao cijelog, uključujući i sjeme“ (Barroso, 2013). Sam proces klijanja je isplativ jer ne zauzima puno mjesta prilikom uzgoja, ne zahtijeva sofisticiranu opremu i ciklus klijanja traje svega nekoliko dana ili tjedana te daje velike prinose. Na europskom i dalekoistočnom tržištu razvila se raznolika ponuda klica, a najpopularnije su klice alfalfa, azuki i mungo graha, soje, heljde, brokule, rotkvice, gorušice i crvenog kupusa (Štrumf, 2024).

Za većinu vrsta sjemena klijanje se obično provodi u tami na temperaturi od 11 do 21°C. Temperatura potiče klijanje na tri načina: vlažnost, proizvodnja hormona i aktivnost enzima. Da bi sjeme proklijalo, treba upiti vodu, a to može samo ako je prisutna dovoljna količina vlage. Veće temperature mogu povećati isparavanje i smanjiti količinu vlažnosti što negativno utječe na klijanje. Dva različita hormona kontroliraju klijanje: apscizinska kiselina i giberelini. Apscizinska kiselina potiče uspavanost i inhibira klijanje, dok giberelini potiču klijanje. Ukoliko je temperatura povoljna, geni koji kontroliraju proizvodnju giberelina se aktiviraju i dolazi do klijanja. Za mnoge vrste sjemena potrebni su enzimi kako bi se olakšao proces klijanja, jer enzimi razgrađuju tkivo endosperma i stvaraju pukotine u sjemennoj lupini. Ako je temperatura preniska ili previsoka, enzimi postaju neaktivni. Budući aktivnost hormona i enzima ovisi o temperaturi, drastična promjena temperature značajno utječe na klijanje. Vrijeme klijanja ovisi o namjeni klice, većini jestivih sjemenki treba od tri do pet dana da značajno promijeni sastav te je upravo to vrijeme potrebno za dobivanje zrelih klica (Dove, 2010). Sjeme koje je jako sitno klija na svjetlu i obično se sadi blizu površine tla kako bi dobilo odgovarajuću količinu svjetla. Ostale sjemenke za klijanje trebaju tamu. Sjemenke koje klijaju u tami oslanjaju se na pohranjenu energiju unutar svojih stanica (lipidi, proteini, ugljikohidrati) kako bi pokrenule klijanje (Washa, 2015).

Cijene svježih klica u trgovinama zdrave hrane su izrazito visoke i većina ljudi si ne može priuštiti ove vitaminsko-mineralne bombe što nas je potaknulo da sami pokušamo uzgojiti klice kod kuće. Kako su sjemenke mnogih biljnih vrsta skupe i nije ih moguće nabaviti u većini trgovina, za svoje istraživanje odabrale smo grah jer je njegova cijena prihvatljiva većem broju ljudi. Odabrane vrste graha su: mungo, azuki i crnookica koje se lako mogu nabaviti u svim većim supermarketima.

U izboru sjemenki za klijanje treba se pridržavati određenih pravila (Cukrov, 2010) – preporuča se sjeme iz biološkog uzgoja te je potrebno: (i) odstraniti sjemenke koje su promijenile boju ili su

oštećene, (ii) oprati sjemenke i namočiti ih u vodi prije klijanja, (iii) voditi računa o temperaturi, (iv) ispirati sjemenke nekoliko puta dnevno čistom vodom, (v) izbjegavati vlažne prostore za klijanje i prečesto ispiranje.

Mungo grah (*Vigna radiata* L.) je poznat i pod nazivom zelena soja, porijeklom je iz jugoistočne Azije, a oko 90 % njegove proizvodnje zastupljeno je u Indiji, Indoneziji i Tajlandu. Sjemenke vrlo brzo klijanju i mogu se koristiti već treći dan klijanja, iako su najbolje kada dosegnu 2 do 5 cm dužine. Kuhaju se od dvije do tri minute. Nije potrebno odstraniti zrno od klice jer su oba dijela vrlo ukusna – hrskavi su i po okusu podsjećaju na zeleni grašak. Zelena ovojnica odvaja se kuhanjem i ispliva na površinu. Izdanci su bogati lecitinom, bjelančevinama, sadrže velike količine vitamina B i C te vitamine A i E, kalcij, fosfor i željezo. Odlični su za prehranu dijabetičara jer 100 grama klica ima energetska vrijednost 22 kcal. Ove klice čiste organizam od otrova, djeluju diuretski, jačaju krv i funkciju jetre (Vrbetić, 2015).

Azuki grah (*Vigna angularis* (Wild.) Ohwi & H. Ohashi) je tamnocrveni sitni grah porijeklom s Himalaje, u Kini i Koreji koristi se više od 2000 godina. Prenesen je u Japan gdje je danas, nakon soje, druga najraširenija mahunarka. Koristi se u makrobiotičkoj prehrani zbog velikog udjela proteina, a poznat je i kao „čistač organizma“ jer potiče izlučivanje štetnih tvari. Sadrži vitamine A i B, magnezij, cink i mnoge druge korisne tvari. Klice azuki graha dobre su za živčani sustav, u stresnim situacijama te sprečavaju osteoporozu (Vrbetić, 2015).

Grah crnookica (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) je poznat pod nazivom mletački grašak, potječe iz Afrike, a naziv je dobio po specifičnom izgledu zrna, po rastu i izgledu je drugačiji od klasičnih vrsta graha. Na jugu Amerike se smatra da konzumiranje graha crnookice sa zelenim povrćem na Novu godinu donosi sreću (Jenkins, 2024). Obiluje vitaminima A, B i C, sadrži 24 % proteina koji su lako probavljivi što ga čini pogodnim za prehranu djece i starijih osoba. Grah crnookica je također bogat izvor topivih vlakana koja pomažu našem tijelu u borbi protiv kolesterola, a s obzirom da sadrži malo natrija i puno kalija, može pomoći i kod snižavanja krvnog tlaka (Horvat, 2010).

Cilj ovog istraživanja jest utvrditi kako izloženost sjemenki svjetlosti djeluje na brzinu klijanja i rast klice različitih vrsta graha (mungo, azuki i crnookica). Prva pretpostavka je da će sve vrste graha brže proklijati i njihove klice će brže rasti ako se staklenke sa sjemenkama tijekom klijanja i rasta klice nalaze na tamnom mjestu. Druga pretpostavka je da je mungo grah najbolji izbor za uzgoj klica kod kuće.

METODE

Istraživanje je provedeno u prosincu 2024. i siječnju 2025. godine. Za istraživanje su odabrane tri vrste sjemenki graha (mungo, azuki i crnookica) od istog proizvođača (Vedrini, pakiranje od 1 kg) koje su cjenovno prihvatljive većem broju ljudi te su dostupne u većini supermarketa (slika 1).



Slika 1 Sjemenke mungo graha (lijevo), azuki graha (sredina) i graha crnookice (desno)



U istraživanju su praćene promjene varijabli u kontroliranim uvjetima:

Zavisna varijabla – broj prokljalih sjemenki i duljina klice.

Nezavisna varijabla – sjeme graha i Sunčeva svjetlost.

Kontrolirani uvjeti – voda i temperatura.

Korišteni materijali: sjemenke graha (mungo, azuki i crvenookica - 6 × 100 komada), staklenke (200 ml, 6 komada), sterilne gaze, elastična gumica (6 komada), mobitel (za fotografiranje), menzura (za mjerenje volumena prilikom namakanja i ispiranja) i dnevnik za vođenje bilješki.

Staklenke su oprane od nečistoća i sterilizirane 10 minuta u pećnici na 100°C. U pripremljene sterilizirane staklenke dodane su oprane sjemenke graha i obična vodovodna voda kako bi se sjemenke namočile i kako bi se ubrzao proces klijanja (omjer vode i sjemenki prilikom namakanja je 5:1):

- ☞ 1. i 2. staklenka sadrže 100 sjemenki mungo graha
- ☞ 3. i 4. staklenka sadrže 100 sjemenki azuki graha
- ☞ 5. i 6. staklenka sadrže 100 sjemenki graha crnookice

Nakon 12 sati namakanja sjemenke su isprane čistom vodom. Staklenke su prekrivene sterilnom gazom koja je pričvršćena elastičnom gumicom za otvor staklenke (slika 2) i nakošene su tako da otvorom dodiruju podlogu. Drugi je dio staklenke pod kutom od 30 do 50 stupnjeva kako bi se zaostala voda za ispiranje cijedila kroz gazu (ujedno u ovom položaju sjemenke imaju više zraka za klijanje). Prva, treća i peta staklenka smještene su u tamni prostor i predstavljaju eksperimentalnu skupinu dok su druga, četvrta i šesta staklenka izložene normalnim uvjetima u prostoriji – dnevna svjetlost (8 do 9 sati) te predstavljaju kontrolnu skupinu.



Slika 2 Pripremljene staklenke sa sjemenkama graha

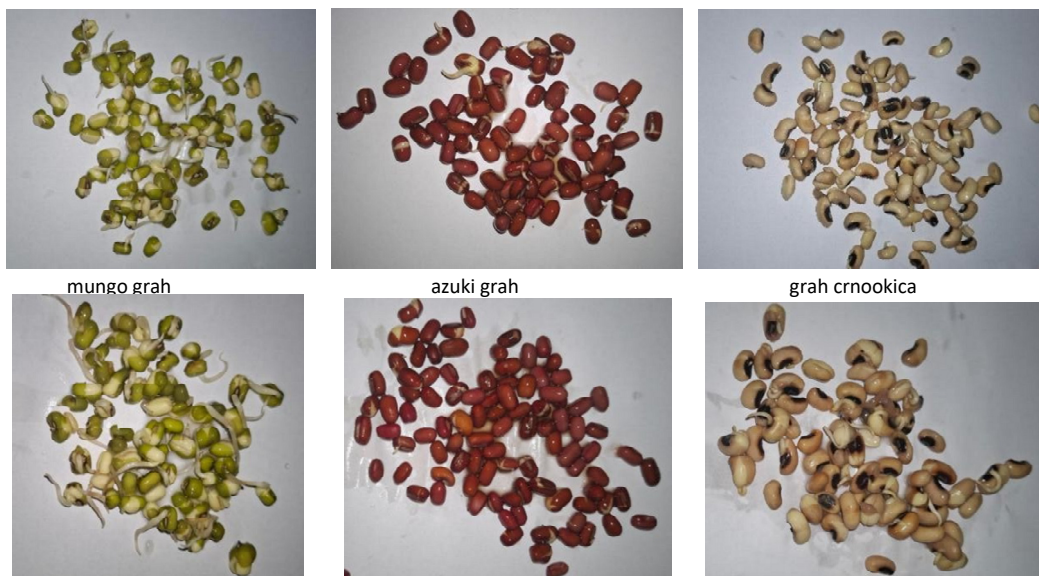
U razdoblju klijanja, sjemenke u svim posudama su triput dnevno ispirane vodovodnom vodom (dva puta s 200 mL) i ponovno postavljane u isti položaj kako bi se voda za ispiranje cijedila kroz gazu. Praćen je početak klijanja sjemenki te nakon klijanja sjemenki i brzina rasta klice. Kako bi mogle prebrojati prokljale sjemenke i kako bi izmjerile duljinu klica, sjemenke su svaki dan prije zadnjeg ispiranja pažljivo prebačene na papirnati ručnik, a zatim na bijeli papir (slika 3). Duljina klice mjerena je pomoću ravnala te je zbog neujednačenog rasta klica izračunata srednja duljina klice za svaku staklenku prema formuli za aritmetičku sredinu:

$$D_{(\text{prosječna})} = (D_1 + D_2 + \dots + D_n)/n$$

$D_{(\text{prosječna})}$ - prosječna duljina klice graha

$D_1, D_2 \dots D_n$ - duljine pojedinih klica graha

n - ukupan broj klica graha



Slika 3 Sjemenke graha koje kličaju u tami (gore) i na svjetlu (dolje) fotografirane prije ispiranja

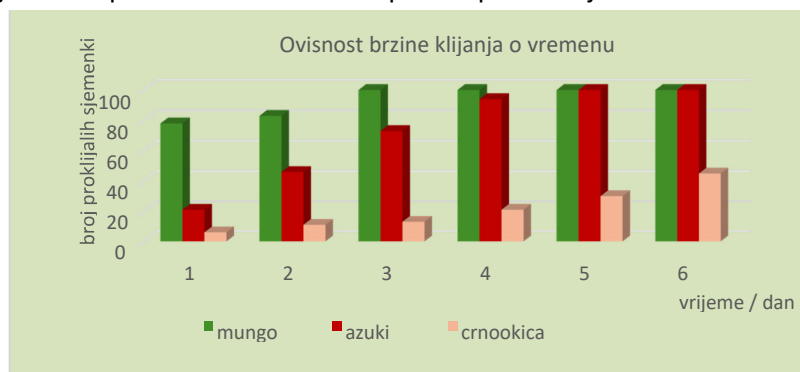
Promjene su svakodnevno bilježene u dnevnik i fotografirane kamerom mobitela. Nakon dobivanja klica željene duljine (3 do 5 cm), klice su posušene papirnatim ručnikom i spremljene u čistu hermetički zatvorenu posudu. Klice mungo graha su duže od klica crnookice i azuki graha (Cukrov, 2010). Rok trajanja ovako pripremljenih klica je kratak, dva do tri dana te ih je potrebno konzumirati u tom roku. Preporuka je da se klice prije konzumacije kratko termički obrade – približno dvije minute.

Postotak vidljivih klica izračunat je prema formuli:

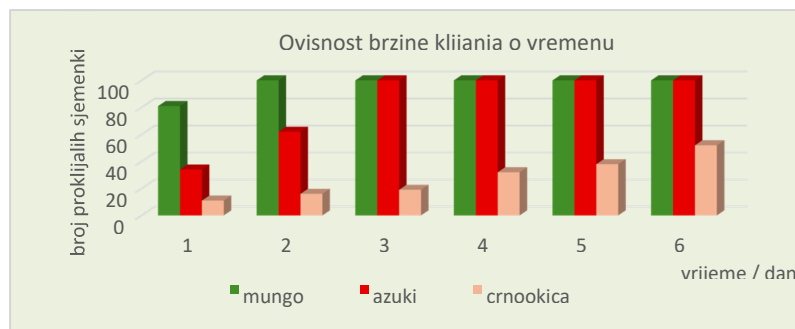
$$\text{Vidljive klice graha} = (\text{broj vidljivih klica u staklenki} / \text{ukupan broj sjemenki}) \times 100$$

REZULTATI

Uočeno je da sjemenke svih vrsta graha brže kličaju u tamnom prostoru (slike 4 i 5). Sve sjemenke mungo graha proklijale su u tami za dva dana, dok je za klijanje svih sjemenki izloženih svjetlu bilo potrebno tri dana. Za klijanje azuki graha u tami bilo je potrebno tri dana, a na svjetlu pet dana. Sjemenke crnookice nisu pokazale dobru klijavost ni u tami ni na svjetlu. Kako bi se isključile pogreške, pokus je ponovljen četiri puta i rezultati su svaki put bili približno jednaki.



Slika 4 Usporedba broja proklijalih sjemenki izloženih svjetlu za različite vrste graha



Slika 5 Usporedba broja prokljanih sjemenki smještenih u tamni prostor za različite vrste graha

Klice graha koje su bile izložene svjetlosti bile su zelenije od klica koje su rasle u tami (slika 6).



Slika 6 Klice graha crnookice, azuki i mungo u tami (lijevo) i klice graha crnookice, mungo i azuki na svjetlu (desno)

Svakodnevno je prebrojavan broj prokljanih sjemenki u staklenkama. Nakon šestog dana nije bilo pojave novih klica u staklenkama u kojima se nalazila crnookica te podaci za preostale dane nisu navedeni u tablici 1.

Tablica 1 Postotak vidljivih klica graha po danima

Vrsta graha	Mungo		Azuki		Crnookica	
Broj dana	svjetlo	tama	svjetlo	tama	svjetlo	tama
1	78 %	81 %	21 %	34 %	6 %	11 %
2	83 %	100 %	46 %	62 %	11 %	16 %
3	100 %	100 %	73 %	100 %	13 %	19 %
4	100 %	100 %	94 %	100 %	21 %	32 %
5	100 %	100 %	100 %	100 %	30 %	38 %
6	100 %	100 %	100 %	100 %	45 %	52 %

Budući da su uočene razlike u duljini klica u istoj staklenki, što je i razumljivo jer su sjemenke klijale različitom brzinom, izračunate su prosječne duljine klica prema formuli za aritmetičku sredinu:

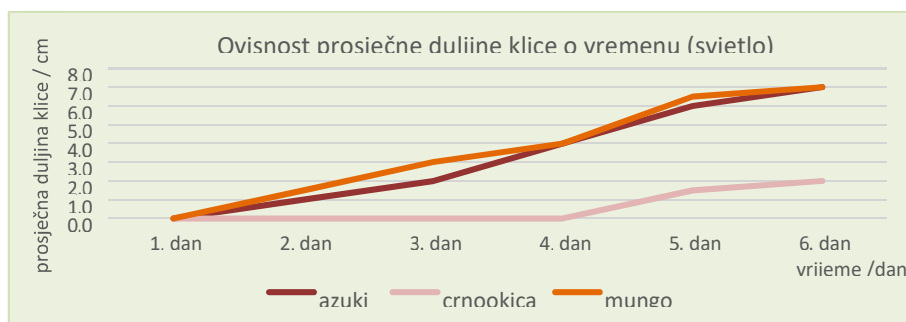
$$D_{(\text{prosječna})} = (D_1 + D_2 + \dots + D_n)/n$$

Podaci o prosječnim duljinama klica tijekom šest dana klijanja navedeni su u tablici 2.

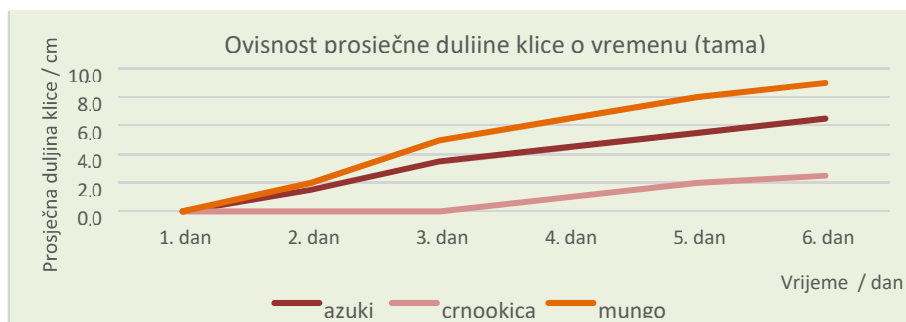
Tablica 2 Prosječna duljina klice graha po danima

		Duljina klice u cm					
		SVJETLO					
		1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan
Mungo	srednja duljina klice	0	1,5	3,0	4,0	6,5	7,0
Azuki	srednja duljina klice	0	1,0	2,0	4,0	6,0	7,0
Crnookica	srednja duljina klice	0	0	0	0	1,5	2,0
		TAMA					
		1. dan	2. dan	3. dan	4. dan	5. dan	6. dan
Mungo	srednja duljina klice	0	2,0	5,0	6,5	8,0	9,0
Azuki	srednja duljina klice	0	1,5	3,5	4,5	5,5	6,5
Crnookica	srednja duljina klice	0	0	0	1,0	2,0	2,5

Nakon izračuna prosječnih duljina klica graha grafički su prikazane brzine rasta klice različitih vrsta graha tijekom šest dana istraživanja (slike 7 i 8). Produljenim istraživanjem došlo je do pojave listova u staklenkama mungo i azuki graha te je istraživanje prekinuto. Kod graha crnookice produljeno istraživanje dovelo je do propadanja klica i sjemenki te podaci nakon šestog dana nisu prikazani.



Slika 7 Ovisnost prosječne duljine klice različitih vrsta graha o vremenu (svjetlo)



Slika 8 Ovisnost prosječne duljine klice različitih vrsta graha o vremenu (tama)

RASPRAVA

Klijanje biljaka je fiziološki proces koji započinje osiguravanjem povoljnih okolišnih uvjeta. Svaka sjemenka može proklijati, ali je važno obratiti pažnju da se za uzgoj klica koriste neobrađene i genetski nemodificirane sjemenke. Smatra se da i svjetlost kao vanjski čimbenik može utjecati na brzinu klijanja i kvalitetu rastuće klice. U skladu sa zaključcima koje navodi Dove (2010) dokazano je da sjemenke svih ispitivanih vrsta graha bolje kliju ako se staklenke sa sjemenkama nalaze u tami. Praćenjem klijanja i rasta klice utvrđeno je da su za uzgoj klica kod kuće dobar izbor mungo ili azuki grah jer oba imaju dobru klijavost i njihove klice su brzo spremne za uporabu (4 do 5 dana). Grah crnookica nije pokazao dobru klijavost i klice nisu bile zadovoljavajuće kakvoće što je vjerojatno i razlog zašto je u trgovinama zdrave hrane moguće kupiti klice mungo i azuki graha, ali ne i graha crnookice. Također je uočeno da su klice u staklenkama koje su bile izložene svjetlosti zelenije od onih koje su se nalazile u tami. To povezujemo s proizvodnjom klorofila (zelenog biljnog pigmenta) u klicama koje su tijekom dana bile izložene svjetlosti.

Kod ponavljanja eksperimenta zaključili smo da je istraživanje najbolje prekinuti između trećeg i petog dana kao što je u svojim istraživanjima opisao Dove (2010), jer su tada klice dovoljno dugačke, sadrže sve potrebne hranjive tvari i spremne su za uporabu. Osim toga, dulji period klijanja mogao bi dovesti i do propadanja klica, osobito ako se ne vodi računa o temperaturi na kojoj sjemenke kliju. Za većinu sjemena optimalna temperatura klijanja je od 11 do 21°C. Klice mungo graha u pravilu su duže od klica azuki graha i crnookice (Cukrov, 2010) što je i potvrđeno ovim istraživanjem.



Dobiveni rezultati potvrđuju pretpostavke da će sve vrste graha brže proklijati te da će njihove klice brže rasti ako se staklenke sa sjemenkama nalaze na tamnom mjestu. Djelomično je potvrđena i pretpostavka da je mungo grah najbolji izbor za uzgoj klica kod kuće jer se i azuki grah pokazao kao vrlo dobar izbor za uzgoj klica.

Kada bismo ponavljale istraživački rad, u istraživanje bismo uključile i druge mahunarke (leća, grašak) i žitarice (kukuruz, pšenica), jer smo iz literature (Lenard, 2013; Koloper, 2023) saznale da svaka od navedenih vrsta sadrži jako puno vitamina, minerala i enzima koji mogu poboljšati zdravlje organizma. Većini ljudi previsoka cijena zdravih proizvoda predstavlja veliki problem. Svojim istraživanjem smo dokazale da je klice lako uzgojiti kod kuće te bismo svim ljudima preporučili da ih uvrste u svoju prehranu kako bi ojačali svoj imunološki sustav i pomogli svom tijelu u borbi protiv bolesti.

Klice mungo i azuki graha koje smo dobile istraživanjem, nakon kratke termičke obrade, isprobale smo u salati i sendviču te smo ih ponudile i svojim ukućanima. Okus klica mungo i azuki graha, iako u početku malo čudan, bio nam je najbolji četvrti dan te ćemo u budućnosti grah tijekom zimskih mjeseci naklijavati samo do četvrtog dana.

ZAKLJUČCI

Rezultati koji su prikazani u ovom samostalnom istraživačkom radu dobiveni su promatranjem utjecaja svjetlosti kao vanjskog čimbenika na klijanje i brzinu rasta klice triju vrsta graha: mungo, azuki i crnookica. Na temelju dobivenih rezultata izvedeni su slijedeći zaključci:

- Različite vrste graha klijanju različitom brzinom, čak i ako su izložene istim uvjetima;
- Sjemenke brže klijanju i njihove klice brže rastu ako su smještene u tamni proctor;
- Mungo grah je najbolji izbor za uzgoj klica;
- Klice mungo i azuki graha moguće je uzgojiti kod kuće za 4 do 5 dana;
- Zbog male klijavosti, grah crnookica se ne preporučuje za uzgoj klica.

ZAHVALA

Zahvaljujemo učiteljici Hrvatskog jezika, Nataši Duvnjak Madaras, za lektoriranje teksta istraživačkog rada.

LITERATURA

- Barroso J.M. 2013. Provedbena uredba komisije (EU) br. 208/213, Službeni list Europske unije, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX%3A32013R0208>, pristupljeno 13.12.2024.
- Cukrov T. 2010. Klice. Planetopija, Zagreb.
- Dove N. 2010. The effect of increasing temperature on germination of native plant species in the North Woods region. University of Vermont, Burlington, USA.
- Horvat K. 2010. Crnooki grah – nova pšenica. <https://ordinacija.vecernji.hr/zdravi-tanjur/jedizdravo/crnooki-grah-nova-pšenica/>, pristupljeno 8.1.2025.
- Jenkins M.T. 2024. Why black-eyed peas, collard greens & cornbread? <https://visitclevelandtn.com/blog/southern-new-years-black-eyed-peas-tradition/>, pristupljeno 8.1.2025.
- Koloper M. 2023. Primjena klica i mikro zelenja u ugostiteljstvu. Završni rad, Veleučilište u Šibeniku.
- Lenard K. 2013. Zašto su klice zdrave? Sensa. <https://sensa.story.hr/Sretna-kuhinja/Hranalijeci/a2911/Zasto-su-klice-zdrave.html>, pristupljeno 13.12.2024.
- Mateljan G. 2008. Najzdravije namirnice svijeta. Planetopija, Zagreb.
- Štruml M. 2024. Bioaktivni i antioksidacijski potencijal klica. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet.
- Vrbetić G. 2015. Uzgoj neobičnog i novog povrća. Gospodarski list. <https://gospodarski.hr/rubrike/uzgoj-neobicnog-i-novog-povrca/>, pristupljeno 7.12.2024.
- Washa B. 2015. Potential of the dark as a factor affecting seed germination. International Journal of Science and Tehnology, 5(2): 28–30.

Kreativnost kao alat za očuvanje zdravlja: utjecaj na krvni tlak i puls

Maja Meštrović, 8. razred

Osnovna škola Stjepana Radića Brestovec Orehovički, Brestovec Orehovički

Mentor: Petra Međeral Ozimec

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja je ispitati potencijalni utjecaj kreativnosti na zdravlje mjerenjem krvnog tlaka i pulsa. Istraživanje je obuhvaćalo 100 učenika oba spola od petog do osmog razreda. Učenici su prvo popunili anketu kojom se utvrdilo koje aktivnosti vole odnosno ne vole. Potom su sudjelovali u provođenju triju različitih aktivnosti – aktivnost koju vole (društvene igre) odnosno ne vole (čitanje) te kreativne radionice („mozgalice“, izrada najvišeg tornja). Tijekom svih radionica mjerio se krvni tlak i puls po tri puta prije i nakon izvođenja radionica. Na temelju istraživanja i obrađenih podataka došlo se do zaključaka da ispitivane varijable (krvni tlak, puls) potencijalno mogu ukazivati na povezanost s kreativnošću jer su potvrđene pretpostavke da su krvni tlak i puls u istom rasponu prije i nakon izvođenja aktivnosti koja zanima učenike, ali da su se povećali prilikom rješavanja aktivnosti „mozgalica“ i izgradnje tornja od različitog materijala u ograničenom vremenu što je potencijalno utjecalo na kreativnost osobe u davanju rješenja. Kreativnost izgradnje tornja je došla do izražaja kad vrijeme nije bilo ograničeno, a krvni tlak i puls se nisu znatno promijenili. Ostaje nepotvrđena pretpostavka da će krvni tlak i puls rasti izvođenjem aktivnosti koju učenici ne vole (čitanje) - razlog: postoji vjerojatnost da su se učenici pravili da čitaju.

Cljučne riječi: kreativnost; krvni tlak; mentalno zdravlje; puls

UVOD

Kreativnost je pojam koji je teško objasniti. Kroz povijest se definicija kreativnosti jako mijenjala. Danas se kreativnost objašnjava kao sposobnost neke osobe da stvari promatra u nekom neobičnom i novom svjetlu, sposobnost stvaranja nečeg novog, rješavanja problema i slično na neki poseban i jedinstven način. Smatra se da svako dijete dolazi na svijet s kreativnim potencijalom. Na roditeljima je da ga potiču, njeguju te pomažu u njegovom razvoju. Kroz život je cilj svake osobe razvijati svoju kreativnost i raditi na njoj, jer je ona važna za poboljšanje ne samo mentalnog, već i fizičkog zdravlja. Mentalno zdravlje nije samo odsustvo nekog poremećaja ili bolesti, već i stanje dobrobiti u kojem pojedinac ostvaruje svoje potencijale, može i zna se nositi s različitim životnim stresovima, sposoban je raditi produktivno te pridonositi svojoj zajednici (UNICEF, 2024). Istraživanja dokazuju da kreativne osobe doživljavaju manje anksioznih i depresivnih smetnji, manje stresa te imaju veće samopoštovanje (Rukavina, 2022), što znači da kreativnost pozitivno utječe na mentalno zdravlje čovjeka.

Istražujući o kreativnosti, uočava se činjenica da je kreativnost teško mjerljiva. Ne postoji neki apsolutni standard kreativnosti. Nekima je kreativnost sposobnost rješavanja problema, dok je drugima kreativnost osmišljavanje i realizacija ideja koje su iskoristive. Također, socijalni kontekst (društvo kao cjelina) procjenjuje produkte i određuje koliko je jedan produkt kreativan u odnosu na druge ili koliko je jedna osoba kreativna u odnosu na druge. Jednu osobu jedna grupa ljudi (npr. amateri) može procijeniti kreativnom, dok je druga grupa ljudi (npr. stručnjaci) može procijeniti prosječnom ili nisko kreativnom (Arar i Rački, 2003).

Postoje različite metode i testovi koji se mogu koristiti za istraživanje kreativnosti, ali se svi oni trebaju međusobno kombinirati. Neki konkretni test ili metoda kojom bi se utvrdila nečija kreativnost ne postoji. To je bio glavni razlog zbog kojeg se u ovom radu odlučilo provjeravati krvni tlak i puls kao pokazatelje promjena koje se javljaju tijekom obavljanja kreativnih ili svakodnevnih aktivnosti.

Povezanost kreativnosti s fizičkim pokazateljima poput krvnog tlaka i pulsa može ukazivati na to kako kreativne aktivnosti utječu na fizičko i mentalno zdravlje. Stoga se odlučilo mjeriti krvni tlak i puls. Krvni tlak je pritisak krvi u krvnim žilama koji se stvara radom srca. Razlikujemo dvije vrijednosti krvnog tlaka. Jedna vrijednost nastaje kad se srce stegne i potiskuje veliku količinu krvi koja stvara pritisak na stjenku krvne žile (sistolčki tlak). Stjenke žila su pod pritiskom sve dok se srce ne opusti što dovodi do smanjenja tlaka, a to je druga njegova vrijednost (dijastolički tlak) (Bendelja i sur., 2020). Puls je broj otkucaja srca u jedinici vremena (broj otkucaja u minuti). Normalan krvni tlak odrasle osobe jest 120/80 mmHg, a puls 60 do 100 otkucaja, ali to ovisi o dobi i fizičkom stanju. Krvni tlak te otkucaji srca određene osobe mijenjaju se ovisno o godinama (Lopac Groš i Meštrović, 2018). Kod djece je niži nego kod odraslih osoba. Normalan krvni tlak djece u dobi od 6 do 13 godina jest 105/70 mmHg (slika 1), dok puls iznosi između 70 i 100 otkucaja po minuti (tablica 1) (Lopac Groš i Meštrović, 2018).



1 – 12 mjeseci	90 / 60
1 – 5 godina	95 / 65
6 – 13 godina	105 / 70
14 – 19 godina	117 / 77
20 – 24 godina	120 / 79
25 – 29 godina	121 / 80
30 – 34 godina	122 / 81
35 – 39 godina	123 / 82
40 – 44 godina	125 / 83
45 – 49 godina	127 / 84
50 – 54 godina	129 / 85
55 – 59 godina	131 / 86
60 – 64 godina	

Slika 1 Normalna vrijednost krvnog tlaka prema godinama života (Lopac Groš i Meštrović, 2018)

Tablica 1. Okviran broj otkucaja srca (Lopac Groš i Meštrović, 2018)

dobna skupina	broj otkucaja u minuti
dojenčad do 1. godine	100 – 160
djeca od 1. do 10. godine	60 – 140
djeca starija od 10 godina	60 – 100
odmorna trudnica	60 – 90
odmorna odrasla osoba	60 – 70
osoba tijekom vježbe	90 – 120
sportaš u dobroj kondiciji	10 – 60

Cilj ovog istraživanja je ispitati utječe li kreativnost na zdravlje mjerenjem krvnog tlaka i pulsa. Prva pretpostavka (hipoteza) je ako osobe rade nešto iz područja koje ih zanima, krvni tlak i puls će biti u granicama normale bez obzira na spol. Međutim, ako rade nešto iz područja koje ih ne zanima, krvni tlak i puls će biti povećani bez obzira na spol. Druga pretpostavka jest da se promjene krvnog tlaka i pulsa javljaju pri rješavanju problema u ograničenom vremenu (stresna situacija), što može utjecati na kreativnost ispitivane osobe.

METODE

Uzorak

Istraživanje je obuhvatilo učenike od petog do osmog razreda. Ukupno je sudjelovalo 100 učenika oba spola, 11 do 14 godina starosti – ukupno 44 djevojčice i 56 dječaka.

Tijek ispitivanja

Ispitivanje je započelo početkom studenog anketom (prilog 1) kojom se ispitalo koje aktivnosti učenici vole, odnosno ne vole raditi – slikanje, crtanje, gluma i improvizacija, pisanje priča, rješavanje zagonetki i mozgalica, plesanje, pjevanje, fotografiranje, čitanje knjiga, slaganje kocaka, rukotvorine (pletanje, šivanje), igranje društvenih igara, origami. Navedenim aktivnostima pokušalo se obuhvatiti što više polja različitih interesa i kreativnosti. Veći dio učenika se bavi nekim sportskim aktivnostima (u školi na izvannastavnim aktivnostima ili u sportskim klubovima), ali one nisu navedene jer se tijekom takve fizičke aktivnosti krvni tlak i puls povećavaju.

Nakon obrade podataka dobivenih anketom, provedene su radionice temeljene na različitim aktivnostima i popratnim mjerenjima krvnog tlaka i pulsa. Krvni tlak i puls mjereni su digitalnim tlakomjerom na udaljenosti od 1 cm od zgloba zapešća lijeve ruke (slika 2). Zaslon uređaja se položi na žile zgloba te zategne čičkom. Tlakomjer mora biti u ravnini srca, a osoba sjedi na stolcu (slika 3). Mjerenje krvnog tlaka i pulsa – prije i nakon aktivnosti – ponavljalo se tri puta za svaku osobu radi što preciznijih podataka (prilog 2).



Slika 2 Prikaz položaja tlakomjera na ruci

(izvor: <https://www.manualslib.com/manual/729284/Scala-Sc-6400.html>)



Slika 3 Položaj osobe i ruke pri mjerenju krvnog tlaka i pulsa tlakomjerom

(izvor: <https://www.manualslib.com/manual/>)

U prvoj radionici, učenicima su se mjerili krvni tlak i puls prije početka aktivnosti koju vole. Nakon mjerenja vrijednosti, učenici su sudjelovali u radionici u kojoj su radili aktivnost koju vole – aktivnost koja je od svih dobila najviše glasova u provedenoj anketi. Tu aktivnost izvodili su 15 minuta i onda im se ponovno mjerio krvni tlak i puls.

Druga radionica započela je također mjerenjem krvnog tlaka i pulsa, ali se u nastavku s učenicima provodila aktivnost za koju se izglasalo da najmanje vole. Aktivnost su izvodili 15 minuta i onda su se mjerili krvni tlak i puls.

Treća radionica se odvijala u dva dijela, a ispitanike se podijelilo u dvije skupine – kontrolnu i ispitivanu. Kontrolnu skupinu činili su učenici a-odjela (5.a, 6.a, 7.a, 8.a), a ispitivanu skupinu činili su učenici b-odjela (5.b, 6.b, 7.b, 8.b). U prvom dijelu ove radionice ispitivana skupina je dobila nekoliko mozgalica koje je trebala riješiti u danom vremenu od 15 minuta. Krvni tlak i puls su se mjerili prije i nakon rješavanja mozgalica (prilog 3). U drugom dijelu treće radionice, nakon početnog mjerenja krvnog tlaka i pulsa (mjerenje se ponavlja tri puta), ispitivana skupina je dobila kreativni izazov s vremenskim ograničenjem od 20 minuta. Nakon 15 minuta mjerili su se krvni tlak i puls. Kontrolna skupina radila je aktivnost bez vremenskog ograničenja. Kod njih su se krvni tlak i puls mjerili nakon 25 minuta. Aktivnost (kreativni izazov) se sastojala od istog zadatka za sve skupine ispitanika. U ovom dijelu radionice sudionici su mogli izabrati jednu od tri ponuđene skupine materijala: (i) štapići za ražnjiće i pluteni čepovi; (ii) drveni štapići i plastelin; (iii) papirnate slamke i selotejp. Bez obzira na odabranu skupinu



materijala, svi su imali isti zadatak – izgraditi što viši toranj koji bi mogao podnijeti težinu pune limenke (340 g) barem jednu minutu.

Usporedbom dobivenih mjerenja krvnog tlaka i pulsa na početku i na kraju radionica dobio bi se uvid o utjecaju aktivnosti na krvni tlak i puls, a neposredno preko toga i o mentalnom stanju osobe. Sve aktivnosti završene su tijekom veljače 2025. godine.

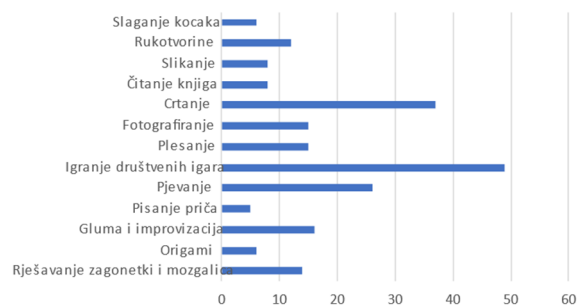
REZULTATI

U istraživanju je sudjelovalo 100 učenika predmetne nastave oba spola, 11 do 14 godina starosti. Analizirajući anketu koju su na početku istraživanja učenici popunili, dobili su se zanimljivi rezultati. Većina (62 %) je navela da voli fizičke aktivnosti poput timskog sporta u kojima mogu pokazati svoje znanje, spretnost i kreativnost (slika 4). Tu aktivnost je navela većina dječaka koji treniraju po raznim sportskim klubovima te redovito pohađaju izvannastavne sportske aktivnosti. Ostali dio ispitanika (38 %) je naveo da im odgovara mirnija aktivnost poput crtanja ili čitanja. U tom mirnijem području prevladavaju djevojčice.

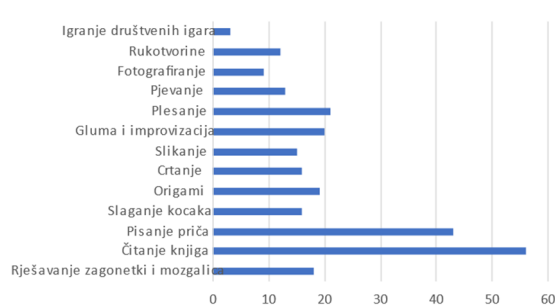


Slika 4 Prikaz rezultata ankete koju aktivnost učenici više vole

Drugi dio ankete je sadržavao popis raznih aktivnosti koje su navedene kao mirnije. Učenici su trebali zaokružiti dvije aktivnosti koje vole i dvije koje ne vole. Prema dobivenim rezultatima uočava se da dvije aktivnosti koje učenici vole su društvene igre pa crtanje (slika 5).



Slika 5 Aktivnosti koje učenici vole

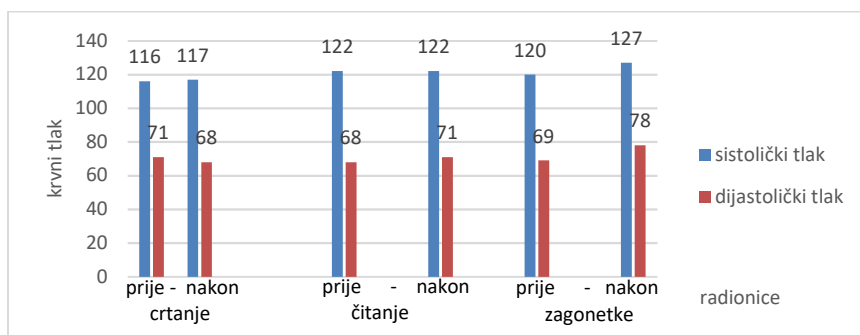


Slika 6 Aktivnosti koje učenici ne vole

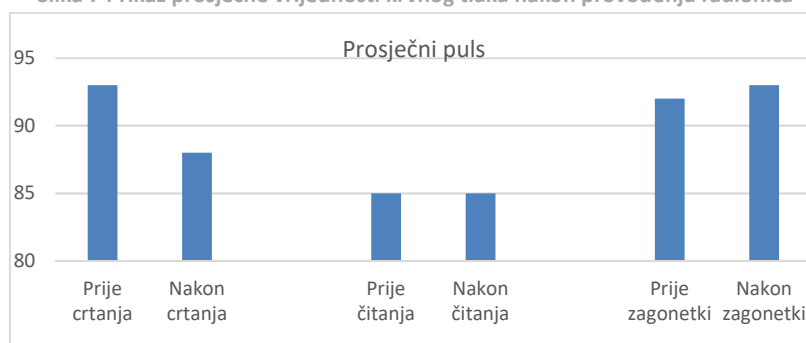
Od aktivnosti koje ne vole, uočava se da je veliki broj njih navelo čitanje pa pisanje priča (slika 6). Ovi podaci se podudaraju s današnjim trendom slabog odnosno rijetkog čitanja među mladima.

Nakon analize ankete, krenulo se s radionicama. Započelo se s radionicom koju vole – društvene igre. Igralo se UNO i Čovječe ne ljuti se. Međutim, uočilo se da je većina učenika to toliko borbeno i srčano igrala te im je krvni tlak kao i puls rastao. Iz tog razloga, krenulo se s drugom po redu na listi radionica koju vole – crtanje (prilog 3).

Mjerenja prije i nakon radionice crtanja pokazuju da su se krvni tlak i puls nakon radionice neznatno smanjili (slika 7 i slika 8), što znači da ih je ova radionica opustila te su mogli pokazati i svoju kreativnu stranu (prilog 3). Krvni tlak i puls kod radionice čitanja bili su gotovo podjednaki prije i nakon radionice. Kod radionice rješavanja zagonetki i mozgalica uočilo se da su mjerenja krvnog tlaka i pulsa bila manja nego nakon radionice (slika 7 i slika 8). Tijekom ove radionice vrijeme rješavanja zadataka je bilo ograničeno.



Slika 7 Prikaz prosječne vrijednosti krvnog tlaka nakon provođenja radionica



Slika 8 Prosječan puls tijekom odvijanja radionica

Zadnja aktivnost koju su učenici odradili vezana je uz kreativnost. Učenici su sami izabrali jednu od tri skupine ponuđenih materijala (štapići za sladoled + plastelin, štapići za ražnjiće + pluteni čepovi, papirnate slamčice + selotejp) i pokušali osmisлити dizajn za najviši toranj koji bi mogao podnijeti težinu konzerve od 340 g. Nije bilo ograničenja u količini upotrijebljenog materijala. Učenici ispitivane skupine (učenici b – odjela: 5.b, 6.b, 7.b, 8.b) imali su ograničeno vrijeme za izradu tornja – 15 minuta. Najčešće birani materijali su bili plastelin i štapići, potom štapići za ražnjiće i pluteni čepovi, a tek na kraju papirnate slamčice i selotejp (izabralo ih je samo dvoje učenika od 35). Što se vrijeme bližilo kraju, učenici koji su svojim dizajnom bili daleko od završetka su počeli biti nervozni i polako su odustajali. Završna visina dizajna se većinom kretala od 10 cm za plutene čepove i štapiće za ražnjiće (slika 9) te za plastelin i štapiće (slika 10) do 32-34 cm (slika 11).



Slika 9 Primjeri nekih radova od štapića za ražnjiće i plutenih čepova (10 cm) (fotografije: M.M.)

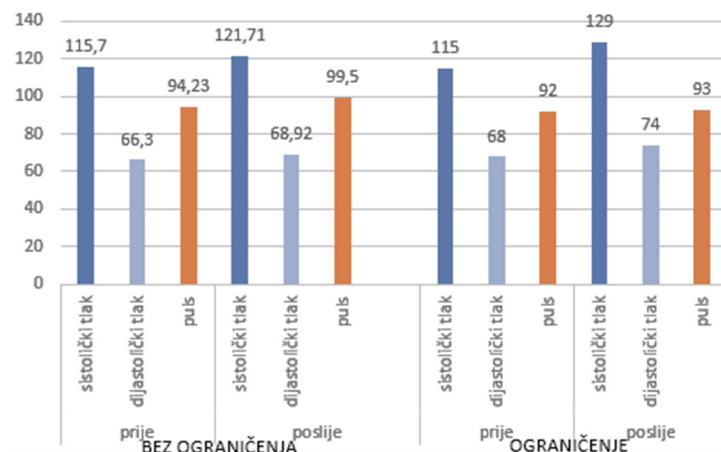


Slika 10 Primjeri nekih radova od plastelina i drvenih štapića (10 cm) (fotografije: M.M.)



Slika 11 Najviši toranj od plastelina i štapića za ražnjiće (34 cm) – lijevo i najviši toranj od štapića za ražnjiće i plutenih čepova (32 cm) – desno (fotografije: M.M.)

Krvni tlak i puls ove grupe ispitivanih učenika je porastao u odnosu na početno mjerenje (slika 12). Kontrolnu skupinu, koja nije imala ograničeno vrijeme izrade dizajna, čine učenici a-odjela (5.a, 6.a, 7.a, 8.a). Rezultati mjerenja krvnog tlaka i pulsa na početku i na kraju kreativne radionice nisu ukazali na znatne promjene. I krvni tlak i puls su se neznatno promijenili (slika 12).



Slika 12 Usporedba krvnog tlaka i pulsa na početku i na kraju kreativne aktivnosti bez ograničenog vremena (lijevo) i s ograničenim vremenom (desno)

RASPRAVA

Ovim istraživanjem obuhvaćeni su učenici oba spola predmetne nastave, od 5. do 8. razreda. Ukupno je bilo ispitano 100 učenika.



Već tijekom provedbe prve radionice naišlo se na nekoliko problema – pojedini učenici su bili bolesni (vladala je sezona gripe), bilo je teško osigurati jednake uvjete za sve ispitivane učenike jer je škola mala i nemamo dovoljno prostora. Stoga se i te činjenice uzimaju u obzir kod iznošenja zaključaka.

Nakon obrađene ankete, uočilo se da većina učenika (62 %) voli sportske aktivnosti te pohađaju razne sportske aktivnosti i treniraju u sportskim klubovima. Sportske aktivnosti nisu bile predviđene kao dio istraživanja, jer pri bilo kojoj fizičkoj aktivnosti raste krvni tlak i puls. To je normalna fiziološka reakcija jer organizmu treba više energije za izvršavanje rada. Analizom dobivenih podataka koje dvije „mirnije“ aktivnosti učenici vole dobili su se rezultati da najviše vole igrati društvene igre (49 %) i crtanje/bojanje (35 %). Razumljivo je da ostaje mogućnost da dio ispitanih učenika upravo jednu od ovih dviju aktivnosti ne voli. Pokušalo se organizirati da aktivnost koju vole rade samo učenici koji su to i zaokružili, ali se dogodilo da su učenici koji nisu sudjelovali u toj aktivnosti počeli ometati učenike koji jesu. Drugi prostor (učionicu) za ispitivane učenike nije se moglo osigurati. Iz toga razloga se odustalo od te ideje i vratilo se na prvi plan izvođenja istraživanja – da svi odrađuju aktivnosti koje su dobile najviše glasova. Isto se odnosi i na aktivnosti koje ne vole, a to su čitanje (57 %) i pisanje (43 %).

Igranje društvenih igara je dobilo najviše glasova. Međutim, tijekom igranja UNO karata i „Čovječje, ne ljuti se“, učenici su se počeli svađati i dogovarati strategije kako da netko pobjedi ili izgubi. Zbog toga se ta aktivnost zamijenila aktivnošću crtanja i bojanja. Krvni tlak i puls su se snizili tijekom radionice što dovodi do zaključa da su se učenici opustili i usredotočili na zadatak. Stanje usredotočenosti u koje se ulazi kada se zadubi u ono što se radi i prilikom toga se uživa, povezano je s poboljšanim raspoloženjem te se javlja osjećaj zadovoljstva (Rukavina, 2022), a to se potencijalno može odraziti na krvni tlak i puls.

Treća radionica obuhvaćala je rješavanje zagonetki i „mozgalica“ u ograničenom vremenu. Tu se tijekom rješavanja uočilo da su učenici bili zbunjeni, pokušali su naći rješenje, mrmljali su sebi u bradu što bi moglo biti rješenje, postajali su nemirniji. To je rezultiralo povišenim tlakom, što se podudara s činjenicom da će se osobama povisiti krvni tlak i puls kad rade nešto što im ne ide olako.

Zadnja aktivnost je ustvari bila radionica u kojoj su učenici trebali pokazati svoju kreativnost. Ponuđeno je nekoliko skupina različitog materijala i rečeno je da se napravi najviši toranj. Na učenicima je bilo kako će ga osmisliti i izgraditi.

Primijetilo se da su učenici tijekom radionice izrade tornja kod koje nije bilo ograničeno vrijeme bili jako koncentrirani i puni ideja. Kako je vrijeme radionice teklo tako se počelo pojavljivati poboljšanje raspoloženja i osjećaj zadovoljstva – pogotovo kod onih koji su izgradili toranj, a to je bila većina (95 %). Uočilo se da je jedan dio učenika kod ograničenog vremena izrade imao nedoumice kako napraviti toranj, po nekoliko puta su kretali ispočetka. Međutim, čim se reklo da je vrijeme isteklo i izmjerio se krvni tlak i puls, svima je bilo dopušteno da dovrše ili dorade svoj toranj. Učenici koji su bili neodlučni kako napraviti toranj su tada u vrlo kratkom vremenu izgradili toranj s kojim su bili zadovoljni. Ovu zadnju radionicu bi mogli povezati s pristupanjem svakodnevnom izazovima na originalni način, a ta „svakodnevna“ kreativnost može osnažiti psihičko zdravlje (Rukavina, 2022), odnosno mentalno zdravlje.

Treba napomenuti da su krvni tlak i puls iznimno varijabilni parametri na koje utječe niz okolnih i fizioloških čimbenika poput nenaspavanosti, umor osobe, prehrana, događaji od prethodnog dana i



drugo. Osim ovih parametara na kreativnost mogu utjecati i osobine ličnosti, inteligencija, znanje, stilovi mišljenja i motivacija (Arar i Rački, 2003).

ZAKLJUČCI

Na temelju istraživanja i obrađenih podataka došlo se do zaključaka:

- ☛ Ispitivane varijable (krvni tlak, puls) potencijalno mogu ukazivati na povezanost s kreativnošću;
- ☛ Potvrđene su sljedeće pretpostavke: (i) krvni tlak i puls su u istom rasponu prije i nakon izvođenja aktivnosti koja zanima učenike, (ii) krvni tlak i puls su se povećali prilikom rješavanja aktivnosti rješavanja „mozgalica“ i izgradnje tornja u ograničenom vremenu, što je potencijalno utjecalo na kreativnost osobe u davanju rješenja, (iii) kreativnost izgradnje tornja je došla do izražaja kad vrijeme nije bilo ograničeno, a krvni tlak i puls se nisu znatno promijenili;
- ☛ Nepotvrđena je sljedeća pretpostavka: krvni tlak i puls se nisu znatno promijenili tijekom izvođenja aktivnosti koju učenici ne vole (čitanje) (mogući razlog: postoji vjerojatnost da su se učenici pravili da čitaju).

LITERATURA

- Arar LJ., Rački Ž. 2003. Prirodna kreativnost. Psihologijske teme 12: 3–22.
- Bendelja D., Lukša Ž., Roščak R., Orešković E., Pavić M., Pongrac N. 2020. Biologija 7 - udžbenik biologije s dodatnim digitalnim sadržajima u 7. razredu osnovne škole. Školska knjiga, Zagreb.
- Lopac Groš A., Meštrović O. 2018. Biologija 8: Krvotok i zamjena plinova. EDUTORIJ - Hrvatska akademska i istraživačka mreža – CARNET. <https://edutorij-admin-api.carnet.hr/storage/extracted/3b8a4b4e-84b0-4580-aa6f-e38efe028ed9/biologija-8/m04/j01/index.html>, pristupljeno 7.1.2025.
- Manulaslib. 2025. Scala SC 6400 Instructions for use. <https://www.manualslib.com/manual/729284/Scala-Sc-6400.html>, pristupljeno 10.1.2025.
- Rukavina T. 2022. Kreativnost i psihičko zdravlje. <https://www.kakosi.hr/2022/06/24/kreativnost-i-psihicko-zdravlje/>, pristupljeno 29.12.2024.
- UNICEF. 2024. Mentalno zdravlje – važni pojmovi. UNICEF za svako dijete Hrvatska. <https://www.unicef.org/croatia/mentalno-zdravlje-vazni-pojmovi>, pristupljeno 29.12.2024.



PRILOZI

Prilog 1 Primjer ankete

Poštovani ispitanici,

pred vama je anketa. Svrha ove ankete je izrada istraživačkog rada koji obrađuje tematiku utjecaja kreativnosti na mentalno zdravlje. Sve informacije, mišljenja, odgovori koji se prikupe prilikom ovog anketiranja bit će korišteni isključivo za potrebe ovog istraživanja i u druge se svrhe i namjene neće koristiti. Ovim se anketnim upitnikom ispituju vaši stavovi i mišljenja (kao i vaša iskustva) vezana uz element kreativnosti u vašem životu. Nema točnih i netočnih odgovora. Zanimaju nas vaše iskreno mišljenje i stavovi. Upitnik je anoniman i nije se potrebno potpisivati. Hvala na suradnji. Odgovara se zaokruživanjem jednog od ponuđenih odgovora:

1. Zaokruži - SPOL	2. Zaokruži – STAROSNA DOB	3. Zaokruži - RAZRED	4. Zaokruži - Voliš li se više baviti fizičkim ili <u>nefizičkim</u> aktivnostima (npr. crtanje, čitanje)
a) M b) Ž	a) 11 b) 12 c) 13 d) 14	a) 5. b) 6. c) 7. d) 8.	a) fizičke aktivnosti b) <u>nefizičke</u> aktivnosti

5. Zaokruži dvije aktivnosti koje **najviše voliš**:

- a) Crtanje
- b) Slikanje
- c) Gluma i improvizacija
- d) Pisanje priča
- e) Rješavanje zagonetki i mozgalica
- f) Plesanje
- g) Pjevanje
- h) Fotografiranje
- i) Čitanje knjiga
- j) Slaganje kocaka
- k) Rukotvorine
- l) Igranje društvenih igara
- m) Origami

6. Zaokruži dvije aktivnosti koje **ne voliš**:

- a) Crtanje
- b) Slikanje
- c) Gluma i improvizacija
- d) Pisanje priča
- e) Rješavanje zagonetki i mozgalica
- f) Plesanje
- g) Pjevanje
- h) Fotografiranje
- i) Čitanje knjiga
- j) Slaganje kocaka
- k) Rukotvorine
- l) Igranje društvenih igara
- m) Origami

Prilog 2 Tablica mjerenja krvnog tlaka i pulsa prije i nakon radionice aktivnosti

Tablica mjerenja krvnog tlaka i pulsa prije i nakon radionice aktivnosti koju učenici najviše vole											
Uč	Do	Spol	Mjerenje radionice		prije		Prosjeak	Mjerenje nakon radionice		nakon	
			Tlak	Puls	Tlak	Puls	tlaka	Tlak	Puls	tlaka	pulsa
1.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
2.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
3.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
4.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
5.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
6.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
7.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
8.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
9.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			
10.			1.					1.			
			2.					2.			
			3.					3.			

Prilog 3 Primjeri crteža nakon radionice koju učenici vole (fotografija: M.M.)



Utjecaj tjelesne aktivnosti na kratkoročno pamćenje

Eva Grgić, 8. razred

Osnovna škola Svete Ane u Osijeku, Osijek
Mentor: Vedrana Majstorović, Ana Pilipović

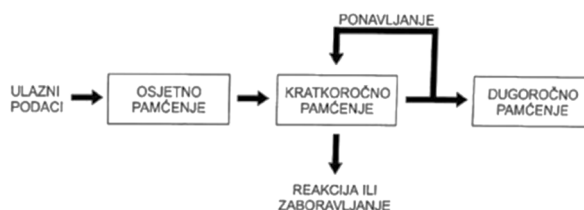
SAŽETAK

Tjelesna aktivnost je svaki pokret tijela izveden aktivacijom skeletnih mišića koji rezultira potrošnjom energije. Postoji više vrsta tjelesne aktivnosti uključujući aerobne vježbe, vježbe za jačanje mišića, vježbe za jačanje kostiju, izometrijske vježbe, vježbe ravnoteže i fleksibilnosti. Pamćenje omogućuje zadržavanje podataka koje primamo iz okoline te njihovo korištenje u određenim trenucima. Tri vrste pamćenja su senzorno, kratkoročno i dugoročno. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utječe li tjelesna aktivnost na pamćenje učenika osmih razreda kroz različite vrste tjelesne aktivnosti i tipove zadataka. U istraživanju su korištene aerobne vježbe, vježbe za jačanje mišića i izometrijske vježbe. Istraživanje je provedeno kroz tri ciklusa testiranja, odnosno tri sata tjelesne i zdravstvene kulture. Ukupno je sudjelovalo 35 učenika osmih razreda. Svako je testiranje uključivalo četiri istovrsna zadatka, ali se niti u jednom zadatku nisu ponavljali pojmovi iz prethodnih zadataka. Prvo testiranje uključivalo je zadatke pamćenja pojmova, drugo testiranje zadatke pamćenja nizova sličica, a treće je testiranje uključivalo zadatke provjeravanja razumijevanja pročitaneog teksta. Zadatke su učenici rješavali prije izvođenja vježbi (kontrola) i nakon izvođenja svake vježbe. U prvom zadatku svakog testiranja nisu korištene niti jedne vježbe, u drugom zadatku korištene su izometrijske vježbe, u trećem vježbe za jačanje mišića, a u četvrtom aerobne vježbe. Dobiveni rezultati pokazali su kako je najbolje pamćenje pojmova postignuto uz vježbe snage, a aerobne vježbe su također pozitivno utjecale na uspješnost izvođenja ovog zadatka. Tjelesna aktivnost nije statistički značajno utjecala na pamćenje sličica i razumijevanje pročitaneog teksta.

Ključne riječi: *pohrana informacija; aerobne vježbe; vježbe za jačanje mišića; izometrijske vježbe*

UVOD

Da bi osoba doživjela podražaj i kasnije na njega reagirala, mora postojati sposobnost pohrane u pamćenje. To znači da osoba mora imati pamćenje, odnosno mjesto na koje će pohraniti informacije, stoga bismo pamćenje mogli definirati kao postupak usvajanja, zadržavanja i korištenja podataka (Zarevski, 2007) te mogućnost pronalaženja pohranjenih informacija radi njihove uporabe u danom trenutku (Sternberg, 2004). U tom smislu, pamćenje funkcionira u tri faze: obrada, pohrana i pronalazak informacija (Krklec, 2017). Prema duljini trajanja zadržavanja informacija pamćenje se dijeli na tri osnovna sustava: senzorno, kratkoročno i dugoročno. Kod senzornog pamćenja informacije se zadržavaju vrlo kratko, od pola sekunde za vid do dvije sekunde za sluh (Zarevski, 2007), kod kratkoročnog od nekoliko sekundi do nekoliko minuta, dok se kod dugoročnog pamćenja informacije pamte u više dana i tjedana, mjesecima, godinama, a neke i trajno. Kratkoročno pamćenje je središte ili raskršće aktivnosti u sustavu obrade informacija. Informacije pohranjene u kratkoročno pamćenje vjerojatno ćemo zaboraviti, ali se njihovim učestalim korištenjem, odnosno ponavljanjem može postići dugoročno pamćenje (slika 1). Dugoročno pamćenje dijeli se na deklarativno (znanje činjenica) i proceduralno (kako što činiti) (Anderson, 1976).



Slika 1 Model kratkoročnog pamćenja (Atkinson i Shiffrin, 1968)



Istraživanja su pokazala pozitivan utjecaj tjelesne aktivnosti na koncentraciju, povećanu usmjerenost na školske zadatke, poboljšanje ponašanja učenika kao i na pamćenje (Trudeau i Shephard, 2008; Podnar i sur., 2018). Tjelesna aktivnost može se definirati kao svaki pokret tijela izveden aktivacijom skeletnih mišića koji rezultira potrošnjom energije (Caspersen i sur., 1985). Postoji više vrsta tjelesne aktivnosti uključujući aerobne vježbe, vježbe za jačanje mišića, vježbe za jačanje kostiju, izometrijske vježbe, vježbe ravnoteže i fleksibilnosti. Aerobne vježbe su vježbe poput trčanja, plivanja, plesa i vožnje bicikla. Vježbe za jačanje mišića uključuju dizanje utega i korištenje elastičnih traka ili tjelesne mase kao otpora, a izometrijske vježbe su one koje uključuju kontrakciju mišića bez promjene dužine mišića ili pokreta zgloba. Izometrijske vježbe su izdržaj u skleku (engl. *plank*), izdržaj u čučnju ili držanje neke druge pozicije dok se mišići kontrahiraju. Svakodnevne aktivnosti koje uključuju fizički napor mogu se nazvati tjelovježbom. To su primjerice pospremanje ili usisavanje doma. Tjelesna aktivnost je važna, jer utječe na tjelesno i mentalno zdravlje te na kvalitetu života (Pintar, 2020; Stojaković, 2019). Između ostalog, redovito vježbanje pridonosi sniženju kolesterola, smanjenju postotka tjelesne masnoće, ublažava posljedice dijabetesa, smanjuje tjelesnu težinu i krvni tlak (Paffenbarger, 1994; Pate i sur., 1995). Kao što su istraživanja potvrdila fiziološku dobrobit redovite tjelesne aktivnosti, također su potvrdila i psihološku dobrobit vježbanjem. Tjelovježba smanjuje stres i anksioznost te ima emocionalni efekt kod ljudi u svim godišnjim dobima i kod oba spola (Grošić i Filipčić, 2019).

Erickson i sur. (2011) istraživanjem su potvrdili da je redovna aerobna aktivnost, kod koje se ubrzava srčani ritam i pojačava znojenje, značajno utjecala na veličinu hipokampusa – područja mozga uključenoga u verbalnu memoriju i učenje. Brojna istraživanja pokazuju da određene tjelesne aktivnosti, određenoga intenziteta različito utječu na našu tjelesnu i/ili mentalnu učinkovitost. Jedno od istraživanja potvrdilo je da tjelesna aktivnost visokog intenziteta utječe na poboljšanje procesuiranja informacija, dok vježbanje umjerenim intenzitetom potiče radno pamćenje te je bolje za rješavanje zadatka koje zahtijeva visoku koncentraciju i pažnju (McMorris i Hale, 2012).

Sama tjelesna aktivnost u smislu tjelovježbe utječe na bolji protok kisika u dijelovima mozga, što dovodi do poboljšanja rada mentalnih funkcija (Babić, 2018). Osim poboljšanja kognitivnih sposobnosti, uočeno je i da su tjelesno aktivniji pojedinci općenito boljeg zdravstvenog stanja. Tjelesna aktivnost pridonosi smanjenju tjelesne mase te pomaže u prevenciji dijabetesa, povišenog krvnog tlaka, raka i sličnih bolesti (Mikkelsen i sur., 2017). Tjelovježba poboljšava i mentalno zdravlje. Istraživanjem je dokazano povećanje samopoštovanja kod učenika koji se bave tjelovježbom, kao i smanjena količina stresa i anksioznosti (Marić i sur., 2020).

Bez obzira na sve navedene dobrobiti tjelovježbe, moderan način života dovodi do smanjenja fizičkih aktivnosti kod ljudi, posebice djece školske dobi. Kim i sur. (2015) uočili su kako učenici zanemaruju redovnu tjelovježbu, a pojačano koriste mobilne uređaje i okreću se sve više sjedilačkom načinu života. Također, suvremeni način života i smanjena tjelesna aktivnost dovodi do problema s učenjem, pažnjom i koncentracijom (Rauner i sur., 2013). Zašto je učenje učinkovitije nakon, a ne prije treninga te u kojoj mjeri tjelesna aktivnost utječe na naše pamćenje i sposobnost učenja, pitanja su koja su potaknula daljnje istraživanje ove problematike. Ova pitanja bila su i osnova cilja ovog istraživanja, koje je imalo za svrhu utvrditi postoji li utjecaj tjelesne aktivnosti na kratkoročno pamćenje te koje vrste vježbi najviše utječu na izvedbu određenih zadataka. Do sada su brojna istraživanja dokazala pozitivan utjecaj



tjelovježbe na kratkoročno pamćenje učenika (Etnier i sur., 2020; Polevoy, 2022). Istraživanja su dokazala kako aerobne vježbe poboljšavaju pohranu informacija (Ardyarini i sur., 2018). Obzirom na ranija istraživanja, pretpostavka je da će veći utjecaj na pamćenje kod učenika imati aerobne vježbe, jer su to vježbe većeg intenziteta koje utječu na poboljšanje u procesuiranju informacija, dok će manji utjecaj imati izometrijske vježbe i vježbe snage.

METODE

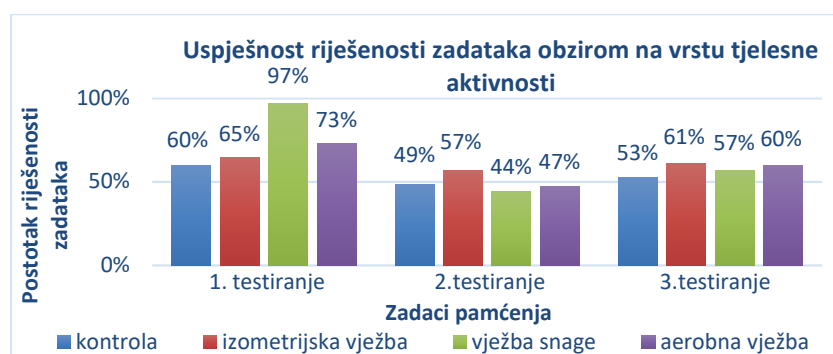
Istraživanje je provedeno u školskoj dvorani tijekom tri sata tjelesne i zdravstvene kulture. Uzorak je uključivao dvije skupine učenika, odnosno dva osma razreda naše škole. Zbog izostanaka učenika u danima testiranja, svaki krug istraživanja nije imao jednak broj ispitanika (u prvom testiranju sudjelovalo je 35, u drugom testiranju 37, a u trećem testiranju 40 ispitanika). Kako nisu svi ispitanici (učenici) bili u mogućnosti pristupiti svim fazama istraživanja, u obzir su uzeti rezultati onih ispitanika koji su sudjelovali u svim fazama istraživanja. Stoga je ukupan broj ispitanika bio 35.

Istraživanje se sastojalo od tri faze: pripreme zadataka, provođenja testiranja i analize podataka. Testiranje je obuhvatilo tri ciklusa, a svaki je ciklus uključivao četiri slična zadatka. Pri tome, nijednom nisu ponavljani pojmovi iz prethodnih ili nadolazećih zadataka. Prije početka testiranja ispitanicima je objašnjen cilj i način provođenja istraživanja te su podijeljene suglasnosti za pristanak roditelja/skrbnika učenika za provedbu ispitivanja, kako bi se podatci mogli koristiti u istraživanju. U prvom testiranju ispitanici su trebali upamtiti 10 riječi navedenih na papiru u 20 sekundi (prilog 1). Po isteku vremena, zadatak je bio prepoznati i za tri ponuđene riječi odrediti je li riječ bila jedna od navedenih ili nije. Učenici su isto ponovili još tri puta, ali prije rješavanja zadatka izvodili su izometrijsku vježbu izdržaj u položaju za sklek (engl. *plank*), vježbu snage (sklekove) i aerobnu vježbu (marince; engl. *burpee*) u vremenu od 30 sekundi. Svih 10 riječi koje su trebali upamtiti prije izvođenja vježbe su u svakom ponavljanju bile različite (prilog 1). U drugom testiranju ispitanici su trebali upamtiti niz sličica u vremenu od 30 sekundi (prilog 2). Po isteku vremena, zadatak im je bio odrediti redoslijed niza sličica koji su prethodno upamtili. Učenici su isto ponovili još tri puta, ali prije rješavanja zadatka izvodili su izometrijsku vježbu izdržaj u čučnju, vježbu snage trbušnjake i aerobnu vježbu skok uz podizanje ruku (engl. *jumping jacks*) u vremenu od 30 sekundi. Niz sličica koji su trebali upamtiti je u svakom od ponavljanja bio različit (prilog 2). U trećem testiranju učenici su dobili informativni tekst o nekoj osobi (za koju je potvrđeno da nisu čuli) (prilog 3). Za čitanje teksta imali su 3 minute. Potom su imali zadatak odgovoriti na postavljena pitanja tako da odrede je li tvrdnja vezana uz pročitani tekst točna ili netočna. Učenici su isto ponovili još tri puta, ali prije rješavanja zadatka izvodili su izometrijsku vježbu izdržaj s podignutim kukovima, vježbu snage leđnjake i aerobnu vježbu visoki skip u vremenu od 30 sekundi. Informativni tekst je u svakom od ponavljanja bio različit (prilog 3). Informativni tekstovi uzeti su iz knjige „Kad odrastem želim biti liječnik, priče o hrabrim hrvatskim liječnicima i liječnicama koji su promijenili svijet“ (Barat i Prošev, 2020). Treća faza istraživanja je uključivala analizu prikupljenih podataka. U prvom testiranju za svaki zadatak vrijedi: svaki točan odgovor nosi 1 bod, a ukupno zadatak nosi 3 boda. U drugom testiranju za svaki zadatak vrijedi: cijeli točno određen niz sličica nosi 2 boda, a polovičan 1 bod. U trećem testiranju za svaki zadatak vrijedi: svaki točan odgovor donosi 1 bod te ukupno zadatak nosi 10 bodova. Na temelju bodova određena je srednja vrijednost točno riješenih zadataka za svaki zadatak i vrstu vježbe te je prikazana u obliku postotka i dijagrama. Tijekom istraživanja su korištene više od tri nezavisne skupine (kontrola i vrste vježbi) te su numeričke varijable

testirane analizom varijance (ANOVA). Razina značajnosti je postavljena na $p = 0,05$. Za statističku analizu korišten je statistički program JASP 0.19.3.

REZULTATI

Uspješnost riješenosti prvog testiranja pamćenja u kojemu je trebalo upamtiti niz od 10 riječi bila je veća u odnosu na kontrolu (60 %) kod sve tri vrste vježbi. Najveći je postotak riješenosti postignut nakon izvođenja vježbe snage (97 %), zatim aerobne vježbe (73 %) te izometrijske vježbe (65 %). Postotak riješenosti za drugo testiranje u kojemu je trebalo upamtiti niz od 10 sličica bio je najveći nakon izvođenja izometrijske vježbe (57 %), a manji nakon aerobne vježbe (47 %) i vježbe snage (44 %) u odnosu na kontrolu (49 %). Kod trećeg testiranja koje je ispitivalo pamćenje pročitano teksta najveći je postotak riješenosti bio ponovno nakon izvođenja izometrijske vježbe (61 %) u odnosu na kontrolu (53 %), dok je bio manji nakon aerobne vježbe (60 %) i vježbe snage (57 %) (slika 2).



Slika 2 Uspješnost riješenosti testiranja obzirom na vrstu tjelesne aktivnosti (Prvo testiranje predstavlja pamćenje dobivenih riječi, drugo testiranje pamćenje sličica, a treće testiranje predstavlja pamćenje pročitano teksta. Sva testiranja uspoređena su sa kontrolnom skupinom)

Na temelju provedene analize varijance (ANOVA) za prvo testiranje utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u prosječnom pamćenju od 3 riječi (od ukupno 10 ponuđenih riječi) između učenika i provedenih vježbi ($F = 19,506$, $p < 0,05$). Obzirom da su varijance uzoraka heterogene ($F = 8,915$, $p < 0,05$), korišten je Games-Hovell *post-hoc* test za utvrđivanje statističke značajnosti razlika u prosječnom pamćenju od 3 riječi između pojedinih vrsta vježbi. Games-Howell *post-hoc* komparativni test je pokazao da postoji statistička značajna razlika u pamćenju do 3 riječi kod učenika u kontrolnoj skupini i tijekom vježbe snage ($p < 0,05$). Također, postoji statistički značajna razlika kod učenika koji su odradili izometrijske vježbe i vježbe snage ($p < 0,05$) te učenika koji su odradili vježbe snage i aerobne vježbe ($p < 0,05$). Prilikom analize podataka za drugo testiranje, utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u prosjecima varijable ($F = 1,286$, $p < 0,05$) kod učenika koji nisu radili vježbe (kontrola) ($M = 0,971$, $SD = 0,747$) u odnosu na izometrične vježbe ($M = 1,143$, $SD = 0,692$), vježbe snage ($M = 0,886$, $SD = 0,121$) i aerobne vježbe ($M = 0,943$; $SD = 0,129$). Obzirom da su varijance uzorka homogene ($F = 0,086$, $p < 0,968$), odabrana je Bonferronijeva metoda komparacije za utvrđivanje statističke značajnosti razlika u prosječnom pamćenju sličica kod učenika između izvođenja pojedinih vježbi. Bonferronijev *post-hoc* test pokazuje da nema statistički značajnih razlika između pamćenja sličica u odnosu na vrstu vježbe koje su odradene ($p > 0,05$). Analizom podataka trećeg testiranja, utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u prosjecima varijable ($F = 1,067$, $p > 0,05$). Razlike u rezultatima kontrole ($M = 5,257$, $SD = 1,521$) u odnosu na izometrične vježbe ($M = 6,114$, $SD = 1,67$),



vježbe snage ($M = 5,714$, $SD = 1,742$) i aerobne vježbe ($M = 5,971$, $SD = 1,740$) nisu statistički značajne. *Post-hoc* analiza Bonferroni korekcijom utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u poboljšanju pamćenja pročitaneog teksta u odnosu na vrstu vježbe ($p < 0,05$).

RASPRAVA

Analizom dobivenih rezultata, pretpostavka da će na pamćenje najbolje utjecati aerobna aktivnost djelomično je potvrđena. Rezultati u prvom testiranju pokazali su da najbolji utjecaj na pamćenje riječi ima vježba snage, a zatim i aerobna aktivnost. U obzir treba uzeti izazove testa pamćenja jer se nisko i visokoučestale riječi brže i lakše pamte od riječi koje su srednje učestale (Lohnas i Kahana, 2013). Također, bolje se pamte one riječi koje su na kraju ili početku niza riječi (Zarevski, 2007). Rezultati prvog testiranja mogu se usporediti sa istraživanjem Griebler i sur. (2021), koje dokazuje da vježba snage ima značajan utjecaj na kratkoročno pamćenje. Rezultati statističke analize u drugom testiranju ukazali su kako tjelesna aktivnost nije imala statistički značajan utjecaj na uspješnost pamćenja sličica. Međutim, iz dobivenih rezultata najveći utjecaj u pamćenju sličica imale su izometrijske vježbe u odnosu na ostale tjelesne aktivnosti iako nisu statistički značajne. Prema dosadašnjim istraživanjima, izometrijske vježbe daju bolje rezultate jer nizak do srednji intenzitet rada pogoduje zadacima koji zahtijevaju pažnju i koncentraciju (Bachman i sur., 2023). Pri pamćenju pročitaneog teksta, rezultati su pokazali kako provedene vježbe nisu imale statistički značajne razlike u odnosu na kontrolu. Sve tri tjelesna aktivnosti, tijekom trećeg testiranja, utjecale su na pamćenje pročitaneog teksta, no bez statistički značajnih razlika. Istraživanjem je potvrđeno da redovna aerobna aktivnost kod koje se ubrzava srčani ritam i pojačava znojenje, značajno utječe na veličinu hipokampusa; područja mozga uključenoga u verbalnu memoriju i učenje (Erickson i sur., 2011). Luciana i Nelson (1998) testirali su djecu od 4 do 8 godina i otkrili da izvedba opada s povećanjem težine zadataka. Sukladno tome, prvo testiranje u kojem su ispitanici morali zapamtiti riječi je bilo lakše u usporedbi s drugim i trećim testiranjem. Drugo testiranje imalo je zadatke pamćenja nizova sličica. Sličice su kompleksnije za zapamtiti i sadržavaju više informacija od riječi te je to moglo dovesti do slabije riješenosti. Isto tako, u usporedbi s prvim testiranjem, treće testiranje sadržavalo je čitanje teksta s razumijevanjem što je puno zahtjevnije od pamćenja riječi. Lambourne i Tomporowski (2010) su postavili teoriju „obrnutog U“ te su pronašli vezu između vježbanja i našeg kognitivnog funkcioniranja. Teorija „obrnutog U“ govori da postoji idealna razina vježbanja koja pomaže ljudskom mozgu da bolje funkcionira te time bolje učimo i razmišljamo. Međutim, ako pretjeramo u vježbanju, proces može biti obrnut, što znači da mozak može postati preopterećen i to može uzrokovati da ne razmišljamo ili učimo na istoj razini. Istraživačka hipoteza je očekivala da će aerobne vježbe u većini testova biti najbolje, jer su intenzivne i potiču cirkulaciju, ali su izometrijske vježbe u većini testova bile učinkovitije. Može se pretpostaviti da je razlog tome da niži intenzitet vježbanja odgovara ispitanicima, odnosno učenicima osmih razreda. Ako uzmemo u obzir da se djeca sve rjeđe bave tjelesnom aktivnošću, postoji mogućnost da su vježbe za njih bile preveliko opterećenje. Iz svega navedenog, za bolje rezultate bila bi učinkovitija nešto duža tjelovježba slabijeg intenziteta. Loprinzi i sur. (2021) su dokazali kako je za kratkoročno pamćenje optimalno da je aktivnosti kraća od dvadeset minuta. Također, utjecaj ima i vrijeme između vježbe i provođenja testa te je moguć slabije vidljiv učinak ako je neposredno u odnosu na odgođeno. Bilo bi dobro i vremenski odvojiti procjene pamćenja, jer ako se događaju u kratkom vremenskom razdoblju to može prikriti sve učinke na pamćenje povezane s vježbanjem (Loprinzi i sur., 2021). Broj učenika koji sudjeluje (35) je realan za školsku praksu, ali relativno malen za kompleksnu statistiku što je moglo utjecati na rezultate



istraživanja. U trećem testiranju bilo je zadataka općeg znanja koja su učenici mogli znati neovisno o pročitanoj tekstu te je to moglo utjecati na rezultate istraživanja.

ZAKLJUČCI

Tijekom istraživanja utvrđeni su sljedeći zaključci te se može reći kako je hipoteza djelomično potvrđena:

- ☞ Tjelesna aktivnost ima utjecaj na kratkoročno pamćenje, ali uspješnost pamćenja ovisi o vrsti tjelesne aktivnosti i tipu zadataka;
- ☞ Sve tri vrste tjelesne aktivnosti imaju utjecaj na zadatke pamćenja pojmova;
- ☞ Tjelesna aktivnost pozitivno utječe na pamćenje, ali ovisi o intenzitetu i trajanju vježbanja te našim sposobnostima;
- ☞ Za bolje rezultate trebao bi se istražiti utjecaj duže tjelesne vježbe, procjenjivanje pamćenja koje nije neposredno već odgođeno te vremensko odvajanje procjena.

LITERATURA

- Anderson J.R. 1976. Language, memory, and thought. Psychology Press, New York.
- Arđyarić H.T., Qolby Q., Maharani N., Laksono B., Budisulistyo T., Muniroh M. 2018. Skipping and running improve short term memory in young adults. Hiroshima Journal of Medical Sciences 67: 147–152.
- Atkinson R.C., Shiffrin R.M. 1968. Human memory: A proposed system and its control processes. Psychology of Learning and Motivation 2: 89–185.
- Babić, M. 2018. Povezanost tjelesne vježbe i duševnog zdravlja studenata. Zdravstveni glasnik 4(2): 33–43.
- Bachman S., Attanti S., Mather M. 2023. Isometric handgrip exercise speeds working memory responses in younger and older adults. Psychology and Aging 38(4): 305–322.
- Barat T., Prošev A. 2020. Kad odrastem želim biti liječnik, priče o hrabrim hrvatskim liječnicima i liječnicama koji su promijenile svijet. Školska knjiga, Zagreb.
- Caspersen C.J., Powell K.E., Christenson G.M. 1985. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. Public health reports 100(2): 126–131.
- Grošić V., Filipčić I. 2019. Tjelesna aktivnost u poboljšanju psihičkog zdravlja. Medicus 28(2): 197–203.
- Erickson K.I., Voss M.W., Prakash R.S., Basak C., Szabo A., Chaddock L., Kim J.S., Heo S., Alves H., White S.M., Wojcicki T.R., Mailey E., Vieira V.J., Martin S.A., Pence B.D., Woods J.A., McAuley E., Kramer A.F. 2011. Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. PNAS 108(7): 3017–3022.
- Etnier J.L., Chang Y.K., Chen F.T. 2020. Chronic exercise and cognitive function: A historical view. American Psychological Association: 795–814.
- Griebler N., Schröder N., Artifon M., Frigotto M., Pietta-Dias C. 2021. The effects of acute exercise on memory of cognitively healthy seniors: A systematic review. Archives of gerontology and geriatrics 99: 104583.
- Kim S.E., Kim J.W., Jee Y.S. 2015. Relationship between smartphone addiction and physical activity in Chinese international students in Korea. Journal of Behavioral Addictions 4(3): 200–205.
- Krklec H. 2017. Pamćenje. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:147:518094>, pristupljeno 15.1.2025.
- Luciana M., Nelson C.A. 1998. The functional emergence of prefrontally guided working memory systems in four-to-eight year-old children. Neuropsychologia 36(3): 273–293.
- Lohnas L.J., Kahana M.J. 2013. Parametric effects of word frequency in memory for mixed frequency lists. Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition 39(6): 1943–1946.
- Lambourne K., Tomporowski P. 2010. The effect of exercise-induced arousal on cognitive task performance: a meta-regression analysis. Brain research 1341: 12–24.
- Loprinzi P.D., Roig M., Etnier J.L., Tomporowski P.D., Voss M. 2021. Acute and chronic exercise effects on human memory: what we know and where to go from here. Journal of Clinical Medicine 10(21): 4812.
- Marić I., Lovrić F., Franjić D. 2020. Utjecaj rekreacijskih aktivnosti na mentalno zdravlje. Zdravstveni glasnik 6(2): 105–114.
- McMorris T., Hale B.J. 2012. Differential effects of differing intensities of acute exercise on speed and accuracy of cognition: a meta-analytical investigation. Brain and Cognition 80(3): 338–351.
- Mikkelsen K., Stojanovska L., Polenakovic M., Bosevski M., Apostolopoulos V. 2017. Exercise and mental health. Maturitas 106: 48–56.
- Paffenbarger R.S., Kampert J.B., Lee I.M. 1997. Physical activity and health of college men: longitudinal observations. International Journal of Sports Medicine 18(3): S200–3.



- Pate R.R., Pratt M., Blair S.N., Haskell W.L., Macera C.A., Bouchard B., Buchner D., Ettinger W., Heath G.W., King A.C. 1995. Physical activity and public health. *Journal of the American Medical Association* 273(5): 402–407.
- Pintar M., 2020. Tjelesna aktivnost i zdravlje. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:577799>, pristupljeno 15.1.2025.
- Podnar H., Novak D., Radman I. 2018. Effects of a 5-minute classroom-based physical activity on on-task behaviour and physical activity levels. *Kinesiology* 50: 2, doi: 10.26582/k.50.2.17.
- Polevoy G. 2022. The effect of physical activity on attention indicators of schoolchildren. *Annals of Applied Sport Science* 10(4): doi: 10.52547/aassjournal.1149.
- Rauner R.R., Walters R.W., Avery M., Wanser T.J. 2013. Evidence that aerobic fitness is more salient than weight status in predicting standardized math and reading outcomes in fourth- through eighth-grade students. *The Journal of Pediatrics* 163: 344–348.
- Sternberg R.J. 2004. North American approaches to intelligence. *International handbook of intelligence*. Cambridge University Press. str. 411–444.
- Stojaković M. 2019. Važnost tjelovježbe za psihofizičko zdravlje osoba svih životnih dobi. <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:221:400863>, pristupljeno 15.1.2025.
- Trudeau F., Shephard R.J. 2008. Physical education, school physical activity, school sports and academic performance. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity* 5: 10.
- Zarevski P. 2007. Psihologija pamćenja i učenja. Naklada Slap. Zagreb.

PRILOZI

PRILOG 1.

1. TESTIRANJE

1. ZADATAK

- | | | |
|-----------|-------------|------------|
| - Nož | - Vilica | - Cijedilo |
| - Lonac | - Žlica | - Šalica |
| - Pregača | - Tanjur | |
| - Kuhar | - Grabilica | |

Pogledajte ove tri riječi i za svaku odredite je li bila na popisu prikazanih riječi.

Tava BILA JE / NIJE BILA

Kuhača BILA JE / NIJE BILA

Poklopac BILA JE / NIJE BILA

2. ZADATAK

- | | | |
|-------------|------------|------------|
| - Melodija | - Akord | - Pjesma |
| - Ritam | - Glazbalo | - Dinamika |
| - Harmonija | - Izvođač | |
| - Ton | - Koncert | |

Pogledajte ove tri riječi i za svaku odredite je li bila na popisu prikazanih riječi.

Nota BILA JE / NIJE BILA

Glazba BILA JE / NIJE BILA

Koncert BILA JE / NIJE BILA

3. ZADATAK

- | | | |
|-----------|----------|----------|
| - Sunce | - Cvijet | - Kiša |
| - Planina | - Rijeka | - Vjetar |
| - More | - Nebo | |
| - Drvo | - Ptice | |

Pogledajte ove tri riječi i za svaku odredite je li bila na popisu prikazanih riječi.

Ocean BILA JE / NIJE BILA

Sunce BILA JE / NIJE BILA

Drvo BILA JE / NIJE BILA

4. ZADATAK

- | | | |
|----------|------------|-----------|
| - Učenik | - Zadaća | - Sat |
| - Razred | - Ispit | - Pernica |
| - Knjiga | - Klupa | |
| - Olovka | - Bilješka | |

Pogledajte ove tri riječi i za svaku odredite je li bila na popisu prikazanih riječi.

Ispit BILA JE / NIJE BILA

Knjiga BILA JE / NIJE BILA

Učionica BILA JE / NIJE BILA



PRILOG 2.

2. TESTIRANJE

1. ZADATAK



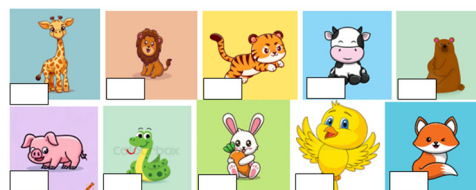
Odredi redoslijed sličica.



2. ZADATAK



Odredi redoslijed sličica.



3. ZADATAK



Odredi redoslijed sličica.



4. ZADATAK



Odredi redoslijed sličica.



PRILOG 3.

3. TESTIRANJE

1. ZADATAK

Tekst iz knjige: Barat T., Prošev A. 2020. Kad odrastem želim biti liječnik, priče o hrabrim hrvatskim liječnicima i liječnicama koji su promijenili svijet. Školska knjiga, Zagreb, str. 48-49

Jelena Krmpotić-Nemanić

Bila jednom djevojka Jelena koja je pomalo prestrašeno stigla na prva predavanja na studiju medicine. No jednom kada su počela, oduševila se. Zнала je da je to ono čemu želi posvetiti cijeli život. Na predavanja je odlazila s veseljem, a jedan od omiljenih profesora bio joj je Drago Perović. Katkad su ona i njezini kolege znali dolaziti na predavanja čak dva-tri sata ranije kako bi zauzeli najbolje klupe iz kojih su još bolje mogli vidjeti i čuti sve čemu ih on poučava. Međusobno su ga od milja zvali Perica ili Don Pedro. Upravo je on najviše utjecao na Jelenin odabir dijela medicine kojim će se baviti- anatomiju. Anatomija proučava građu čovječjeg tijela, a jedan dio toga posebno je zanimao Jelenu- kako je građen ljudski mozak. Mozak je glavni organ našeg živčanog sustava. Svojom izgledom podsjeća na veliku cvjetaču, sigurno zaštićen unutar lubanje. Počinje se razvijati još prije nego što se dijete rodi, već u maternici. Jednom kada dijete prvi put zaplače, njegov se mozak počinje razvijati brzinom munje. Poput spužve upija sve oko sebe. No čak i da bi dijete uopće vidjelo roditelje, stanice oka moraju se očnim živcem spojiti sa stanicama mozga koje su zadužene za vid. Ako pak želi dohvatiti igračku koju vidi, tada se moraju uključiti i stanice mišića ruku te se opet spojiti s dijelovima mozga. Za svaku našu radnju mozak mora raditi kao savršena cjelina. Sve je to proučavala i Jelena. Jedan dio mozga privukao joj je, pak posebnu pozornost- mali mozak. On je smješten u stražnjem dijelu lubanje, a služi za održavanje ravnoteže i orijentaciju u prostoru. Napisala je i vrlo važan udžbenik o anatomiji, a informacije o njezinu znanju i radu proširile su se cijelim svijetom. Čak su je pozvali da dođe raditi u Sjedinjene Američke Države, no odabrala je ostati u Zagrebu s obitelji i svojim studentima koje je iznimno cijenila. Zanimala ju je i otorinolaringologija kao i našeg Ivu Padovana, pa je i tu otkrila nešto novo- proučavala neuronalne veze koje su vrlo važne za oblikovanje ljudskoga glasa kada otvorimo usta. Zbog svih doprinosa koje je dala medicini, bila je članica uglednih organizacija i društava te je primila mnoge nagrade i pokazala da je onaj prvi prestrašeni dan na predavanju bio sjajan početak velike karijere.

Točno/netočno

1. Jelena nije znala želi li život posvetiti medicini. T / N



2. Jedan od omiljenih profesora bio joj je Drago Perić. T / N
3. Međusobno su ga od milja zvali Pero ili Perica. T / N
4. Anatomija proučava građu čovječjeg, ali i životinjskog tijela. T / N
5. Mozak je glavni organ. T / N
6. Mozak svojim oblikom podsjeća na jednu vrstu povrća. T / N
7. Odgovoran je za sve čovjekove radnje. T / N
8. Jelena je napisala vrlo važan udžbenik o anatomiji. T / N
9. Da bi dijete vidjelo, stanice oka moraju povezivati žile sa stanicama mozga. T / N
10. Ivu Padovanaanimala je otorinolaringologija. T / N

2. ZADATAK

Tekst iz knjige: Barat T., Prošev A. 2020. Kad odrastem želim biti liječnik, priče o hrabrim hrvatskim liječnicima i liječnicama koji su promijenili svijet. Školska knjiga, Zagreb, str. 20-21.

Milica Šviglin Čavov

Bila jednom djevojčica koja je živjela u baroknom gradu Varaždinu. Ime joj je bilo Milica. U školi je nizala odlične ocjene, a najsretnija je bila kada bi pomagala drugima. No nije mogla pomoći svomu ocu. Kada joj je otac umro, upravo je tada odlučila da želi postati liječnica. Ali to nije bilo nešto što može postići u našim krajevima. U vrijeme kada je Milica bila mlada djevojka, u hrvatskim gradovima nisu postojali medicinski fakulteti, a i svaki spomen toga da bi žena uopće mogla postati liječnica izazivalo je začuđene poglede. No to nije oduvijek bilo tako. Prvi liječnici u povijesti bile su žene. Zaviriš li u grčke mitove i epove, možeš zamijetiti da su grčke božice zaštićene porođaja i zdravlja, te da su žene često pripremale razne napitke za bolove. Bile su i primalje, osobe koje pomažu pri porođaju. Čak je i u Solinu u Dalmaciji pronađen grob primalje Elije Sotere koja je živjela u 1. stoljeću. No mračni srednji vijek koji je trajao stotinama godina kao da je obrisao sve što su žene znale. Osim poneke liječnice, koje nisu imale velik ugled u društvu, medicina je bila rezervirana samo za muškarce. Srećom, to se promijenilo kada je u Sjedinjenim Američkim Državama Elizabeth Blackwell stekla diplomu i postala prva liječnica modernog doba. Slijedile su je druge žene diljem svijeta, a jedna od njih bila je i naša Milica. Kako nije mogla studirati u hrvatskim gradovima, Milica se otisnula u Švicarsku. Provodila je dane učeći iz debelih knjiga uz pogled na bajkovite planine. Godine 1893. postala je prva hrvatska liječnica. No još nije smjela raditi u svojoj domovini. Zato je krenula u Njemačku, a nakon toga u Bugarsku gdje je pokazala sve što jedna liječnica može. Stekla je velik ugled i poštovanje kolega, a kada je otvorila vlastitu ordinaciju, njezinoj sreći nije bilo kraja. K njoj su dolazili mnogi pacijenti, a najviše žene koje su se u njezinu društvu osjećale sigurno i mogle su joj reći baš sve što ih muči. O njoj i njezinim uspjesima pisale su i hrvatske novine. Svaka djevojčica koja bi tada zavrila u te članke, znala je da je samo nebo granica za sanjanje velikih snova.

Točno/netočno

1. Prvi liječnici u povijesti bile su žene. T / N
2. Milica je živjela u baroknom gradu Varaždinu. T / N
3. Elizabeth Blackwell postala je prva liječnica modernog doba. T / N
4. U Njemačkoj Milica je pokazala sve što jedna liječnica može. T / N
5. 1890. postala je prva hrvatska liječnica. T / N
6. O njezinim uspjesima pisale su hrvatske novine. T / N
7. Primalje su osobe koje pomažu pri porođaju. T / N
8. U srednjem vijeku, medicina je bila rezervirana isključivo za muškarce. T / N
9. Milica je diplomu stekla u Sjedinjenim Američkim Državama. T / N
10. Kada joj je otac umro odlučila je da želi postati liječnica. T / N

3. ZADATAK

Tekst iz knjige: Barat T., Prošev A. 2020. Kad odrastem želim biti liječnik, priče o hrabrim hrvatskim liječnicima i liječnicama koji su promijenili svijet. Školska knjiga, Zagreb, str. 25-26.

Eduard Radošević

Ljudi su se od davnina pokušavali brinuti o svojim zubima. Još su se stari Egipćani i Babilonci koristili nekom vrstom četkice za zube. Uzeli bi grančice s ljekovitog drveća i potom žvakali sve dok se njihovi dijelovi ne bi počeli razdvajati i tvoriti nešto poput dlačica četkice. Tada bi time trljali zube. Mnogo godina poslije, u dalekoj Kini, ljudi su na bambusove štapiće stavljali veprovu dlaku i time čistili zube. U Europi su pak to radili lanenom krpicom koju bi umočili u razna ulja i njome trljali po zubima. No to baš nije bilo higijenski. Iako su postojale osobe koje su liječile bolesti zuba, sve do prije nekoliko stoljeća nisu postojali zubari kakve danas poznajemo. Kada bi tko morao izvaditi bolni zub, išao je brijaču koji bi mu ga izvadio kliještima. Zubobolja, loš zadah, zdravlje i izgled zubi sve su više postajali problem. I to je primijetio Eduard, mladi liječnik i stomatolog iz Gorskog kotara koji je otvorio stomatološku ordinaciju u Zagrebu. Ipak, osjećao je kako nije dovoljno samo liječiti pacijente nego da mora i druge buduće liječnike podučavati o važnosti zubne higijene i bolesti zuba. Zato je pisao Medicinskome fakultetu u Zagrebu, tada jedinom fakultetu za buduće liječnike svih specijalizacija na našim područjima. Predložio je da studentima predstavi stomatologiju- znanost o bolestima i liječenju zubi. Tako se prvi put u našim krajevima stomatologija poučavala na nekom fakultetu. Eduard je govorio kako za najbolje liječenje i brigu o zubima treba poznavati i ostale prirodne znanosti, ali i dobro znati kako je građen zub i od čega je građen. Sve to može pomoći da nam naš zubar da najbolje savijete o tome kako se pravilno brinuti o zubima. S time su se složili i mnogi drugi stručnjaci diljem svijeta koji su zapazili njegov rad. Opazio je i da je u našim krajevima vrlo raširen karijes- bolest zuba koja nastaje kada je usna šupljina prepuna bakterija i koja može potpuno uništiti zub ako se ne liječi. Širio je riječ o tome i o važnosti higijene te pravilne prehrane koje mogu smanjiti karijes. Prema njemu je nazvana medalja „Doktor Eduard Radošević“. Nju danas dobivaju najbolji stomatolozi koji istražuju sve o zubima.

Točno/netočno

1. Stomatologija je znanost u bolestima i higijeni zubi. T / N
2. Ljudi prije nisu imali dovoljno saznanja o brizi o zubima. T / N
3. Briga o zubima nije bila higijenska. T / N



4. Eduard je stomatolog iz Like. T / N
5. Karijes je bolest koja nastaje kada je usna šupljina prepuna virusa. T / N
6. Zadar je bio jedini grad sa mogućom specijalizacijom za sve liječnike. T / N
7. Govorio je kako za najbolje liječenje zuba treba poznavati sve specijalizacije. T / N
8. Studentima se stomatologija nije svidjela. T / N
9. Eduard je otvorio stomatološku ordinaciju u Zagrebu. T / N
10. Prije su ljudi odlazili liječnicima da im izvade bolni zub. T / N

4. ZADATAK

Tekst iz knjige: Barat T., Prošev A. 2020. Kad odrastem želim biti liječnik, priče o hrabrim hrvatskim liječnicima i liječnicama koji su promijenili svijet. Školska knjiga, Zagreb, str. 24-25.

Fran Mihaljević

U istarskom gradu Puli rodio se dječak Fran. Odlučio je da kada odraste želi postati liječnik. Kada je došlo vrijeme za polazak u srednju školu, uputio se u Trst u Italiji u jednu pod najboljih gimnazija, a nakon toga put ga je odveo u Beč na studij medicine. U to vrijeme najbolje bolnice u našim krajevima bile smještene u Zagrebu pa je mali Fran odlučio liječničku karijeru početi baš ondje. Zagreb je već tada bio grad kojim je, sve otkada se izgradila prva željeznička pruga, prolazilo mnogo ljudi, a to je značilo da su vrlo lako jedni drugima mogli prenijeti bolesti. Kada su pak trajali ratovi, stanje je bilo još ozbiljnije. Zato je odlučeno da se hitno mora osnovati bolnica u kojoj bi se liječile zarazne bolesti poput ebole te bi takvi pacijenti bili odvojeni od ostalih. Upravo je u toj bolnici počeo raditi i naš Fran- u Bolnici za kužne bolesti. Zanimalo ga je kako se i zašto šire zarazne bolesti. Promatrao je pacijente i zaključio da svi koji imaju neku zaraznu bolest ponašaj vrlo slično- nemaju apetita, osjećaju mučninu, srce im ubrzano lupa, stvaraju im se naslage na jeziku, mijenja boja mokraće, imaju povišenu tjelesnu temperaturu, a katkad im se stvara i osip na koži. Takve bolesti nastaju zbog mikroorganizama- najčešće virusa i bakterija. Bakterije su mali nevidljivi organizmi slični kuglicama, štapićima i svrdlima koji žive u našem tijelu. Katkad su korisne, no mogu prouzročiti i veliku štetu. Virusi su također nevidljivi, no oni baš uvijek čine štetu našem organizmu. Jedini način na koji oboje možemo vidjeti jest mikroskopom. Zato se naša mokraća i krv, kada smo bolesni, šalju u laboratorij kako bi ih liječnici i laboratorijski tehničari dobro pregledali i zaključili od čega bolujemo. Tako se može saznati imamo li vodene kozice, ospice, šarlah... No Frana nisu zanimale samo zarazne bolesti nego sve infektivne bolesti. Neke od njih ne moraju biti zarazne, ali otežavaju svakodnevicu. Zato nam je teško kada imamo upalu mokraćnog mjehura, no time ne možemo nikoga zaraziti. Fran se toliko unio u proučavanje svih infektivnih bolesti da ga se danas smatra osnivačem suvremene infektologije u Hrvatskoj. Sve što je znao prenosio je svojim kolegama i studentima, a prema njemu je danas nazvana i Klinika za infektivne bolesti u Zagrebu, jedna od najboljih u ovome dijelu Europe.

Točno/netočno

1. Bakterije i virusi nevidljivi su organizmi koji žive u našem tijelu. T / N
2. Fran je počeo raditi u bolnici za kružne bolesti. T / N
3. Upala mokraćnog mjehura infektivna je bolest. T / N
4. Za vrijeme ratova prenošenje zaraznih bolesti bilo je često. T / N
5. Srednju školu završio je u Beču a dalje je studij nastavio u Trstu u Italiji. T / N
6. Virusi mogu biti korisni našem organizmu. T / N
7. Fran je rođen u istarskom gradu Puli. T / N
8. Frana se smatra osnivačem suvremene infektologije u Hrvatskoj. T / N
9. Infektivne bolesti su isključivo prenosive bolesti. T / N
10. Ebola je infektivna ne prenosiva bolest. T / N

Antimikrobna svojstva algi Jadranskog mora

Nika Grgić, 2. razred

II. gimnazija, Zagreb

Mentor: Katarina Medić

SAŽETAK

Morski organizmi, a posebno alge, predstavljaju vrijedan prirodni izvor bioaktivnih spojeva s potencijalom primjene u borbi protiv mikroorganizama. Cilj ovog istraživanja bio je ispitati antimikrobna svojstva algi Jadranskog mora te usporediti učinak različitih skupina algi – smeđih, zelenih i crvenih – na inhibiciju rasta bakterija. Također, istražen je utjecaj ekstrakcijskih otapala na učinkovitost bioaktivnih spojeva izoliranih iz algi. Istraživanje je provedeno na uzorcima algi prikupljenih iz Jadranskog mora, pri čemu su analizirane dvije vrste smeđih (*Dictyota dichotoma* i *Halopteris scoparia*), dvije vrste zelenih (*Cladophora* sp. i *Ulva intestinalis*) te jedna vrsta crvenih algi (*Corallina officinalis*). Bioaktivni spojevi ekstrahirani su pomoću dvaju otapala, etil-acetata i vodenometanolne otopine. Antimikrobna aktivnost ekstrakata ispitana je metodom disk-difuzije na bakterijama izoliranim s površina pametnih telefona. Dobiveni rezultati pokazali su da smeđe alge imaju najizraženiji antibakterijski učinak, pri čemu je vrsta *Dictyota dichotoma* imala najveću prosječnu vrijednost radijusa zone inhibicije, dok je nešto slabiji, ali značajan učinak imala alga *Halopteris scoparia*. Zelene alge su također pokazale izraženu aktivnost – vrsta *Cladophora* sp. je inhibirala najveći broj bakterijskih kolonija, dok je vrsta *Ulva intestinalis* pokazala snažan, ali selektivan učinak isključivo u vodenometanolnim ekstraktima. Crvena alga *Corallina officinalis* imala je najslabiji antimikrobni učinak, pri čemu su njezini etil-acetatni ekstrakti bili potpuno neaktivni. Ekstrakti algi pripremljeni u vodenometanolnoj otopini pokazali su veću učinkovitost u usporedbi s ekstraktima dobivenim u etil-acetatu. Oba tipa ekstrakata pokazala su jače djelovanje na Gram-pozitivne bakterije. Zaključno, rezultati provedenog istraživanja potvrđuju da alge Jadranskog mora sadrže bioaktivne spojeve s antibakterijskim potencijalom te naglašava važnost mora kao bogatog izvora novih antimikrobnih sredstava.

Ključne riječi: bakterije; ekstrakcija; otapala; bioaktivni spojevi; zona inhibicije

UVOD

Antibiotici su lijekovi koji sprečavaju rast bakterija te pomažu suzbijanju različitih oblika bakterijskih infekcija. Njihovo otkriće uvelike je doprinijelo razvoju medicine te su oni postali neizostavan način liječenja infekcija, upala i zaraznih bolesti uzrokovanih bakterijama (Bhalodia i Shukla, 2011). Danas je intenzivna upotreba sintetičkih antibiotika za liječenje infekcija rezultirala pojavom otpornih patogenih mikroorganizama, čime se stvorio ozbiljan izazov u području javnog zdravstva (Afzal i sur., 2023). Kako bi se borili protiv neučinkovitosti postojećih farmaceutika, uzrokovanih pojavom sve otpornijih bakterijskih i gljivičnih sojeva, mnogi su istraživači u potrazi za novim izvorima spojeva antibakterijskog i antifungalnog djelovanja (Thawabteh i sur., 2023). Iz tih se razloga danas pokušavaju pronaći nove smjernice u borbi protiv infektivnih bolesti te znanstvenici sve više posežu za različitim organizmima kao prirodnim izvorima biološki aktivnih spojeva s potencijalom za suzbijanje mikrobnih prijetnji ljudskom zdravlju.

Jedan od obećavajućih pristupa uključuje istraživanje manje poznatih staništa, poput oceana i mora, koji predstavljaju najveći ekosustav na Zemlji. Mora i oceani prepoznati su kao kompleksan i misteriozan ekosustav unutar kojeg se krije svijet nevjerojatne biološke raznolikosti (Spalding i sur., 2019). Morski organizmi opstaju i žive unutar složenih zajednica, često u bliskim interakcijama s drugim organizmima, u konkurentnom i nepovoljnom okolišu (Pina-Pérez i sur., 2017). Kao odgovor na ekološke pritiske, poput borbe za prostor, obrane od predatora i promjene plime, morski organizmi razvili su sposobnost proizvodnje složenih sekundarnih metabolita (Bhadury i Wright, 2004). Sesilni morski organizmi, poput algi, spužvi i koralja, razvili su fiziološke prilagodbe koje uključuju sintezu bioaktivnih spojeva za obranu i sprječavanje nastanka epifita, odnosno biljke koja



raste na drugoj biljci ili objektu samo radi fizičke potpore, kao i drugih organizama koji uzrokuju oštećenja na njihovoj površini (Hellio i sur., 2004). Ekstrakti morskih organizama pokazali su potencijal za otkrivanje novih bioaktivnih komponenti koje imaju između ostalog, antibakterijsko i antifungalno djelovanje (Thawabteh i sur., 2023).

Morske alge su skupina fotosintetskih organizama koji variraju s obzirom na veličinu i biološku strukturu. Mogu se podijeliti na mikroalge i makroalge (Guiry, 2012). Makroalge izgledom podsjećaju na biljke, no nemaju diferencirana tkiva i organe (korijen, stabljika, list), a uključuju smeđe (Phaeophyceae), crvene (Rhodophyceae) i zelene alge (Chlorophyceae). Mikroalge uključuju cijanobakterije (Cyanobacteria), dinoflagelate (Dinoflagellata), dijatomeje (Bacillariophyceae) i zelene alge (Chlorophyceae) (Narayanan, 2024). Na razini složenosti organizma alge mogu biti jednostanične, višestanične ili pak živjeti u kolonijama. S obzirom na razlike u unutarstaničnoj građi algi, razlikujemo eukariotske alge koje spadaju u carstvo Protista i prokariotske cijanobakterije (Narayanan, 2024).

Osnovni uvjeti za rast su im povoljna vlažnost i dostupnost svjetlosti za obavljanje fotosinteze, pri čemu konvertirajući energiju sunčevog zračenja i stvarajući vlastiti resurs kemijske energije u obliku složenih ugljikohidratnih spojeva iz ugljikovog dioksida, sudjeluju u kružnom ciklusu ugljika u prirodi. Kao nusproizvod procesa fotosinteze nastaje i kisik te su alge najveći proizvođač kisika na Zemlji. Kao sustav obrane od raznovrsnih vanjskih utjecaja (fizičkih, kemijskih) alge sintetiziraju različite sekundarne metabolite, pohranjene unutar citoplazme stanice (Munir i sur., 2013). Uslijed te prilagodbe na okoliš, iste vrste algi mogu imati različite koncentracije istih ili različitih metabolita (Jimenez-Lopez i sur., 2020). Fotosinteza je proces koji se odvija pri visokim koncentracijama kisika i svjetlosti, no kako u stanicama algi koje su izložene takvim uvjetima ne dolazi do pojave oštećenja, pretpostavlja se da bi sekundarni metaboliti u algama mogli istu zaštitnu funkciju imati i u ljudskom organizmu. Zbog toga farmaceutske tvrtke stavljaju fokus na istraživanja njihovih bioloških aktivnosti, a naročito njihovo antioksidativno djelovanje (Munir i sur., 2013). Dosadašnja istraživanja pokazuju da spojevi izolirani iz algi inhibiraju rast Gram-pozitivnih bakterija, koje imaju deblji sloj stanične stijenke bogat peptidoglikanom mureinom, ali i rast otpornijih Gram-negativnih bakterija, čija je stijenka tanja, no obogaćena dodatnom lipidnom membranom koja otežava prodor mnogih lijekova (Pina-Pérez i sur., 2017).

Kako je Jadransko more specifično stanište radi visokog saliniteta i relativne male dubine, prisutni organizmi razvijaju prilagodbe na temperaturne oscilacije te povećano UVA i UVB zračenje, što je rezultiralo i nastankom brojnih endemskih vrsta Jadranskog mora (Radman i sur., 2022). Dosadašnja istraživanja o antimikrobnim svojstvima algi Jadranskog mora još uvijek su u ranoj fazi, iako su rezultati obećavajući. Primjerice, kod smeđih algi roda *Dictyota* opisani su diterpenoidi s izraženim antibakterijskim djelovanjem, dok zelene alge poput *Cladophora* i *Ulva* sadrže polisaharide, fenolne kiseline i flavonoide. Crvene alge, primjerice rod *Corallina*, proizvode sulfaterane polisaharide koji pokazuju slabije, ali mjerljivo antimikrobno djelovanje (Pérez i sur., 2016). Važno je istaknuti da na izolaciju ovih bioaktivnih spojeva značajno utječe izbor otapala. Etil-acetat, kao manje polarno otapalo, pogodniji je za ekstrakciju lipofilnih tvari poput terpenoida i sterola, dok vodeno-metanolna otopina omogućuje izolaciju hidrofilnih spojeva poput polisaharida i fenolnih kiselina (Herrero i sur., 2010).

Otkriveno je da neki spojevi iz smeđih algi roda *Cystoseira* i *Dictyota* imaju snažno inhibicijsko djelovanje na Gram-pozitivne i Gram-negativne bakterije (Radman i sur., 2022). Slično tome, polisaharidi izolirani iz crvenih algi roda *Gelidium* i *Gracilaria* pokazali su inhibicijsko djelovanje na rast određenih gljivica i virusa (Kiran, 2021). Istraživanja poput ovih ukazuju na ogromni potencijal za daljnji rad, posebice u kontekstu identificiranja novih spojeva koji bi se mogli koristiti kao temelj za razvoj novih lijekova. Alge su bogat izvor različitih bioaktivnih spojeva (lipidi, karotenoidi, proteini,



fenoli, vitamini i polisaharidi), čija koncentracija ovisi o uvjetima okoliša (salinitetu, temperaturi, radijaciji, nutrijentima), a zbog prilagodljivosti uvjetima rasta, lako ih je uzgojiti te postoji mogućnost kontroliranja produkcije bioaktivnih spojeva izmjenom uvjeta uzgoja ili korištenjem sofisticiranih metoda genetičkog inženjerstva (Herrero i sur., 2010).

Pametni telefoni su idealni predmeti za testiranje antimikrobnih svojstava zbog njihove česte upotrebe i sposobnosti da budu rezervoari mikroorganizama, uključujući potencijalno patogene i rezistentne bakterije. Ekrani i kućišta pametnih telefona predstavljaju idealnu površinu za kolonizaciju bakterija zbog kontakta s rukama, licem i različitim okruženjima.

Testiranje na pametnim telefonima osigurava praktičan i realističan model za korištenje potencijala algi u svakodnevnim uvjetima. Očekivani rezultati mogli bi pridonijeti razumijevanju uloge algi kao izvora novih antimikrobnih sredstava te otvoriti mogućnosti za njihov razvoj u raznim industrijama. Motivacija za ovaj rad također leži i u uvjerenju da priroda nudi rješenja za mnoge suvremene izazove, a Jadransko more, s obzirom na svoju bioraznolikost, pruža priliku da se pronađu inovativni odgovori na problem rezistencije mikroorganizama. Istraživanjem želim doprinijeti interesu za daljnju procjenu prirodnih ekstrakata iz morskog ekosustava u borbi protiv infektivnih organizama i suzbijanju prijetnje bioterorizmom.

Ciljevi ovog istraživačkog rada su:

- uzgojiti bakterije s pametnih telefona
- ispitati antimikrobna svojstva ekstrakata izabranih algi iz Jadranskog mora na bakterijama s pametnih telefona
- usporediti antimikrobna svojstva etil-acetatnih i vodeno-metanolnih ekstrakata različitih skupina algi
- usporediti učinke etil-acetatnih i vodeno-metanolnih ekstrakata algi na suzbijanje rasta Gram-negativnih i Gram-pozitivnih bakterija.

Na temelju dosadašnjih istraživanja hipoteze istraživanja su:

- odabrane alge iz Jadranskog mora imaju spojeve s antimikrobnim djelovanjem na uzgojene bakterije s pametnih telefona
- različite skupine algi – zelene, smeđe i crvene – posjeduju specifična, različita antimikrobna svojstva, što proizlazi iz njihovih jedinstvenih metaboličkih profila
- ekstrakti algi pripremljeni u etil-acetatu imaju snažnija antibakterijska svojstva od ekstrakata algi pripremljenih u mješavini vode i metanola
- etil-acetatni i vodeno-metanolni ekstrakti algi inhibiraju rast Gram-pozitivnih bakterija više od Gram-negativnih bakterija.

METODE

Prikupljanje uzoraka algi i homogenizacija

U eksperimentalnom dijelu ovog rada kao prirodni materijal korišteni su uzorci morskih algi prikupljenih u akvatoriju Jadranskog mora na lokaciji Petrčane u prosincu 2024. godine. Alge su prikupljene na dubini do 1 metra kada je temperatura mora iznosila 13,6 °C. Uzorci algi izronjeni su vlastitim angažmanom, nakon čega je uslijedila njihova identifikacija uz pomoć biologa Hrvoja Čižmeka i Ivane Zubak Čižmek. Korišteni su uzorci algi koji pripadaju trima glavnim skupinama: smeđe alge (Phaeophyceae), zelene alge (Chlorophyta) i crvene alge (Rhodophyta). Izabrane alge prikazane su u tablici 1.

Tablica 1 Vrste algi korištenih u istraživanju

Phaeophyceae (smeđe alge)		Chlorophyta (zelene alge)		Rhodophyta (crvene alge)
				
<i>Dictyota dichotoma</i>	<i>Halopteris scoparia</i>	<i>Ulva intestinalis</i>	<i>Cladophora sp.</i>	<i>Corallina officinalis</i>

Prikupljene alge su očišćene od epifita i ostataka sedimenta te su isprane morskom vodom odmah nakon prikupljanja. Potom su razvrstane i zatvorene u različite plastične vrećice u vlažnim uvjetima te su skladištene u hladnjaku na temperaturi od 4 °C do nastavka obrade. Uzorci su osušeni na zraku u sjeni tijekom 24 sata, a potom dodatno sušeni u dehidratoru do konstantne mase. Suhi uzorci su homogenizirani i mljeveni u fin prah korištenjem keramičkog tučka i tarionika te pohranjeni u posude (Chiheb i sur., 2009).

Ekstrakcija bioaktivnih komponenti algi

Bioaktivne komponente algi ekstrahirane su pomoću dva otapala – etil-acetata i vodenometanolne otopine. Korištenjem analitičke vage izmjereno je 0,5 g suhog praha svake vrste algi. Izmjereni uzorci su zatim premješteni u epruvete te resuspendirani dodavanjem 1 mL etil-acetata. Dobivene smjese podvrgnute su tijekom 10 min intenzivnom miješanju u vortex mikseru. Kako bi se osigurala potpuna ekstrakcija bioaktivnih komponenti, uzorci su zatim stavljeni u ultrazvučnu kupelj na temperaturu od 36–38 °C na 30 min. Slijedilo je centrifugiranje u trajanju 10 min nakon čega su se u epruvetama razlučili supernatant i talog. Supernatant je pomoću šprice odvojen i prebačen u označene epruvete te zajedno sa zasebno odvojenim talozima pohranjen na temperaturu od -8 °C do daljnje upotrebe. Cijeli postupak ekstrakcije na odvojenim talozima ponovljen je i pomoću mješavine vode i metanola u omjeru 50:50 kako bi se omogućila izolacija polarnih spojeva (Lidija Brkljačić, pers. comm.).

Tako dobiveni ekstrakti korišteni su za ispitivanje njihovih antimikrobnih svojstava i potencijala. Antimikrobna svojstva izabranih algi testirana su metodom disk difuzije, pri čemu je proces temeljen na difuziji ispitivane tvari s diska u hranjivu podlogu s bakterijama. Antimikrobno djelovanje tvari je očitovano kroz inhibiciju rasta bakterija u obliku zone bez rasta oko diska (Balouiri i sur., 2016).

Prikupljanje uzoraka za testiranje antimikrobnih svojstava

Prilikom uzimanja briseva s pametnih telefona učenici mog razreda ustupili su svoje mobitele. Uzorci su uzeti pomoću sterilnih briseva koji su se nalazili u epruvetama s 2 mL fiziološke otopine. Svaki bris je ocijeđen o stijenku epruvete kako bi se osiguralo optimalno uzorkovanje, nakon čega je svaki pametni telefon temeljito prebrisan ovlaženim štapićem koji je zatim vraćen u pripadajuću epruvetu. Svaki pametni telefon prebrisan je tri puta s različitim brisom kako bi se dobila tri uzorka po uređaju. Uzorci su prikupljeni s ukupno sedam mobilnih uređaja.

Inokulacija i inkubacija mikroorganizama - uzgoj čistih bakterijskih kultura

Za uzgoj bakterija prikupljenih s pametnih telefona korištena je Mueller-Hinton II Broth agarska podloga (17,5 g/L hidrolizata kazeina; 3,0 g/L ekstrakta govedine; 1,5 g/L škroba). Pomoću automatske pipete inokulirano je po 1 mL uzorka briseva uzetih s pametnih telefona na zasebne Petrijeve zdjelice, koji je je zatim ravnomjerno raspoređen štapićem za razmazivanje po neselektivnoj hranjivoj agarskoj podlozi. Petrijeve zdjelice su potom okrenute naopako, kako bi se smanjila potencijalna mogućnost kontaminacije te spriječilo kapanje kondenzirane vode na podloge, te inkubirane 48 sati pri temperaturi od 37 °C. Pri uzgoju mješovitih bakterijskih kultura, u svakoj je



Petrijevoj zdjelici evidentiran broj različitih kolonija bakterija tako da je svaka kolonija vidljiva na poklopcu označena točkama pomoću vodootpornog markera. Izdvojeno je 36 najbolje razvijenih bakterijskih kolonija koje su prenesene pomoću mikrobiološke eze na nove Petrijeve zdjelice te ponovno, okrenute poklopcem prema dnu, inkubirane tijekom 24 sata (Ines Sviličić Petrić, pers. comm.).

Nakon druge faze inkubacije, podloge su pregledane. Kontaminacija nije uočena te su sterilnom mikrobiološkom ezom uzete pojedine kolonije, koje se prenose u zasebnu sterilnu epruvetu s 1 mL fiziološke otopine. Sadržaj u epruvetama dobro je izmiješan vortex mikserom dok nije postignuta približno jednaka mutnoća svih uzoraka. Jednaka mutnoća predstavlja približno jednaku gustoću uzoraka za dobivanje preciznijih rezultata. Nakon dobivanja željene mutnoće smjese u pojedinoj epruveti, ona je pomoću automatske pipete nanescena na dvije različite hranjive podloge, jednu za testiranje etil-acetatnih i drugu za vodeno-metanolne ekstrakte. Opisani postupak izveden je s ciljem dobivanja čistih bakterijskih kultura. Zbog manje količine ekstrakata, na kraju je izolirano ukupno 21 različitih i najbolje razvijenih bakterijskih kolonija, na kojima je testirano antimikrobno djelovanje ekstrakata algi. Čiste bakterijske kolonije su numerirane brojevima 1 do 21, opisane te je određen oblik njihovih stanica i debljina stanične stijenke. S obzirom na to da su ekstrakti otapani u dvije različite vrste otapala, ukupno je proučavano djelovanje ekstrakata algi na 42 Petrijeve zdjelice s uzgojenim čistim bakterijskim kulturama. Pojedina Petrijeva zdjelica imenovana je brojem uzgojene bakterijske kulture te je sadržavala oznaku otapala u kojem su pripremljeni ekstrakti algi (Ines Sviličić Petrić, pers. comm.).

Brojanje i bojenje kolonija bakterija s pametnih telefona

Korišten je standardizirani postupak bojanja po Gramu pomoću kristal-violeta i safranina koji omogućuje razlikovanje bakterija na temelju njihove stanične stijenke. Nakon bojenja, uzorci su pregledani pod svjetlosnim mikroskopom uz korištenje imerzijskog ulja kako bi se izvršila identifikacija vrsta na temelju boje i morfologije (Antolović i sur., 2016).

Testiranje ekstrakta algi na bakterijama s pametnih telefona

Za testiranje antimikrobnog učinka ekstrakata algi, pripremljeno je šest filter papirića veličine 6 mm. Pet filter papirića postavljeno je na čiste bakterijske kolonije te je na svaki zatim nanesceno 0,15 mL različitog ekstrakta algi. Kao kontrolni uzorak kako bi se provjerilo da alge nisu osjetljive na sam alkohol u kojem su ekstrahirane, na šesti filter papirić nanescen je etilni acetat kod uzoraka na koje su nanesceni ekstrakti u etilnom acetatu ili metanol kod uzoraka na koje su nanesceni ekstrakti u mješavini vode i metanola. Filter papirići su označeni brojem uzorka za svaku pojedinu vrstu alge, a kontrolne skupine s E za etilni acetat ili M za metanol. Petrijeve zdjelice su zatim bile inkubirane tijekom 24 sata na temperaturi od 37 °C, što odgovara prosječnoj tjelesnoj temperaturi čovjeka (Ines Sviličić Petrić, pers. comm.).

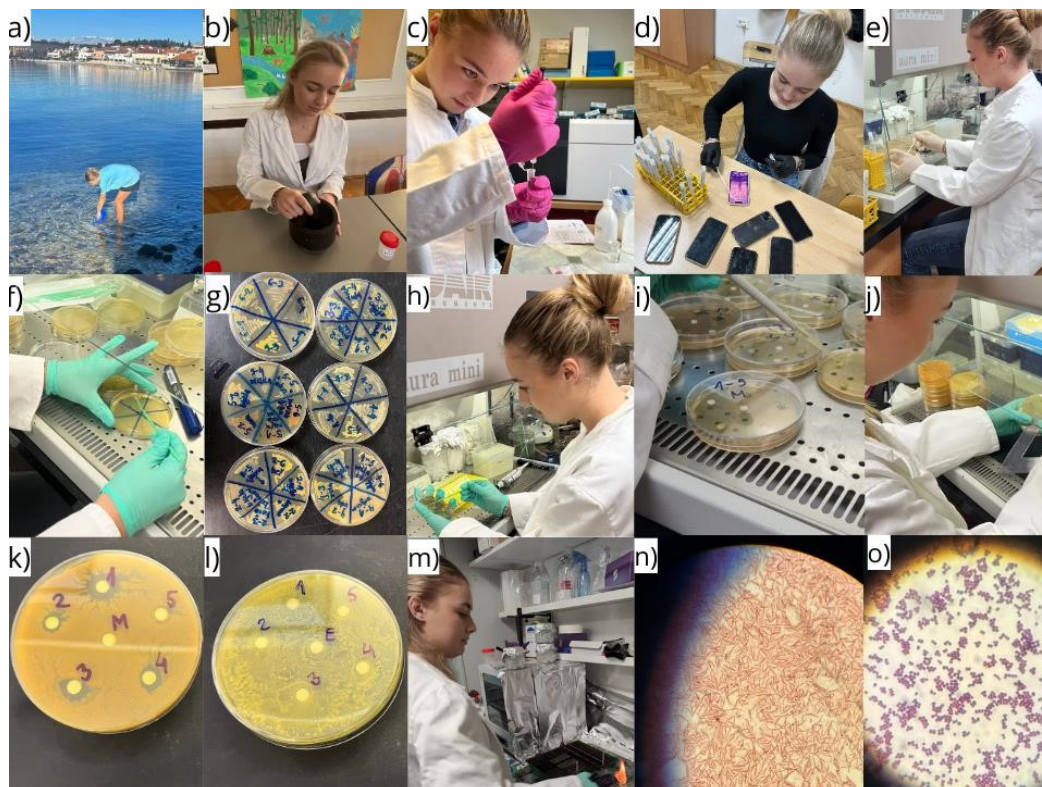
Mjerenje zona inhibicije bakterija i statistička obrada rezultata

Nakon završetka inkubacije, osjetljivost bakterija na svim Petrijevim zdjelicama procijenjena je mjerenjem radijusa zone inhibicije rasta. Kod pravilnih oblika, kružno područje oko filter diska, u kojem je rast bakterija bio zaustavljen, izmjereno je ravnalom. U slučajevima gdje je zona inhibicije imala nepravilan oblik, radijus je izračunat kao srednja vrijednost najvećeg i najmanjeg radijusa. Ukoliko nije došlo do stvaranja zone inhibicije zbog rezistencije mikroorganizama na određeni ekstrakt alge, rezultat je bio zabilježen kao 0.

Kolonije su opisane prema obliku, Gramu i drugim vanjskim vidljivim karakteristikama. Također je prikazana osjetljivost pojedinih bakterijskih kolonija na etil-acetatne i vodeno-metanolne ekstrakte algi, čime se omogućava jasniji uvid u antimikrobnu učinkovitost pojedinih frakcija ekstrakta.

Kako bi se utvrdila antimikrobna učinkovitost ekstrakata određene vrste alge, izračunat je prosječni radijus zone inhibicije bakterijskog rasta formulom: $\text{prosječni radijus zone inhibicije} = \frac{\text{zbroj svih radijusa zona inhibicije}}{\text{ukupan broj testiranih bakterijskih kolonija}}$. Za računanje postotka inhibiranih kolonija ekstraktom pojedine alge korištena je formula: $\text{postotak inhibiranih kolonija} = \frac{\text{broj kolonija s vidljivom zonom inhibicije}}{\text{ukupan broj testiranih kolonija}}$. Prosječne vrijednosti za svaku vrstu alge dobivene su ovim formulama, što pomaže u usporedbi između različitih uzoraka algi.

Glavni koraci istraživanja prikazani su shematski na slici 1.



Slika 1 Glavni koraci istraživanja: a) prikupljanje uzoraka algi; b) homogenizacija algi; c) ekstrakcija bioaktivnih komponenti iz izabranih algi; d) prikupljanje uzoraka bakterija s pametnih telefona; e) inokulacija bakterijskih kolonija s pametnih telefona; f) precijepljivanje bakterijskih kolonija; g) 36 precijepljenih kolonija; h) izdvajanje odabranih kolonija bakterija za testiranje; i) apliciranje različitih ekstrakata algi na odabrane kolonije bakterija; j) mjerenje zone inhibicije; k) primjer uzorka sa vidljivim zonama inhibicije; l) primjer uzorka bez vidljivih zona inhibicije; m) Gram bojanje; n) primjer Gram-negativne bakterijske kolonije bacila; o) primjer Gram-pozitivne bakterijske kolonije stafilokoka (Autor: Nikolić K.; Grgić N.)

REZULTATI

Informacije o bakterijskim kolonijama na kojima je testiran antimikrobni potencijal ekstrakata odabranih algi sadržane su u tablici 2.

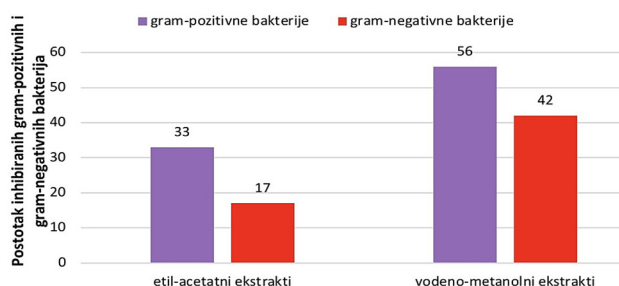
Tablica 2 Opis bakterijskih kolonija te njihova osjetljivost na ekstrakte algi pripremljenih u različitim otapalima

Uzorak	Vrsta bakterije	Gram	Opis kolonije	Osjetljivost na etilacetatne ekstrakte	Osjetljivost na vodenometanolne ekstrakte
1	sarcina	pozitivno	mutnobijela, sjajna, sitna, okruglog oblika	-	+
2	streptokoki	negativno	mutnobijela, sjajna, velika, nepravilnog oblika	-	-
3	diplokoki	pozitivno	žarko narančasta, sjajna, srednje veličine, okruglog oblika, „ljigava“	-	-
4	stafilokoki	negativno	žarko narančasta, sjajna, sitna, okruglog oblika	-	-
5	bacili	negativno	žuta, sjajna, srednje veličine, okruglog oblika	-	-



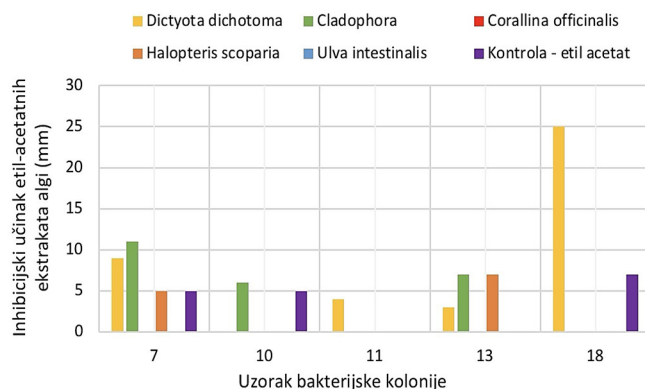
Uzorak	Vrsta bakterije	Gram	Opis kolonije	Osjetljivost na etilacetatne ekstrakte	Osjetljivost na vodenometanolne ekstrakte
6	koki	pozitivno	narančasta, mat, sitna, okruglog oblika	-	+
7	stafilokoki	pozitivno	blijedožuta, sjajna, sitna, okruglog oblika	+	+
8	stafilokoki	negativno	bijela, mat, velika, puno malih kolonija	-	-
9	sarcina	pozitivno	mutnobijela, hrapava površina, srednje veličine, nepravilnog oblika	-	-
10	bacili	pozitivno	žarko žuta, sjajna, sitna, okruglog oblika	+	-
11	koki	negativno	mutnobijela, mat, velika, zvjezdolikog oblika	+	+
12	streptokoki	negativno	žuta, mat, sitna, okruglog oblika	-	+
13	koki	pozitivno	blijeda, sjajna, sitna, okruglog oblika	+	-
14	bacili	negativno	bijela, sjajna, sitna, puno malih kolonija	-	+
15	bacili	negativno	blijeda, mat, srednje veličine, okruglog oblika	-	-
16	koki	negativno	mutnobijela, sjajna, srednje veličine, okruglog oblika, „kožasta“	-	+
17	stafilokoki	pozitivno	svijetlo žuta, mat, srednje veličine, puno malih kolonija	-	+
18	stafilokoki	negativno	blijedožuta, sjajna, srednje veličine, okruglog oblika	+	-
19	stafilokoki	negativno	narančasta, sjajna, sitna, okruglog oblika	-	-
20	streptobacili	pozitivno	bijela, sjajna, sitna, okruglog oblika, „kožasta“	-	+
21	diplokoki	negativno	mutnobijela, sjajna, sitna, okruglog oblika	-	+

Slika 2 uspoređuje učinke ekstrakata algi pripremljenih u različitim otapalima, etil-acetatu i mješavini vode i metanola, na suzbijanje rasta Gram-negativnih u odnosu na Gram-pozitivne bakterije. Analiza podataka prikazanih slikom 2 pokazuje veću učinkovitosti vodeno-metanolnih ekstrakata od etil-acetatnih ekstrakata na suzbijanje rasta obje skupine bakterija, Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija. Vodeno-metanolni ekstrakti uzrokovali su inhibiciju 56 % Gram-pozitivnih bakterija te 42 % Gram-negativnih bakterija. Etil-acetatni ekstrakti uzrokovali su inhibiciju rasta 17 % Gram-negativnih bakterija i 33 % Gram-pozitivnih bakterija.



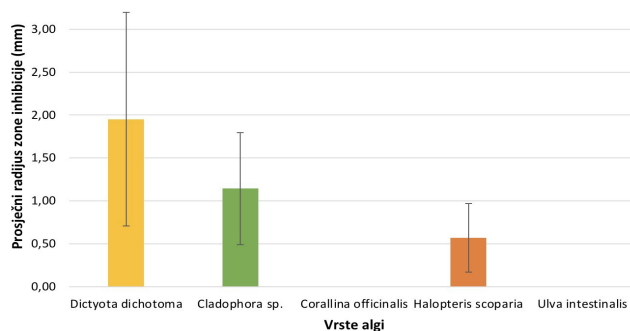
Slika 2 Postotak inhibiranih Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija ekstraktima algi pripremljenim u etil-acetatnim i vodenometanolnim otapalima

Antibakterijska učinkovitost etil-acetatnih ekstrakata prikazana je slikama 3, 4 i 5. Rezultati su dobiveni mjerenjem i analizom zona inhibicije bakterijskih kolonija. Na slici 3 prikazan je inhibicijski učinak etilacetatnih ekstrakata algi na pojedine bakterijske uzorke kod kojih je zabilježena inhibicija rasta. Uzorci koji nisu pokazali inhibicijski učinak, kao i oni kod kojih je kontrolna skupina s etilnim acetatom imala jače djelovanje od svih testiranih ekstrakata, nisu uključeni u prikaz.



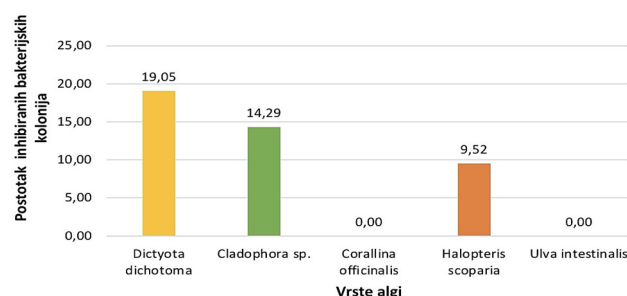
Slika 3 Inhibicijski učinak etil-acetatnih ekstrakata algi na pojedinačne bakterijske uzorke

Slika 4 prikazuje prosječnu vrijednost radijusa zone inhibicije izraženu u mm za svaki ekstrakt, dok je na slici 5 predstavljen postotak inhibiranih kolonija ekstraktom pojedine alge.



Slika 4 Prosječni radijus zone inhibicije izazvan djelovanjem etil-acetatnih ekstrakata algi

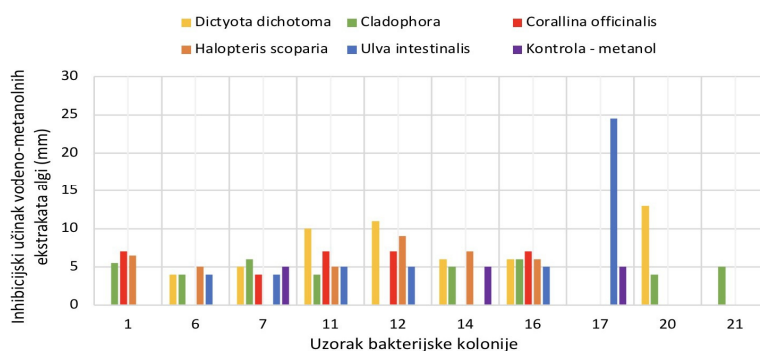
Analizom podataka prikazanih na slici 4 utvrđeno je da je najveći prosječni radijus zone inhibicije izmjeren kod ekstrakta alge *Dictyota dichotoma* (1,95 mm), čime je potvrđena njegova najjača inhibicijska aktivnost. Slijede ekstrakti algi *Cladophora* sp. (1,14 mm) i *Halopteris scoparia* (0,57 mm). Budući da ekstrakti alga *Ulva intestinalis* i *Corallina officinalis* nisu pokazali inhibicijski učinak, njihove su vrijednosti zabilježene kao 0.



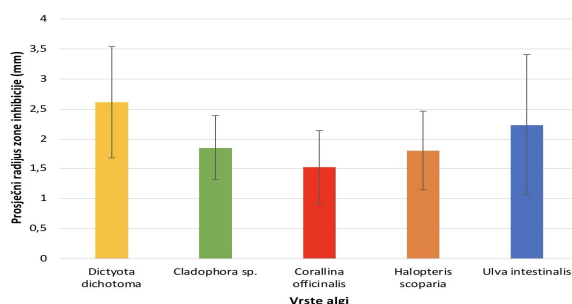
Slika 5 Postotak različitih inhibiranih bakterijskih kolonija etil-acetatnim ekstraktima algi

Analiza podataka prikazanih na slici 5 pokazala je da trend učinkovitosti etil-acetatnih ekstrakata algi na postotak inhibiranih bakterija odgovara rezultatima dobivenim mjerenjem zona inhibicije. Najveću učinkovitost pokazao je ekstrakt alge *Dictyota dichotoma* koji je inhibirao rast 19,05 % različitih bakterijskih kolonija. Slijede ekstrakti algi *Cladophora* sp. (14,29 %) te *Halopteris scoparia* (9,52 %). Etilacetatni ekstrakti alga *Ulva intestinalis* i *Corallina officinalis* nisu pokazali inhibicijsko djelovanje ni na jednu testiranu bakterijsku koloniju.

Prikaz rezultata ispitivanja antibakterijske aktivnosti vodeno-metanolnih ekstrakata algi dostupan je na slikama 6, 7 i 8. Na slici 6 prezentirani su pojedini uzorci kod kojih su vodeno-metanolni ekstrakti pokazali inhibitorni učinak, dok uzorci bez zabilježene inhibicije, kao i oni kod kojih je kontrolna skupina s metanolom imala jači učinak od svih testiranih ekstrakata, nisu uključeni u prikaz. Slika 7 prikazuje prosječnu veličinu zona inhibicije izraženu u milimetrima za svaki testirani ekstrakt, dok je na slici 8 predstavljen postotak inhibiranih kolonija ekstraktom pojedine alge.

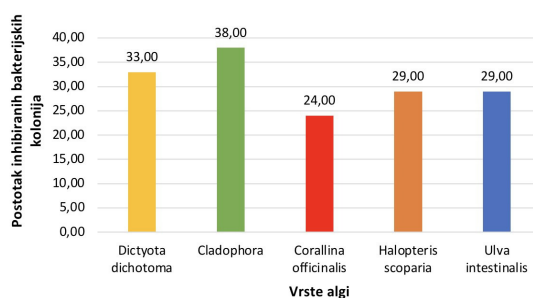


Slika 6 Inhibicijski učinak vodeno-metanolnih ekstrakata algi na pojedinačne bakterijske uzorke



Slika 7 Prosječni radijus zone inhibicije izazvan djelovanjem vodeno-metanolnih ekstrakata algi

Svi testirani vodeno-metanolni ekstrakti algi pokazali su inhibicijski učinak na ispitivane bakterijske kolonije. Najveći prosječni radijus zone inhibicije od 2,61 mm izmjeren je kod ekstrakta *Dictyota dichotoma*. Slijedi ekstrakt alge *Ulva intestinalis* s prosječnim radijusom od 2,26 mm, koji u obliku etilacetatnog ekstrakta nije pokazao nikakav inhibicijski učinak. Zatim učinak prate i ekstrakti algi *Cladophora sp.* (1,88 mm), *Halopteris scoparia* (1,83 mm) te *Corallina officinalis*, koja je pokazala najmanji inhibicijski učinak na bakterije s prosječnim radijusom zone inhibicije od 1,52 mm.



Slika 8 Postotak različitih inhibiranih bakterijskih kolonija vodeno-metanolnim ekstraktima algi

Najveći broj različitih bakterijskih kolonija, računajući i etil-acetatne ekstrakte algi, inhibirao je ekstrakt alge *Cladophora sp.*, djelovao je na čak 38 % promatranih uzoraka. Slijede ekstrakti algi *Dictyota dichotoma* (33 %) te ekstrakti alga *Halopteris scoparia* i *Ulva intestinalis* koji imaju utjecaj



na 29 % različitih bakterijskih kolonija. Najmanju inhibicijsku učinkovitost među vodeno-metanolnim ekstraktima pokazao je ekstrakt *Corallina officinalis*, koji je inhibirao 24 % bakterijskih kolonija.

RASPRAVA

Dobiveni rezultati potvrđuju da morske alge Jadranskog mora sadrže bioaktivne spojeve s antimikrobnim svojstvima, pri čemu se značajne razlike u učinkovitosti uočavaju među različitim vrstama algi, ali i između korištenih otapala za ekstrakciju. Ovi nalazi su u skladu s dosadašnjim istraživanjima koja su dokazala da alge predstavljaju bogat izvor prirodnih antimikrobnih tvari (Pérez i sur., 2016; Taskin i sur., 2007; Parsaeimehr i Lutz, 2016).

Glavni cilj istraživanja bio je usporediti antibakterijski potencijal smeđih, zelenih i crvenih algi te utvrditi utjecaj otapala na njihovu učinkovitost. Analizom podataka utvrđeno je da različite skupine algi posjeduju specifična, različita antimikrobna svojstva, čime je potvrđena postavljena hipoteza.

Smeđe alge su se pokazale kao najučinkovitija skupina, pri čemu je vrsta *Dictyota dichotoma* imala najjači inhibicijski učinak na bakterijski rast. Kod ove vrste izmjeren je najveći prosječni radijus zone inhibicije u oba otapala (2,61 mm kao vodeno-metanolni ekstrakt i 1,95 mm kao etil-acetatni ekstrakt), što potvrđuje njezinu sposobnost sinteze snažnih bioaktivnih spojeva. To je u skladu s istraživanjem Taskina i sur. (2007), koji su također dokazali snažnu antibakterijsku aktivnost spojeva iz roda *Dictyota*, pri čemu se pretpostavlja da su glavni aktivni spojevi diterpenoidi, poznati po svojoj antibakterijskoj aktivnosti.

Druga testirana vrsta iz skupine smeđih algi, *Halopteris scoparia*, pokazala je slabije, ali i dalje značajno djelovanje. Kao etil-acetatni ekstrakt njezin radijus inhibicijske aktivnosti bio je 0,57 mm, dok je u vodeno-metanolnim ekstraktima iznosio 1,83 mm. Iako je manje učinkovita od ekstrakata alge *Dictyota dichotoma*, njezina aktivnost potvrđuje da i druge smeđe alge sadrže bioaktivne spojeve s potencijalnim primjenama u antimikrobnoj terapiji. Manji inhibicijski učinak u etil-acetatnim ekstraktima sugerira da njezini aktivni spojevi imaju veću topljivost u polarnim otapalima, što je u skladu s nalazima Péreza i sur. (2016), koji su primijetili varijacije u kemijskom sastavu algi unutar istih skupina.

Snažnu antimikrobnu aktivnost pokazala je i zelena alga *Cladophora* sp. U obliku vodeno-metanolnog ekstrakta njezin prosječni radijus zone inhibicije bio je 1,88 mm, dok je kao etil-acetatni ekstrakt imala slabiji učinak s radijusom od 1,14 mm. Ovi rezultati sugeriraju da vrsta *Cladophora* sp. sadrži bioaktivne spojeve topljive u polarnim otapalima s umjerenom, ali aktivnošću šireg raspona, što je u skladu s istraživanjem Péreza i sur. (2016) koji su identificirali polisaharide, fenolne kiseline i flavonoide kao glavne bioaktivne komponente zelenih algi. Usporedbom grafičkih prikaza na slikama 6, 7 i 8 uočava se da je upravo ekstrakt vrste *Cladophora* sp. pokazao djelovanje na najvećem broju uzgojenih bakterijskih kolonija, na njih 38 %, ali je unatoč tome najveći inhibicijski učinak ipak zabilježen kod vodeno-metanolnog ekstrakta smeđe alge *Dictyota dichotoma* s prosječnim radijusom zone inhibicije od 2,6 mm. Ovaj rezultat može ukazivati na razliku u spektru djelovanja – zelena alga *Cladophora* sp. možda sadrži spojeve koji inhibiraju širok spektar bakterija, ali s blažim učinkom, dok smeđa alga *Dictyota dichotoma* proizvodi spojeve s jačim, ali specifičnim djelovanjem.

Kod druge ispitivane zelene alge *Ulva intestinalis* uočena je izrazita varijabilnost u aktivnosti. Dok je kao etil-acetatni ekstrakt bila potpuno neučinkovita, kao vodeno-metanolni ekstrakt pokazala je značajan inhibicijski učinak s radijusom zone inhibicije od 2,26 mm. Ovi rezultati upućuju na to da vrsta *Ulva intestinalis* proizvodi hidrofilne bioaktivne spojeve, što je u skladu s nalazima García Poza i sur. (2020), koji su identificirali specifične polisaharide u vrstama roda *Ulva* s jakim antibakterijskim djelovanjem. Neočekivano snažan učinak njezina vodeno-metanolnog ekstrakta na uzorak bakterijske kolonije 17, uočen na grafičkom prikazu na slici broj 6, može biti posljedica varijacija u koncentraciji bioaktivnih spojeva unutar iste vrste algi, što se često događa zbog mikrokoličnih



uvjeta, kako je objašnjeno i u istraživanju García Poza i sur. (2020). Također je moguće da je došlo do interferencije s neidentificiranim metabolitima prisutnima u ekstraktu, što upućuje na potrebu za detaljnijom kemijskom analizom spojeva.

S druge strane, crvena alga *Corallina officinalis* pokazala je najslabije antibakterijsko djelovanje, s prosječnim radijusom zone inhibicije od 1,52 mm u mješavini vode i metanola, dok je kao etil-acetati ekstrakt bila potpuno neučinkovita. Ovi rezultati su u skladu s istraživanjem Hellia i sur. (2004), koji su pokazali da crvene alge generalno sadrže manje bioaktivnih spojeva s antimikrobnim učinkom u usporedbi sa smeđim i zelenim algama. Međutim, potrebno je uzeti u obzir da je u ovom istraživanju testirana samo jedna vrsta crvenih algi, pa nije isključeno da bi druge vrste mogle imati jače djelovanje.

Jedan od ključnih faktora u ovom istraživanju bio je učinak otapala na antibakterijsku aktivnost ekstrakata. Ispostavilo se da ekstrakti algi pripremljeni u etil-acetatu imaju slabija antibakterijska svojstva od ekstrakata algi pripremljenih u mješavini vode i metanola čime je opovrgnuta postavljena hipoteza. Vodeno-metanolni ekstrakti pokazali su jače inhibicijsko djelovanje na rast Gram-pozitivnih bakterija (56 %) u odnosu na Gram-negativne bakterije (42 %). Ovi rezultati su u djelomičnoj suprotnosti s istraživanjem Parsaeimehra i Lutza (2016), koji su pokazali da polarni spojevi ekstrahirani u metanolnim otopinama imaju jače antimikrobno djelovanje na Gram-negativne bakterije, što se pripisuje njihovoj sposobnosti prodiranja kroz kompleksnu snažnu stijenku ovih bakterija.

Ustanovilo se da ekstrakti algi pripremljeni u etil-acetatu imaju specifičniju antibakterijsku aktivnost, s jačim djelovanjem na Gram-pozitivne bakterije (33 %) u usporedbi s Gram-negativnim bakterijama (17 %), čime se potvrdila zadnja hipoteza istraživanja. S obzirom na to da etil-acetat preferencijalno izdvaja lipofilne spojeve poput terpenoida i sterola, njegova sposobnost inhibicije rasta bakterija bila je ograničena. Međutim, specifičnost djelovanja etil-acetatnih ekstrakata na Gram-pozitivne bakterije ukazuje na moguće prisustvo spojeva koji ciljano ometaju sintezu peptoglikana, što je u skladu s istraživanjem Parsaeimehra i Lutza (2016) koji su dokazali da su mnogi lipofilni spojevi djelotvorni upravo na Gram-pozitivne bakterije. Moguće je da je veći broj testiranih Gram-negativnih bakterija, ukupno 12, u odnosu na 9 promatranih Gram-pozitivnih bakterija utjecao na rezultate i dao iskrivljenu sliku učinkovitosti pojedinih ekstrakata. Isto tako, potrebno je naglasiti da se antibakterijski učinak može pripisati ekstraktu samo ako je inhibicija rasta bakterija bila veća nego kod kontrolnih uzoraka s čistim otapalom (Balouiri i sur., 2016). U ovom istraživanju kontrolni uzorci pokazali su minimalnu inhibiciju, što potvrđuje da su bioaktivni spojevi algi odgovorni za zabilježene učinke.

Jedan od glavnih ograničenja ovog istraživanja je relativno mali broj testiranih bakterijskih sojeva, što može utjecati na generalizaciju rezultata. Osim toga, metoda disk difuzije, iako često korištena u istraživanjima antimikrobnih svojstva, ima određena ograničenja. Naime, prema istraživanju Balouiria i sur. (2016), ova metoda ne omogućuje precizno određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) testiranih ekstrakata, a također je podložna varijacijama u difuziji spojeva kroz agar, što može podcijeniti učinkovitost manje pokretnih molekula.

Drugi metodološki aspekt koji može utjecati na rezultate je način ekstrakcije bioaktivnih spojeva. Iako su korištena dva različita otapala, moguće je da nisu izolirani svi potencijalno aktivni spojevi prisutni u algama. Budući da različiti spojevi mogu imati sinergijsko djelovanje, odnosno dva ili više spojeva ili čimbenika zajedno mogu imati jači učinak nego što bi svaki od njih imao pojedinačno, daljnja istraživanja trebala bi uključiti frakcioniranje ekstrakata i identificiranje pojedinačnih bioaktivnih komponenti kako bi se preciznije odredili mehanizmi njegovog djelovanja.



Osim mogućih metodoloških nedostataka, na rezultate su mogli utjecati različiti okolišni faktori. Specifični uvjeti Jadranskog mora, poput visokog saliniteta, relativno plitkih voda i povećane izloženosti UV zračenju, mogu imati utjecaj na kemijski sastav algi i njihovu sposobnost sinteze bioaktivnih spojeva. Osim navedenog, prema istraživanju Zhang i sur. (2019), na fluktuacije u koncentraciji sekundarnih metabolita mogu utjecati i sezonske varijacije u temperaturi i dostupnost nutrijenata, što može objasniti odstupanja u antimikrobnoj aktivnosti u odnosu na alge iz drugih geografskih područja. Predlažem da se daljnjim istraživanjima uključi veći broj vrsta različitih skupina algi iz Jadranskog mora čime bi se dobili relevantniji i potpuniji rezultati, ali bih također podržala ekološki prihvatljiva ispitivanja bioaktivnih komponenti i iz ostalih morskih organizama te na taj način doprinijela potencijalnom razvoju novih antimikrobnih terapeutika.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenih pokusa i dobivenih rezultata mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- ☞ Smeđe alge imaju najsnažnije antibakterijsko djelovanje na bakterije uzorkovane s pametnih telefona učenika – *Dictyota dichotoma* pokazala je najveće zone inhibicije, dok je *Halopteris scoparia* pokazala slabiji, ali i dalje značajan učinak;
- ☞ Zelene alge imaju izraženiju, ali varijabilnu aktivnost – *Cladophora* sp. je inhibirala najveći broj bakterijskih kolonija, dok je *Ulva intestinalis* pokazala snažan učinak samo u vodenometanolnim ekstraktima;
- ☞ Crvena alga *Corallina officinalis* ima najslabije antimikrobno djelovanje na bakterije s pametnih telefona učenika;
- ☞ Vodeno-metanolni ekstrakti imaju utjecaj na veći broj različitih bakterijskih kolonija od etil-acetatnih ekstrakata;
- ☞ Etil-acetatni i vodeno-metanolni ekstrakti učinkovitiji su na Gram-pozitivne bakterije;
- ☞ Alge Jadranskog mora vrijedan su izvor bioaktivnih spojeva s antimikrobnim potencijalom.

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj profesorici Katarini Medić na mentorstvu i podršci, Institutu Ruđer Bošković na pruženim resursima te svojoj obitelji na razumijevanju i ohrabrenju tijekom izrade ovog rada.

LITERATURA

- Afzal S., Yadav A.K., Poonia A.K. et al. 2023. Antimicrobial therapeutics isolated from algal source: retrospect and prospect. *Biologia* 78, 291–305.
- Antolović R., Frece J., Gobin I., Hrenović J., Kos B., Markov K., Mlinarić-Missoni E., Novak J., Ožanić M., Pinter Lj. i sur. 2016. Priručnik za vježbe iz opće mikrobiologije / Hajsig, D ; Delaš, F (ur.). Hrvatsko mikrobiološko društvo, Zagreb.
- Balouiri M., Sadiki M., Ibnouda S.K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 6(2): 71–79.
- Bhadury P., Wright P.C. 2004. Exploitation of marine algae: Biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta* 219: 561–578.
- Bhalodia N.R., Shukla V.J., 2011. Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* 2: 104–109.
- Chiheb I., Riadi H., Martinez-Lopez J., Domingues S., Gomez V.J., Bouziane H., Kadiri M. 2009. Screening of antibacterial activity in marine green and brown macroalgae from the coast of Morocco. *African Journal of Biotechnology* 8: 1258–1262.
- García Poza S., Leandro A., Cotas C., Cotas J., Marques J., Pereira L., Gonçalves A. 2020. The evolution road of seaweed aquaculture: Cultivation technologies and the industry 4.0. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17: 6528.
- Guiry, M.D. 2012. How many species of algae are there? *Journal of Phycology* 48(5): 1057–1063.
- Hellio C., Simon-Colin C., Clare A., Deslandes E. 2004. Isethionic acid and floridoside isolated from the red alga, *Grateloupia turuturu*, inhibit settlement of *Balanus amphitrite* cyprid larvae. *Biofouling* 20(3): 139–145.
- Herrero M., Mendiola J.A., Plaza M., Ibañez E. 2010. Screening for bioactive compounds from algae. U: *Advanced Biofuels and Bioproducts*. Springer Science+Business Media, New York, str. 833–872.



- Jimenez-Lopez C., Pereira A.G., Lourenço-Lopes C., Garcia-Oliveira P., Cassani L., Fraga M. i sur. 2020. Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits. *Food Chemistry* 341: 128262.
- Kiran G.S. 2021. Anti-diabetic potential of a stigmasterol from the seaweed *Gelidium spinosum* and its application in the formulation of nanoemulsion conjugate for the development of functional biscuits. *Frontiers in Nutrition* 8: 694362.
- Munir N., Sharif N., Naz S., Manzoor F. 2013. Algae: A potent antioxidant source. *Sky Journal of Microbiology Research* 1(3): 22–31.
- Narayanan M. 2024. Promising biorefinery products from marine macro and microalgal biomass: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 190: 114081.
- Parsaeimehr A., Lutzu G.A. 2016. Algae as a novel source of antimicrobial compounds: Current and future perspectives, U Kon K. i Rai M. (ur.), *Antibiotic resistance: Mechanisms and new antimicrobial approaches*. Elsevier Inc, Amsterdam, str. 377–396.
- Pérez M.J., Falqué E., Domínguez H. 2016. Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. *Marine Drugs* 14(3): 52.
- Pina-Pérez M.C., Rivas A., Martínez A., Rodrigo D. 2017. Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. *Food Chemistry* 235: 34–44.
- Radman S., Čagalj M., Šimat V., Jerković I. 2022. Seasonal variability of volatiles from *Dictyota dichotoma*. *Molecules* 27(9): 3012.
- Spalding H.L., Amado-Filho G.M., Bahia R.G., Ballantine D.L., Fredericq S., Leichter J.J., Nelson W.A., Slattery M., Tsuda R.T. 2019. *Mesophotic coral ecosystems*. Springer, Cham.
- Taskin E., Öztürk M., Kurt O. 2007. Antibacterial activities of some marine algae from the Aegean Sea (Turkey). *African Journal of Biotechnology* 6(24): 6.
- Thawabteh A.M., Swaileh Z., Ammar M., Jaghama W., Yousef M., Karaman R., Bufo S.A., Scrano L. 2023. Antifungal and antibacterial activities of isolated marine compounds. *Toxins* 15(2): 93.
- Zhang S., Hyde K., Liu J.K., Jones E., Abdel-Wahab M. 2019. Additions to the genus *Savoryella* (Savoryellaceae). *Phytotaxa* 408(3): 195–207.

Ispitivanje genotoksičnosti i citotoksičnosti zračenja uv lampi za nokte

Petra Cvitković, 2. razred

Klara Tabak, 2. razred

III. gimnazija, Split

Mentor: Ines Alujević

SAŽETAK

Provedeno je istraživanje s ciljem utvrđivanja učinaka (toksičnosti) UV, UV/LED i LED lampi za nokte pomoću *Allium cepa* testa. Na korjenčićima proklijalih sjemenki luka (*Allium cepa* L.) tretiranim zračenjem istraživana je promjena duljina klicinih korjenčića, mitotski indeks meristemskih stanica, udio kromosomskih aberacija u stanicama u mitozu te udio interfaznih stanica s mikronukleusima. Rezultati su pokazali da zračenje UV lampi uzrokuje inhibiciju rasta klicinih korjenčića, dok zračenje LED lampi nema značajan učinak na duljinu korjenčića u uvjetima ovog istraživanja. Zračenje kombiniranom UV/LED lampom rezultiralo je inhibicijom rasta i morfološkim promjenama pri duljem izlaganju. Mikroskopskom analizom nije zabilježeno statistički značajno odstupanje mitotskog indeksa u meristemskim stanicama tretiranih korjenčića. U skupinama tretiranim UV i UV/LED zračenjem utvrđen je povećan broj stanica s kromosomskim aberacijama i stanica s mikronukleusima. Povećana učestalost mutacija zabilježena je i nakon tretmana LED zračenjem pri duljem izlaganju. Ovo istraživanje potvrđuje da UV i UV/LED lampe za nokte imaju genotoksičan učinak na meristemske stanice *A. cepa*, dok LED zračenje može izazvati specifične genotoksične promjene pri višim dozama.

Ključne riječi: kozmetologija; *Allium cepa* test; mitotski indeks; mutacije

UVOD

Trend izrade umjetnih gel-noktiju, koji je prisutan posljednjih 30 godina, doveo je do povećane upotrebe svjetlosnih UV lampi za taj kozmetički tretman. UV zračenje čini značajan dio spektra sunčeve svjetlosti koji dopire do Zemlje (Diffey, 2002). Sunčev UV spektar koji dopire do Zemljine površine sastoji se približno od 95 % UVA i 5 % UVB zračenja, dok UVC zračenje, iako štetno, nije zabrinjavajuće za ljudsku sigurnost, jer Zemljina atmosfera sprječava prodor gotovo svih UVC fotona. Dio svjetlosnog spektra koji ima valne duljine između 100 i 400 nm poznato kao UV zračenje često se koristi u industrijskim i medicinskim primjenama. Na primjer, fototerapija koristi UVA i UVB fotone za liječenje poremećaja kože (Schneider i sur., 2008). UVC-zračenje (200–280 nm) se koristi kao tehnologija sterilizacije (Bhardwaj i sur., 2021). UV lampe za nokte većinom koriste UVA svjetlost zbog svoje prikladnosti za aktiviranje fotoinicijatora u gel lakovima čime se postiže dugotrajan i otporan sloj laka. Mogu sadržavati fluorescentne žarulje ili diode (LED). LED varijanta UV lampi uvedena je nakon 2000. godine, kako bi se smanjio utjecaj žive u klasičnim UV lampama na okoliš (Muramoto i sur., 2014). Iako LED lampe omogućavaju brže stvrdnjavanje gel lakova, smanjujući vrijeme izlaganja UV svjetlosti, većina salona za nokte i dalje koristi fluorescentne žarulje zbog viših troškova LED lampi. Spektar emisije UV lampi s fluorescentnim žaruljama kreće se od 300 do 410 nm, s optimalnim emisijama na 375 nm. S druge strane, LED lampe imaju raspon od 375 do 425 nm, s optimalnim emisijama na 385 nm. LED lampe pružaju intenzivnije zračenje, što omogućava kraće vrijeme izlaganja u usporedbi s fluorescentnim lampama. Tipično vrijeme za stvrdnjavanje noktiju je 2 minute uz upotrebu fluorescentnih lampi, dok LED lampe zahtijevaju samo 45 sekundi. Ovisno o snazi žarulje, broju žarulja u lampi i udaljenosti između lampe i noktiju, vrijeme izlaganja UV lampi može varirati od 3 do 5 minuta. Kod korisnika koji kontinuirano odlaze na tretmane, izlaganje zračenju uobičajeno se ponavlja svaka 2-3 tjedna (Shihab i Lim, 2018). Iako su svjetlosne lampe za nokte popularne zbog svoje učinkovitosti i brzine, njihova učestala upotreba donosi potencijalne zdravstvene rizike. Dosadašnja istraživanja



pokazala su različite rezultate o štetnosti ovih uređaja, pri čemu su neka istraživanja ukazala na mogućnost oštećenja kože i povećan rizik od razvoja raka kože uslijed dugotrajne izloženosti UV zračenju. Curtis i sur. (2013) u svojoj studiji su utvrdili su da UV lampa emitira 4,2 puta više energije između 355 i 385 nm nego sunčevo zračenje (pri UV indeksu = 6). Zaključili su da je doza 10-minutnog izlaganja UV lampi za nokte na rukama osobe jednaka preporučenoj dnevnoj granici za radnike na otvorenom, koja iznosi 30 J/m² tijekom 8 sati. Stoga su preporučili nanošenje kreme za sunčanje širokog spektra 30 minuta prije tretmana akrilnim noktima. Shipp i sur. (2014) testirali su sedamnaest različitih lampi za nokte i utvrdili da se prag oštećenja DNK može doseći između osmog i dvjesto osmog posjeta salonu. Istraživanje koje su proveli Zhivagui i sur. (2023) pokazalo je da zračenje koje emitiraju UV lampe za sušenje laka za nokte može oštetiti DNK i izazvati mutacije na genomu primarnih mišjih embrionalnih fibroblasta, humanih fibroblasta prepucija i ljudskih epidermalnih keratinocita. Nasuprot tome, u istraživanju Dowdy i Sayre (2013), kojim je proučavana fotobiološka sigurnost šest lampi za nokte, utvrđeno je da se dnevno prihvatljivo vrijeme korištenja kreće od 36 minuta do preko 4 sata.

Allium cepa L., odnosno crveni luk, je dvogodišnja zeljasta biljka iz porodice sunovrata (Amaryllidaceae). Podrijetlom je iz zapadne Azije (Umeljić, 2004). Među biljnim vrstama, *Allium cepa* je korišten za procjenu kromosomskih aberacija i poremećaja u mitotskom ciklusu. Danas se koristi za procjenu velikog broja genotoksičnih/antigenotoksičnih agenasa, što pridonosi sve većoj primjeni u praćenju stanja okoliša (Khanna i Sharma, 2013). Ovaj organizam je dobar bioindikator za procjenu potencijalne štete, zahvaljujući visokoj osjetljivosti ne samo na kemikalije, već i na zračenje (Feretti i sur., 2007; Xavier i sur., 2021; Bolsunovsky i sur., 2022). *Allium cepa* test dokazani je pokazatelj genotoksičnih učinaka na okoliš i ljudsko zdravlje, s odgovorom u rasponu od 71 % do 91 % dosljednosti sa stanicama sisavaca (Leme i Marin-Morales, 2009; Tedesco i Laughinghouse, 2012). Barco i sur. (2024) su u svom istraživanju biodozimetrije ultraljubičastog zračenja (UVB i UVC) potvrdili biljni organizam, *Allium cepa* kao alternativu životinjskim modelima. Genotoksičnost UV zračenja kojim su izlagali klice *A. cepa* procijenjena je mikronukleus-testom te udjelom kromosomskih aberacija u stanicama u mitozu. Za procjenu citotoksičnosti UV zračenja koristili su se utvrđivanjem mitotskog indeksa. Mikronukleus-test temelji se na identifikaciji i brojanju mikronukleusa unutar stanica u mitozu (mikronukleusi su fragmenti DNK koji nastaju zbog mutagenog agensa i raspršuju se u citoplazmi bez ugradnje u jezgru tijekom završnih faza stanične mitoze). Kromosomske aberacije su promjene u broju i/ili strukturi kromosoma. Mitotski indeks je parametar koji se koristi za procjenu citotoksičnosti, a predstavlja omjer između broja stanica koje su u fazi diobe (mitoza) u odnosu na ukupan broj analiziranih stanica. Ovaj indeks je važan jer pruža informacije o tome koliko se brzo stanice dijele. Vrlo visok mitotski indeks može biti znak toksičnosti; prekomjerna proliferacija stanica može dovesti do disfunkcije ili čak stvaranja tumora (Barco i sur., 2024). Budući da gel nokti nisu postigli široku popularnost do 2010., učestalost slučajeva raka kože mogla bi se povećati u nadolazećim godinama s obzirom na potrebnu izloženost i protok vremena potrebnog za razvoj karcinoma skvamoznih stanica.

Cilj ovog istraživačkog projekta je utvrditi učinak (štetnost) zračenja koje emitiraju UV lampe i led lampe koje se koriste u manikuri pomoću *Allium cepa* testa provedenog na klicama luka. Ovim istraživanjem želi se ukazati na moguće štetne učinke dugotrajnog izlaganja UV/LED lampi i doprinijeti razumijevanju sigurnosti korištenja ovih uređaja. Ovim istraživanjem testirana je točnost sljedećih hipoteza: (1) korjenčići luka izloženi UV i LED zračenju lampi za nokte odstupat će svojom duljinom od onih iz kontrolne skupine, (2) meristemske stanice korjenčića luka izloženih UV i LED zračenju lampi za nokte

će imati manji mitotski indeks u usporedbi s kontrolnom skupinom, (3) na meristemskim stanicama korjenčića luka tretiranih UV i LED zračenjem bit će uočene izraženije mikroskopske promjene (kromosomske aberacije, broj mikronukleusa) u usporedbi s kontrolnom skupinom, pri čemu će izraženije promjene biti zabilježene kod većih doza zračenja, (4) UV zračenje će izazvati veće promjene na meristemskim stanicama korjenčića luka nego LED zračenje.

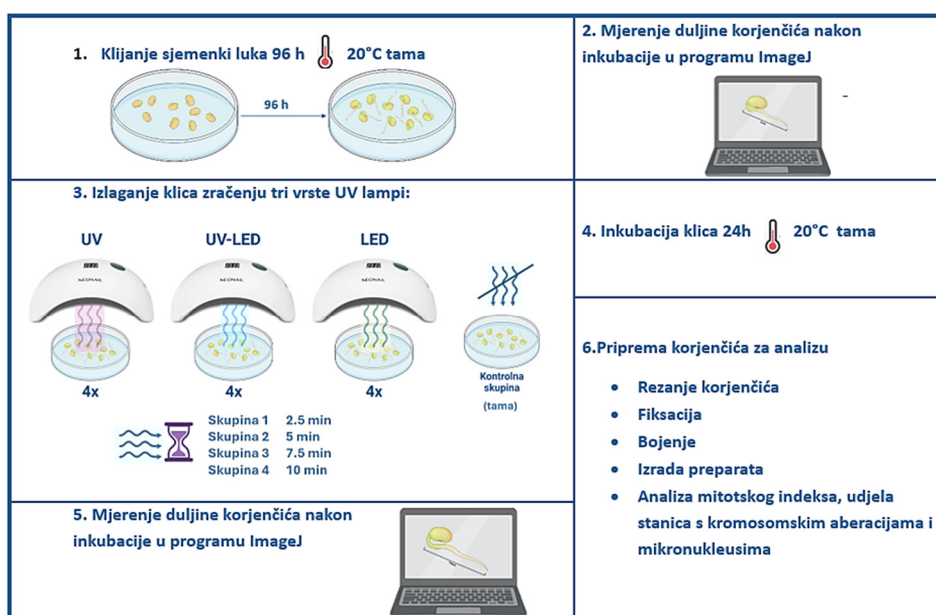
METODE RADA

U cilju utvrđivanja navika vezanih za tretman noktiju uz pomoć UV lampi provedena je anonimna online anketa među ispitanicima različitih dobnih skupina, s naglaskom na mlađu populaciju (tablica 1).

Tablica 1 Anketa o svijesti i navikama pri korištenju UV/LED lampi za nokte

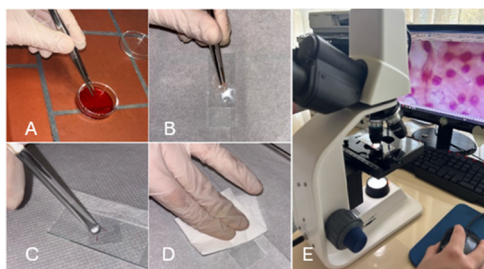
Anketa		
1. pitanje Dob:	2. pitanje Jeste li ikada koristili tretman gel noktiju koji uključuje uporabu UV odnosno LED lampi?	3. pitanje Ukoliko radite tretman gel noktiju, koliko često to činite?
Odgovor 1 a. <15 godina b. 15-18 godina c. 18-22 godine d. >22 godine	Odgovor 2 a. da b. ne	Odgovor 3 a. jednom mjesečno b. svaka 2-3 tjedna c. češće od svaka 2 tjedna d. rijetko (manje od jednom mjesečno)
4. pitanje Ukoliko radite tretman gel noktiju, koristite li UV zaštitu (npr. SPF kremu ili zaštitne rukavice)?	5. pitanje Smatrate li da upotreba UV lampi predstavlja potencijalni zdravstveni rizik?	6. pitanje Biste li bili voljni koristiti zaštitu (SPF kremu ili rukavice s UV zaštitom) ako bi vas to dodatno zaštitilo od zračenja?
Odgovor 4 a. da b. ne	Odgovor 5 a. da b. djelomično c. ne d. nisam razmišljao/la o tome	Odgovor 6 a. da b. ne

Sažeti plan istraživanja u cilju utvrđivanja genotoksičnosti i citotoksičnosti UV/LED zračenja uz pomoć *Allium cepa* testa na proklimalim korjenčićima sjemenki luka prikazan je na slici 1.



Slika 1 Shematski prikaz osnovnih koraka u ispitivanju genotoksičnosti i citotoksičnosti zračenja UV lampi za nokte

U ovom eksperimentu korištene su sjemenke crvenog luka *Allium cepa* L. sorte *Stuttgarter Riesen*. Dva filter papira postavljena su u Petrijeve zdjelice promjera 8,5 cm, gdje je po 10 sjemenki raspoređeno na međusobni razmak od 1 cm. Kako bi filter papiri poslužili kao medij za klijanje, navlaženi su s 4 mL destilirane vode, u skladu s metodologijom Xavier i sur. (2021). Proces klijanja trajao je četiri dana, s ciljem postizanja duljine klica od oko 0,5 cm, a proveden je u tami na temperaturi od 20°C. Nakon završetka klijanja, korjenčići su fotografirani radi mjerenja duljine, koja je precizno određena uz pomoć programa ImageJ (Rueden, 2017). Za izlaganje proklijalih korjenčića *A. cepa* zračenju korištene su tri različite vrste lampi za nokte: UV lampa – Xanitalia Pro UV lampa za polimerizaciju gela (36W), LED lampa za nokte 01-940-11 (5W), UV/LED lampa - Juliana Nails - Intense (54W). Po četiri Petrijeve zdjelice s proklijalim sjemenkama izlagane su različitom vremenu zračenja lampi u trajanju od 2,5, 5, 7,5 i 10 minuta kako bi se postigle različite doze zračenja (u skladu s metodologijom Barco i sur., 2024). Nakon izlaganja zračenju, Petrijeve zdjelice ponovno su vraćene na inkubaciju 24 sata u tami pri temperaturi od približno 20°C kako bi stanice mogle završiti barem jedan stanični ciklus, što omogućuje potencijalni popravak oštećenja nastalih zračenjem ili formiranje mikronukleusa i kromosomskih aberacija (Barco i sur., 2024). Nakon 24-satnog razdoblja inkubacije, duljina klicinih korjenčića ponovno je izmjerena u programu ImageJ, čime je omogućena usporedba s početnim vrijednostima i procjena utjecaja izlaganja zračenju na njihov rast. Zatim su korjenčići fiksirani u otopini koja se sastojala od 96 %-tnog etanola i ledene octene kiseline u omjeru 3:1 tijekom 24 sata na temperaturi 20°C kako bi se zaustavila stanična dioba. Nakon fiksacije, premješteni su u 70 %-tni etanol i pohranjeni na 4 °C (do trenutka analize). Prije analize, korjenčići su omekšani tretmanom u 1 M HCl tijekom 10 minuta, zatim isprani destiliranom vodom i obojeni 1 %-tnom otopinom acetokarmina kroz 120 minuta. Prilikom izrade preparata, vršni dijelovi korjenčića, prepoznatljivi po intenzivno obojenoj zoni primarnog meristema, postavljeni su na predmetno stakalce u kap acetokarmina te su macerirani staklenim štapićem. Nakon maceracije, korjenčići su prekriveni pokrovnicom i zgnječeni laganim pritiskom (slika 2 A-D). Predmetna i pokrovnica stakalca prethodno su očišćena etanolom radi osiguravanja čistoće i kvalitete preparata.



Slika 2 Priprema preparata; bojenje (A), rezanje vršnih meristema (B), maceriranje (C i D), fotografiranje i mikroskopska analiza preparata (E)

Za svaki mikroskopski preparat korištena su 2 vrška korjenčića, za svaki tretman pripremljeno je 5 preparata. Analiza koja je obuhvaćala mikroskopiranje i fotografiranje preparata provedena je digitalnim binokularnim mikroskopom B-150D-BRPL opremljenim kamerom (slika 2E). Na svakom preparatu analizirano je 500 stanica, što ukupno iznosi 2500 stanica po tretmanu za izračun mitotskog indeksa, udjela stanica s kromosomskim aberacijama i mikronukleusima. Mitotski indeks izražava se kao omjer između broja stanica u mitozu i ukupnog broja stanica. Moguće ga je izračunati prema izrazu:

$$\text{Mitotski indeks} = \frac{(P + M + A + T)}{N} \times 100\%$$

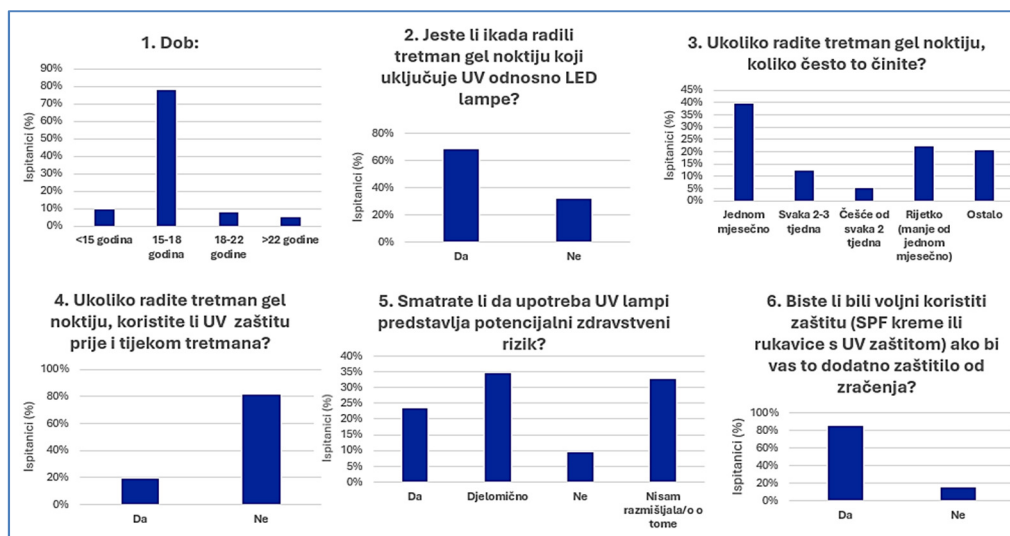


U kojem je ($P+M+A+T$) suma svih stanica u profazi (P), metafazi (M), anafazi (A) i telofazi (T), a N je ukupan broj stanica. Stanice su brojane pregledom cijelog vidnog polja mikroskopa pri povećanju 400 puta, pomicanjem preparata s lijeva na desno, pazeći pritom da ne dolazi do dvostrukog brojanja (Vareško, 2017). Praćene mutacije obuhvaćale su kromosomske aberacije poput anafaznih mostova, lomova kromosoma, c-mitoze, ljepljivih kromosoma te prisutnost mikronukleusa. Aberacije i mikronukleusi detektirani su analizom mikroskopskih preparata, a rezultati su izraženi kao postotak kromosomskih aberacija u odnosu na broj stanica u diobi (najmanje 100 stanica u diobi po preparatu) i postotak stanica s mikronukleusima u ukupnom broju analiziranih stanica (500) po preparatu (2500 po tretmanu). Istraživanje je uključivalo procjenu postojanja statistički značajnih razlika u mitotskom indeksu, broju i tipu kromosomskih aberacija te broju mikronukleusa među različitim tretmanima: kontrole i tretmana izlaganja korjenčića *A. cepa* UV lampi, LED lampi i UV/LED lampi u vremenskim intervalima od 2,5, 5, 7,5 i 10 minuta. Za statističku analizu korištene su standardne devijacije radi procjene varijabilnosti podataka, dok je ANOVA test primijenjen za utvrđivanje značajnosti rezultata, koristeći mrežni statistički kalkulator (Acetabulum dk, 2017). Kako bi se dodatno analizirala razlika između pojedinih parova tretmana, primijenjen Tukey-Kramer HSD post-hoc test (Acetabulum dk, 2017). Rezultati su smatrani statistički značajnima ako je p -vrijednost bila manja od 0,05, što ukazuje na manje od 5 % vjerojatnosti da je razlika u rezultatima između ispitivanih skupina rezultat slučajnosti. Za p -vrijednosti veće od 0,05 rezultati se nisu smatrani statistički značajnima.

REZULTATI

Anketa

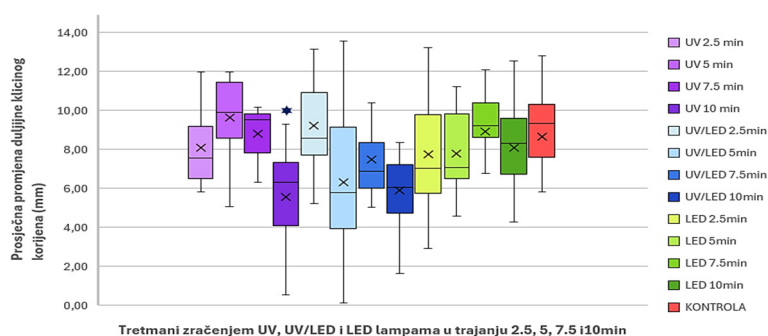
Rezultati ankete kojom su ispitane navike 232 ispitanika vezane za tretman noktiju uz pomoć UV lampi statistički su obrađeni i vizualizirani grafičkim prikazima u programu Excel (slika 3). Od ukupnog broja ispitanika, 78 % pripada dobnoj skupini od 15 do 18 godina, a 68,10 % njih je koristilo tretmane noktiju s UV lampama. Tretman koristi jednom mjesečno 39,38 % ispitanika, 81,08 % ne primjenjuje zaštitu poput SPF kreme ili rukavica. Većina ispitanika (34,48 %) smatra tretman UV/LED lampama djelomičnim zdravstvenim rizikom, a 23,28 % ga vidi kao konkretan zdravstveni problem. Spremnost za korištenje zaštite tijekom tretmana izražava 84,91 % ispitanika (slika 3).



Slika 3 Grafički prikaz rezultata ankete (pitanja 1-6)

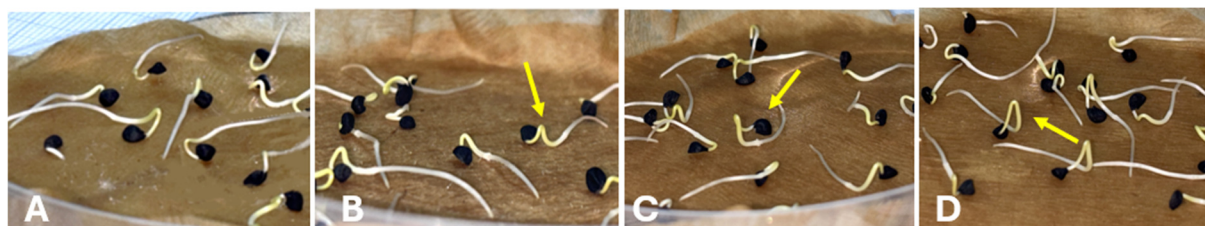
Prosječna promjena duljine klicinih korjenčića

Slikom 4 prikazane su prosječne promjene duljina klicinih korjenčića izmjerene nakon zračenja te inkubacije od 24 h. Zabilježeno je da su u usporedbi s kontrolnom skupinom, korjenčići tretirani UV i UV/LED zračenjem u trajanju od 10 minuta postigli niže srednje vrijednosti rasta. S druge strane, tretmani LED svjetlom rezultiraju sličnim vrijednostima promjene duljina klicinih korjenčića u odnosu na kontrolnu skupinu. Statistički značajna razlika u promjeni duljina korjenčića utvrđena je za klice tretirane zračenjem UV 10 min u odnosu na kontrolnu skupinu ($p = 0,02$) kao i u odnosu na one tretirane zračenjem UV 5 min ($p = 0,0003$) i UV 7,5 min ($p = 0,016$). Statistički značajno odstupanje zabilježeno je među skupinama tretmanima UV/LED lampom: UV/LED 10 min i UV/LED 2,5 min ($p = 0,009$). Statistička značajnost između svakog od parova tretmana prikazana je u prilogu 1.



Slika 4 Prosječne promjene duljina klicinih korjenčića nakon tretmana zračenjem i inkubacije od 24h. Prikazani su medijani (vodoravnim linijama unutar obojenog polja) gornji i donji kvartili (rubovi obojenog polja), najmanje i najveće vrijednosti (krajnje točke okomitih linija), srednje vrijednosti (X) te statistički značajna odstupanja od kontrole(*)

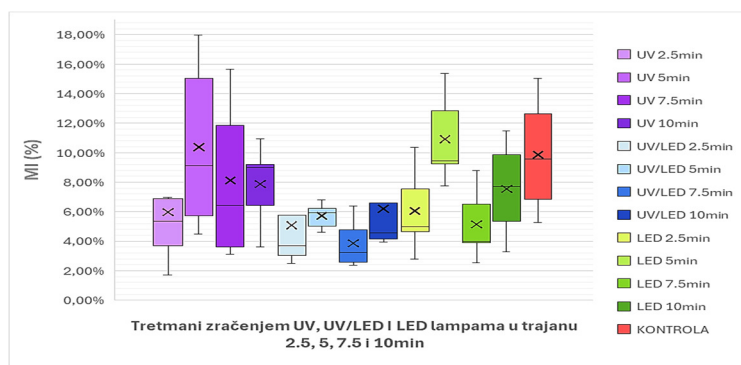
Nakon tretmana i inkubacije uočene su promjene u morfologiji klicinih korjenčića - oni izloženi UV 10 min zračenju pokazuju kraći rast i izraženiju zakrivljenost u odnosu na kontrolu, uz blagu žućkastu promjenu boje. Kombinacija UV i LED svjetla u tretmanu od 10 min rezultirala je najuočljivijim morfološkim promjenama, uključujući nepravilniji rast i izraženije savijanje klica. Klicini korjenčići tretirani samo LED svjetlom pokazali su blaže promjene u rastu u usporedbi s UV tretmanima, ali su i dalje odstupale od kontrolne skupine (slika 5).



Slika 5 Usporedba morfologije klicinih korjenčića kod kontrolne skupine (A) i klica tretiranih redom s: UV 10 min (B), UV/LED 10 min (C), LED 10 min (D) Fotografija: autor PC

Mitotski indeks

Nakon prebrojavanja stanica na mikroskopskim preparatima, određena je zastupljenost stanica u mitozu u odnosu na ukupan broj stanica za različite tretmane na temelju čega je izračunat mitotski indeks. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 6.

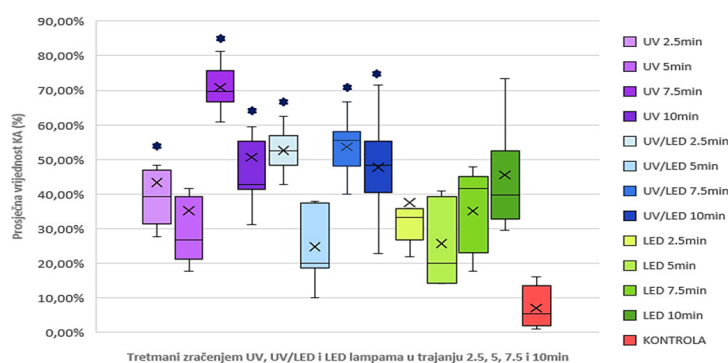


Slika 6 Prosječne vrijednosti mitotskog indeksa nakon tretmana zračenjem i inkubacije od 24h. Prikazani su medijani (vodoravnim linijama unutar obojenog polja) gornji i donji kvartili (rubovi obojenog polja), najmanje i najveće vrijednosti (krajnje točke okomitih linija) te srednje vrijednosti (X).

Većina skupina izlagana UV zračenju (UV 2,5min, UV 7,5min i UV 10min) ima niži mitotski indeks (MI) u meristemskim stanicama u usporedbi s kontrolnom skupinom (MI = 9,87 %). Skupine tretirane zračenjem LED lampi imaju uglavnom niže ili slične vrijednosti MI u odnosu na kontrolnu skupinu, ali ne pokazuju statistički značajna odstupanja. Skupine tretirane kombinacijom UV/LED zračenja pokazuju veće raspršenje podataka, ali kao i kod ostalih skupina, ne postoje statistički značajna odstupanja. Najniži MI zabilježen je u skupini tretiranoj zračenjem UV/LED 7,5 min (MI = 3,86 %) i najviše odstupa od MI kontrolne skupine ($p = 0,43864$) (slika 6, prilog 1).

Kromosomske aberacije i mikronukleusi

Pojava kromosomskih aberacija (anafazni mostovi, lomovi kromosoma, c-mitoza, ljepljivi kromosomi) i mikronukleusa u interfaznim stanicama analizirana je pri povećanju od 400X. Dobiveni rezultati za kromosomske aberacije izraženi su kao udio stanica s mutacijama u odnosu na ukupan broj stanica u mitozu te su prikazani na slici 7.

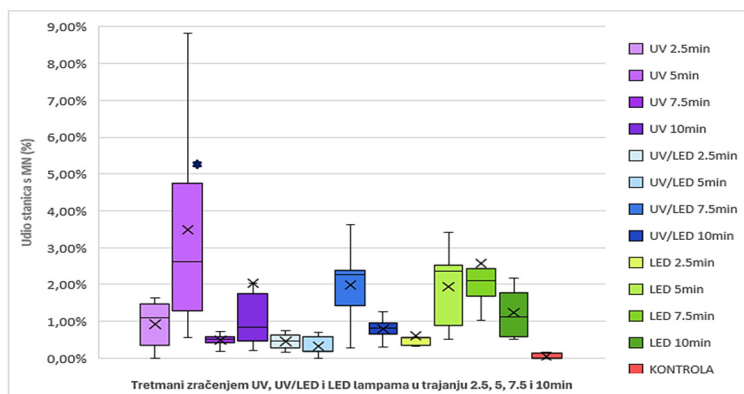


Slika 7 Prosječan udio kromosomskih aberacija nakon tretmana zračenjem i inkubacije od 24h. Prikazani su medijani (vodoravnim linijama unutar obojenog polja), gornji i donji kvartili (rubovi obojenog polja), najmanje i najveće vrijednosti (krajnje točke okomitih linija), srednje vrijednosti (X) te statistički značajna odstupanja od kontrole(*).

Skupine tretirane zračenjem UV lampi pokazale su najveći udio kromosomskih aberacija (KA) u odnosu na kontrolu. Najizraženiji učinak zabilježen je nakon tretmana UV 7,5min gdje je u 70,84 % stanica u diobi zamijećena KA ($p = 0,00002$), dok su tretmani UV 10min ($p = 0,00531$) i UV 2,5min ($p = 0,04245$) također pokazali statistički značajno povećanje udjela KA u stanicama u odnosu na kontrolnu skupinu. Kod UV/LED tretmana, visoki udio KA i statistički značajno odstupanje od kontrole utvrđeno je u stanicama nakon zračenja UV/LED 7,5min ($p = 0,00365$), UV/LED 2,5min ($p = 0,00985$) i UV/LED 10min ($p = 0,03412$). Skupine tretirane zračenjem LED lampe nisu pokazale statistički značajne razlike u

odnosu na kontrolu. Tretman LED 10min rezultirao je nešto većim udjelom stanica s KA te je razlika u odnosu na kontrolu blizu praga značajnosti ($p = 0,05669$) (slika 7, prilog 1).

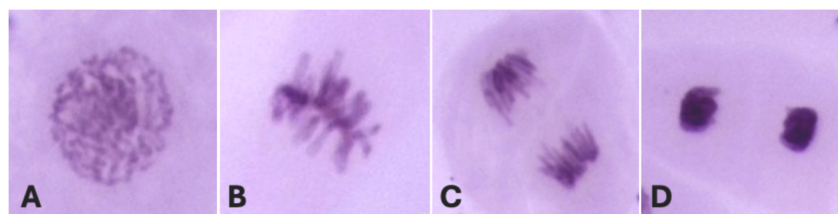
Dobiveni rezultati analize mikronukleusa izraženi su kao udio stanica s mikronukleusima u odnosu na ukupan broj stanica te su prikazani na slici 8.



Slika 8 Prosječan udio stanica s mikronukleusima nakon tretmana zračenjem i inkubacije od 24h. Prikazani su medijani (vodoravnim linijama unutar obojenog polja), gornji i donji kvartili (rubovi obojenog polja), najmanje i najveće vrijednosti (krajnje točke okomitih linija), srednje vrijednosti (X) te statistički značajna odstupanja od kontrole(*).

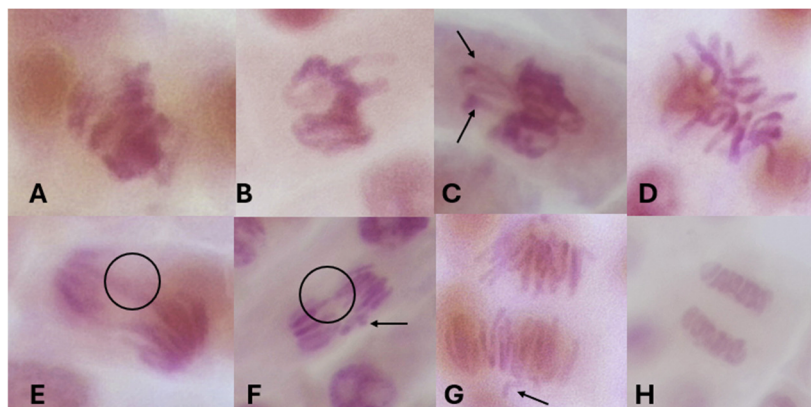
Iz slike 8 vidljivo je da sve skupine tretirane zračenjem imaju veće prosječne udjele stanica s mikronukleusima (MN) u odnosu na kontrolu. UV tretmani (posebno UV 5min i UV 10min) rezultiraju najvećim udjelom stanica s MN, pri čemu skupina tretirana zračenjem UV 5min ima širok raspon i najvišu srednju vrijednost (MN = 3,496 %) te statistički značajno odstupanje od kontrole ($p = 0,02260$) (prilog 1). Skupine tretirane UV/LED zračenjem pokazuju manje izražen porast MN u odnosu na tretmane UV, pri čemu rezultati imaju manji raspon vrijednosti bez statistički značajnog odstupanja od kontrole. Skupine tretirane UV/LED 2,5 min i UV/LED 5 min imaju vrlo niske medijane, bliske kontrolnoj skupini, dok one tretirane UV/LED 7,5 min i UV/LED 10 min pokazuju blago povećanje udjela MN, ali i dalje manje nego kod UV tretmana s istim vremenom izlaganja. Skupina tretirana LED zračenjem pokazuje nešto veće udjele stanica s MN u odnosu na one tretirane UV/LED lampom, ali slične ili niže u usporedbi sa skupinama nakon UV tretmana bez statistički značajnog odstupanja od kontrole. Tretman LED 7,5 min pokazuje najveći porast udjela MN unutar ove skupine (2,58 %). Tretman LED 10min ima nešto manju varijabilnost, ali i dalje povišene vrijednosti u odnosu na kontrolu.

Tijek normalne diobe sa svim fazama diobe u stanicama kontrolne skupine prikazan je slikom 9.



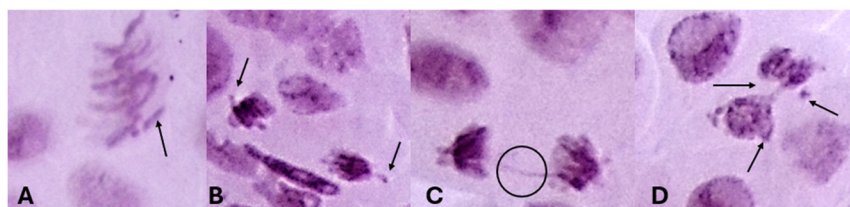
Slika 9 Normalne faze diobe u stanicama *Allium cepa* L., ($2n=16$), A – profaza, B – metafaza, C – anafaza, D – telofaza (povećanje 400x) Fotografija: autor PC.

Različite mutacije uočene u stanicama *A. cepa* nakon tretmana UV 10min prikazane su na slici 10 pri povećanju mikroskopa 400X.



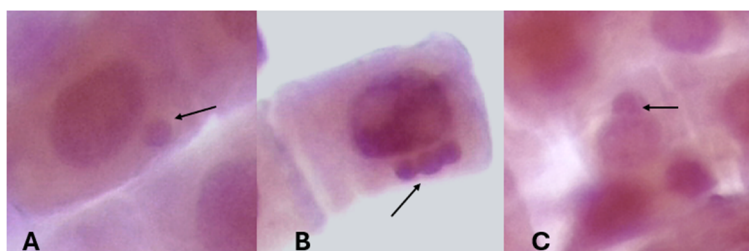
Slika 10 Mutacije u stanicama *Allium cepa* L. pri tretmanu UV 10min: A i B - slijepljeni kromosomi u metafazi, C - slijepljeni kromosomi i fragmentirani kromosomimi, D - C-mitoza, E - anafazni most, F - anafaza s fragmentiranim kromosomom i anafaznim mostom, G - anafaza s fragmentiranim kromosomom, H - slijepljeni kromosomi u telofazi (povećanje 400x) Fotografija: autor PC.

U stanicama *A. cepa* ostalih tretmana osim mutacija prikazanih na slici 10 uočene su i mutacije koje prikazuje slika 11.



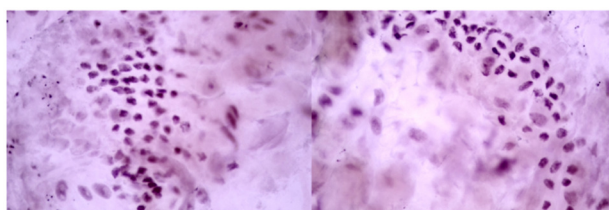
Slika 11 Mutacije u stanicama *Allium cepa* L. pri tretmanu LED 5min: A - metafaza s fragmentirnim kromosomom, B - telofaza s fragmentiranim kromosomomima, C - anafazni most, D - segmentirane jezgre s mikronukleusima i nuklearnim pupoljkom (povećanje 400x) Fotografija: autor PC.

Mikronukleusi u stanicama *A. cepa* nakon tretmana UV 5min prikazani su na slici 12 pri povećanju 400X.



Slika 12 Mikronukleusi u stanicama *Allium cepa* L. nakon tretmana UV 5min: A - stanica s jednim mikronukleusom, B - stanice s više mikronukleusa, C - nuklearni pupoljak (pup) (povećanje 400x) Fotografija: autor KT.

Tijekom proučavanja kromosomskih aberacija i mikronukleusa, u preparatima tretiranim zračenjem LED 10min primijećene su nakupine malih stanica s jako kondenziranim kromatinom (slika 13).



Slika 13 Nakupine sitnih stanica s kondenziranim kromatinom nakon tretmana LED 10min (povećanje 400x) Fotografija: autor KT.



RASPRAVA

Ovo istraživanje usmjereno je na procjenu potencijalnih negativnih učinaka zračenja koje emitiraju UV i LED lampe, često korištene u manikuri i pedikuri, primjenom *Allium cepa* testa na proklijalim sjemenkama luka. Rezultati provedene ankete kojom su ispitane navike 232 ispitanika vezane za tretman noktiju uz pomoć UV lampi ukazuju na zabrinjavajući trend među mlađom populacijom. Tretman koristi jednom mjesečno čak 39,38 % ispitanika, 81,08 % ne primjenjuje zaštitu poput SPF kreme ili rukavica, a 33 % nije razmišljalo o potencijalnom riziku koji ovaj tretman predstavlja (slika 3). Istražen je utjecaj zračenja triju različitih lampi za nokte (UV, UV/LED i LED) u ovisnosti o trajanju zračenja (2,5, 5, 7,5 i 10min). Hipoteza 1 kojom je pretpostavljeno da će korjenčići izloženi UV i LED zračenju lampi za nokte odstupati svojom duljinom od onih iz kontrolne skupine djelomično je potvrđena.

Različiti tretmani UV i LED zračenjem rezultirali su u varijacijama u duljini klicinih korjenčića, pri čemu su tretmani sa UV zračenjem s vremenima izlaganja 2,5, 7,5 i 10 min rezultirali nižim srednjim vrijednostima duljine klicinih korjenčića u odnosu na kontrolnu skupinu pri čemu je jedino tretman u trajanju od 10 min rezultirao statistički značajnim odstupanjem ($p = 0,02$) (slika 4, prilog 1). Tretman UV zračenjem u trajanju 5 min rezultirao je blagom stimulacijom rasta te u odnosu na tretman UV 10 min pokazuje statistički najznačajnije odstupanje među svim parovima tretmana ($p = 0,0003$) (prilog 1). U svom istraživanju Çavuşoğlu i sur. (2022) su utvrdili da je izlaganje korjenčića na lukovicama *A. cepa* UVA i UVC zračenju tijekom 72 sata uzrokovalo inhibiciju njihova rasta s izraženijim promjenama kod UVC zračenja. Tretmani LED zračenjem nisu pokazali statistički značajne razlike u odnosu na kontrolu, što sugerira da LED zračenje nema značajan utjecaj na duljinu klicinih korjenčića u uvjetima ovog istraživanja. Rezultati tretmana kombiniranom UV/LED lampom pokazali su različite učinke: tretman s kraćim vremenom izlaganja (UV/LED 2,5 min) rezultirao je blago višim srednjim vrijednostima duljine korjenčića u odnosu na kontrolnu skupinu, dok su tretmani s duljim vremenom zračenja rezultirali nižim vrijednostima. Granično odstupanje u odnosu na kontrolnu skupinu zamijećeno je kod tretmana UV/LED 10min ($p = 0,076$) (prilog 1). Ovakav rezultat može ukazivati na složenost i potencijalnu interakciju između UV i LED zračenja, što bi opravdalo daljnje istraživanje kako bi se bolje razumjelo kako oba tipa zračenja zajedno utječu na rast klicinih korjenčića. Pri duljim izlaganjima UV-LED svjetlu, stanice meristema klice mogu biti oštećene, što rezultira inhibicijom rasta i nepravilnim razvojem umjesto produljenja. Intenzivna osvjetljenosti može uzrokovati fotooksidacijski stres u biljaka što dovodi do oštećenja ključnih komponenti stanica uključujući proteine, RNA, enzime i DNA te može rezultirati smanjenjem rasta (Vukadinović, 2020).

Dobiveni rezultati također pokazuju morfološke promjene klicinih korjenčića *A. cepa* pod utjecajem različitih vrsta zračenja u usporedbi s kontrolnom skupinom. Klicini korjenčići izloženi UV 10min zračenju pokazali su smanjen rast i izraženiju zakrivljenost, što upućuje na moguće inhibicijske učinke UV zračenja na staničnu diobu i elongaciju uz vidljivu blagu promjenu boje (slika 5). Najveće promjene uočene su kod klicinih korjenčića izloženih kombiniranom UV/LED zračenju. Klicini korjenčići izloženi UV/LED 10min zračenju pokazuju najizraženije promjene; žuću boju, deformacije i nepravilnosti u rastu (spiralno savijanje). Uzroci navedenih promjena kao posljedica zračenja UV i UV/LED lampi su oštećenja DNK i poremećaji u diobi stanica meristema. Osim toga, povećana proizvodnja reaktivnih kisikovih spojeva može uzrokovati oksidativni stres, što dovodi do degradacije pigmenta i narušavanja hormonalne ravnoteže ključne za pravilan rast (Vukadinović, 2020). U svojem radu Çavuşoğlu i sur.



(2022) također su dokazali da izlaganje UV zračenju dovodi do oksidativnog stresa i oštećenja meristematskih stanica u korijenju *A. cepa*. Ovi rezultati sugeriraju da kombinacija UV i LED svjetla može imati sinergijski učinak na inhibiciju rasta i promjene u morfologiji korjenčića. S druge strane, klicini korjenčići tretirani isključivo LED svjetlom pokazali su manja morfološka odstupanja od kontrole. Ovaj rezultat može upućivati na činjenicu da LED svjetlo u određenim spektrima može djelovati blago inhibicijski na elongaciju, ali ne uzrokuje toliko izražene stresne odgovore kao UV zračenje.

Očekivano je da će meristemske stanice korjenčića izloženih UV i LED zračenju lampi za nokte imati manji mitotski indeks u usporedbi s kontrolnom skupinom (hipoteza 2), što je potvrđeno za skupine izlagane UV zračenju te za LED zračenje u većini intervala (slika 6). Analiza mitotskog indeksa u ovom istraživanju pokazala je smanjenje broja stanica u mitozu nakon izlaganja UV i UV/LED zračenju, međutim zračenje nije dovelo do statistički značajnih razlika u odnosu na kontrolu. Tretmani LED zračenjem nisu rezultirali značajnim razlikama, te približno prate kontrolu. Ovi rezultati su donekle u skladu s istraživanjem Barco i sur. (2024) o biodozimetriji UV zračenja, koje je pokazalo da UVC zračenje smanjuje mitotski indeks izuzev doze koja odgovara izlaganju od 7,5 min dok UVB zračenje smanjenje MI u dozama koje odgovaraju zračenju od 5 i 7,5 min, ali ne u tolikoj mjeri da bi se utvrdio citotoksični učinak na meristemske stanice *A. cepa*. Njihovo istraživanje potvrđuje da inhibicija mitoze proizlazi iz oštećenja DNK i smanjenja stanične proliferacije, što dovodi do manjeg broja stanica u diobi. Ovaj trend smanjenja MI uočen u našem istraživanju kod duljih tretmana UV i UV/LED zračenjem ne ukazuje na citotoksični učinak čime je djelomično potvrđena hipoteza 2.

Pretpostavljeno je da će meristemskim stanicama korjenčićima tretiranim UV i LED zračenjem bit uočene izraženije mikroskopske promjene (kromosomske aberacije, broj mikronukleusa) u usporedbi s kontrolnom skupinom, pri čemu će izraženije promjene biti zabilježene kod većih doza zračenja (hipoteza 3) te da će UV zračenje izazvati veće promjene na meristemskim stanicama korjenčića nego LED zračenje (hipoteza 4), a naknadno su obje hipoteze u potpunosti i potvrđene.

U svim skupinama zračenim UV, LED i UV/LED zračenjem zabilježen je veliki broj kromosomskih aberacija (KA) (slika 7). Postotak KA u kontroli (6,98 %) značajno je različit od udjela KA u skupinama izlaganih UV i UV/LED zračenju pri intervalima 2,5, 7,5 i 10 minuta. Najveći udio KA je zabilježen u skupini UV7,5 (70,84 %), a trend promjene udjela KA između skupina zračenih UV lampom donekle se poklapa s onim koji su dobili Barco i sur. (2024) u svojem istraživanju. Naime, njihovi rezultati su pokazali skoro linearno povećanje udjela KA povećanjem intervala zračenja klica UV-B i UV-C zračenjem. U svim ozračenim skupinama najčešća je bila pojava slijepljenih metafaznih kromosoma (slika 10A i B), prepoznatljivih kao nepravilno smotane i međusobno povezane strukture. Ova pojava upućuje na toksično djelovanje na organizaciju kromatina, vjerojatno zbog utjecaja na histonske proteine (Radić i sur., 2010). Također su uočeni anafazni mostovi (slika 10E i F, slika 11C) koji se javljaju kao jedna ili dvije kromosomske strukture što povezuju dvije skupine kromosoma tijekom anafaze, a rezultat su nepotpunog odvajanja kromatida (Cabaravdic, 2010). Osim toga, primijećene su i c-mitose, karakterizirane maksimalno kondenziranim kromosomima raspršenima unutar stanice (slika 10 D) što ukazuje na oštećenje diobenog vretena (Radić i sur., 2010).

Rezultati istraživanja pokazali su da su tretmani izlaganja UV i UV/LED zračenju doveli do značajnog povećanja udjela mikronukleusa u stanicama *A. cepa* u usporedbi s kontrolnom skupinom, dok tretmani s LED zračenjem nisu pokazali statistički značajne razlike (slika 8). Ovi rezultati su u skladu sa



zaključcima Zhivaguia i sur. (2023), koji su pokazali da UV zračenje koje emitiraju lampe za sušenje noktiju uzrokuje povećanu učestalost oštećenja DNK i somatskih mutacija u stanicama sisavaca, što potvrđuje genotoksičnost UV svjetla. Slične rezultate dobili su Barco i sur. (2024), koji su mikronukleus-testom dokazali značajan genotoksični učinak UVB i UVC zračenja na meristemske stanice *A. cepa*. Njihovo istraživanje pokazalo je da UVB i UVC zračenje uzrokuju povećanu frekvenciju mikronukleusa i kromosomskih aberacija u stanicama luka, pri čemu je UVC imalo nešto izraženiji učinak u usporedbi s UVB zračenjem. Povećana učestalost mikronukleusa u UV tretmanima u ovom istraživanju također je u skladu s istraživanjem Leme i Marin-Morales (2009), koji su pokazali da UV zračenje može inducirati kromosomske aberacije i stvaranje mikronukleusa u biljnim stanicama, pri čemu je efekt bio izraženiji pri dužem izlaganju.

Važno je i napomenuti da su u ovom istraživanju mikronukleusi bili izraženiji u tretmanima UV/LED lampama (slika 12A i B) u odnosu na isključivo LED tretmane, što sugerira da kombinacija ovih svjetlosnih izvora može pojačati genotoksične učinke. Ovo može biti posljedica povećane proizvodnje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS), što je u skladu s istraživanjem Radića i sur. (2010), koji su pokazali da oksidativni stres izazvan UV zračenjem može dovesti do povećanja broja mikronukleusa.

Dodatno, uočena varijabilnost u rezultatima može se pripisati i metodološkim razlikama među istraživanjima. Na primjer, Curtis i sur. (2013) su iskazali da doza UV zračenja koje emitiraju lampe može značajno varirati ovisno o modelu lampe, što može utjecati na rezultate istraživanja. S druge strane, istraživanje Shipa i sur. (2014) sugerira da prag oštećenja DNK može biti dosegnut nakon višestrukih izlaganja UV lampama, što je u skladu sa rezultatima ovog rada što se tiče povećane učestalosti stanica s mikronukleusima kod duljih tretmana.

U skupini izloženoj LED zračenju pri intervalu 10 min uočena je pojava posebnog oblika mutacija koja nije očekivana (slika 13A i B) i nije uvrštena u statistički obrađene podatke o MN i KA. Nakupine malih stanica uočene u toj skupini sugeriraju da LED svjetlo uzrokuje neki oblik genotoksičnog stresa, što dovodi do poremećaja u diobi stanica. Prema izgledu odgovaraju posebnoj vrsti stanica opisanoj u radu autorica Kanne i Sharme (2013). Na temelju analiza ljudskih limfocita, neki autori sugeriraju da prekomjerna DNK unutar stanica može potjecati nastanak nuklearnog pupoljka koji daje mikronukleus koji je naknadno odvojen kao sitna stanica. Sitne stanice čine mali citoplazmatski dijelovi koji nose nuklearni sadržaj (Turkoglu, 2007; Khanna i Sharma, 2013). U cilju poboljšanja istraživanja trebalo bi odrediti iradijanciju (ozračenje) tretirane površine za svaku lampu kako bi se preciznije odredile primljene doze zračenja. Ujedno, mogao bi se ispitati utjecaj višestrukih izlaganja zračenju UV lampi te dodatno analizirati, statistički obraditi i uvrstiti u rezultate pojavu sitnih stanica koje potječu od mikronukleusa.

ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja, zaključeno je sljedeće:

- ☞ UV zračenje u većini intervala uzrokuje inhibiciju rasta klicinih korjenčića;
- ☞ Prosječna promjena duljine klicinih korjenčića najmanja je u skupini tretiranoj UV 10min, što je u skladu s nižim mitotskim indeksom u odnosu na kontrolnu skupinu;
- ☞ Uočene morfološke promjene korjenčića u vidu kraće duljine, spiralnog savijanja i blagih žućkastih promjena boje najizraženije su u skupinama tretiranim UV i UV/LED zračenjem 10min;



- Niži mitotski indeks utvrđen u većini tretiranih skupina ne pokazuje statistički značajno odstupanje od kontrole;
- Velik udio kromosomskih aberacija utvrđen je kod skupina izlaganih UV i UV/LED zračenju;
- Najveći prosječni udio kromosomskih aberacija je utvrđen u skupini izloženoj UV zračenju tijekom 7,5 min (70,84 %);
- Najveći udio stanica s mikronukleusima imaju klicini korjenčići izlagani UV zračenju tijekom 5 minuta;
- Mikronukleusi predstavljaju veći udio mutacija u skupinama izlaganim LED zračenju u odnosu na ostale zračene skupine, što korelira s manjim udjelom kromosomskih aberacija u odnosu na iste;
- Zračenje UV i UV/LED lampi za nokte djeluje genotoksično na meristemske stanice klicinih korjenčića luka;
- LED zračenje pri višim intervalima pokazuje genotoksični utjecaj na meristemske stanice klicinih korjenčića luka u vidu nakupina malih stanica podrijetlom od mikronukleusa.

LITERATURA

- Acetabulum dk, 2017. ANOVA from Summary Data. <https://acetabulum.dk/cgi-bin/anova>, pristupljeno: 27.1.2025.
- Barco F., Butini T., Cascone M.G., Chierici A., Ciolini R., Rosellini E., Novaes J.T., Xavier M.N., de Souza Lalic S., d'Errico F. 2024. Biodosimetry of UV radiation through the detection of cytogenetic endpoints in *Allium cepa* meristems. Radiation Measurements: 107213.
- Bhardwaj S.K., Singh H., Deep A., Khatri M., Bhaumik K., Bhardwaj N., 2021. UVC-based photoinactivation as an efficient tool to control the transmission of coronaviruses. Science of the Total Environment 792: 148548.
- Bolsunovsky A.Y., Trofimova E.A., Zueva A.V. et al. 2022. Effect of gamma radiation on cytogenetic and growth endpoints of *Allium cepa* seedlings in long-term experiments. Doklady Biochemistry and Biophysics 503: 85–89.
- Cabaravdic M. 2010. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of cells to benzo(a)pyrene. Medical Archives 64(4).
- Çavuşoğlu K., Kalefetoğlu Macar T., Macar O., Çavuşoğlu D., Yalçın E. 2022. Comparative investigation of toxicity induced by UV-A and UV-C radiation using *Allium* test. Environmental science and pollution research international 29(23): 33988–33998.
- Curtis J., Tanner P., Judd C., Childs B., Hull C., Leachman S. 2013. Acrylic nail curing UV lamps: high-intensity exposure warrants further research of skin cancer risk. Journal of the American Academy of Dermatology 69(6): 1069–1070.
- Diffey B.L. 2002. Sources and measurement of ultraviolet radiation. Methods 28: 4–13.
- Dowdy J.C., Sayre R.M. 2013. Photobiological safety evaluation of UV nail lamps. Photochemistry and photobiology 89(4): 961–967.
- Feretti D., Zerbini I., Zani C., Ceretti E., Moretti M., Monarca, S. 2007. *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. Food Additives & Contaminants 24(6): 561–572.
- Khanna N., Sharma S. 2013. *Allium cepa* root chromosomal aberration assay: a review. Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research 1(03): 105–119.
- Leme D.M., Marin-Morales M.A. 2009. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutation Research/Reviews in Mutation Research 682(1): 71–81.
- Muramoto Y., Kimura M., Nouda S. 2014. Development and future of ultraviolet light-emitting diodes: UV-LED will replace the UV lamp. Semiconductor Science and Technology 29(8): 084004.
- Radić S., Stipaničev D., Vujčić V., Marijanović Rajčić M., Širac S., Pavalek-Kozlina B. 2010. The evaluation of surface and wastewater genotoxicity using the *Allium cepa* test. Science of the Total Environment 408: 1228–1233.
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., Eliceiri, K. W. 2017. ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. BMC Bioinformatics, 18(1). doi:10.1186/s12859-017-1934-z pristupljeno 20.10.2024.
- Schneider L.D., Hinrichs R., Scharffetter-Kochanek K. 2008. Phototherapy and photochemotherapy. Journal of Clinical Dermatology 26(5): 464–476.
- Shihab N., Lim H.W. 2018. Potential cutaneous carcinogenic risk of exposure to UV nail lamp: A review. Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine 34(6): 362–365.
- Shipp L.R., Warner C.A., Rueggeberg F.A., Davis L.S. 2014. Further investigation into the risk of skin cancer associated with the use of UV nail lamps. JAMA dermatology 150(7): 775–776.



- Tedesco S., Laughinghouse IV H. 2012. Bioindicator of genotoxicity: the *Allium cepa* test. Doi: 10.5772/31371
- Turkoglu S. 2007. Genotoxicity of five food preservatives tested on root tips of *Allium cepa* L. Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 626: 4–14.
- Umeljić V. 2004. Crveni luk, U svijetu cvijeća i pčela: atlas medonosnog bilja. <https://www.plantea.com.hr/crveni-luk/>, pristupljeno: 20.10.2024.
- Vareško A. 2017. Ispitivanje mutagenosti antiperspiranata i dezodoransa na korjenčičima luka. Bioznalac 3: 149–160.
- Vukadinović V. 2020. Utjecaj okolišnih faktora na oksidacijski stres biljaka, Tlo i biljka. https://tlo-i-biljka.eu/Gnojidba/Zanimljivosti/Zanimljivosti_03_2020_ROS.pdf, pristupljeno: 23.2.2025.
- Xavier M.N., Pantaleão S.M., Scher R., Ciolini R., d'Errico F., Souza S.O. 2021. *Allium cepa* used as a dosimetry system in nuclear and radiological emergencies. The European Physical Journal Plus 136(6): 682.
- Zhivagui M., Hoda A., Valenzuela N., Yeh Y.Y., Dai J., He Y., Nandi S.P., Otlu B., Van Houten B., Alexandrov L.B. 2023. DNA damage and somatic mutations in mammalian cells after irradiation with a nail polish dryer. Nature communications 14(1): 276.

PRILOZI

Prilog 1 Statistički značajne razlike po parovima tretmana (p - vrijednosti)

Parovi tretmana	Statistički značajne razlike po parovima tretmana (p-vrijednosti)			
	Promjena duljine k. korjenčića	Mitotski indeks	Kromosomske aberacije	Mikronukleusi
KONTROLA vs LED10	0,99999	0,99940	0,05669	0,99829
KONTROLA vs LED2,5	0,99818	0,93805	0,20597	1,00000
KONTROLA vs LED5	0,99833	1,00000	0,86212	0,88212
KONTROLA vs LED7,5	1,00000	0,77864	0,32025	0,52486
KONTROLA vs UV/LED10	0,07633	0,96692	0,03412	0,99999
KONTROLA vs UV/LED2,5	0,99998	0,82063	0,00985	1,00000
KONTROLA vs UV/LED5	0,25713	0,89189	0,89886	1,00000
KONTROLA vs UV/LED7,5	0,97868	0,43864	0,00365	0,85978
KONTROLA vs UV10	0,02433	0,99971	0,00531	0,80324
KONTROLA vs UV2,5	0,99998	0,90714	0,04245	0,99983
KONTROLA vs UV5	0,99550	1,00000	0,25675	0,02260
KONTROLA vs UV7,5	1,00000	0,99995	0,00002	1,00000
LED10 vs LED2,5	1,00000	0,99999	0,99991	0,99999
LED10 vs LED5	1,00000	0,97361	0,81170	0,99998
LED10 vs LED7,5	0,99900	0,99875	0,99858	0,98766
LED10 vs UV/LED10	0,33858	1,00000	1,00000	1,00000
LED10 vs UV/LED2,5	0,98385	0,99905	0,99999	0,99996
LED10 vs UV/LED5	0,68826	0,99992	0,76166	0,99969
LED10 vs UV/LED7,5	0,99996	0,95275	0,99988	0,99995
LED10 vs UV10	0,15067	1,00000	1,00000	0,99986
LED10 vs UV2,5	1,00000	0,99998	1,00000	1,00000
LED10 vs UV5	0,85748	0,99102	0,99829	0,29749
LED10 vs UV7,5	0,99982	1,00000	0,47895	0,99996
LED2,5 vs LED5	1,00000	0,66915	0,99251	0,98209
LED2,5 vs LED7,5	0,97898	1,00000	1,00000	0,76498
LED2,5 vs UV/LED10	0,60800	1,00000	0,99897	1,00000
LED2,5 vs UV/LED2,5	0,89130	1,00000	0,96808	1,00000
LED2,5 vs UV/LED5	0,90135	1,00000	0,98572	1,00000
LED2,5 vs UV/LED7,5	1,00000	0,99904	0,92033	0,97531
LED2,5 vs UV10	0,34291	0,99976	0,97484	0,95659
LED2,5 vs UV2,5	1,00000	1,00000	0,99999	1,00000
LED2,5 vs UV5	0,61635	0,76183	1,00000	0,04807
LED2,5 vs UV7,5	0,99253	0,99945	0,07626	1,00000
LED5 vs LED7,5	0,98012	0,40622	0,99917	0,99998
LED5 vs UV/LED10	0,60131	0,77722	0,68992	0,99704
LED5 vs UV/LED2,5	0,89503	0,48341	0,38484	0,97278
LED5 vs UV/LED5	0,89776	0,56945	1,00000	0,92617
LED5 vs UV/LED7,5	1,00000	0,14437	0,24225	1,00000
LED5 vs UV10	0,33715	0,97494	0,33957	1,00000
LED5 vs UV2,5	1,00000	0,57919	0,82733	0,99739
LED5 vs UV5	0,62302	1,00000	0,99846	0,64751
LED5 vs UV7,5	0,99302	0,99113	0,00260	0,96417
LED7,5 vs UV/LED10	0,02896	1,00000	0,99212	0,90228
LED7,5 vs UV/LED2,5	1,00000	1,00000	0,90697	0,74357
LED7,5 vs UV/LED5	0,12149	1,00000	0,99792	0,58365



Parovi tretmana	Statistički značajne razlike po parovima tretmana (p-vrijednosti)			
	Promjena duljine k. korjenčića	Mitotski indeks	Kromosomske aberacije	Mikronukleusi
LED7,5 vs UV/LED7,5	0,89776	1,00000	0,81288	0,99999
LED7,5 vs UV10	0,00802	0,98913	0,91327	1,00000
LED7,5 vs UV2,5	0,99879	1,00000	0,99962	0,88283
LED7,5 vs UV5	0,99984	0,49027	1,00000	0,95760
LED7,5 vs UV7,5	1,00000	0,98459	0,04024	0,68817
UV/LED10 vs UV/LED2,5	0,00911	1,00000	1,00000	1,00000
UV/LED10 vs UV/LED5	1,00000	1,00000	0,63109	1,00000
UV/LED10 vs UV/LED7,5	0,82142	0,99905	1,00000	0,99546
UV/LED10 vs UV10	1,00000	0,99994	1,00000	0,99123
UV/LED10 vs UV2,5	0,35019	1,00000	1,00000	1,00000
UV/LED10 vs UV5	0,00159	0,85557	0,99042	0,12584
UV/LED10 vs UV7,5	0,05232	0,99985	0,61704	1,00000
UV/LED2,5 vs UV/LED5	0,04689	1,00000	0,33265	1,00000
UV/LED2,5 vs UV/LED7,5	0,71105	1,00000	1,00000	0,96419
UV/LED2,5 vs UV10	0,00221	0,99248	1,00000	0,94209
UV/LED2,5 vs UV2,5	0,98186	1,00000	0,99936	1,00000
UV/LED2,5 vs UV5	1,00000	0,57300	0,88983	0,05668
UV/LED2,5 vs UV7,5	1,00000	0,98892	0,88161	1,00000
UV/LED5 vs UV/LED7,5	0,98012	0,99983	0,20129	0,90818
UV/LED5 vs UV10	0,99961	0,99869	0,28602	0,85974
UV/LED5 vs UV2,5	0,70090	1,00000	0,77362	0,99999
UV/LED5 vs UV5	0,01038	0,66441	0,99630	0,02181
UV/LED5 vs UV7,5	0,18951	0,99760	0,00192	1,00000
UV/LED7,5 vs UV10	0,57020	0,83877	1,00000	1,00000
UV/LED7,5 vs UV2,5	0,99997	0,99902	0,99654	0,99578
UV/LED7,5 vs UV5	0,38387	0,18069	0,77838	0,68515
UV/LED7,5 vs UV7,5	0,94875	0,82428	0,88444	0,95303
UV10 vs UV2,5	0,15753	0,99938	0,99980	0,99082
UV10 vs UV5	0,00033	0,99239	0,89197	0,65048
UV10 vs UV7,5	0,01607	1,00000	0,67054	0,92268
UV2,5 vs UV5	0,84846	0,67560	0,99952	0,07295
UV2,5 vs UV7,5	0,99977	0,99873	0,20882	1,00000
UV5 vs UV7,5	0,99936	0,99805	0,02769	0,03415

Statistički značajno $p < 0,05$ Granično statistički značajno $p \approx 0,05$

Promjene u reljefu zubne cakline: Utjecaj gaziranih i zaslađenih pića

Ana Crnogaj, 3. razred

Lara Funtek, 3. razred

V. Gimnazija, Zagreb

Mentor: Dorotea Vrbanić Lisac

SAŽETAK

Cilj ovog istraživanja bio je analizirati utjecaj gaziranih i zaslađenih pića na reljef zubne cakline te utvrditi razlike u erozivnom djelovanju različitih napitaka. Hipoteza istraživanja bila je da će izloženost zubi tekućinama s pH-vrijednošću ispod kritične razine (5,5) uzrokovati značajnija oštećenja cakline. U istraživanju je korišteno 30 ljudskih zubi koji su podijeljeni u skupine i uronjeni u različite tekućine: *Coca-Colu*, *Fantu*, *Sprite*, *Cedevitu*, mlijeko i vodu. Nakon 40 i 50 sati izlaganja, erozija cakline analizirana je optičkim mikroskopom i programom za obradu slike. Statistička obrada podataka provedena je pomoću t-testa. Rezultati su pokazali da su zubi izloženi *Coca-Coli* imali najveća oštećenja zbog prisutnosti fosforne kiseline i niske pH-vrijednosti (2,24). *Fanta* i *Cedevita* također su uzrokovale značajnu demineralizaciju zbog limunske kiseline i šećera. *Sprite* je imao nešto manji, ali i dalje izražen erozivni učinak. S druge strane, zubi izloženi mlijeku pokazali su poboljšanja u strukturi cakline, zahvaljujući prisutnosti kalcija, fosfata i kazeina, dok voda nije izazvala značajne promjene. Zaključak istraživanja je da kisela i zaslađena gazirana pića značajno oštećuju zubnu caklinu, dok mlijeko može imati zaštitni učinak. Rezultati ukazuju na važnost osvježivanja o štetnosti takvih pića te poticanja konzumacije napitaka koji ne narušavaju oralno zdravlje.

Ključne riječi: dentalna erozija; kiseline; pH-vrijednost

UVOD

Voda je ključna komponenta homeostaze ljudskog organizma te ima nezamjenjivu ulogu u brojnim fiziološkim procesima u našem tijelu. Optimalan unos vode ovisi o čimbenicima poput klime, tjelesne aktivnosti i prehrane, a preporučeni dnevni unos za odraslu osobu iznosi 1,5 L vode (Jéquier i Constant, 2010). Svjetska zdravstvena organizacija preporučuje da unos dodanih šećera ne prelazi 10 % dnevnog energetskeg unosa, no stvarna konzumacija među djecom često premašuje te preporuke (Lukaš i sur., 2023).

Slatka gazirana pića sadrže šećere, kiseline, konzervanse i kofein, koji zajednički doprinose oštećenju zubne cakline. Kofein indirektno smanjuje lučenje sline, čime slabi njezina uloga u neutralizaciji kiselina u usnoj šupljini (Brostek i sur., 2006). Kiseline dodatno snižavaju pH-vrijednost, narušavajući strukturu cakline i uzrokujući trajna oštećenja (Lussi i Jaeggi, 2006). Istovremeno, fermentacija šećera i hidrolitičko djelovanje amilaze u slini dodatno snižavaju pH-vrijednost sline (Touger-Decker i van Loveren, 2003). Učestalo snižavanje pH-vrijednosti u usnoj šupljini ispod kritične razine rezultira demineralizacijom zubne cakline (Brostek i sur., 2006). Uz to, pretjerana konzumacija šećera povezuje se s razvojem brojnih bolesti, poput karijesa, najraširenije kronične bolesti današnjice (Selwitz i sur., 2007) te pretilosti, koja pogađa 57,2 % odraslih u Hrvatskoj (Eurostat, 2024).

Bartlett i sur. (2013) navode da 29 % osoba u Europi od 18 do 35 godina pokazuje znakove erozije zubne cakline. Iako je zubna caklina najtvrdi dio ljudskog tijela, najvećim se dijelom sastoji od minerala (Kovačić, 2012) na koje negativno djeluju kiseline. Dentalna erozija je proces gubitka minerala iz površinskog sloja cakline uslijed pada pH vrijednosti ispod kritične razine od 5,5 (Panda i sur., 2017). U slučaju produženog djelovanja kiselina, dolazi do potpunog otapanja i gubitka najgornjeg sloja cakline (Inchingolo i sur., 2023). Erozija može nastati zbog unutarnjih čimbenika, kao što su refluks kiseline,

gastroezofagealna refluksna bolest (GERB), povraćanje ili regurgitacija, koji mogu biti povezani s gastrointestinalnim poremećajima ili vanjskim čimbenicima poput konzumacije kisele hrane, pića i lijekova (Lussi i sur., 2004, 2011). Glavni čimbenici koji utječu na dentalnu eroziju uključuju pH-vrijednost, sadržaj kalcija i fosfata te puferni kapacitet. Pića s nižom pH-vrijednosti te s visokim pufernim kapacitetom, jer zahtijevaju dulje vrijeme za neutralizaciju kiseline slinom, imaju veći erozivni učinak (Lussi i sur., 2004, 2011). Za razliku od toga, pića poput mlijeka ili jogurta, koji zbog svog sastava štite caklinu, imaju manji erozivni učinak (Lussi i Jaeggi, 2006).

Caklina, jednom oštećena, ne može se regenerirati jer ameloblasti koji je stvaraju nestaju nakon izbijanja zuba. Stoga su preventivne mjere, poput korištenja pasta s fluorom (Torres i sur., 2012) i izbjegavanja kiselih pića, ključne za očuvanje zubnog reljefa. Razumijevanje utjecaja gaziranih i zaslađenih pića na reljef zubne cakline ključno je za očuvanje oralnog zdravlja te donošenje odluka o njihovoj konzumaciji. Cilj ovog istraživanja je analizirati utjecaj gaziranih i zaslađenih pića na reljef zubne cakline te dokazati njihovu štetnost. Pretpostavka je da će izloženost zuba tekućinama ispod kritične pH-vrijednosti uzrokovati oštećenja zubne cakline, dok će izloženost neutralnim i lužnatim tekućinama uzrokovati manja oštećenja.

METODE

Prikupljeno je 50 ljudskih zuba, dobrovoljnom donacijom učenika i stomatoloških poliklinika u gradu Zagrebu. Od prikupljenih 50 zuba, odabrano je 30 koji su bili najbolje očuvani (cijeli, bez puknuća i sl.) na kojima je provedeno istraživanje. Kako bi se usporedilo djelovanje različitih tekućina na reljef zubne cakline, određena je njezina erozija na svakom zubu prije i nakon izlaganja tekućinama. Kako bi se odredio reljef zuba, nožem je usitnjena grafička mina te se grafitni prah nanosio na površinu zuba (slike 1 i 2). Reljef svakog zuba promatran je optičkim mikroskopom (OBE 134T241) povećanja 40x te je fotografiran kamerom kako bi se izračunala površina oštećenja (erozije) za svaki zub prije i nakon izlaganja tekućinama (slika 3). U svrhu računanja površine oštećenja korišten je vlastiti program napisan u svrhu istraživanja. Program je napisan u programu *Python* uz pomoć OpenCV-a (prilog 1).



Slika 1 Nanošenje grafita na površinu zuba



Slika 2 Mikroskopiranje reljefa zubne cakline



Slika 3 Površina oštećenja (zeleno) koju računa program Python

Nakon inicijalnog određivanja reljefa, zubi su očišćeni vodom te su izloženi utjecaju različitih tekućina (tablica 1) tijekom 50 sati. Prva provjera reljefa zubne cakline rađena je nakon 40 sati, a druga nakon 50 sati od postavljanja pokusa.

Tablica 1 Sadržaj tekućina korištenih u istraživanju

Tekućina	pH-vrijednost	Prisutne kiseline	Količina šećera (na 100 mL)	Napomena
<i>Coca-Cola</i>	2,24	fosforna kiselina	11,2 g	Vrijednosti su preuzete sa službene web-stranice <i>Coca-Cola</i>
<i>Fanta</i>	2,51	jabučna kiselina, limunska kiselina	3,8 g	
<i>Sprite</i>	3,09	limunska kiselina	2,0 g	
<i>Cedevita</i> (okusa naranče)	4,50	limunska kiselina	6,4 g	pH-vrijednosti su određene pH-metrom, a prisutne kiseline i šećer su očitani s deklaracije.
Mlijeko (Dukat)	6,80	/	4,6 g	
Voda	6,98	/	/	

Po 5 zuba je stavljeno u čašu s pojedinim tekućinama, na način da je svaki zub u potpunosti uronjen u tekućinu. Kako bi se istražio utjecaj pojedinih tvari unutar tekućine, kao kontrolna skupina uzeto je 5 zuba koji su bili uronjeni u vodu u jednakom vremenskom razdoblju (slika 4).



Slika 4 Postavljen pokus s po jednim zubom uronjenim u tekućine

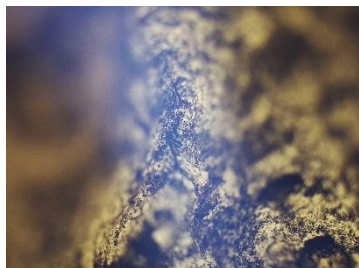
Nakon 40 sati izloženosti tekućinama, zubi su izvađeni i isprani vodom, na njih je ponovno nanesen grafitni prah te su promatrani reljefi zubnih caklina. Ponovno su izračunate površine oštećenja (erozije) te su one uspoređene s površinama oštećenja prije izlaganja tekućinama. Kako bi se istražio utjecaj pojedinih tvari unutar tekućine, kao kontrolna skupina uzet je jedan zub koji je za razliku od ostalih zuba bio izložen vodi u jednakom vremenskom razdoblju. Nakon mjerenja, zubi su ponovno isprani te vraćeni u tekućine na još 10 sati. Nakon 10 sati (ukupno 50 sati od postavljanja) postupak je ponovljen te su ponovno promatrani reljefi zubne cakline.

Za obradu podataka korišten je t-test uz razinu statističke značajnosti od $p < 0,05$ (GraphPad, 2025), kao statistički postupak za testiranje značajnosti razlike u površini oštećenja prije i nakon izlaganja pojedinim tekućinama.

REZULTATI

Svi zubi izloženi utjecaju *Coca-Cole* pokazali su povećanje u veličini i količini promatranih nepravilnosti (slike 5 i 6). Najveća zabilježena je 1320,7 piksela na zubu označenom indeksom 3. Prosječni zub skupine izložene utjecaju *Coca-Cole* nakon 40 sati imao je povećanje od 1243,9 piksela, a nakon 50 sati 1196,5

piksela. Zbog velike količine obojenosti površine uzrokovane utjecajem ovog pića, zub označen indeksom 1 nije mogao biti promatran te je eliminiran iz izračuna.

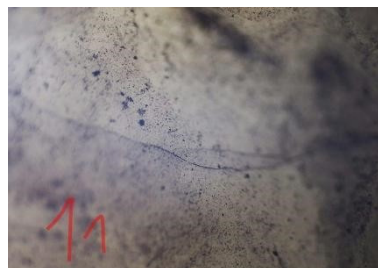


Slika 5 Zub indeksa 2 prije
utjecaja *Coca-Cole*

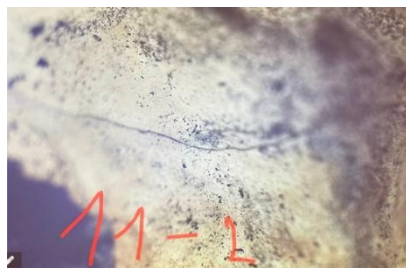


Slika 6 Zub indeksa 2 nakon
40 sati utjecaja *Coca-Cole*

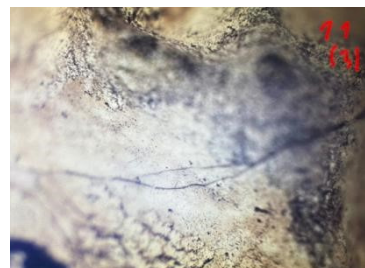
Većina zuba izloženih utjecaju *Fante* pokazali su povećanje u veličini i količini promatranih nepravilnosti. Iznimka je primijećena u zubu indeksa 15, gdje je došlo do smanjenja veličine promatrane nepravilnosti. Najveća zabilježena promjena je 1987,1 piksela na zubu označenom indeksom 13. Prosječni zub skupine izložene utjecaju *Fante* nakon 40 sati imao je povećanje od 985,8 piksela, a nakon 50 sati 684,3 piksela. Na zubima je primijećeno minimalno obojenje (slike 7–9).



Slika 7 Zub indeksa 11 prije
utjecaja *Fante*

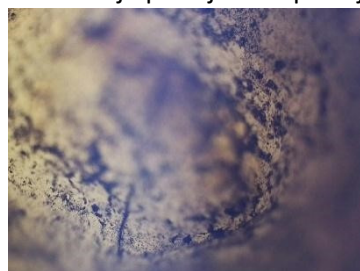


Slika 8 Zub indeksa 11 nakon
40 sati utjecaja *Fante*



Slika 9 Zub indeksa 11 nakon
50 sati utjecaja *Fante*

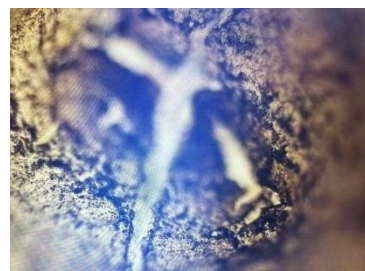
Svi zubi izloženi utjecaju *Spritea* pokazali su povećanje u veličini i količini promatranih nepravilnosti. Najveća zabilježena je 927 piksela na zubu označenom indeksom 28. Prosječni zub skupine izložene utjecaju *Spritea* nakon 40 sati imao je povećanje od 867,5 piksela, a nakon 50 sati 689,3 piksela. Na zubima nije primijećena promjena u boji (slike 10–12).



Slika 10 Zub indeksa 27 prije
utjecaja *Spritea*

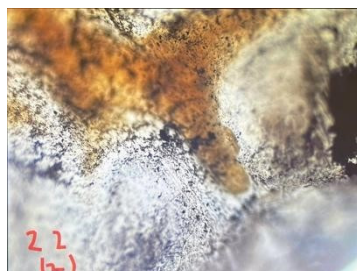
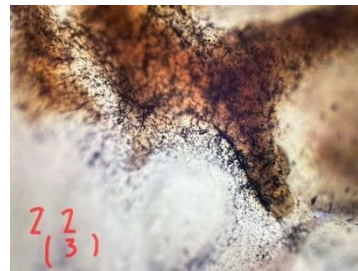


Slika 11 Zub indeksa 27 nakon
40 sati utjecaja *Spritea*

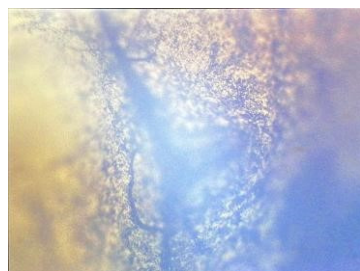
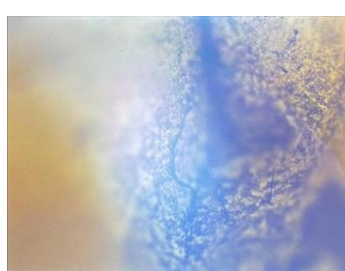
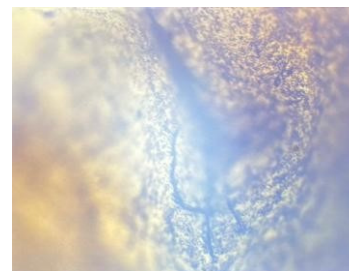


Slika 12 Zub indeksa 27 nakon
50 sati utjecaja *Spritea*

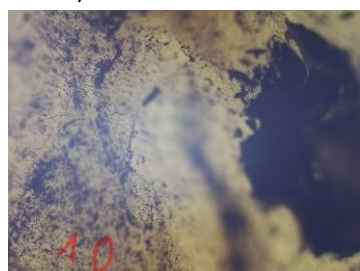
Svi zubi izloženi utjecaju *Cedevite* pokazali su povećanje u veličini i količini promatranih nepravilnosti. Najveća zabilježena je 722 piksela na zubu označenom indeksom 29. Prosječni zub skupine izložene utjecaju *Cedevite* nakon 40 sati imao je povećanje od 669,2 piksela, a nakon 50 sati 598,4 piksela. Na zubima je primijećeno minimalno obojenje (slike 13–15).

Slika 13 Zub indeksa 22 prije
utjecaja CedeviteSlika 14 Zub indeksa 22 nakon
40 sati utjecaja CedeviteSlika 15 Zub indeksa 22 nakon
50 sati utjecaja Cedevite

Većina zuba izloženih utjecaju mlijeka pokazali su smanjenje u veličini i količini promatranih nepravilnosti. Iznimka je primijećena u zubu indeksa 19, gdje nije došlo do smanjenja veličine promatrane nepravilnosti. Najveća zabilježena je 200 piksela na zubu označenom indeksom 17. Prosječni zub skupine izložene utjecaju mlijeka nakon 40 sati imao je smanjenje od 73,5 piksela, a nakon 50 sati 102 piksela. Na zubima nije primijećena promjena u boji (slike 16–18).

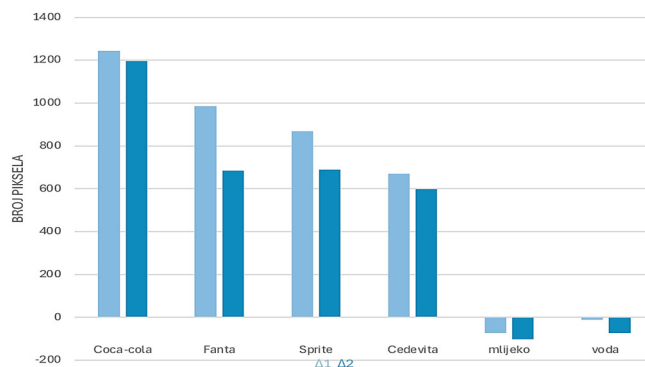
Slika 16 Zub indeksa 20 prije
utjecaja mlijekaSlika 17 Zub indeksa 20 nakon
40 sati utjecaja mlijekaSlika 18 Zub indeksa 20 nakon
50 sati utjecaja mlijeka

Zubi koji su bili izloženi utjecaju vode služili su kao kontrolna skupina i, ovisno o zubu, došlo je do negativnih, neutralnih i pozitivnih promjena. Najveća je promjena zabilježena u zubu indeksa 6, gdje je došlo do smanjenja u vrijednosti. Prosječni zub skupine izložene utjecaju mlijeka nakon 40 sati imao je smanjenje od 10 piksela, a nakon 50 sati 72 piksela. Na zubima nije primijećena promjena u boji (slike 19–21).

Slika 19 Zub indeksa 10 prije
utjecaja vodeSlika 20 Zub indeksa 10 nakon
40 sati utjecaja vodeSlika 21 Zub indeksa 10 nakon
50 sati utjecaja vode

Na slici 22 prikazana je prosječna izračunata razlika između prvobitnog stanja i stanja nakon 40 sati ($\Delta 1$) te razlika između stanja nakon 40 i 50 sati ($\Delta 2$) za zube izložene različitim tekućinama. Rezultati pokazuju da su najveće promjene uočene kod zubi izloženih *Coca-Coli*, *Fantu*, *Spriteu* i *Cedeviti*, pri čemu je $\Delta 1$ veći od $\Delta 2$ za sve ove tekućine. Najveća razlika zabilježena je kod *Coca-Cole*, dok su nešto manje vrijednosti izmjerene za *Fantu*, *Sprite* i *Cedevitu*. Kod mlijeka i vode zabilježene su minimalne

promjene, s $\Delta 1$ i $\Delta 2$ vrijednostima blizu nule ili negativnim, što ukazuje na neznatan ili zaštitni učinak ovih tekućina na zubnu caklinu.



Slika 22 Prosječna izračunata razlika između prvobitnog stanja i stanja nakon 40 sati ($\Delta 1$) te stanja nakon 40 i 50 sati ($\Delta 2$) u zubima kategoriziranim po tečaju koji je na njih utjecala

Usporedbom promjena nakon izlaganja pojedinoj tečaju u odnosu na kontrolnu skupinu (voda), uočene su statistički značajne razlike u površini zubne cakline nakon tretiranja *Coca-Colom*. Izloženost zubi *Coca-Coli* rezultirala je statistički značajnom razlikom nakon 40 sati ($p < 0,05$, $t = 51,62$, $df = 7$), dok nakon 50 sati razlika više nije bila značajna. *Sprite* i *Cedevisa* su pokazali značajne razlike u oba vremenska intervala. Za *Sprite*, statistički značajne razlike u odnosu na kontrolnu skupinu uočene su nakon 40 sati ($p < 0,05$, $t = 46,70$, $df = 8$) i nakon 50 sati ($p < 0,05$, $t = 19,49$, $df = 8$). Slično tome, *Cedevisa* je također izazvala značajne promjene, s razlikama nakon 40 sati ($p < 0,05$, $t = 33,72$, $df = 8$) i nakon 50 sati ($p < 0,05$, $t = 13,65$, $df = 8$). S druge strane, za *Fantu* su statistički značajne promjene u odnosu na kontrolnu skupinu zabilježene tek nakon 50 sati ($p < 0,05$, $t = 4,55$, $df = 8$). Iako je izloženost mlijeku pokazala pozitivan učinak na zubnu caklinu, dobivene promjene nisu bile statistički značajne.

RASPRAVA

Među glavnim uzrocima dentalne erozije smatra se konzumacija kisele hrane i pića (Lussi i sur., 2004, 2011). pH-vrijednost pića stoga je dobar indikator erozivne prirode određenog napitka (Hemingway i sur., 2010; Lussi i Jaeggi, 2008). Pića koja sadrže kiseline i imaju niže pH-vrijednosti uzrokuju demineralizaciju površine zuba, dovodeći do pojave novih i povećanja postojećih površinskih oštećenja.

Najveće promjene primijećene su na zubima izloženima *Coca-Coli*, što je očekivano s obzirom na to da ovo piće ima najnižu zabilježenu pH-vrijednost među ispitivanim tvarima – 2,24. Ova vrijednost je znatno niža od kritične pH-vrijednosti usne šupljine (5,5), pri kojoj započinje demineralizacija cakline. *Coca-Cola* sadrži fosforu kiselinu, koja je posebno agresivna prema kristalima zubne cakline. Djeluje tako da veže kalcij i fosfat, ubrzavajući proces demineralizacije. Osim toga, zbog svog visokog pufernog kapaciteta, ovo piće se u usnoj šupljini uspješno odupire neutralizaciji pomoću sline, što dodatno povećava njegov erozivni potencijal. Rezultati su u skladu s istraživanjem kojeg su proveli Seow i Thong (2005). U njihovom istraživanju se kod zuba već nakon 30 minuta stajanja u *Coca-Coli* statistički značajno smanjila tvrdoća zubne cakline te su utvrdili da razrjeđivanje sa slinom ne utječe na očuvanje tvrdoće zubne cakline. Osim pH-vrijednosti, na demineralizaciju zuba utječe i šećer, koji je najzastupljeniji upravo u ovom piću. Prema Aghili i sur. (2014) prekomjerna konzumacija zaslađenih pića s kofeinom narušava homeostazu i utječe na promjene u izlučivanju minerala čime mogu utjecati na čvrstoću zubi, ali i kostiju.



Zubi izloženi *Cedeviti*, *Spriteu* i *Fanti* također su pokazali znatne promjene. Ovi napitci sadrže velike količine limunske kiseline, koja ima kelirajući učinak – veže kalcij iz cakline i time značajno doprinosi demineralizaciji površine zuba. Uz to, obje tekućine imaju relativno nisku pH-vrijednost, nižu od kritične pH-vrijednosti usne šupljine, te sadrže velike količine šećera, što dodatno negativno utječe na zubnu caklinu. Upravo je i u istraživanju Seow i Thonga (2005) najveći utjecaj na smanjenje tvrdoće zubne cakline imala limunska kiselina što je u skladu s ovim istraživanjem. Manji negativan utjecaj ovih pića na zubnu caklinu, u odnosu na *Coca-Colu*, može se objasniti time da imaju nešto višu pH-vrijednost, različit sastav prisutnih kiselina, manju količinu šećera te nedostatkom kofeina čime manje narušavaju homeostazu i manje utječu na sastav minerala u tijelu. Manji negativan učinak *Spritea* i pića nalik *Fanti*, u odnosu na *Coca-Colu*, potvrdili su i El-Zainy i sur. (2012).

S druge strane, zubi izloženi mlijeku pokazali su poboljšanja na površini cakline, s manjim i manje izraženim oštećenjima. To je očekivano zbog visokog sadržaja kalcija i fosfata, koji pomažu u jačanju zubne strukture i potiču remineralizaciju oštećenih područja. Osim toga, kazein – glavni protein u mlijeku – dokazano inhibira otapanje hidroksiapatita u uvjetima sličnim eroziji (Barbour i sur., 2008). Također, on formira zaštitni sloj koji sprječava odvajanje kalcijevih i fosfornih iona s površine cakline, djelujući kao barijera protiv erozivnog otapanja i štiteći caklinu od kiselinskog utjecaja (Hemingway i sur., 2010). Uz to, mlijeko ima i puferirajući učinak zahvaljujući prisutnim skupinama koje prihvataju vodikove ione, kao što su histidin, fosfoferin, glutamat i aspartat, čime neutralizira pH-vrijednost na površini cakline. Enzimskom probavom kazeina mogu nastati fosfopeptidi (CPP), koji poboljšavaju lokalizaciju kalcijevih i fosfornih iona na površini zuba (Reynolds, 2009).

Kontrolna skupina izložena vodi pokazala je minimalne promjene, što dodatno potvrđuje da su promjene na zubnoj caklini posljedica tvari prisutnih u ispitivanim napitcima. Pouzdanost rezultata ovisi o njihovoj primjeni. Iako ovi rezultati ukazuju na štetnost određenih tvari na zubnu caklinu, provođenjem dodatnih istraživanja u uvjetima sličnijim stvarnom stanju u usnoj šupljini – uzimajući u obzir neutralizirajući utjecaj sline i promatrajući zube nakon kraćeg perioda – moglo bi se preciznije utvrditi stvarni učinak pića na zube. Također, s obzirom na to da su zubi bili donacija kolega iz škole koji nemaju svi iste navike niti isto opće oralno zdravlje, ne može se isključiti i različita osjetljivost zubne cakline pojedinih zuba.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja doneseni su slijedeći zaključci:

- ☞ Dokazana je štetnost određenih tvari na caklinu;
- ☞ Preporučeno je ponavljanje istraživanja u uvjetima bližim stvarnom stanju u usnoj šupljini (utjecaj sline i vrijeme promatranja);
- ☞ Potrebno je uzeti u obzir utjecaj različitosti oralnih navika i održavanja zdravlja usne šupljine, odnosno zuba.

LITERATURA

- Aghili H.A., Hoseini S.M., Yassaei S., Fatahi Meybodi S.A., Zaeim M.H., Moghadam M.G. 2014. Effects of carbonated soft drink consumption on orthodontic tooth movements in rats. *Journal of Dentistry (Tehran)* 11(2): 123–30.
- Barbour M.E., Shellis R.P., Parker D.M., Allen G.C., Addy M. 2008. Inhibition of hydroxyapatite dissolution by whole casein: the effects of pH, protein concentration, calcium, and ionic strength. *European Journal of Oral Sciences* 116(5): 473–478.

Usporedba utjecaja konvencionalnih i „zelenih“ deterdženata na rast i razvoj biljaka

Fran Fabek, 3. razred

XV. Gimnazija, Zagreb

Mentor: **Mihaela Marceljak Ilić**

SAŽETAK

Iako se općenito pretpostavlja da „zeleni“ potrošački proizvodi za kućanstvo sadrže spojeve koji su manje toksični za okoliš, malo je istraživanja o ovoj temi. Ovo istraživanje provedeno je s ciljem utvrđivanja postoji li razlika između konvencionalnih i „zelenih“ deterdženata u utjecaju na biljke, prateći nekoliko pokazatelja rasta i razvoja biljke (klijavost, duljinu, broj i površinu listova, mitotski indeks te masu suhe tvari). Postavljena je hipoteza da će se „zeleni“ proizvodi pokazati manje toksičnima od konvencionalnih, a postavljena je na temelju činjenice da se „zeleni“ proizvodi na takav način deklariraju zbog sadržaja biorazgradivih tenzida. U istraživanju je testiran utjecaj dvije formulacije „zelenog“ deterdženta te dvije formulacije konvencionalnog deterdženta u usporedbi s destiliranom vodom kao kontrolnom skupinom. Sjemenke pšenice (*Triticum aestivum* L.) su ukupno 21 dan tretirane koncentracijom od 0,5 %, a lukovice običnog luka (*Allium cepa* L.) koncentracijom od 1 % navedenih deterdženata. Dobiveni rezultati nisu potvrdili hipotezu o manjem toksičnom utjecaju „zelenih“ proizvoda na rast i razvoj biljaka. Iako se na najvećem broju pokazatelja kao najštetniji za biljke zaista pokazao jedan konvencionalni deterdžent, a kao najmanje štetan jedan zeleni deterdžent te je među njima utvrđena i značajna razlika u utjecaju na klijavost pšenice, drugi zeleni i drugi konvencionalni deterdžent ne slijede isti obrazac rezultata. Dakle, na temelju dobivenih rezultata možemo zaključiti da deklariranje nekog proizvoda kao „zelenog“ nužno ne znači da je riječ o proizvodu s manjim negativnim utjecajem na biljke.

Ključne riječi: *tenzidi; anionski surfaktanti; neionski surfaktanti; Allium test*

UVOD

Napredak tehnologije rezultira proizvodima koji nam olakšavaju svakodnevni život, no većina ih u određenoj mjeri može imati negativan utjecaj na okoliš (Jovanić i sur., 2010). Tek rijetki od njih ne ostavljaju negativan utjecaj na živi svijet. Upravo iz tog razloga proučavanje utjecaja na okoliš postaje ključno za očuvanje biljnog i životinjskog svijeta, a time i opstanka samog čovječanstva.

Kao primjer, gotovo svako kućanstvo danas posjeduje perilicu rublja te za njegovo pranje koristi deterdžente. Unatoč neupitnoj korisnosti ovih proizvoda za svakodnevni život i štednju vode, otpadne vode nakon pranja završavaju u okolišu, s kemijskim sredstvima koja se koriste za pranje. S vremenom, udio deterdženata u okolišu raste, dovodeći do značajnih promjena u biosferi (Glumac i sur., 2020). Deterdženti su složene mješavine mnogo supstanci od kojih svaka ima određenu funkciju, a mogu sadržavati i do 15 različitih kemikalija. Najvažnija komponenta deterdženata koja je prisutna u svim tipovima deterdženata su tenzidi (Gudlin, 2016).

Tenzidi (surfaktanti) su u vodi topljive, površinski aktivne tvari, koje se sastoje od hidrofobnog dijela (općenito dugi alkilni lanac) vezanog na hidrofilne skupine koje poboljšavaju topljivost (Papić, 2015). Osnovna osobina površinski aktivnih tvari je sposobnost da apsorbiraju na graničnoj površini vodenih otopina, zbog čega omogućuju odvajanje nečistoće od podloge. Zbog svog djelovanja nezamjenjivi su sastojak u sredstvima za pranje, čišćenje, dezinfekciju, emulgiranje i sl., dakle u nizu proizvoda koje svakodnevno koristimo u kućanstvu (Glumac i sur., 2020). Globalno tržište tenzida u 2021. godini iznosilo je 42,1 milijardu \$, dok je konzervativna projekcija za 2025. godinu iznosila 52,4 milijarde \$



(Badmus i sur., 2021). Više je vrsta tenzida, a u deterdžentima se najviše koriste anionski i neionski (Glumac i sur., 2020). Anionski tenzidi zbog svoje djelotvornosti čine najveći udio odnosno 59 % ukupne svjetske proizvodnje tenzida (Glumac i sur., 2020). Zbog njihove masovne primjene u svakodnevnom životu javlja se briga o ekotoksičnosti anionskih tenzida. Istraživanja pokazuju da se mogu vezati za proteine mijenjajući aktivnost različitih enzima ili dijelova stanice što u konačnici rezultira njihovom disfunkcijom (Hajduković, 2016). Neionski tenzidi su površinski aktivne tvari koje ne disociraju u vodenim otopinama (Glumac i sur., 2020). Zbog brže biorazgradnje smatraju se ekološki prihvatljivijom skupinom tenzida (Načkar, 2020) te se očekuje da će zbog toga postupno preuzimati mjesto drugim vrstama tenzida (Glumac i sur., 2020). Nakon primjene, neiskorišteni tenzidi ispuštaju se u kanalizaciju, nakon čega veći dio prolazi kroz uređaj za pročišćavanje otpadnih voda, dok dio završava izravno u površinskim vodama (Hajduković, 2016). Iz vodenih sustava se dalje talože i procjeđuju u sediment i dublje dijelove tla. Tenzidi imaju značajan utjecaj na fizikalno-kemijske i biološke osobine tla (Glumac i sur., 2020), a niz istraživanja potvrđuje njihov negativan utjecaj na rast i razvoj biljaka.

Prema istraživanju Rinalla i sur. (1988), najveći negativni utjecaj tenzida na biljke vidljiv je na samom korijenu. Heidari i Kahrizi (2018) pokazali su da deterdžent za rublje ima negativan utjecaj na postotak klijavosti sjemena kukuruza (*Zea mays* L.) te visinu biljke, broj listova po biljci te površinu listova. Garland i sur. (2000) pokazali su negativan utjecaj tenzida na rast salate (*Lactuca sativa* L.), dok na pšenici (*Triticum aestivum* L.) nije dokazana jednaka osjetljivost. Ehilen i sur. (2017) potvrdili su negativan utjecaj deterdženta za rublje kako na klijavost sjemenki, tako i na različite pokazatelje rasta i razvoja biljaka križanog šćira (*Amaranthus hybridus* L.) i rajčice (*Solanum lycopersicon* L.). Jovanić i sur. (2010) pokazali su negativan utjecaj tenzida na fotosintetsku aktivnost graha (*Phaseolus vulgaris* L.). Qureshi i sur. (2014) utvrđuju da deterdžent smanjuje klijavost te dovodi do smanjenja mitotskog indeksa i povećanja broja kromosomskih promjena na slanutku (*Cicer arietinum* L.). Većina navedenih istraživanja provedena je na anionskim tenzidima ili sastav korištenog deterdženta nije specificiran; jedino su u istraživanju Rinalla i sur. (1988) i anionski i neionski tenzid pokazali fototoksični efekt na rast korijena i listova biljke kod duže izloženosti.

Prema prikazanom sastavu proizvoda, klasični deterdženti sadrže veći postotak anionskih tenzida u odnosu na neionske, a također često sadrže i druge tvari štetne za okoliš. Veliki ekološki problem predstavljaju i fosfati koji se dodaju u klasične deterdžente kako bi promijenili kiselost vode, tvrdoću i povećali efikasnost čišćenja, no kada dospiju u površinske vode, fosfati potiču pojavu eutrofikacije, koja uvelike ugrožava opstanak flore i faune (Hajduković, 2016). Dodatno, klasični deterdženti sadrže i bjelila te druge pomoćne tvari koje pospješuju pranje, a također su štetni za okoliš (Gudlin, 2016).

Sa svrhom smanjenja negativnih utjecaja na okoliš, kao alternativa konvencionalnim formulacijama proizvoda pojavljuju se proizvodi koji se deklariraju kao „zeleni“ (Sević, 2022). Prema deklaracijama na proizvodima, „zeleni“ deterdženti sadrže veći udio neionskih tenzida. Također, „zeleni“ deterdženti ne bi trebali sadržavati fosfate te im je dodan manji broj drugih pomoćnih tvari. Dakle, puno tvrtki zasigurno znatno ulaže u poboljšanje svojih proizvoda pokazujući stvarnu odgovornost prema okolišu. Međutim, istraživanja pokazuju da su građani često skeptični može li se vjerovati da je neki proizvod „zelen“, zbog čega se nekad ne odlučuju za ekološki prihvatljiviji proizvod (de Freitas Neto i sur., 2020).



Kada je riječ o deterdžentima i sličnim sredstvima koja se koriste u kućanstvu, vrlo malo istraživanja se do sada bavilo usporedbom toksičnosti konvencionalnih i „zelenih“ proizvoda. Jedino od dostupnih istraživanja (Gray i sur., 2022) provedeno u Americi bavilo se usporedbom toksičnosti i biorazgradivosti „zelenih“ i konvencionalne formulacije niza proizvoda na staklene škampe (*Palaemonetes paludosus* L.) i veliku vodenbuhu (*Daphnia magna* L.). Dobiveni rezultati ukazuju da „zeleni“ proizvodi nisu nužno manje toksični i lakše biorazgradivi; dapače, neki od „zelenih“ proizvoda pokazali su se u tom pogledu nepovoljnijima od svog konvencionalnog para.

Nedostupnost podataka o razlikama u utjecaju konvencionalnih i „zelenih“ proizvoda na biljni svijet ujedno me je motivirala da istražim ovu temu. Obzirom da se trudimo održivo živjeti, zanima me mogu li vjerovati da kupnjom „zelenog“ proizvoda doprinosimo očuvanju prirode. Kako Europska unija ima drugačiju regulativu po pitanju deklariranja proizvoda kao „zelenog“, a time potencijalno osigurava i više sigurnosti za potrošače, zanimalo me koliko možemo biti sigurni da su proizvodi koji se deklariraju kao „zeleni“ zaista bolji za okoliš.

Biljke izabrane za ovo istraživanje bile su obična pšenica i luk srebrenac. Valja napomenuti da se obje vrste gotovo svakodnevno koriste kao prehrambeni proizvod. U kontekstu obilježja ovih biljaka, napominje se da je pšenica (*Triticum aestivum* L.) jednosupnica koja preferira puno sunca i umjereno vlažne uvjete. Zrna pšenice, bogata škrobom i bjelanjčevinama, najvažnija su namirnica u Europi i velikom dijelu svijeta (Oxford Plants 400, 2021). Luk (*Allium cepa* L.) je dvosupnica te dvogodišnja biljka koja cvjeta u svojoj drugoj sezoni rasta. Zadebljani listovi služe kao spremište energije za biljku koja prezimljuje (Oxford Plants 400, 2021). Podzemni organ je karakteristična lukovica, a gotovo svi dijelovi biljke se mogu koristiti za hranu.

Allium test je dobro poznat i jednostavan biotest pogodan za izvedbu u laboratorijima u kojima se rutinski testira učinak različitih otopina, a njime se može odrediti ukupna toksičnost, citotoksičnost i genotoksičnost. Ovaj test ima brojne prednosti poput niske cijene, jednostavne izvedbe i lake dostupnosti lukovica, malog broja dugačkih kromosoma ($2n = 16$) i raspoloživosti velikog broja stanica na jednom mikroskopskom preparatu što doprinosi pouzdanosti dobivenih rezultata (Kokotović, 2019). Kao pokazatelji toksičnosti mogu se pratiti makroskopske promjene kao što su rast i oblik korijena te pojava listova na lukovici, kao i mikroskopske promjene kao što su mitotska aktivnost (određivanje mitotskog indeksa tj. broja stanica u diobi) te pojava kromosomskih i mitotičkih nepravilnosti (Kokotović i Radić-Brkanac, 2019). Mitotski indeks je omjer broja stanica u diobi i ukupnog broja stanica uzorka. Viši mitotski indeks obično ukazuje na veću stopu stanične diobe, što može biti znak bržeg rasta tkiva ili povećane stanične aktivnosti, dok niži mitotski indeks sugerira sporiji rast i manju diobu stanica (Kokotović, 2019).

Cilj ovog istraživanja je ispitati učinke „zelenih“ formulacija deterdženata u usporedbi s klasičnim deterdžentima na rast i razvoj biljaka (obične pšenice i luka srebrenca), kako bi se utvrdilo postoje li značajne razlike među biljkama koje rastu u različitim medijima i jesu li eventualne razlike pozitivne ili negativne. Konkretnije, cilj je usporediti:

- ☞ utjecaj konvencionalnih i „zelenih“ formulacija deterdženata na klijavost,
- ☞ broj, duljinu i površinu listova biljaka tretiranih „zelenim“ i klasičnim deterdžentima,
- ☞ biomasu biljaka tretiranih „zelenim“ i klasičnim deterdžentima,



☞ citotoksične učinke „zelenih“ i klasičnih deterdženata preko mitotskog indeksa.

Obzirom na proučenu literaturu postavljena je hipoteza da će se „zeleni“ proizvodi pokazati manje toksičnima od konvencionalnih, a postavljena je na temelju činjenice da se „zeleni“ proizvodi na takav način deklariraju zbog sadržaja biorazgradivih tenzida. Dakle, očekuje se da će biljke tretirane „zelenim“ deterdžentima imati veću klijavost, veći broj, duljinu i površinu listova, veću masu suhe tvari te veći mitotski indeks u odnosu na biljke tretirane konvencionalnim deterdžentima.

METODE

U istraživanju su korištene sjemenke pšenice (*Triticum aestivum* L.) te lukovice luka srebrenca (*Allium cepa* L.). Lukovice su nabavljene u prodavaonici koja prodaje isključivo netretirane proizvode s ciljem kontrole ranije izloženosti biljke nepovoljnim uvjetima.

Sve biljke su bile izložene jednakim uvjetima uzgoja uz iznimku tipa i udjela deterdženta čiji je utjecaj ispitivan. Sjemenke pšenice posijane su na podlogama za hidroponski uzgoj s kamenom plavcem kao supstratom (Ikea is growing, 2018) koji je prethodno dobro ispran vodom, a lukovice u epruvete. Za razrjeđenja deterdženata i kao podloga kontrole korištena je destilirana voda radi bolje kontrole tvari koje dolaze do biljaka. Korištena je LED rasvjeta intenziteta 800 lm izmjerenog luxmetrom, dok su temperatura prostora 20°C te vlažnost 60% provjeravani termohigrometrom. Duljina dana regulirana je timerima. Izabrana je duljinu dana od 9 sati za pšenicu i 12 sati za luk zbog najpovoljnijeg utjecaja na rast odabranih vrsta (Cherlinka, 2023).

Izabrana su četiri deterdženta: dva konvencionalna (KON) i dva „zelena“ (ZEL) deterdženta različitih formulacija navedenih u tablici 1. „Zelenim“ deterdžentima smatrani su deterdženti koji na ambalaži imaju vidno istaknutu oznaku o manjem negativnom utjecaju sadržaja proizvoda na okoliš. „Zeleni“ deterdžent 2 (ZEL2) odabran je u specijaliziranoj prodavaonici bio proizvoda, dok se svi ostali deterdženti (ZEL1, KON1 i KON2) mogu pronaći na policama većine supermarketa.

Tablica 1 Kemijski sastav odabranih deterdženata naveden na deklaracijama

Vrsta	Sastav
Konvencionalni deterdžent 1 (KON1)	5–15 % anionske površinski aktivne tvari, neionske površinski aktivne tvari, < 5 % fosfonati, sapun, enzimi, optički posvjetljivači boje, konzervansi, Benzisothiazolinone, mirisi, alpha-isomethyl ionone, Citronellol, Coumarin, Linalool
Konvencionalni deterdžent 2 (KON2)	5–15 % anionske površinski aktivne tvari, neionske površinski aktivne tvari, < 5 % sapun, polikarboksilati, fosfonati, enzimi, optička bjelila, mirisi, konzervansi (DMDM Hydantoin)
„Zeleni“ deterdžent 1 (ZEL1)	5–15 % neionskih tenzida, sapun, < 5 % anionskih tenzida, enzimi, parfem, <i>Aloe vera barbadensis</i>
„Zeleni“ deterdžent 2 (ZEL2)	5–15 %: neionski tenzidi, sapun; < 5 % anionski tenzidi, optički izbjeljivač, benzil alkohol, natrijev benzoat, kalijev sorbat, mirisi. Svi aktivni sastojci prirodnog su podrijetla.

Deterdžent je korišten u udjelu od 1 % za lukovice i 0,5 % za pšenicu, a na temelju istraživanja Barooaha i sur. (2022), koji su na mahunarkama pokazali da je prag udjela koji utječe na klijanje 1 %, na visinu stabljike 1 %, na biomasu 0,1 %, na veličinu listova 0,5 %, a na broj listova 1 %. Dakle, očekivano je da su to udjeli kod kojih će biti zamijećeni negativni učinci konvencionalnih deterdženata na biljke, dok „zeleni“ deterdženti ne bi trebali pokazivati negativan utjecaj ili bi on trebao biti značajno manji. U kontrolnim skupinama biljke su dobile samo destiliranu vodu.

Ukupno je korišteno 25 lukovica (po pet ponavljanja za četiri vrste deterdženta u koncentraciji 1 % + kontrola, destilirana voda). Nadalje, u svako polje podloge za hidroponski uzgoj posađeno je ukupno 5

sjemenki pšenice, odnosno ukupno je korišteno 125 sjemenki pšenice (po pet ponavljanja za četiri vrste deterdženta u koncentraciji 0,5 % + kontrola, destilirana voda). Slike 1 i 2 prikazuju biljke na početku tretiranja. Tretiranje biljaka trajalo je tri tjedna.

Korišteni su također svjetlosni mikroskop (ukupno povećanje: 40x, 100x, 400x), digitalna analitička vaga (preciznosti $\pm 0,001$ g) te pomična mjerka ($\pm 0,1$ cm).



Slika 1 Lukovice u epruvetama na početku pokusa (F.F.)



Slika 2 Pšenica u hidroponiji na početku pokusa (F.F.)

Po završetku razdoblja od tri tjedna izmjereni su i izračunati sljedeći pokazatelji rasta i razvoja biljaka:

1. Klijavost

Prebrojan je broj proklijalih lukovica, odnosno vršno proklijalih sjemenki pšenice te je klijavost izračunata po formuli:

$$\text{klijavost} = \frac{\text{broj proklijalih biljaka}}{\text{ukupan broj posađenih biljaka}} * 100\%$$

2. Duljina lista

Pomičnom mjerkom je izmjerena duljina svakog lista biljke (od razine supstrata odnosno od vrha lukovice do vrha lista) te je izračunata prosječna duljina lista u svakoj vrsti medija, prema formuli:

$$\bar{D} = \frac{D_1 + D_2 + D_3 + \dots}{n}$$

$D_1, D_2, \dots$ – duljina pojedinačnih listova

n – ukupan broj listova biljaka u određenoj vrsti medija

3. Broj listova

Prebrojani su listove svake biljke te izračunat prosječan broj listova po biljci u određenoj vrsti medija:

$$\bar{B} = \frac{B_1 + B_2 + B_3 + \dots}{n}$$

$B_1, B_2, \dots$ – broj listova na pojedinoj biljci

n – ukupan broj biljaka u određenoj vrsti medija

4. Površina listova

Površina listova je izmjerena posebno za svaki list pomoću aplikacije LeafArea na mobilnom telefonu. Nakon toga je izračunata prosječna površina lista u određenoj vrsti medija:

$$\bar{P} = \frac{P_1 + P_2 + P_3 + \dots}{n}$$

$P_1, P_2, \dots$ – površina pojedinačnih listova

n – ukupan broj listova na biljkama u određenoj vrsti medija



5. Mitotski indeks

Mitotski indeks I_m računa se formulom:

$$\text{mitotski indeks} = \frac{\text{broj stanica u diobi}}{\text{ukupan broj stanica}} * 100\%$$

Za Allium test pripremljeni su mikroskopski preparati od korijena svake korištene lukovice. U epruvetu je uliveno do visine 2 cm aceto orceina. Od vrška korijena odrezan je skalpelom komadić okvirne dužine oko 1 cm te je ubačen u epruvetu. Epruveta je uz pridržavanje drvenom hvataljkom grijana na plameniku 5 minuta, uz lagano pomicanje. Sadržaj je nakon toga prelivljen u Petrijevu zdjelicu. Korjenčići su potom pomoću pincete prebačeni na pola minute na hlađenje u demineraliziranoj vodi s ledom. Nakon toga korjenčići su izvađeni na čistu Petrijevu zdjelicu i skalpelom je odrezan vršak korijena duljine 1 mm te stavljen na predmetno stakalce. Dodana je kap aceto orceina te je preparat odozgo snažno pritisnut pokrovnim stakalcem, obrisan je višak orceina te je preparat stavljen pod svjetlosni mikroskop (povećanje od 400x). Pomoću kamere u mikroskopu fotografirano je vidno polje kako bi fotografije olakšale dalje proučavanje te su pobrojane stanice za potrebe izračuna mitotskog indeksa. Dodatno, promatran je i broj interfaznih vakuola. Interfazne vakuole su specifične vakuole koje se pojavljuju unutar jezgre stanice, a izgledaju kao pojedinačne ili višestruke šupljine. Mogu se formirati pod određenim uvjetima, često kao rezultat stresa ili oštećenja stanice, odnosno kao odgovor stanice na vanjske čimbenike poput toksičnih tvari (Singh, 2021).

6. Biomasa

Mjerenje suhe tvari provedeno je za lukovice. Nakon završetka morfoloških izmjera, tkiva izdanka i korijena su odvojena te sušena u sušioniku na 50°C. Ukupnu suhu tvar čini cjelokupna količina tvari iz sastava proizvoda koja ne isparava pod definiranim uvjetima. Tijekom sušenja, masa je više puta provjeravana dok uzorci nisu dostigli konstantnu masu (Dabić, 2019). Nakon vaganja, izračunato je postotno odstupanje mase suhe tvari u određenoj skupini u odnosu na kontrolnu skupinu:

$$\text{postotno odstupanje mase suhe tvari} = \frac{m_{\text{kontrola}} - m_x}{m_{\text{kontrola}}} * 100\%$$

m_x – masa suhe tvari biljaka raslih u određenoj vrsti medija

m_{kontrola} – masa suhe tvari u kontrolnoj skupini

Analiza rezultata

Dio podataka prikazan je pomoću grafikona s prikazom raspršenja rezultata odnosno standardnom devijacijom. Standardna devijacija računata je prema sljedećoj formuli, gdje je x pojedinačno mjerenje, $\bar{x}$ aritmetička sredina, a N ukupan broj mjerenja (Mason, 2024):

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

Kada podaci nisu normalno distribuirani, interkvartilni raspon je bolja mjera varijabilnosti od standardne devijacije, zbog manjeg utjecaja ekstremnih vrijednosti.

Takvi podaci su prikazani grafički kutijastim dijagramima s brkovima, korištenjem Microsoft Excel programa. Kutijasti dijagrami s brkovima se mogu koristiti za vizualni prikaz kvartila i interkvartilnog raspona. Kvačice na vrhu i dnu okomitih linija pokazuju najviše i najniže vrijednosti u skupu podataka.

Gornji dio okvira prikazuje gornji kvartil, dno okvira prikazuje donji kvartil, a vodoravna linija unutar okvira predstavlja medijan. Središnji pravokutnik obuhvaća interkvartilni raspon (IQR) (Mason, 2024). Normalnost distribucija podataka testirana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom.

Testiranje značajnosti razlika među skupinama provedeno je neparametrijskim Kruskal-Wallisovim testom korištenjem internetskog kalkulatora (Statistics Kingdom, 2022). Kada je Kruskal-Wallisov test potvrdio značajne razlike (ukoliko je p vrijednost manja od 0,05, što je postavljeno kao granica značajnosti), za *post-hoc* analizu i identifikaciju specifičnih skupina koje se međusobno razlikuju primijenjen je Dunnov test.

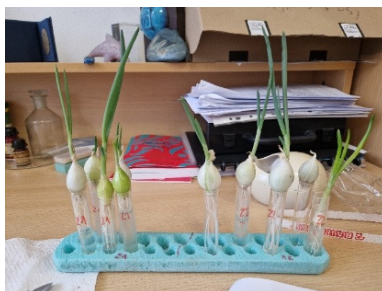
REZULTATI

Rezultati istraživanja izneseni su prema redoslijedu u metodologiji. Slike 3, 4 i 5 prikazuju lukovice na kraju istraživanja, odnosno nakon tri tjedna tretiranja.

Na slici 3 vidljivo je da su sve lukovice u kontrolnoj skupini isključivo te da već imaju velike zelene listove. Na slici 4 su lukovice koje su tretirane zelenim deterdžentima. Ovdje je vidljivo da je većina lukovica proključala te da dio lukovica ima velike zelene listove. Na slici 5 su lukovice tretirane konvencionalnim deterdžentima gdje se uočava da je relativno malo lukovica proključalo. Kod pšenice na prvi pogled nisu bile vidljive tako jasne i sustavne razlike.



Slika 3 Lukovice u kontrolnoj skupini nakon 3 tjedna (F.F.)



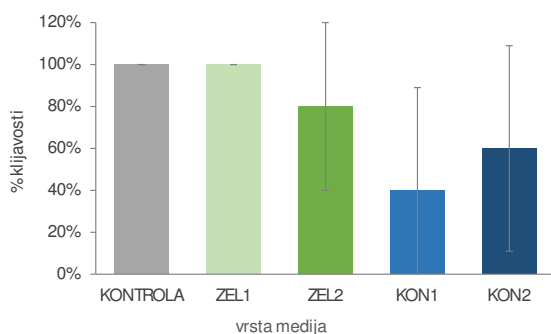
Slika 4 Lukovice tretirane zelenim deterdžentima (lijevo ZEL1, desno ZEL2) nakon 3 tjedna (F.F.)



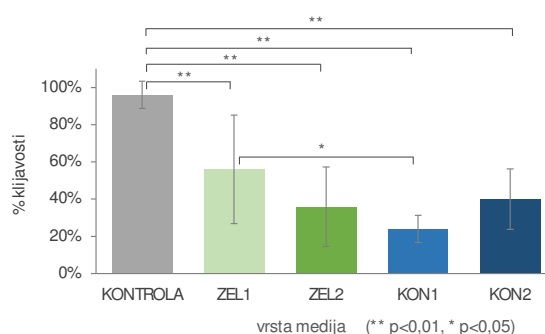
Slika 5 Lukovice tretirane klasičnim deterdžentima (lijevo KON1, desno KON2) nakon 3 tjedna (F.F.)

Klijavost

Podaci o klijavosti prikazani su na slikama 6 i 7.



Slika 6 Klijavost lukovica u različitim vrstama medija



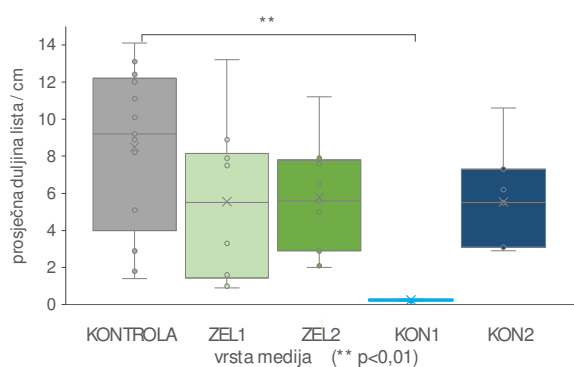
Slika 7 Klijavost pšenice u različitim vrstama medija

Kako je prikazano na slici 6, klijavost lukovica u vodi bila je 100 %. Nakon tretiranja zelenim deterdžentom ZEL1 klijavost lukovica je također 100 %, dok je za ZEL2 nešto niža te iznosi 80 %. Kod konvencionalnih deterdženata uočavamo niži postotak klijavosti lukovica (40 % za KON1 i 60 % za KON2). Razlika među skupinama ne dostiže statističku značajnost ($H = 7,16$, $df = 4$, $p = 0,128$).

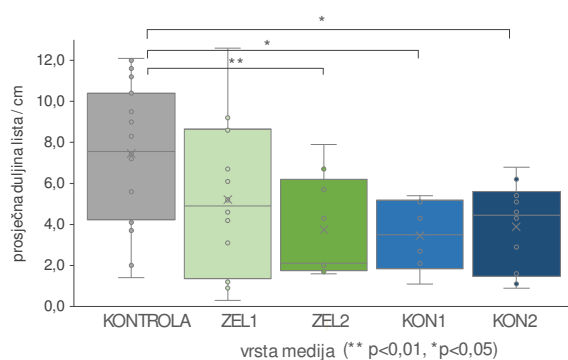
U skladu s prikazom na slici 7, klijavost pšenice najveća je u vodi gdje je iznosila 96 %, a najmanja je kod pšenice tretirane KON1 deterdžentom (svega 24 %). Kod pšenice rasle u drugim vrstama medija (KON2, ZEL1 i ZEL2) klijavost je također niža nego u vodi te rezultati pokazuju veću varijabilnost. Kruskal Wallisov test pokazuje da je razlika među skupinama u broju proklijalih sjemenki pšenice statistički značajna ($H = 30,98$, $df = 4$, $p = 0,000$). *Post-hoc* analiza Dunnovim testom potvrđuje značajno veću klijavost u kontrolnoj skupini u odnosu na pšenicu koja je rasla u drugim vrstama medija. Također, klijavost pšenice tretirane ZEL1 deterdžentom značajno je veća od klijavosti pšenice tretirane KON1 deterdžentom.

Duljina lista

Na slikama 8 i 9 prikazana je prosječna duljina lista biljaka raslih u različitim vrstama medija.



Slika 8 Prosječna duljina lista lukovica u različitim vrstama medija



Slika 9 Prosječna duljina lista pšenice u različitim vrstama medija

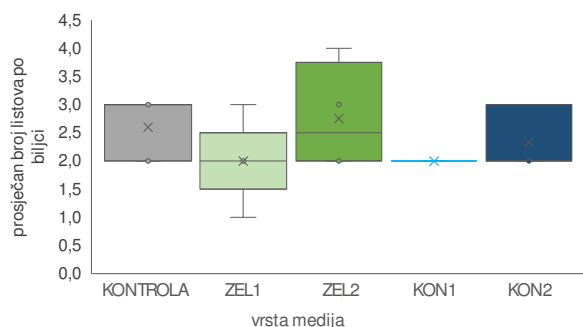
Za lukovice, na slici 8 može se uočiti da je medijan najveći u kontrolnoj skupini, a najmanji kod konvencionalnog deterdženta KON1, dok su srednje vrijednosti kod biljaka raslih u drugim vrstama medija podjednake. Kruskal Wallisov test pokazuje da je razlika među skupinama statistički značajna, ($H = 14,33$, $df = 4$, $p = 0,006$). *Post-hoc* analiza Dunnovim testom pokazuje značajnu razliku između kontrolne skupine i skupine tretirane konvencionalnim deterdžentom KON1, pri čemu je prosječna duljina lista značajno manja u skupini KON1 u odnosu na kontrolnu skupinu.

Za pšenicu, na slici 9 je vidljivo da je medijan za prosječnu duljinu lista također najveći u kontrolnoj skupini. Nakon toga slijedi pšenica tretirana zelenim deterdžentom ZEL1 s nešto višim medijanom u odnosu na ostale uzorke tretirane deterdžentima, ali i najvećim raspršenjem rezultata. Kruskal Wallisov test potvrđuje statistički značajnu razliku među skupinama ($H = 13,11$, $df = 4$, $p = 0,011$). *Post-hoc* analiza Dunnovim testom pokazuje značajnu razliku između kontrolne skupine i skupina ZEL2, KON1 i KON2, dok se kontrolna skupina i ZEL1 ne razlikuju značajno.

Broj listova

Na slici 10 prikazan je prosječan broj listova na lukovicama u različitim vrstama medija.

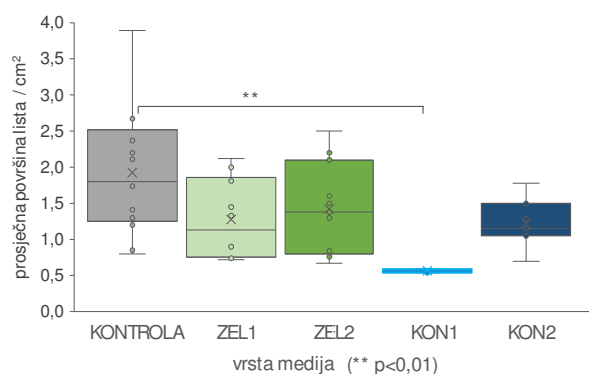
Kako se može uočiti na slici 10, prosječan broj listova po biljci sličan je u svim uzorcima i kreće se u rasponu od 2 do 3 lista. Maksimum se uočava na biljci koja je rasla u mediju zelenog deterdženta ZEL2 te ima 4 lista. Za pšenicu nije dodatno uspoređivan broj listova jer sve isključale biljke imaju jedan list.



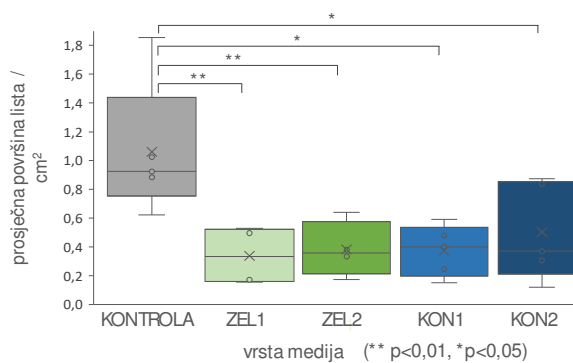
Slika 10 Prosječan broj listova na biljci za lukovice u različitim vrstama medija

Površina listova

Na slikama 11 i 12 prikazana je prosječna površina lista biljaka u različitim vrstama medija.



Slika 11 Prosječna površina lista lukovica u različitim vrstama medija



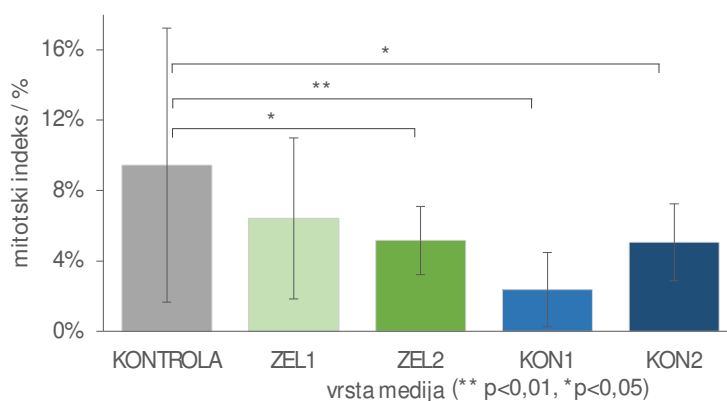
Slika 12 Prosječna površina lista pšenice u različitim vrstama medija

Za lukovice, na slici 11 može se uočiti da je medijan najveći u kontrolnoj skupini a najmanji kod konvencionalnog deterdženta KON1. Medijan je podjednak u svim drugim vrstama medija, pri čemu je raspršenje rezultata veće u uzorcima ZEL1 i ZEL2. Razlika među skupinama dostiže statističku značajnost ($H = 15,52$, $df = 4$, $p = 0,004$). Skupina tretirana KON1 deterdžentom ima značajno manju prosječnu površinu lista u odnosu na kontrolnu skupinu.

Za pšenicu, kako je prikazano na slici 12, prosječna površina lista najveća je u kontrolnoj skupini. U svim ostalim vrstama medija srednje vrijednosti su vrlo slične, pri čemu je raspršenje rezultata najveće u skupini tretiranoj KON2 deterdžentom. Kruskal Wallisov test pokazuje da je razlika među skupinama u prosječnoj površini lista statistički značajna ($H = 10,07$, $df = 4$, $p = 0,039$). Pšenica u kontrolnoj skupini ima značajno veću prosječnu površinu lista u odnosu na pšenicu u svim drugim vrstama medija.

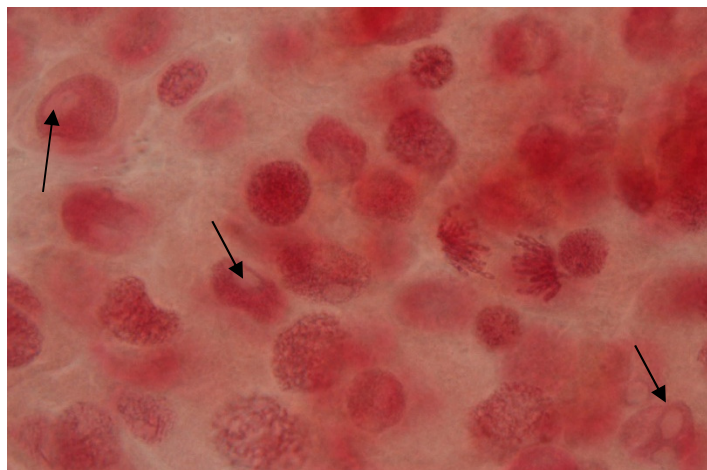
Mitotski indeks

Na slici 13 prikazane su vrijednosti mitotskog indeksa za lukovice u različitim medijima.


 Slika 13 Mitotski indeks za lukovice *Allium cepa* u različitim medijima

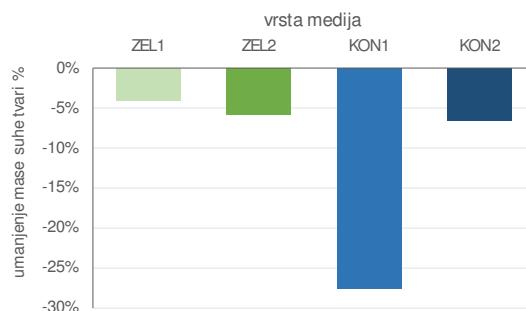
Kako je vidljivo na slici 13, mitotski indeks najviši je u kontrolnoj skupini, uz veliko raspršenje podataka. Nakon kontrolne skupine, nešto niži mitotski indeks uočava se kod biljaka tretiranih sa ZEL1, ZEL2 i KON2 deterdžentima, a najniži mitotski indeks vidljiv je kod biljaka gdje je medij bio KON1 deterdžent. Razlika među skupinama statistički je značajna ($H = 16,06$, $df = 4$, $p = 0,003$). Sve skupine osim ZEL1 imaju značajno niži mitotski indeks u odnosu na kontrolnu skupinu.

Iako je ovo istraživanje prvenstveno fokusirano na mitotski indeks, u preparatima za konvencionalni deterdžent KON1 uočene su i interfazne vakuole (slika 14).


 Slika 14 Interfazne vakuole uočene na stanicama lukovica *Allium cepa* tretiranih konvencionalnim deterdžentom KON1 na povećanju 1000x (F.F.)

Biomasa

Na slici 15 prikazano je postotno umanjeње mase suhe tvari za lukovice rasle u različitim medijima u odnosu na kontrolnu skupinu. Uočava se da je ukupna masa suhe tvari lukovica u mediju KON1 bitno niža (oko 27 %) u odnosu na kontrolnu skupinu. Masa suhe tvari biljaka raslih u drugim medijima (ZEL1, ZEL2, KON2) također je nešto niža u odnosu na kontrolnu skupinu.



Slika 15 Postotno umanjenje mase suhe tvari u za biljke rasle u različitim medijima u odnosu na kontrolnu skupinu (za lukovice *Allium cepa*)

RASPRAVA

Postavljena hipoteza je bila da će se „zeleni“ proizvodi pokazati manje toksičnima od konvencionalnih, što je promatrano kroz niz pokazatelja rasta i razvoja biljke.

Za početak, dobiveni rezultati, u skladu s ranijim istraživanjima, ukazuju na nepovoljan utjecaj deterdženata (bez obzira je li riječ o konvencionalnim ili „zelenim“ deterdžentima) na različite pokazatelje razvoja biljke. Dobiveni rezultati za klijavost i površinu lista u skladu su s nalazima ranijih istraživanja koja ukazuju na negativne posljedice deterdženata na klijavost (Ehilen i sur., 2017; Heidari i Kahrizi, 2018) i površinu lista (Rinalla i sur., 1988; Heidari i Kahrizi, 2018). Na druge parametre negativan utjecaj su imali samo neki deterdženti, što je također u skladu s ranijim nalazima koji ukazuju da utjecaj ovisi o koncentraciji deterdženta i konkretnoj biljnoj vrsti (Ehilen i sur., 2017). Nije potvrđen utjecaj deterdženata na broj listova biljke, što je možda specifično povezano s vrstama biljaka, odnosno nema puno varijacija u broju listova kod luka i pšenice.

Nadalje, deterdženti su primijenjeni u većoj koncentraciji na lukovice, no štetne posljedice za pšenicu nisu bile manje, što je također u skladu s prijašnjim istraživanjima koja svjedoče različitom utjecaju deterdženata na različite biljke (Garland i sur., 2000). Činjenica da je na pšenicu manja koncentracija imala značajan efekt u skladu je s istraživanjima koja pokazuju da je upravo klijanje sjemenki drastično smanjeno pod utjecajem deterdženata (Heidari, 2013), što autor pripisuje induciranom oksidativnom stresu koji rezultira peroksidacijom lipida i povećanjem propusnosti stanične membrane za toksične ione.

Što se tiče odgovora na istraživačko pitanje, rezultati pokazuju da se na najvećem broju pokazatelja kao najštetniji za biljke zaista pokazao jedan konvencionalni deterdžent (KON1), a kao najmanje štetan jedan zeleni deterdžent (ZEL1) te je među njima utvrđena i statistički značajna razlika u utjecaju na klijavost pšenice. Međutim, drugi „zeleni“ i drugi konvencionalni deterdžent ne slijede isti obrazac rezultata. Dakle, kada se sumiraju svi rezultati može se reći da oni ne potvrđuju hipotezu. Odnosno, činjenica da je neki proizvod deklariran kao „zeleni“, ne garantira da je riječ o proizvodu s manjim negativnim utjecajem na biljke. Iako hipoteza nije potvrđena, dobiveni rezultati u skladu su s nalazima Gray i sur. (2022) koji su pokazali da „zeleni“ proizvodi nisu nužno manje toksični od svog konvencionalnog para.

U kontekstu činjenice da konvencionalni deterdženti sadrže više anionskih tenzida, a „zeleni“ veći udio neionskih tenzida koji se smatraju ekološki prihvatljivijom skupinom tenzida (Načkar, 2020), postavlja se pitanje kako to da nije pronađena sustavnija razlika u korist „zelenih“ deterdženata. Naime, oba



konvencionalna deterdženta imaju potpuno isti deklarirani sastav po pitanju tenzida (5 - 15 % anionske površinski aktivne tvari, neionske površinski aktivne tvari), a u sastavu po pitanju tenzida podudaraju se i oba „zelena“ deterdženta (5-15 % neionski tenzidi, < 5 % anionski tenzidi).

Kada se dobiveni rezultati usporede s rezultatima ranijih istraživanja, oni zapravo nisu iznenađujući.

Prvo, na deklaracijama nije vidljivo o kojim konkretnim tenzidima je riječ, već samo jesu li anionski ili neionski, jer proizvođači nisu dužni istaknuti točan sastav zbog prava intelektualnog vlasništva (Steinemann, 2009). Istraživanja pokazuju da je toksičnost nekog tenzida vrlo specifična te nije vezana samo za vrstu tenzida, već ovisi o tome o kojem konkretnom tenzidu i o kojem organizmu je riječ, zbog čega je svaka generalizacija vrlo spekulativna (Ivanković i Hrenović, 2010). U istraživanju koje je proveo Nethery (1967) na više od 20 tenzida, samo jedna četvrtina neionskih tenzida pokazala se manje toksičnima od anionskih. Li i sur. (2008) su ispitivali toksičnost različitih vrsta tenzida na vrstu japanskih plošnjaka (*Dugesia japonica*) te su i najtoksičniji i najmanje toksičan bili iz skupine anionskih. Galvez i sur. (2019) ispitivali su utjecaj nekoliko anionskih i neionskih tenzida na klijanje sjemenki luka te su najveći negativni utjecaj imali jedan anionski i jedan neionski. Ukratko, rezultati brojnih istraživanja pokazuju da je informacija o tome je li u sastavu proizvoda više anionskih ili više neionskih tenzida, bez poznavanja konkretnog sastava, nedovoljna za zaključivanje koliko će taj proizvod štetno utjecati na neku biljnu vrstu. S tim su potpuno u skladu i rezultati našeg istraživanja jer deterdženti s istim deklariranim sastavom po pitanju tenzida nisu imali sličan efekt.

Drugo, postoji velika razlika u drugim pomoćnim tvarima dodanima u neki deterdžent. Ne ulazeći u detaljan sastav svih ovih tvari, činjenica je da je za deterdžent ZEL1 na listi najmanji broj dodatnih tvari, dok deterdžent KON1 sadrži čitav niz tvari kao što su fosfati, enzimi, optički izbjeljivači, konzervansi, mirisi. Recentna istraživanja utjecaja deterdženata često su isključivo vezana uz utjecaj tenzida. Međutim, prema Sobrino-Figueroa (2013), deterdženti su složene mješavine različitih tvari, među kojima se mogu pojaviti sinergistički učinci te štetan učinak može biti uzrokovan kombiniranjem djelovanja pojedinačnih sastojaka deterdženta. Ovo istraživanje je promatralo deterdžent kao cjelinu te nije bilo usmjereno na traženje točnog sastojka koji uzrokuje određene posljedice. No, dobiveni rezultati ukazuju da istraživanje drugih sastojaka ili njihove interakcije možda zasluži veću pažnju.

I kao treće, usporedba konvencionalnih i „zelenih“ deterdženata provedena je samo na ograničenom broju zavisnih varijabli, pri čemu se sve odnose na neposredan utjecaj na biljke. Kao prednost neionskih tenzida i razlog njihove veće ekološke prihvatljivosti često se spominje brža biorazgradnja (Uppgard, 2002), što nije mjereno kao parametar u ovom istraživanju. Dakle, moguće je da bi se korišteni „zeleni“ deterdženti brže razgradili i da bi time njihov utjecaj na prirodu dugoročno bio povoljniji.

Kao glavna ograničenja dobivenih rezultata svakako treba spomenuti da je u istraživanju testiran utjecaj ograničenog broja deterdženata, odnosno samo dva „zelena“ i dva konvencionalna, te je moguće da bismo nekim drugim izborom deterdženata dobili drukčije rezultate. Također, istraživanje je provedeno na samo dvije vrste biljke i na veličini uzoraka kakvi su tipične za školska istraživanja zbog ograničenih uvjeta. Nadalje, bilo bi zanimljivo dodatno istražiti utjecaj drugih koncentracija deterdženata kao i utjecaj duljine izloženosti biljke njihovom utjecaju. I konačno, osim zavisnih varijabli orijentiranih na neposredne učinke na biljke, bilo bi korisno da dodatna istraživanja u obzir uzmu i



moguću dugoročnu razliku među deterdžentima u smislu brže ili lakše biorazgradnje i akumulacije u okolišu.

Praktične implikacije dobivenih rezultata nažalost pokazuju da nema garancije da izborom proizvoda koji se deklarira kao „zeleni“ biramo proizvod koji je povoljniji za okoliš. Posebno je zanimljiva činjenica da se manje toksičnim pokazao „zeleni“ deterdžent kupljen u supermarketu koji je cijenom konkurentniji konvencionalnim deterdžentima u odnosu na „zeleni“ deterdžent kupljen u specijaliziranoj prodavaonici organskih / bio proizvoda po značajno većoj cijeni. „Zeleni“ deterdžent ZEL1 koji se pokazao manje toksičan nosi oznaku EU Ecolabel, koja je sitno otisnuta na proizvodu. „Zeleni“ proizvod ZEL2 ima krupno otisnutim slovima natpise: „Organic ingredients“, „Non-Toxic Bio formulation“, „Eco gel“, a prodaje se u specijaliziranoj prodavaonici bio-proizvoda. S praktičnog aspekta važno je provjeriti na čemu se temelji tvrdnja da je riječ o „zelenom“ proizvodu i stoji li iza istog samo marketing i tvrdnja samog proizvođača ili neki službeni certifikat Europske unije. Biti svjestan potrošnje i imati svijest o zaštiti okoliša izuzetno je važno kako bismo budućim generacijama ostavili čišći okoliš, što je teško postići ako ne možemo biti sigurni izborom kojeg proizvoda donosimo ispravnu odluku.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja doneseni su sljedeći zaključci:

- ☞ Potvrđen je negativan utjecaj deterdženata na klijavost. Svi korišteni deterdženti, u usporedbi s kontrolnom skupinom, imali su značajan negativni utjecaj na klijavost pšenice i površinu lista pšenice;
- ☞ Jedan od ispitivanih konvencionalnih deterdženata jedini je imao značajan negativni utjecaj na duljinu lista luka, površinu lista luka i masu suhe tvari, u odnosu na kontrolnu skupinu;
- ☞ Na duljinu lista pšenice te na mitotski indeks značajan negativni utjecaj imale su sve vrste deterdženta osim jednog „zelenog“ deterdženta;
- ☞ Nije utvrđen utjecaj deterdženata na broj listova;
- ☞ Kao najtoksičniji za biljke pokazao se jedan konvencionalni deterdžent (KON1), a kao najmanje štetan jedan zeleni deterdžent (ZEL1). Značajna razlika među njima utvrđena je samo na jednom parametru, odnosno utjecaju na klijavost pšenice. Međutim, drugi konvencionalni i drugi zeleni deterdžent ne slijede isti obrazac rezultata te nije potvrđena hipoteza da su proizvodi deklarirani kao „zeleni“ sigurniji za okoliš.

ZAHVALA

Želim zahvaliti svojoj mentorici profesorici Mihaeli Marceljak Ilić na velikoj podršci tijekom izrade ovoga istraživanja.

LITERATURA

- Acevedo E., Silva P., Silva H. 2002. Wheat growth and physiology. FAO.
<https://www.fao.org/4/y4011e/y4011e06.htm#bm06>, pristupljeno 26.2.2025.
- Badmus S.O., Amusa H.K., Oyehan T.A., Saleh T.A. 2021. Environmental risks and toxicity of surfactants: overview of analysis, assessment, and remediation techniques. Environmental Science and Pollution Research 28(44): 62085–62104.
- Barooah B., Dar M.A., Thakur I.S., Kaushik G. 2022. Biochemical effects of three personal care products on growth and development in *Cicer arietinum* (chickpea) and *Vigna aconitifolia* (moth bean). Bioresource Technology Reports 18: 101051.
- Cherlinka V. 2023. How to grow wheat efficiently on a large farm. EOS Data Analytics. <https://eos.com/blog/growing-wheat/>, pristupljeno 12.1.2025.



- Dabić, D. 2019. Predikcija fizikalno-kemijskih parametara vodenih ekstrakata samoniklog bilja primjenom blisko infracrvene spektroskopije u kombinaciji s kemometrijskim metodama, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnoški fakultet, Zagreb.
- de Freitas Netto S.V., Sobral M.F.F., Ribeiro A.R.B. 2020. Concepts and forms of greenwashing: A systematic review. *Environmental Science Europe* 32: 19.
- Ehilen O., Obadoni B., Imade F.N., Esegbe D., Mensah J.K. 2017. Effect of detergents on the germination and growth of *Amaranthus hybridus* L. and *Solanum lycopersicon* L. *Nigerian Annals of Natural Sciences* 16: 100–108.
- Galvez A., López-Galindo A., Peña A. 2019. Effect of different surfactants on germination and root elongation of two horticultural crops: implications for seed coating. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 47: 83–98.
- Garland J.L., Levine L.H., Yorio N.C., Adams J.L., Cook K.L. 2000. Graywater processing in recirculating hydroponic systems: Phytotoxicity, surfactant degradation, and bacterial dynamics. *Water Resources* 34: 3075–3086.
- Glumac N., Sakač N., Remetović M., Jozanović M., Novotni-Horčička N. 2020. Utjecaj površinski aktivnih tvari na okoliš. *Zbornik radova Međimurskog veleučilišta u Čakovcu*. 11(2): 7–14.
- Gray A.D., Miller J.A., Weinstein J.E. 2022. Are green household consumer products less toxic than conventional products? An assessment involving grass shrimp (*Palaemon pugio*) and *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 41(10): 2444–2453.
- Gudlin K. 2016. Površinski aktivne tvari. Završni rad, Međimursko veleučilište u Čakovcu, Čakovec.
- Hajduković M. 2016. Određivanje anionskih tenzida u realnim sustavima metodom injektiranja u protok. Specijalistički rad, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek.
- Heidari, H. 2013. Effect of irrigation with contaminated water by cloth detergent on seed germination traits and early growth of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Notulae Scientia Biologicae* 5(1): 86–89.
- Heidari H., Kahrizi D. 2018. Effect of water stress and contaminated water on seed germination traits and early growth in maize (*Zea mays*). *Environmental Engineering and Management Journal* 17(1): 35–42.
- Ikea is growing. 2018. Blog post. <https://wax.blogg.se/2018/april/ikea-vaxer-2.html>, pristupljeno 12.1.2025.
- Ivanković T., Hrenović J. 2010. Surfactants in the environment. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 61(1): 95–110.
- Jovanić B.R., Bojović S., Panić B., Radenković B., Despotović M. 2010. The effect of detergent as polluting agent on the photosynthetic activity and chlorophyll content in bean leaves. *Health* 2(5): 395–399.
- Kokotović I. 2019. Procjena toksičnosti vode rijeke Save upotrebom običnog luka (*Allium cepa* L.) kao modelnog organizma. Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Kokotović I., Radić Brkanac S. 2019. Primjena *Allium*-testa u nastavi biologije. *Educatio Biologicae* 5: 89–90.
- Li M.H. 2008. Effects of nonionic and ionic surfactants on survival, oxidative stress, and cholinesterase activity of planarian. *Chemosphere* 70(10): 1796–803.
- Načkar A. 2020. Prisutnost, štetnost i biorazgradivost surfaktanata u prirodi. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb.
- Marrelli M., Amodeo V., Statti G., Conforti F. 2018. Biological properties and bioactive components of *Allium cepa* L.: Focus on potential benefits in the treatment of obesity and related comorbidities. *Molecules* 24(1): 119.
- Mason N. 2024. *Statistics in Biology. A Comprehensive Guide to Data Processing and Statistical Analysis for High School Science Students*. Gymnasium am Munsterplatz.
- Nethery A.A. 1967. Inhibition of mitosis by surfactants. *Cytologia* 32(3): 321–327.
- Papić, S. 2015. Deterdženti. Interna skripta, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb.
- Oxford Plants 400. 2021. Plant Profiles. University of Oxford. <https://herbaria.plants.ox.ac.uk/bol/plants400/Profile>, pristupljeno 11.1.2025.
- Qureshi S.T., Soomro, A.G., Bux. H., Yasmeen, A. 2014. Genotoxic and carcinogenic effects of house hold detergents using chromosomal aberration assay in chickpea (*Cicer arietinum* L.) root tip cells. *World Applied Sciences Journal* 32(7): 1381–1387.
- Rinallo C., Bennici A., Cenni E. 1988. Effects of two surfactants on *Triticum Durum* desf. Plantlets. *Environmental and Experimental Botany* 28(4): 367–374.
- Sević Đ. 2022. Utjecaj zelenog marketinga na kupovno ponašanje potrošača. Završni rad, Ekonomski fakultet, Split.
- Singh C.D. 2021. Chromatin organization and nucleolar vacuoles in *Allium ascalonicum*. *Biologico* 1(1): 15–19.
- Sobrino-Figueroa A.S. 2013. Evaluation of oxidative stress and genetic damage caused by detergents in the zebrafish *Danio rerio* (Cyprinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology A: Molecular & Integrative Physiology* 165(4): 528–532.
- Statistics Kingdom. 2022. Online Statistics Calculator. <https://www.statskingdom.com/>, pristupljeno 4.3.2025.
- Steinemann A.C. 2009. *Fragranced consumer products and undisclosed ingredients*, *Environmental Impact Assessment Review* 29: 32–38.
- Uppgard L.L. 2002. *Nonionic surfactants: A multivariate study*. Doctoral thesis, Umea University, Sweden.

Antimikrobno djelovanje srebra

Leonarda Marjanović, 4. razred

Gimnazija „Fran Galović”, Koprivnica

Mentor: Miroslav Samardžić

SAŽETAK

Uzevši u obzir izrazito široku dostupnost i velike razlike u koncentracijama koloidnog i ionskog srebra, postavljamo si pitanje koliko su otopine srebra u dostupnim koncentracijama učinkovite. Cilj istraživanja bio je utvrditi minimalnu inhibicijsku i minimalnu mikrobicidnu koncentraciju koloidnog srebra i ionskog srebra na gljivicu *Candida albicans* i svjetleće bakterije iz porodice *Vibrionaceae*. Minimalna inhibicijska koncentracija određena je pomoću dilucijskog antibiograma, a mikrobicidna koncentracija naciepljivanjem uzoraka na kruti agar u Petrijevim zdjelicama. Koloidno srebro djelovalo je inhibicijski u koncentraciji od 35 mg/dm³ na oba ispitivana mikroorganizma, ali nije djelovalo mikrobicidno, dok je minimalna inhibicijska i baktericidna koncentracija primjenjivana na *Vibrionaceae* iznosila 8 mg/dm³. Ionsko srebro u svim je ispitivanim koncentracijama spriječilo razvoj gljivice *C. albicans*, no ni jedna ispitivana koncentracija na gljivicu *C. albicans* nije djelovala fungicidno. Otopine srebra korištene u ovom istraživanju mogu se učinkovito koristiti za suzbijanje mikroorganizama.

Ključne riječi: *Candida albicans*; *Vibrionaceae*; koloidno srebro; ionsko srebro

UVOD

Antimikrobna svojstva srebra poznata su od antičkih vremena (Barillo i Marx, 2014). Otopina koja sadrži srebrov sulfadiazin ili nanočestice srebra i danas se koristi za liječenje vanjskih infekcija te ju je moguće nabaviti u gotovo svim ljekarnama u Hrvatskoj. Pretraživanjem ponude ljekarni pronašli smo otopine u rasponu koncentracija od 10 ppm do 40 ppm. Otopina nanočestica srebra koloidna je otopina sastavljena od homogeno raspršenih čestica veličine između 1 nm i 100 nm koje ne sedimentiraju ili je proces sedimentacije izrazito spor (De Leersnyder i sur., 2020).

Nägeli (1893) je istraživao antibakterijsko djelovanje raznih metala te ovaj učinak nazvao oligodinamičkim, što danas definiramo kao baktericidni učinak niskih koncentracija otopljenih teških metala ili soli metala u vodi (Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje, 2023). Nakon tog otkrića počela je masovna uporaba raznih otopina metala u medicini, a kasnije je utvrđeno da je od svih metala s antimikrobnim svojstvima srebro najučinkovitije i najmanje toksično za životinjske stanice (Guggenbichler i sur., 1999). Guggenbichler i sur. (1999) dokazali su da su sitnije nanočestice djelotvornije jer lakše prolaze kroz staničnu membranu preko transmembranskih proteina (Odermatt i Solioz, 1995) te, zbog velike površine u odnosu na volumen, veći broj atoma srebra sudjeluje u kidanju vodikovih veza između komplementarnih purinskih i pirimidinskih baznih parova čime ti atomi denaturiraju molekulu DNA (Dakal i sur., 2016).

Za razliku od koloidnog srebra, ionsko srebro ne sadrži čvrste čestice, već je to otopina iona srebra koji su vrlo reaktivni i imaju mogućnost vezanja s drugim molekulama prisutnima u tekućini (Anderson i Zagorski, 2023).

Osim pozitivnog djelovanja poznat je i opisan velik broj nuspojava dugotrajne upotrebe nanočestica srebra kao što su argirija (trajno sivo-plavo obojenje kože), bioakumulacija u bubrezima te toksično djelovanje na jetru, bubrege i živčani sustav (Shashi i sur., 2017; Anderson i Zagorski, 2023). Međutim, trgovci farmaceutskim proizvodima, vođeni isključivo željom za ostvarivanjem profita, na svojim mrežnim stranicama i oglasnicima često reklamiraju proizvode na bazi koloidnog i ionskog srebra kao



dodatke prehrani iako su ti proizvodi klasificirani kao dezinfekcijsko sredstvo, a iznose i druge medicinski i znanstveno neutemeljene tvrdnje (Leino i sur., 2021).

Uzevši u obzir dostupnost koloidnog i ionskog srebra u različitim koncentracijama, postavljamo si pitanja koliko su otopine koje se prodaju učinkovite u sprječavanju rasta i razmnožavanja bakterija te koju dozu primijeniti kako bismo izbjegli negativne posljedice korištenja srebra.

Istraživanje antimikrobnog djelovanja nanočestica srebra provedeno je na dvama organizmima, gljivici *Candida albicans* i Gram-negativnoj svjetlećoj bakteriji iz porodice Vibrionaceae. Općenito je prihvaćeno da ioni srebra i nanočestice srebra pokazuju izraženije biocidno djelovanje prema prokariotskim nego prema eukariotskim stanicama, što rezultira eliminacijom bakterija, a stanice eukariota ostaju neoštećene (Grelich i sur., 2012).

C. albicans je vrsta gljivice iz porodice Saccharomycetaceae koja je najčešći model za proučavanje fungalnih patogena (Kabir i sur., 2012). Njena eukariotska stanica ima puno metaboličkih sličnosti sa stanicama čovjeka, uobičajen je mikroorganizam ljudskog mikrobioma te ju je lako izolirati u čistoj kulturi. Svojstva patogenosti pokazuje samo kod osoba oslabljena imuniteta i u slučaju poremećena sastava mikrobioma zbog upotrebe antibiotika (Knezić Frković, 2017). Arsène i sur. (2023) su ustanovili vrlo širok raspon minimalne inhibicijske koncentracije (MIK) koloidnih čestica srebra za *C. albicans*, od 4 mg/dm^3 do 32 mg/dm^3 , i minimalnu fungicidnu koncentraciju (MFK) (najniža koncentracija koja će ubiti gljivice) od 16 mg/dm^3 do 64 mg/dm^3 .

Bakterije iz porodice Vibrionaceae su bakterije koje je zbog bioluminiscencije vrlo lako izolirati iz brisova svježih riba i ne predstavljaju značajan zdravstveni rizik za učenike. Kao Gram-negativne bakterije, osjetljivije su na ione srebra u odnosu na Gram-pozitivne, čije deblje stanične stijenke otežavaju takvu interakciju (Silhavy i sur., 2010). Abogabal i sur. (2021) utvrdili su kako nanočestice srebra pokazuju bakteriostatsko djelovanje na veći broj vrsta roda *Vibrio*. Gibała i sur. (2021) su utvrdili da je MIK srebrovih nanočestica za Gram-negativnu vrstu *Escherichia coli* iznosila od 5 mg/dm^3 do 40 mg/dm^3 , a minimalna baktericidna koncentracija (MBK) (najniža koncentracija koja će ubiti bakterije) od 10 mg/dm^3 do 100 mg/dm^3 . Budući da su bakterije iz porodice Vibrionaceae Gram-negativne, poput bakterija vrste *E. coli*, pretpostavka je da će jednaka koncentracija biti djelotvorna. Velik raspon dobivenih inhibicijskih i baktericidnih koncentracija u navedenim istraživanjima moguće je objasniti činjenicom da su ioni srebra promjera 129 pm, što je znatno manje od dimenzija koloidnih čestica srebra, čija dimenzija iznosi od 1 do 100 nm, a već je istaknuto kako djelotvornost srebra ovisi o površini čestica (Dakal i sur., 2016).

Kako bismo iskoristili dokazano korisno djelovanje koloidnog i ionskog srebra te pravilno dozirali njihove otopine za sprječavanje rasta i razmnožavanja bakterija (Hadrup i Lam, 2013), važno je utvrditi minimalnu inhibicijsku koncentraciju (najniža koncentracija koja zaustavlja rast mikroorganizama), čime ćemo izbjeći negativne posljedice za zdravlje.

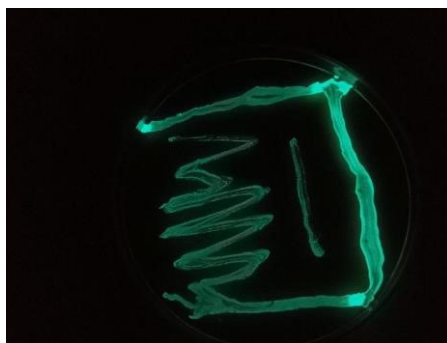
Cilj je ovog istraživanja pokušati što preciznije utvrditi MIK, MBK i MFK koncentraciju ionskog srebra „ULTRA 12 PPM” i koloidnog srebra „Collodial SILVER 37 PPM” na kulturama svjetlećih bakterija iz porodice Vibrionaceae i gljivicu *C. albicans*. Prva pretpostavka je da će obje korištene otopine srebra djelovati na rast svjetlećih bakterija u dvostruko nižoj koncentraciji nego na gljivicu *C. albicans*. Druga pretpostavka je da će MIK, MBK i MFK ionskog srebra biti dvostruko niža nego koloidnog srebra.

METODE

Cjelokupno istraživanje provedeno je u školskom biološkom laboratoriju od prosinca 2023. do veljače 2024. godine.

Izolacija čistih kultura

Bioluminiscentne bakterije iz porodice Vibrionaceae uzorkovane su brisovima sa svježih morskih riba iz lokalne ribarnice. Brisovi su nacijepljeni na krutu hranjivu podlogu u Petrijevim zdjelicama.



Slika 1 Izolacija bioluminiscentnih bakterija metodom razrjeđivanja (M.S.)

Sastav hranjive podloge za uzgoj bioluminiscentnih bakterija

2 % hranjivog bujona, 0,5 % glicerola, 0,5 % ekstrakta kvasca, 1 % NaCl i 2 % agara otopljeno je u destiliranoj vodi (modificirano prema Eddleman, 1999). Nakon inkubacije kulture bakterija, pojedinačne bioluminiscentne kolonije u mraku su označene markerom. Iz označenih kolonija, pomoću mikrobiološke ušice, uzeti su uzorci za izolaciju čiste kulture. Čiste kulture bakterija izolirane su na krute podloge u Petrijevim zdjelicama metodom razrjeđivanja (slika 1). Proces izolacije ponavljan je u više navrata radi što boljeg pročišćavanja kulture.

Gljivica *C. albicans* uzorkovana je brisovima usne šupljine koji su nacijepljeni na krutu podlogu u Petrijevim zdjelicama.

Sastav hranjive podloge za uzgoj gljivice *C. albicans* (CEOS agar s ekstraktom kvasca)

1 % hranjivog bujona, 4 % glukoze i 2 % agara otopljeno je u destiliranoj vodi, prema CEOS (2023). Nakon inkubacije na sobnoj temperaturi provedena je makroskopska analiza razvijenih kolonija te su identificirane kolonije koje morfološki odgovaraju kolonijama gljivice *C. albicans* opisanima na internetskom priručniku za identifikaciju (Universe 84a, 2024). Mikrobiološki uzorci odabranih kolonija obojani su genciana ljubičastom i pregledani pod mikroskopom. Nakon mikroskopske identifikacije karakterističnih stanica gljivice *C. albicans* čista je kultura također izolirana metodom razrjeđivanja. Djelatnici mikrobiološkog laboratorija Opće bolnice dr. Tomislav Bardek u Koprivnici potvrdili su točnost identifikacije vrste *C. albicans*.

Dilucijski antibiogrami

Ispitivanje je napravljeno prema metodi istraživanja koje su proveli Arsène i sur. (2023) i modificirano prema laboratorijskim mogućnostima škole. Minimalna inhibicijska koncentracija ispitivana je pomoću otopina koloidnog srebra (Collodial SILVER 37 PPM, 500 mL, FutuNatura) koncentracije od 37 mg/dm³ i ionskog srebra (ULTRA 12 PPM 500 mL, Feniks) koncentracije od 12 mg/dm³, što je ujedno bila i najveća koncentracija ionskog srebra dostupna na hrvatskom tržištu. Za dilucijske antibiogramе pripremljeno je 6 puta po 7 sterilnih epruveta u koje je stavljeno po 5 mL sterilne tekuće hranjive



podloge. Tekuća podloga istog je sastava hranjivih tvari kao kruta, ali bez dodatka agara, a pripremljena je uz dodatak vode s unaprijed pripremljenim koncentracijama ionskog i koloidnog srebra. Sve navedene koncentracije otopina srebra pripravljene su razrjeđivanjem koloidnog srebra koncentracije od 37 mg/dm^3 s prethodno steriliziranom vodom preko formule za odnos množine i volumena: $c_1V_1 = c_2V_2$. Na jednak način koristeći istu formulu za omjer množine i volumena pripravljene su koncentracije iz druge tablice razrjeđivanjem otopine ionskog srebra koncentracije 12 mg/dm^3 s prethodno steriliziranom vodom. Koncentracije ionskog srebra po epruvetama prethodno obilježnim brojevima nalaze se u tablici 1. Ispitivane koncentracije koloidnog srebra odabrane su prema rezultatima istraživanja koje su proveli Gibała i sur. (2021), a koncentracija ionskog srebra prema istraživanju koje su proveli Kvitek i sur. (2010).

Tablica 1 Koncentracije otopina koloidnog i ionskog srebra

Epruvete	Koncentracije otopina mg/dm^3			
	Koloidno srebro		Ionsko srebro	
	Vibrionaceae	<i>Candida albicans</i>	Vibrionaceae	<i>Candida albicans</i>
1.	0 – kontrola	0 – kontrola	0 – kontrola	0 – kontrola
2.	13	13	3	3
3.	17	17	5	5
4.	22	21	7	7
5.	26	29	8	8
6.	33	33	9	9
7.	35	35	11	11

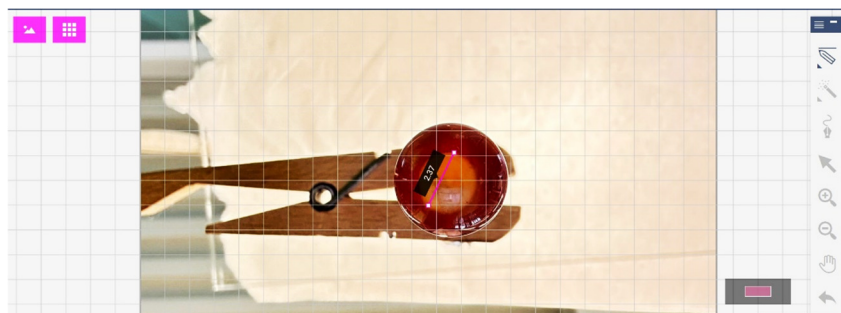
U tri serije od 7 epruveta stavljena je podloga za uzgoj bioluminiscentnih bakterija, a u ostale tri serije podloga za uzgoj gljivice *C. albicans*. U epruvetama s 5 mL sterilne vode pripremljena je suspenzija mikroorganizama. Pomoću mikrobiološke ušice preneseni su uzorci čiste kulture bakterija i gljivice *C. albicans* te raspršeni miješanjem. Pomoću sterilne pipete u svaku od epruveta s hranjivom podlogom preneseno je 0,1 mL suspenzije mikroorganizama. Rast bakterija praćen je promatranjem bioluminiscencije, zamućenja hranjive podloge i prisutnosti sedimenta na dnu epruvete, a rast gljivice *C. albicans* praćen je na temelju sedimentacije na dnu epruvete i zamućenja hranjive podloge.

Mikrobicidno djelovanje

Nakon utvrđivanja minimalne inhibicijske koncentracije ispitano je baktericidno djelovanje tako da je iz svake epruvete u kojoj nije utvrđen rast mikroorganizama sterilnom mikropipetom uzet 0,1 mL uzorka koji je nacijepljen na krutu hranjivu podlogu u Petrijeve zdjelice označene za svaki pripadajući uzorak. Sastav hranjivih podloga koje su korištene za razvoj kolonija gljivica *C. albicans* i Vibrionaceae jednak je kao i sastav krutih hranjivih podloga za njihov uzgoj. Praćen je razvoj kolonija mikroorganizama na krutoj hranjivoj podlozi. Ako ne dođe do rasta kolonija mikroorganizama, zaključujemo da je koncentracija srebra iz koje je uzet uzorak djelovala i mikrobicidno.

Talog mikroorganizama na dnu epruveta za vrstu *C. albicans* i Vibrionaceae fotografiran je nakon 3 dana rasta. Fotografiranje svih epruveta obavljeno je pomoću mobitela pod identičnim uvjetima. Na laboratorijski stalak ispod izvora svjetlosti pričvršćena je hvataljka s epruvetom koja je od objektiva mobitela bila udaljena 5,5 cm (slika 2). Nakon toga, pomoću programa SketchAndCalc (2024) na fotografijama je izmjeren promjer taloga mikroorganizama na dnu epruveta.

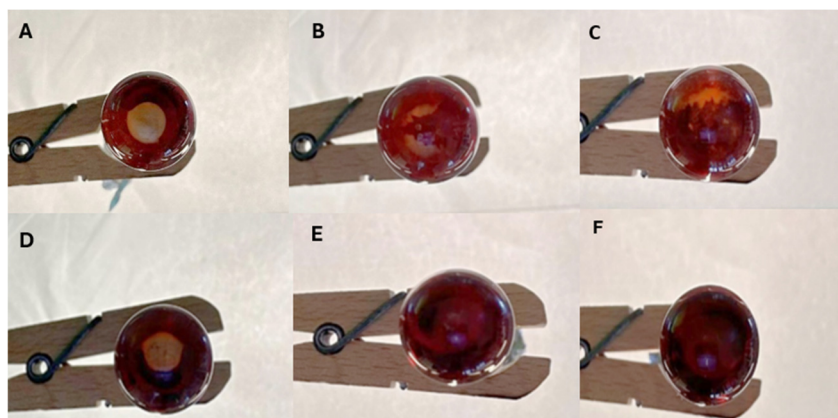
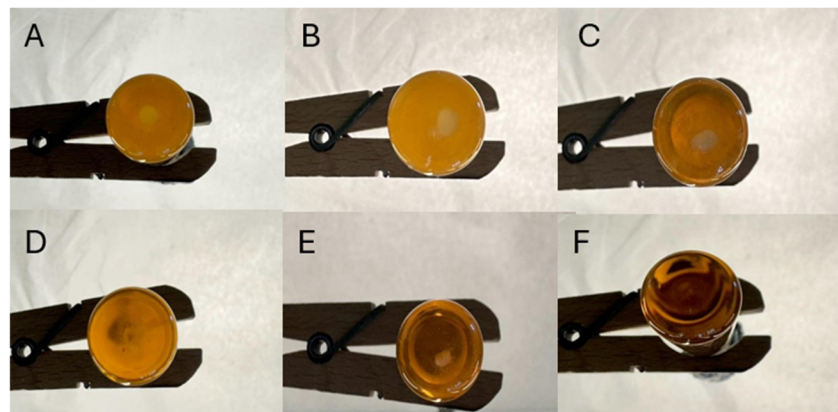
Konačna vrijednost promjera taloga za svaki uzorak mikroorganizama dobivena je iz prosječne vrijednosti promjera triju ponovljenih uzoraka. Ako je u pojedinim uzorcima talog izostao, zaključili smo da je korištena koncentracija otopine srebra inhibirala rast mikroorganizama.

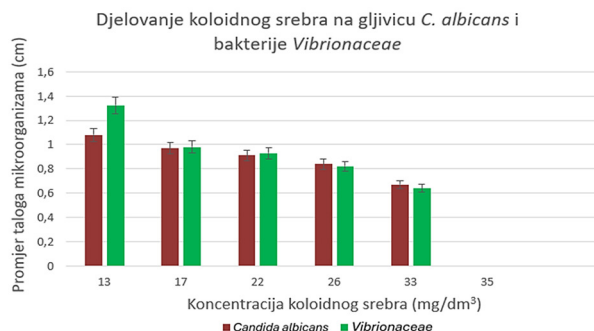
Slika 2 Prikaz mjerenja promjera taloga gljivice *C. albicans* u programu SketchAndCalc (2024) (L.M.)

REZULTATI

Djelovanje koloidnog srebra

Na slikama 3 i 4 možemo vidjeti kako u epruvetama s koncentracijama koloidnog srebra od 35 mg/dm^3 nema taloga mikroorganizama u kulturi gljivice *C. albicans* ni u kulturi svjetlećih bakterija iz porodice Vibrionaceae pa možemo zaključiti da je ta koncentracija djelovala bakteriostatski. Promjer taloga mikroorganizama koji su se nataložili na dnu epruveta u ovisnosti o koncentraciji koloidnog srebra vidimo na slici 5. Također je uočljiv jasan silazni trend, odnosno, što je koncentracija koloidnog srebra bila viša, talog se smanjivao. Moguće je primijetiti kako promjer taloga postupno raste smanjivanjem koncentracije koloidnog srebra (slike 3 i 4).

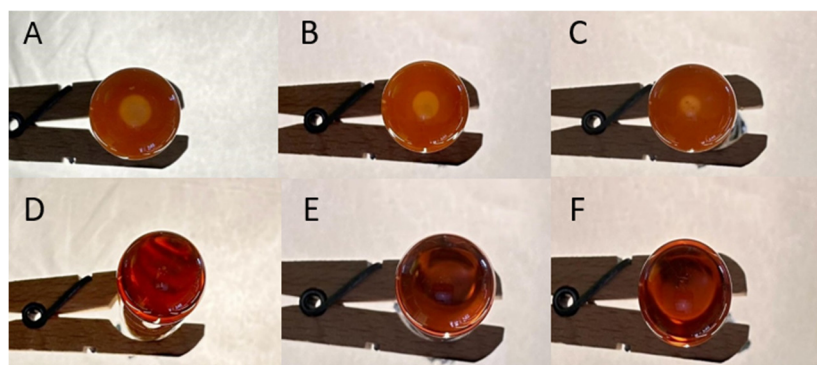
Slika 3 Prikaz taloga gljivice *C. albicans* u epruvetama s različitim koncentracijama koloidnog srebra: A – 13 mg/dm^3 , B – 17 mg/dm^3 , C – 22 mg/dm^3 , D – 26 mg/dm^3 , E – 33 mg/dm^3 , F – 35 mg/dm^3 – bez talogaSlika 4 Prikaz taloga svjetlećih bakterija u epruvetama s različitim koncentracijama koloidnog srebra: A – 13 mg/dm^3 , B – 17 mg/dm^3 , C – 22 mg/dm^3 , D – 26 mg/dm^3 , E – 33 mg/dm^3 , F – 35 mg/dm^3 – bez taloga

Slika 5 Prosječni promjer taloga gljivice *C. albicans* i porodice *Vibrionaceae* u ovisnosti o koncentraciji koloidnog srebra

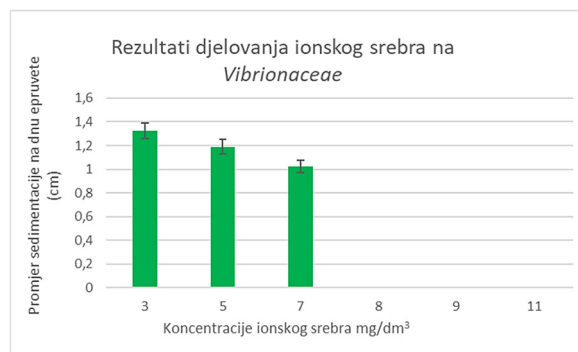
Djelovanje ionskog srebra

Na slici 6 možemo vidjeti kako u epruvetama s koncentracijama ionskog srebra od 8, 9 i 11 mg/dm³ nema taloga mikroorganizama u kulturi svjetlećih bakterija, temeljem čega možemo zaključiti da su te koncentracije djelovale bakteriostatski. Promjer taloga svjetlećih bakterija koje su se nataložile na dnu epruveta u ovisnosti o koncentraciji ionskog srebra vidimo na slici 7, gdje je također prisutan silazni trend u ovisnosti više koncentracije ionskog srebra i smanjivanja promjera taloga.

Ni u jednoj epruveti s kulturom gljivice *C. albicans* nakon tri dana nije zabilježen nikakav talog, odnosno sve korištene koncentracije zaustavile su rast gljivica pa možemo zaključiti da je i najniža korištena koncentracija od 3 mg/dm³ djelovala inhibicijski.



Slika 6 Prikaz taloga svjetlećih bakterija u epruvetama s različitim koncentracijama ionskog srebra: A – 3 mg/dm³, B – 5 mg/dm³, C – 7 mg/dm³, D – 8 mg/dm³ – bez taloga, E – 9 mg/dm³ – bez taloga, F 11 mg/dm³ – bez taloga



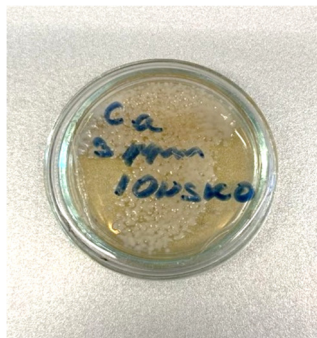
Slika 7 Prosječni promjer taloga svjetlećih bakterija u ovisnosti o koncentraciji ionskog srebra

Mikrobicidno djelovanje

Uzorci mikroorganizama iz epruveta u kojima nije detektiran talog mikroorganizama naciepljeni su na istovjetne krute hranjive podloge u Petrijevim zdjelicama kako bi se potvrdila prisutnost živih

mikroorganizama detekcijom njihova rasta. Gljivica *C. albicans* se uspješno razvila na svim hranjivim podlogama pa možemo zaključiti da niti jedna koncentracija koloidnog srebra ili ionskog srebra na nju nije djelovala mikrobicidno (slika 8).

Istovremeno, na hranjivim podlogama u Petrijevim zdjelicama naciepljenim svjetlećim bakterijama iz epruveta s bakteriostatskom koncentracijom srebra nije došlo do razvoja bakterija pa možemo zaključiti da su sve bakteriostatske koncentracije ionskog i koloidnog srebra istovremeno i mikrobicidne za svjetleće bakterije.



Slika 8 Kolonija *C. albicans* naciepljena iz epruvete s 3 mg/dm³ ionskog srebra

RASPRAVA

Rezultati se ne podudaraju s pretpostavkom da će obje otopine srebra u dvostruko nižoj koncentraciji djelovati inhibicijski na rast gljivice *C. albicans* u odnosu na svjetleće bakterije. MIK koloidnog srebra na svjetleće bakterije i na *C. albicans* bio je jednak, dok je otopina ionskog srebra na svjetleće bakterije djelovala inhibicijski u višoj koncentraciji nego na rast *C. albicans*, što je potpuno suprotno pretpostavci. Potvrđeno je znatno jače djelovanje ionskog srebra nego djelovanje koloidnog srebra, što objašnjavamo razlikom u veličini čestica, no pogrešno je pretpostavljeno da će MIK ionskog srebra biti dvostruko niža od koloidnog. MIK ionskog srebra bila je više od četiri puta niža u odnosu na koloidno srebro.

Ionsko srebro inhibicijski je djelovalo na *C. albicans* već u najnižoj korištenoj koncentraciji od 3 mg/dm³. S obzirom na ograničene mogućnosti preciznog mjerenja u školskom laboratoriju, možemo smatrati da se naši rezultati podudaraju s onima koje su dobili Arsène i sur. (2023), koji su utvrdili da je minimalna inhibicijska koncentracija (MIK) ionskog srebra za *C. albicans* između 4 mg/dm³ i 32 mg/dm³. Međutim, promatranjem epruveta s ionskim srebrom, u kojima je treći dan nakon naciepljivanja zabilježena inhibicija rasta *C. albicans*, uočava se da je tjedan dana nakon naciepljivanja u svim epruvetama zabilježen rast gljivica. Ovo promatranje izvan je metodoloških okvira, ali donosi dodatan uvid u djelovanje ionskog srebra na gljivicu *C. albicans*. Možemo zaključiti da ionsko srebro nije trajno inhibiralo rast *C. albicans* te da bi trebalo provesti dodatna istraživanja u kojima bi i vrijeme rasta bila nezavisna varijabla kako bi se utvrdila dinamika razvoja mikroorganizama pod utjecajem različitih otopina srebra.

Arsène i sur. (2023) također su utvrdili i minimalnu fungicidnu koncentraciju ionskog srebra na *C. albicans* između 16 mg/dm³ i 64 mg/dm³. Jasno je da najviša korištena koncentracija ionskog srebra od 12 mg/dm³ nije bila dovoljna da bi djelovala fungicidno.

Abogabal i sur. (2021) utvrdili su difuzijskim antibiogramom kako čestice koloidnog srebra pokazuju bakteriostatsko djelovanje na porodicu Vibrionaceae, no nije pronađen podatak o MIK i MBK za



bakterije iz te porodice pa dobivene vrijednosti MIK i MBK za Vibrionaceae možemo usporediti s istraživanjima djelovanja srebra na dobro istraženu Gram-negativnu bakteriju *E. coli*. Gibała i sur. (2021) utvrdili su da je minimalna inhibicijska koncentracija za vrstu *E. coli* između 5 mg/dm³ i 40 mg/dm³, a minimalna baktericidna koncentracija između 10 mg/dm³ i 100 mg/dm³. Dobivena MIK i MBK koloidnog srebra za Vibrionaceae od 35 mg/dm³ podudara se s ovim vrijednostima.

Primjena ionskog srebra na *C. albicans* pokazala se uspješnom samo kod usporavanja njenog rasta, no nije se pokazala fungicidnom. Postoji mogućnost da ionsko srebro nije djelovalo fungicidno na *C. albicans* jer ona posjeduje staničnu stijenku građenu od 90 % polisaharida, uglavnom u obliku razgranatih polimera glukoze i ne razgranatih polimera glukozamina (hitin) i polimera manoze, dok Gram-negativne bakterije iz porodice Vibrionaceae imaju tanku staničnu stijenku koja sadrži tanak sloj peptidoglikana i vanjsku lipopolisaharidnu membranu (Pasquina-Lemoche i sur. 2020), dok je preostalih 10 % građeno od proteina i lipida (Chaffin i sur. 1998). Ovim istraživanjem određene su minimalne inhibicijske i minimalne baktericidne koncentracije ionskog i koloidnog srebra na gljivicu *C. albicans* i bakterije iz porodice Vibrionaceae. Temeljem dobivenih spoznaja možemo zaključiti kako je obje ispitivane otopine srebra moguće djelotvorno koristiti u suzbijanju mikroorganizama.

Međutim, treba istaknuti kako je prilikom nabave otopina srebra za ovo istraživanje uočen velik broj lažnih tvrdnji, dezinformacija ili nedostatak ispravnog opisa sastava proizvoda. Na isti način, zbog ostvarivanja profita, zanemarujući zdravstvene rizike, trgovci često obmanjuju kupce i na ostalim tržištima. O problemima na finskom i švedskom tržištu istraživanje su proveli Leino i sur. (2021). Zbog sve učestalije pojave rezistentnih sojeva bakterija i potrage za alternativnim antimikrobnim sredstvima potražnja je za ovakvim proizvodima u porastu pa bi problematika dezinformacija kupaca u idućim godinama mogla postati još veća zbog čega bi hitno trebalo uvesti strožu regulaciju i nadzor trgovaca koji otopine srebra plasiraju kupcima.

ZAKLJUČCI

Na osnovu provedenog istraživanja zaključeno je:

- ☞ Ionsko srebro pokazalo je oko četiri puta jače bakteriostatsko djelovanje na Gram-negativne bakterije iz porodice Vibrionaceae od koloidnog srebra;
- ☞ Koloidno srebro u podjednakoj koncentraciji inhibira rast bakterija i rast gljivica;
- ☞ Ionsko srebro snažnije inhibira rast gljivica nego bakterija;
- ☞ Bakteriostatske koncentracije otopina ionskog i koloidnog srebra djeluju i baktericidno;
- ☞ Ni koloidno ni ionsko srebro u korištenim koncentracijama nije djelovalo fungicidno;
- ☞ Farmakološki dostupne otopine ionskog i koloidnog srebra mogu se uspješno koristiti kao sredstvo za suzbijanje bakterijskih i gljivičnih infekcija uz strogo pridržavanje liječničkih uputa.

LITERATURA

- Abogabal I.I., Ibrahim A.H., Abu El-Regal M.A., Mohammed M.A., Hosny M.N. 2021. Detection of green synthesized silver nanoparticles and their antagonistic effect on fish larvae pathogenic bacteria. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 25: 597–613.
- Anderson E., Zagorski J. 2023. Trending – Colloidal and Ionic Silver. Michigan State University: Center for Research on Ingredient Safety, <https://www.canr.msu.edu/news/trending-colloidal-and-ionic>, pristupljeno 20.1.2024.
- Arsène M.M.J., Viktorovna P.I., Alla M., Mariya M., Nikolaevitch S.A., Davares A.K.L., Yurievna M.E., Rehailia M., Gabin A.A., Alekseevna K.A., Vyacheslavovna Y.N., Vladimirovna Z.A., Svetlana O., Milana D., 2023. Antifungal activity of silver nanoparticles prepared using *Aloe vera* extract against *Candida albicans*. *Veterinary World* 16: 18–26.
- Barillo J.D., Marx D.E. 2014. Silver in medicine: A brief history BC 335 to present. *Burns* 40: 3–8.



- CEOS. 2023. CEOS Agar s ekstraktom kvasca. <https://www.certifikat.hr/wpcontent/uploads/2020/01/CEOS%20AGAR%20SA%20EKS-TRAKTOM%20KVASCA.pdf>, pristupljeno 12.12.2023.
- Chaffin W.L., López-Ribot J.L., Casanova M., Gozalbo D., Martínez J.P. 1998. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: Identification, function, and expression. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 62: 130–180.
- Dakal T.C., Kumar A., Majumdar R.S., Yadav M. 2016. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles. *Frontiers in Microbiology* 7: 1831.
- De Leersnyder I, Rijckaert H, De Gelder L, Van Driessche I, Vermeir P. 2020. High variability in silver particle characteristics, silver concentrations, and production batches of commercially available products indicates the need for a more rigorous approach. *Nanomaterials* 10: 7.
- Eddleman H. 1999. Isolation of pure cultures of bacteria *Vibrio phosphoreum* from squid or ocean fish. Indiana Biolab Web Sites. Revision #7. http://www.disknet.com/indiana_biolab/b203.htm, pristupljeno 12.12.2023.
- Gibała A., Żeliszewska P., Gosiewski T., Krawczyk A., Duraczyńska D., Szaleniec J., Szaleniec M., Oćwieja M. 2021. Antibacterial and antifungal properties of silver nanoparticles - effect of a surface stabilizing agent. *Biomolecules* 7: 1481.
- Grelich C., Braun D., Peetsch A., Diendorf J., Siebers B., Eppele M., Köller M. 2012. The toxic effect of silver ions and silver nanoparticles towards bacteria and human cells occurs in the same concentration range. *RSC Advances* 2: 6981–6987.
- Guggenbichler J.P., Böswald M., Krall T., Lugauer S. 1999. A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. *Infection* 27: 16–23.
- Hadrup N., Lam N.K. 2013. Oral toxicity of silver ions, silver nanoparticles and colloidal silver – A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 68: 1–7.
- Hrvatska enciklopedija, mrežno izdanje. 2023. Leksikografski zavod Miroslav Krleža, 2013. – 2025. Pristupljeno 3.12.2023. <<https://www.enciklopedija.hr/clanak/oligodinamija>>.
- Kabir M.A., Hussain M.A., Zulfiqar A., 2012. *Candida albicans*: A model organism for studying fungal pathogens. *International Scholarly Research Notices*: 538694.
- Knezić Frković B. 2017. Vrste vaginalnih infekcija: bakterijska vaginoza, kandidijaza i trihomonijaza. Pliva zdravlje. <https://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/30622/Vrste-vaginalnih-infekcija-bakterijska-vaginoza-kandidijaza-i-trihomonijaza.html>, pristupljeno 23.1.2023.
- Kvitek L., Panacek A., Prucek R., Soukupova J., Vanickova M., Kolar M., Zboril R. 2010. Antibacterial activity and toxicity of silver – nanosilver versus ionic silver. *Journal of Physics, Conference series*: 304.
- Leino V., Airaksinen R., Viluksela M., Vähäkangas K. 2021. Toxicity of colloidal silver products and their marketing claims in Finland. *Toxicology Reports* 8: 106–113.
- Nägeli C.W. 1893. Über oligodynamische Erscheinungen in lebenden Zellen. In: *Neue Denkschriften der schweizerischen naturforschenden Gesellschaft*. Zürcher & Furrer, Zürich str. 1–51.
- Odermatt A., Solioz M. 1995. Copper and silver transport by CopB-ATPase in membrane vesicles of *Enterococcus hirae*. *Journal of Biological Chemistry* 270: 9217–9221.
- Pasquina-Lemonche L., Burns J., Turner R.D., Kumar S., Tank R., Mullin N., Wilson J.S., Chakrabarti B., Bullough P.A., Foster S.J., Hobbs J.K. 2020. The architecture of the Gram-positive bacterial cell wall. *Nature* 582: 294–297.
- Shashi P.S., Bhargava C.S., Vishal D., Ashish M., Yatendra S. 2017. Silver nanoparticles: Biomedical applications, toxicity, and safety issues. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2: 1–10.
- Siddiqi K.S., Husen A., Rao R.A.K. 2018. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *Journal of Nanobiotechnology* 16: 14.
- Silhavy T., Kahne D., Walker S. 2010. The bacterial cell envelope. *Cold spring harbor perspectives in biology* 2. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2857177/>, pristupljeno 11.12.2023.
- SketchAndCalc. 2024. Area² in an instant. <https://www.sketchandcalc.com/>, pristupljeno 12.12.2023.
- Universe 84a. 2024. Tag: *Candida albicans*. <https://universe84a.com/tag/candida-albicans/>, pristupljeno 12.12.2023.

UTJECAJ GORENJA PLASTIKE NA KLIJAVOST I RAST PŠENICE TE AKTIVNOST GUJAVICA U TLU

Emma Tomić, 8. razred

Osnovna škola „Mladost“ u Osijeku, Osijek

Mentor: Jasna Rebrina

SAŽETAK

Nakon požara u pogonu tvrtke "Drava International" d.o.o. nastali su brojni štetni spojevi, kao i čestice mikroplastike i nanoplastike, koji zbog svojih svojstava mogu bitno utjecati na razvoj raznih ratarskih kultura na plodnim oranicama u blizini gorišta. Cilj je ovog istraživanja utvrditi kako će tlo s područja zgarišta utjecati na brzinu i postotak klijanja, rast pšenice i aktivnost gujavica. Pšenica je dva puta posijana u tlo koje je od gorišta udaljeno 200 m, 2 km, 6 km, ali i u humusno tlo te je odrađena filtracija kako bi se utvrdila pH-vrijednost tla. Gujavice su odličan bioindikator kvalitete tla pa su one od iznimne važnosti za ovo istraživanje. U dvama su ciklusima raspoređene u zemlju koja je uzeta sa navedene udaljenosti, te u humusno tlo, kako bi se pratila njihova aktivnost i rast. Najbolju klijavost i rast pokazuje pšenica u humusnome tlu, a najlošiju najbliže gorištu. Bolji rezultat pokazuje pšenica posijana u tlu 2 km i 6 km od gorišta. Gujavice, koje su se nalazile u tlu uzetom u blizini požara, postale su manje aktivne, imale su sporije reakcije i pratio ih je manji rast u usporedbi s gujavicama u humusnome tlu. Mikroplastika se taloži prirodnim procesima tijekom vremena. Budući da je požar bio nedavno, a posljedice su vidljive po dobivenim rezultatima, vrlo je vjerojatno da će one u budućnosti biti još izraženije.

Ključne riječi: gorenje; akumulacija; Osijek; poljoprivreda

UVOD

Plastika je naziv za različite umjetne ili poluumjetne polimerske materijale. Lagana je i inertna te se lako oblikuje i usitnjava na razini čestica (najčešće prirodnim procesima poput padalina, utjecaja Sunca, međusobnog trenja ili vjetrom) koje ulaskom u organizam svih živih bića mogu izazvati brojne probleme. Plastika se prema veličini dijeli na megaplastiku (komadi plastike veći od 50 cm), makroplastiku (komadi veći od 5 mm), mikroplastiku (između 100 nm i 5 mm) i nanoplastiku (manji od 100 nm). Na sebe privlači toksične materijale (npr. teške metale) zbog kojih može doći do trovanja u probavnome sustavu, najčešće nenamjernom konzumacijom, te smanjuje količinu kisika u slučaju udisaja zagađenog zraka. Prema nastanku se dijeli na primarnu (namjerno je proizvedena; nalazi se u proizvodima za higijenu, kozmetici, elektronicu, građevinarstvu...) i sekundarnu (nastaje degradacijom većih komada kroz razne procese). U cjelini se jako sporo razgrađuje, a u nekontroliranim uvjetima dolazi do nastanka štetnih i otrovnih spojeva. Zbog plinovitih produkata, koji nastaju njezinim izgaranjem, potrebno ju je na pravilan način odlagati i reciklirati kako ne bi došlo do velikih posljedica, poput ekološke katastrofe gorenja plastike (slika 1) u pogonu tvrtke "Drava International" d.o.o. koja se primarno bavi reciklažom PET-a, poli (etilen-tereftalat)-a, PE-a (polietilena) i PP-a (polipropilena).



Slika 1 Požar u tvrtki „Drava International“ d.o.o. Autor: Vlado Kos, 2023.



Neki su od plinovitih produkata pronađeni iznad Osijeka tijekom i nakon požara, a prema izvještaju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo, formaldehid, benzen, toluen, etilbenzen, grupe ksilena, stiren, acetaldehid, etilen itd. Vjetrom su se, koji je u prvim danima puhao iz smjera sjevera, čestice mikroplastike i nanoplastike, a uz njih i štetni plinoviti produkti, proširili i u okolna područja. Nastale čestice plastike mogu imati izrazito negativan utjecaj na plodne oranice južno od Osijeka u budućnosti nakon što se istalože. Mikroplastika se lako hvata na korijenje biljaka čime remeti rast korijenovih dlačica, primanje vode i nutrijenata, može se dalje prenositi u druge dijelove biljaka, pa tako i u jestive plodove. Mikro i nano plastika negativno utječu na klijavost adsorpcijom na površinu sjemena prije klijanja čime remeti primanje vode u sjemenku i smanjuje kapacitet tla za vodu (Žabčić, 2022).

Utjecaj mikroplastike na rast biljaka varira ovisno o vrsti biljaka te vrsti plastike. U slučaju kukuruza (*Zea mays*) i boba (*Vicia faba*), prisutnost mikroplastike u tlu inhibira rast korijenja (Jiang i sur., 2019., Gong i sur., 2021; Sajjad i sur., 2022), dok kod pšenice (*Triticum aestivum*) stimulira produženi rast korijenja i porast ukupne biomase (Campanale i sur., 2022). Mikročestice PS-a (polistiren) smanjuju biomasu izdanka i listova riže (*Oryza sativa*) (Wu i sur., 2020), a biljke krastavca (*Cucumis sativum*) rastu sporije i imaju manje internodija u izdancima (Li i sur., 2019). Nanoplastika također ima negativan utjecaj na klijavost sjemena. Nano-PS smanjuje klijavost salate (*Lactuca sativa*), i ima kratkotrajne utjecaje na klijavost luka (*Allium cepa*), ali smanjuje rast korijena za 41,5% (Azeem i sur., 2021; Gong i sur., 2021). Utjecaj nanoplastike na pšenicu sličan je utjecaju mikroplastike na tu biljnu vrstu - dolazi do produljenja korijena i pada omjera biomase izdanka i korijena (Campanale i sur. 2022). PET, čijom se reciklažom bavi „Drava International“ d.o.o., utječe na smanjenje mase gujavica i ima negativan utjecaj na njihovo razmnožavanje (Qi i sur., 2018). Prema navedenom istraživanju bioplastika negativno utječe na rast pšenice i kasnije klijanje.

Cilj je istraživanja utvrditi kako će tlo uzeto 200 m, 2 km i 6 km južno od gorišta utjecati na brzinu klijanja, postotak klijanja, rast pšenice i aktivnost gujavica u usporedbi s humusnim tlom. Pretpostavlja se da će najmanju klijavost, rast pšenice te najmanju aktivnost gujavica pokazati tlo koje je uzeto na udaljenosti od 200 m od gorišta zbog navedenih utjecaja mikro i nanoplastike na tlo i živi svijet te povećane kiselosti zemlje. Bolji rezultati pokazat će tla koja su uzeta na udaljenosti od 2 km i 6 km, a najbolji u humusnom tlu. Gujavice će u humusnome tlu, koje im pruža bolje životne uvjete, imati veću aktivnost te će se više razmnožavati.

Dodatni cilj istraživanja je informirati i prikazati negativan utjecaj ove i sličnih ekoloških katastrofa na organizme agrarskih kultura.

METODE RADA

Pšenica korištena u istraživanju božićna je pšenica marke 'Green Garden' (slika 2), a gujavice (*Lumbricidae*) su prikupljene u kompostu u dvorištu škole (slika 3).



Slika 2 Pšenica korištena u istraživanju



Slika 3 Gujavice korištene u istraživanju

Istraživanje je provedeno u tlu (slika 4) udaljenom 200 m (broj 1), 2 km (broj 2), 6 km (broj 3) od gorišta te humusnom tlu (broj 4). 300 g svakog uzorka tla stavljeno je u dvije teglice, ukupno 8 teglica, i u svaku je posađeno 30 zrnaca pšenice 8. siječnja 2024. g. (slika 5).



Slika 4 Zemlja s različitih udaljenosti od gorišta



Slika 5 Posađena pšenica

Od ostatka zemlje obavljena je filtracija kako bi se odredila pH-vrijednost tla jer pšenica uspijeva na neutralnijim tlima. Svaka je udaljenost prošla kroz trostruku filtraciju: prvo kroz cjediljku krupnijih rupica, potom kroz filter papir manjih rupica (slike 6 do 10) te kroz filter papir (Philtron) najmanjih rupica (slike 11 i 12).



Slika 6 2. filtracija



Slika 7 Tlo 1 (200 m od gorišta)



Slika 8 Tlo 2 (2 km od gorišta)



Slika 9 Broj 3 (6 km)



Slika 10 Broj 4 (humusno tlo)



Slika 11 3. Filtracija/filter papir najsitnijih rupica



Slika 12 3. Filtracija odozdo

Nadalje, u 4 velike posude izvagano je 500 grama zemlje sa svih udaljenosti i humusne zemlje te je u svaku raspoređeno po 6 gujavica (*Lumbricidae*), (slika 13).



Slika 13 Gujavice raspoređene u posude



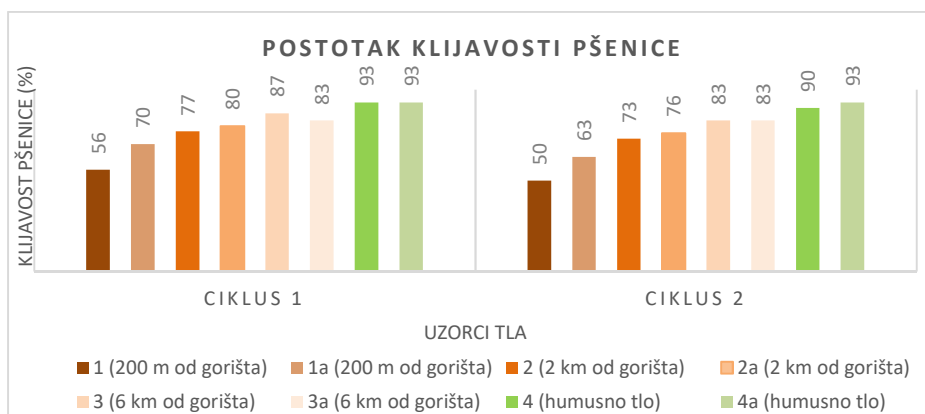
Tijekom sljedeća dva tjedna (do 29. 1. 2024. godine) pratila se brzina klijanja sjemena (koliko dana je trebalo za klijanje), postotak klijavosti sjemena (izračunat će se na kraju istraživanja) i brzina rasta pšenice (izmjerit će se visina na kraju istraživanja). Promjena se prati svaki dan tijekom tri tjedna, a brojnost i ponašanje gujavica svaka 3 dana. Žito je zaliavano svaka 2 do 3 dana s 20 ml vode.

Područje istraživanja

Ravničarski dio Osječko-baranjske županije, Antunovac, unutar Panonske nizine, blizine grada Osijeka oko 7 kilometara s čijeg je područja uzeto tlo u kojemu prevladava finija tekstura s udjelom gline i ilovače.

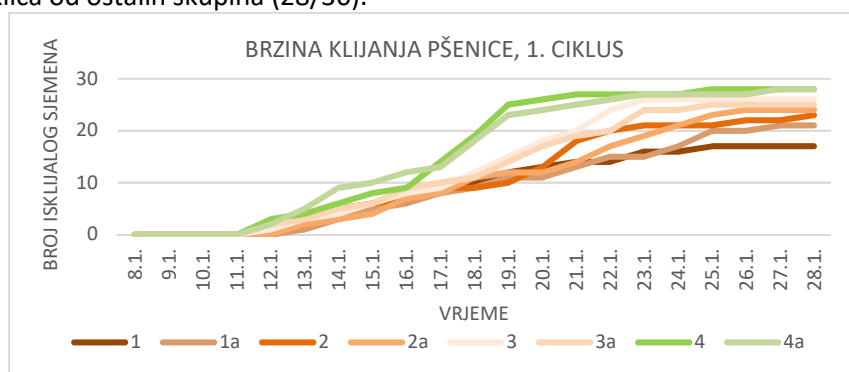
REZULTATI

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da je najveći postotak klijavosti u prvome ciklusu (slika 14) imala pšenica zasađena u humusnom tlu (4 i 4a, 93% za obje), a najmanji pšenica zasađena u tlu koje je uzeto 200 m od gorišta (1 i 1a, 56% i 70%). Nešto bolje rezultate pokazuju pšenice 1a i 2a (stupac odgovarajuće boje desno) u odnosu na pšenice 1 i 2 (stupci odgovarajuće boje lijevo). Pšenice 2 i 2a (2 km od gorišta) te 3 i 3a (6 km od gorišta) pokazuju bolji rezultat od pšenice 1 i 1a, ali lošiji od 4 i 4a. U drugom ciklusu najbolji postotak ponovno pokazuje pšenica 4 i 4a (90% i 93%), a najgori 1 i 1a (50% i 63%). Bolje rezultate pokazuju sve skupine 'a'. Pšenice 2, 2a, 3 i 3a pokazuju bolje rezultate od 1 i 1a, ali lošije od 4 i 4a. Može se zaključiti kako su sve skupine u drugome ciklusu imale manje postotke nego u prvom.



Slika 14 Postotak klijavosti pšenice

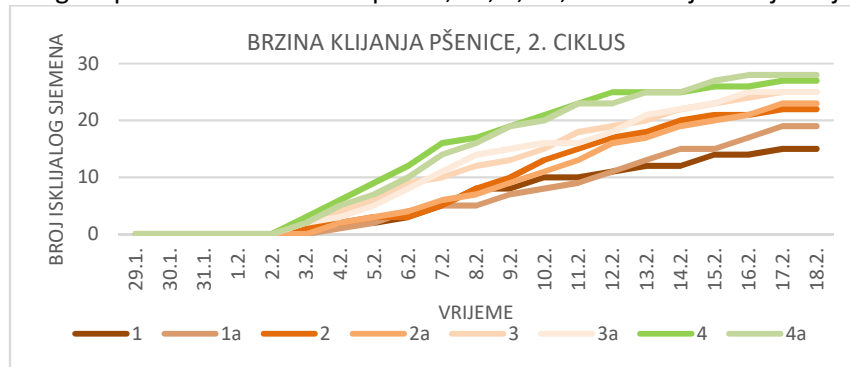
Brzina je klijanja pšenice u prvom ciklusu (slika 15) bila najbrža u humusnome tlu (4 i 4a). Ranije je i brže iznikla od ostalih skupina što je vidljivo po datumu prvog klijanja i većem nagibu linije. Osim toga, ima veći broj klica od ostalih skupina (28/30).



Slika 15 Brzina klijanja pšenice u prvom ciklusu

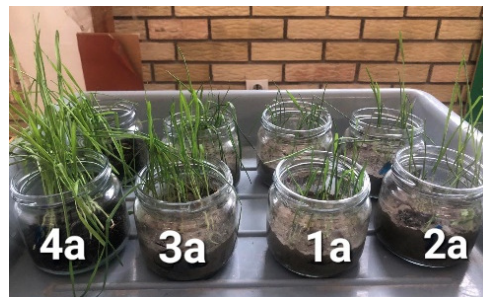
Najsporije je iznikla pšenica posađena u tlu koje je uzeto 200 m od gorišta (1 i 1a) te ima najmanji broj isklijanog sjemenja (17 i 21/30). Veći broj klica imaju 1a (21/30) i 2a (24/30) u usporedbi sa skupinama 1 (17/30) i 2 (23/30) iako su otprilike jednake po brzini klijanja. Veći broj klica od pšenice 1 i 1a, a manji od 4 i 4a imaju 2, 2a, 3 i 3a. U početku su istraživanja prve tri skupine klijale približno jednakom brzinom sve do kraja 2. tjedna 1. ciklusa.

Brzina je klijanja pšenice u drugom ciklusu (slika 16) ponovno najbrža u humusnome tlu (4 i 4a). Ranije je i brže iznikla od ostalih skupina što je vidljivo po datumu prvog klijanja i većem nagibu linije. Osim toga, ponovno pokazuje veći broj klica (27 i 28/30) od ostalih skupina. Ponovno je najsporije iznikla pšenica 1 i 1a te ima najmanji broj isklijanog sjemenja (15 i 19/30). Veći broj klica imaju 1a (19/30), 2a (23/30) i 4a (28/30) u usporedbi sa skupinama 1 (15/30), 2 (22/30) i 4 (27/30), ovoga puta 3 i 3a imaju jednak broj klica (25/30). Do sredine 2. tjedna 2. ciklusa, pšenice 1, 1a, 2 i 2a klijale su podjednakom brzinom. Nema veće razlike u brzini klijanja između skupina 'x' i 'xa'. Pšenice 2, 2a, 3 i 3a su, kao i u 1. ciklusu, klijale su brže i imale su veći broj klica od 1 i 1a, ali manji od 4 i 4a. Brzine klijanja svih skupina razlikuju se više nego u prvome ciklusu te skupine 1, 1a, 2, 2a, 3 i 3a imaju manji broj klica.



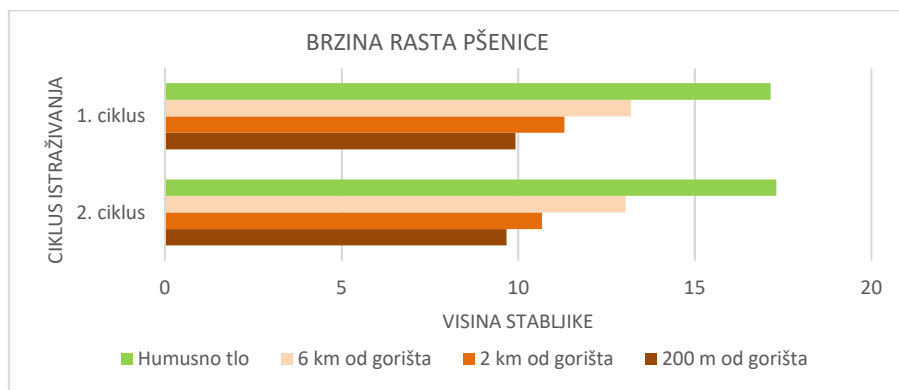
Slika 16 Brzina klijanja pšenice u drugom ciklusu

Najbrži rast u prvome ciklusu (slika 17 i 18) pokazuje pšenica zasađena u humusnome tlu (17,15 cm/21 dan) te nešto brži rast u drugome ciklusu (17,31cm/21 dan).



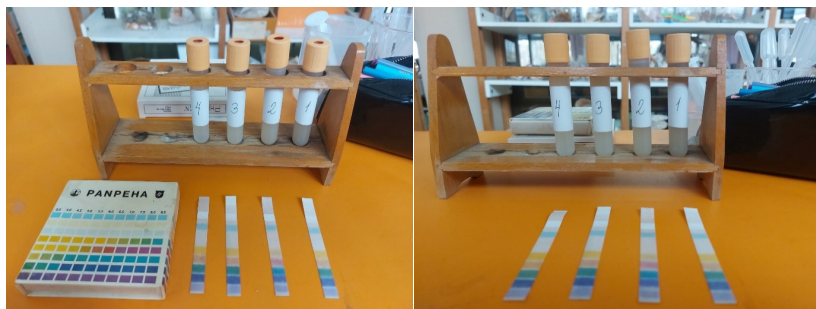
Slika 17 Razlika u visini skupina pšenice

Najsporiji rast u prvome ciklusu (slika 18) pokazuje pšenica zasađena u zemlji koja je uzeta 200 m od gorišta (9,92 cm/21 dan), ali sporiji rast u drugome ciklusu (9,67 cm/21 dan). Pšenice zasađene u zemlji 2 km i 6 km od gorišta pokazuju bolje rezultate od pšenice zasađene u zemlji uzetoj 200 m od gorišta, a lošije od pšenice u humusnome tlu. U prvome ciklusu pšenica u zemlji 6 km od gorišta pokazuje rast 13,2 cm/21 dan. U drugome je ciklusu lošiji rezultat, tj. 13,04 cm/21 dan. Pšenica u zemlji 2 km od gorišta u prvome ciklusu pokazuje rast 11,31 cm/21 dan i lošiji rezultat u drugome ciklusu, 10,68 cm/21 dan. Jedino pšenica u humusnome tlu ima veći rast u drugome ciklusu nego u prvome, ostale bilježe manji rast u drugome ciklusu.



Slika 18 Brzina rasta pšenice u prvom i drugom ciklusu

Određena je pH-vrijednost tla (slika 19) 200 m, 2 km i 6 km od gorišta te humusnoga tla. Tlo 200 m od gorišta (pšenica 1 i 1a) imalo je pH-vrijednost 6.44 (kiselo), tlo 2 km od gorišta 6.5 (kiselo, pšenica 2 i 2a), 6 km od gorišta 6.92 (kiselo) te humusno tlo 7.1 (neutralno, pšenice 4 i 4a).



Slika 19 pH-vrijednosti tala određena i indikatorskim papirićima

Na kraju je prvoga ciklusa u humusnome tlu bilo 12 gujavica od početnih 4. Vizualno su dulje i deblje nego na početku istraživanja, brzo reagiraju i kreću se. U tlu, u kojemu je bila zasađena pšenica 3 i 3a (6 km od gorišta), početne su se gujavice namnožile, tj. bilo je 5 gujavica. Duljinom i debljinom su bile slične gujavicama iz humusnog tla, bile su živahne te su pokazivale brze reakcije dok nisu uginule pred kraj 2. tjedna prvog ciklusa, kao i gujavice u tlu 2 i 2a (2 km od gorišta) te 1 i 1a (200 m od gorišta). U tlu 2 km od gorišta bilo je 5 gujavica od početnih 4, slabije su reagirale i sporije se kretale. Bile su jednake duljine kao i na početku, stanjile su se te su bile tamnije od gujavica iz zemlje 4 i 3 (slika 20 i 21). U zemlji 1 gujavice su bile najtamnije i najtanje. Gotovo da nije bilo reakcije na dodir i sporo su se kretale. One se nisu razmnožile te je jedna s vremenom uginula. U drugome su ciklusu rezultati bili jednaki rezultatima prvoga ciklusa, no promjene su vidljive kod razmnožavanja. Od početnih 4 u svim skupinama, u zemlji 4 bilo je 10 gujavica, a u zemlji 1 - 3 gujavice. Broj gujavica u zemljama 2 i 3 ostao je isti kao i na početku. Gujavice su uginule, ali ovoga puta pred kraj 3. tjedna.



Slika 20 Tamna boja gujavice iz tla 200 m od gorišta



Slika 21 Gujavica iz humusnog tla



RASPRAVA

Rezultati se istraživanja podudaraju s pretpostavkom da je pšenica zasađena u zemlji, koja je uzeta u blizini gorišta, imala je manji rast i klijavost u usporedbi s pšenicom u humusnome tlu.

Istraživanjem Qi i sur. (2018) dobiveni su slični rezultati. Istraživano je kako će dodavanje makroplastike (Bio i LDPE) te mikroplastike (Bio i LDPE) utjecati na visinu, klijavost i plodnost pšenice. Pšenica (*Triticum aestivum*) zasađena u zemlji s Bio-makroplastikom i Bio-mikroplastikom je za razliku od ostalih skupina počela klijeti kasnije te je njihov dodatak inhibirao rast. LDPE makro i mikroplastika nisu imale znatan utjecaj na rast i klijanje. Također, iz istog istraživanja proizlazi da PET utječe na smanjenje mase gujavica i ima negativan utjecaj na njihovo razmnožavanje.

Spomenuto istraživanje odgovara rezultatima ovoga istraživanja jer se pogon u kojem je došlo do požara bavi i reciklažom PE-a (LDPE) u manjoj mjeri. Većinom se bavi reciklažom PET-a, koji prema rezultatima istraživanja, ima isti negativan utjecaj na gujavice kao i u ovom istraživanju.

U metodologiju se ovoga istraživanja može dodati i ispitivanje sastava zemlje radi utvrđivanja prisutnosti i vrste mikroplastike. Osim mjerenja rasta i klijavosti pšenice, može se mjeriti i fotosinteza čime bi se dobili podatci i o procesima u biljci, a ne samo o vidljivim svojstvima. Da bi podaci o aktivnosti gujavica bili precizniji, potrebno je mjeriti njihovu duljinu i masu tijekom svake kontrole.

ZAKLJUČCI

Hipoteza je ovog istraživanja potvrđena te se može zaključiti sljedeće:

- ☞ Preporučeno je ponavljanje istraživanja u uvjetima bližim stvarnom stanju u usnoj šupljini (utjecaj sline i vrijeme promatranja);
- ☞ Tlo koje je uzeto najbliže gorištu ima negativan utjecaj na rast i klijavost pšenice u puno većoj mjeri nego tlo s udaljenijih područja od gorišta.
- ☞ Tlo koje je uzeto najbliže gorištu ima negativan utjecaj na aktivnost i razmnožavanje gujavica u puno većoj mjeri nego tlo s udaljenijih područja od gorišta.
- ☞ Više je rasla i brže je klijala pšenica u skupinama 'a' jer su bile bliže prozoru – veća izloženost svjetlosti.
- ☞ Pšenici pogoduje neutralnije tlo za rast.

LITERATURA

- Azeem i sur. 2021. Nanomaterijali: Unos i nakupljanje nano/mikroplastike u biljkama: kritički osvrt, *Nanomaterials* | Free Full-Text | MDPI Uptake and Accumulation of Nano/Microplastics in Plants: A Critical Review (mdpi.com), pristupljeno 31.1.2024.
- Campanale i sur. 2022. Znanost o ukupnom okolišu: Onečišćenje kopnenog okoliša mikroplastikom: slabo poznati difuzni izvori i implikacije na biljke, *ScienceDirect*. [Microplastics pollution in the terrestrial environments: Poorly known diffuse sources and implications for plants - ScienceDirect](#), pristupljeno 1.2.2024.
- Đurić A. 2018. Praćenje i procjena zagađenja u tlu, završni rad, Repozitorij.biologija.unios.hr. [Praćenje i procjena utjecaja zagađenja u tlu | Repozitorij Odjela za biologiju \(unios.hr\)](#), pristupljeno 3.1.2024.
- Enciklopedija.cc. Mikroplastika. Hrvatska internetska enciklopedija. [Mikroplastika – Hrvatska internetska enciklopedija](#), pristupljeno 31.1.2024.
- Gong i sur. 2021. Znanost o ukupnom okolišu: Reakcija prehrambenih usjeva na polistirensku nanoplastiku i mikroplastiku ovisno o vrsti, *ScienceDirect*. Species-dependent response of food crops to polystyrene nanoplastics and microplastics - ScienceDirect, pristupljeno 1.2.2024.



- Jiang i sur. 2019. Zagađenje okoliša: Ekotoksičnost i genotoksičnost polistirenske mikroplastike na višu biljku *Vicia faba*, ScienceDirect. Ecotoxicity and genotoxicity of polystyrene microplastics on higher plant *Vicia faba* - ScienceDirect, pristupljeno 2.2.2024.
- Kovač M. 2022. Utjecaj temperature na klijavost i parametre klijavosti strnih žitarica, diplomski rad, Zir.nsk.hr. Utjecaj temperature na klijavost i parametre klijavosti strnih žitarica | Nacionalni repozitorij završnih i diplomskih radova ZIR (nsk.hr), pristupljeno 3.1.2024.
- Križnjak I. 2022. Utjecaj mikroplastike na prirodu i okoliš, završni rad, Utjecaj mikroplastike na prirodu i okoliš Repozitorij.pmf.unizg.hr. | Digitalni repozitorij Sveučilišta Sjever (unin.hr), pristupljeno 3.2.2024.
- Li i sur. 2019. Kemija okoliša: Unos i nakupljanje mikroplastike u jestivoj biljci, Nanomaterials | Free Full-Text | SciEngine. Uptake and Accumulation of Nano/Microplastics in Plants: A Critical Review (mdpi.com), pristupljeno 1.2.2024.
- NZJZ OBŽ. Praćenje kvalitete zraka. Nastavni zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije. [Praćenje kvalitete zraka. Nastavni zavod za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije \(zzizosijek.hr\)](https://www.praćenje-kvalitete-zraka.hr/), pristupljeno 3.1.2024.
- Qi i sur. 2018. Znanost o ukupnom okolišu: Makroplastika i mikroplastika u sustavu biljaka tla: Učinci ostataka plastične folije malča na rast pšenice (*Triticum aestivum*), ScienceDirect. [Macro- and micro- plastics in soil-plant system: Effects of plastic mulch film residues on wheat \(Triticum aestivum\) growth - ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071718300000), pristupljeno 2.2.2024.
- Sajjad i sur. 2022. Ekološka tehnologija i inovacije: Mikroplastika u okolišu tla: kritički osvrt, ScienceDirect. [Microplastics in the soil environment: A critical review - ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071722000000), pristupljeno 2.2.2024.
- Wu i sur. 2020. Zagađenje okoliša: Metabolomika koja otkriva reakciju riže (*Oryza sativa* L.) izložene mikroplastici od polistirena, ScienceDirect. [Metabolomics revealing the response of rice \(Oryza sativa L.\) exposed to polystyrene microplastics - ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0038071720000000), pristupljeno 2.2.2024.
- Žabčić A. 2022. Učinak mikroplastike i nanoplastike na poljoprivredne biljke, završni rad, Učinak mikroplastike i nanoplastike na poljoprivredne biljke Repozitorij.pmf.unizg.hr. | Repozitorij Prirodoslovno-matematičkog fakulteta (unizg.hr), pristupljeno 2.2.2024.

Izvori fotografija:

- Slika 1. Požar u tvrtki „Drava International“ d.o.o. [Jutarnji list - Pogledajte nestvarne fotografije i snimke velikog požara u Osijeku!](https://www.jutarnji.hr/fotografije-i-snimke-velikog-pozara-u-osijeku/)
- Slika 2. Pšenica korištena u istraživanju (izvor: autor ovog rada)
- Slika 3. Gujavice korištene u istraživanju (izvor: autor ovog rada)
- Slika 4. Zemlje s različitim udaljenosti od gorišta (izvor: autor ovog rada)
- Slika 5. Zasađena pšenica (izvor: autor ovog rada)
- Slika 6. 2. filtracija (izvor: autor ovog rada)
- Slika 7. Tlo 1 (200 m od gorišta), (izvor: autor ovog rada)
- Slika 8. Tlo 2 (2 km od gorišta), (izvor: autor ovog rada)
- Slika 9. Tlo 3 (6 km od gorišta), (izvor: autor ovog rada)
- Slika 10. Tlo 4 (humusno tlo), (izvor: autor ovog rada)
- Slika 11. 3. Filtracija/filtar papir najsitnijih rupica, (izvor: autor ovog rada)
- Slika 12. 3. Filtracija odozdo, (izvor: autor ovog rada)
- Slika 13. Gujavice raspoređene u posude, (izvor: autor ovog rada)
- Slika 17. Razlika u visini skupina pšenice, (izvor: autor ovog rada)
- Slika 19.. pH-vrijednosti tala određena i indikatorskim papirićima, (izvor: autor ovog rada)
- Slika 20. Tamna boja gujavice iz tla 200 m od gorišta, (izvor: autor ovog rada)
- Slika 21. Gujavica iz humusnog tla, (izvor: autor ovog rada)