



**UNIVERZITET U NIŠU**  
**PRIRODNO MATEMATIČKI FAKULTET**  
**DEPARTMAN ZA HEMIJU**



**Saša S. Randelović**

**BIOAKUMULACIJA METALA U ODABRANIM  
VRSTAMA VOĆA I LEKOVITIH BILJAKA**

Doktorska disertacija

Niš, 2015.



UNIVERSITY OF NIŠ  
FACULTY OF SCIENCE AND MATHEMATICS  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY



**Saša S. Randelović**

**BIOACCUMULATION OF METALS IN  
SELECTED TYPES OF FRUITS AND  
MEDICINAL HERBS**

PhD thesis

Niš, 2015.

*Mentor:*

**dr Danijela Kostić,**

redovni profesor prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

**dr Snežana Mitić,**

redovni profesor prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

*Članovi komisije:*

**dr Goran Nikolić,**

redovni profesor tehnološkog fakulteta u Leskovcu Univerziteta u Nišu

**dr Aleksandra Zarubica,**

vanredni profesor prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

**dr Aleksandra Pavlović,**

vanredni profesor prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu

*Verovatno je ovo pravo mesto i odgovarajuće vreme da izrazim svoju zahvalnost svima koji su doprineli izradi ovog rada. Prvenstveno veliku zahvalnost dugujem svom mentoru prof. dr. Danijeli Kostić na pomoći i vođenju tokom postdiplomskih studija, na stručnim sugestijama, smernicama i komentarima prilikom izrade ove teze.*


*Zahvalnost dugujem i prof. dr. Snežani Mitić koja je u završnoj fazi pisanja rada dala korisne stručne savete i sugestije.*


*Bivšem šefu koji je podstakao moje analitičko razmišljanje.*

*Jakši i Urošu koji su mi svojom ljubavlju davali snagu da istrajem u svojim zamislima i imali razumevanja za moj rad i ambicije tokom prethodnih godina.*

*Posebnu zahvalnost dugujem mojoj majci na nesebičnoj podršci i ljubavlji čak i onda kada su moje želje bile teško ostvarive, na prilici da učim i radim ono što volim.*

*Autor*

 <b>ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ</b>						
<b>КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА</b>						
Редни број, РБР:						
Идентификациони број, ИБР:						
Тип документације, ТД:	монографска					
Тип записа, ТЗ:	текстуални / графички					
Врста рада, ВР:	докторска дисертација					
Аутор, АУ:	Саша С. Ранђеловић					
Ментор, МН:	Данијела А. Костић и Снежана С. Митић					
Наслов рада, НР:	Биоакмулација метала у одабраним врстама воћа и лековитих биљака					
Језик публикације, ЈП:	српски					
Језик извода, ЈИ:	енглески					
Земља публикавања, ЗП:	Србија					
Уже географско подручје, УГП:	Србија					
Година, ГО:	2015.					
Издавач, ИЗ:	ауторски репринт					
Место и адреса, МА:	Ниш, Вишеградска 33.					
Физички опис рада, ФО: <small>(поглавља/стране/ цртања/табела/слика/графика/прилога)</small>	225 стр., 96 Табела, 43 Слика, 9 Хистограма					
Научна област, НО:	хемија					
Научна дисциплина, НД:	Аналитичка хемија					
Предметна одредница/Кључне речи, ПО:	Валидација, ААС, самоникло воће, лековито биље					
УДК	(581.192 + 546.3) : 641.13 (581.192 + 546.3) : 633.8					
Чува се, ЧУ:	библиотека					
Важна напомена, ВН:	Експериментални део је урађен у лабораторији Института "1. мај" у Нишу					
Извод, ИЗ:	Биљке акумулирају метале из земљишта током раста. Загађењем животне средине може доћи до повећаног уноса метала у организам путем хране. Због тога биљке поред лековитих својстава могу имати и токсично дејство на човека. Неопходно је одређивање садржаја метала у земљишту биљкама и њиховим деловима, екстрактима који се од њих припремају. На основу добијених резултата о садржају метала и систематске анализе биће одређени коефицијенти усвајања метала (PUF), дневни унос метала (DIM) и индекса здравственог ризика (HQ). Све то треба да укаже на могућност безбедне примене биљака са подручја Србије у исхрани и печењу (у облику чајева и екстраката).					
Датум прихватања теме, ДП:	09.02.2015.					
Датум одбране, ДО:						
Чланови комисије, КО:	<table border="0"> <tr> <td>Председник:</td> <td rowspan="3" style="font-size: 3em; vertical-align: middle;">}</td> <td rowspan="3" style="vertical-align: middle;">уписује се накнадно руком</td> </tr> <tr> <td>Члан:</td> </tr> <tr> <td>Члан, ментор:</td> </tr> </table>	Председник:	}	уписује се накнадно руком	Члан:	Члан, ментор:
Председник:	}	уписује се накнадно руком				
Члан:						
Члан, ментор:						

 <b>ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ</b>	
<b>KEY WORDS DOCUMENTATION</b>	
Accession number, <b>ANO</b> :	
Identification number, <b>INO</b> :	
Document type, <b>DT</b> :	monograph
Type of record, <b>TR</b> :	textual / graphic
Contents code, <b>CC</b> :	doctoral dissertation
Author, <b>AU</b> :	Saša S. Randelović
Mentor, <b>MN</b> :	Danijela A. Kostić and Snežana S. Mitić
Title, <b>TI</b> :	Bioaccumulation of metals in selected types of fruits and medicinal herbs
Language of text, <b>LT</b> :	Serbian
Language of abstract, <b>LA</b> :	English
Country of publication, <b>CP</b> :	Serbia
Locality of publication, <b>LP</b> :	Serbia
Publication year, <b>PY</b> :	2015
Publisher, <b>PB</b> :	author's reprint
Publication place, <b>PP</b> :	Niš, Višegradska 33.
Physical description, <b>PD</b> : (chapters/pages/ref./tables/pictures/graphs/appendices)	225 p. ; 99 Tables, 43 Pictures, 9 Histograms
Scientific field, <b>SF</b> :	chemistry
Scientific discipline, <b>SD</b> :	Analytical chemistry
Subject/Key words, <b>S/KW</b> :	Validation, AAS, fruits, medicinal herbs
<b>UC</b>	(581.192 + 546.3) : 641.13 (581.192 + 546.3) : 633.8
Holding data, <b>HD</b> :	library
Note, <b>N</b> :	The experimental part of this work was performed in the research laboratory of the Institute 1.May in Nis
Abstract, <b>AB</b> :	Plants accumulate metals from the soil during growth. Environmental pollution can lead to increased metal uptake into the body through food. Therefore, plants have medicinal properties but also can have toxic effects on humans. It is necessary to determine the metal content in the soil, plants, their parts and extracts prepared from them. Based on the obtained results the content of metals and systematic analysis will be determined plant uptake factor (PUF), daily intake of metals (DIM) and the index of health risks (HQ). All this should point to the possibility of safe use of plants from Serbia in nutrition and treatment (in the form of teas and extracts).
Accepted by the Scientific Board on, <b>ASB</b> :	09.02.2015.
Defended on, <b>DE</b> :	
Defended Board, <b>DB</b> :	President:
	Member:
	Member, Mentor:

## Termini i skraćenice

**Analit** - Komponenta ili grupa komponenti čije prisustvo/odsustvo ili pak njihovu masu/koncentraciju treba odrediti u ispitvanom uzorku,

**Analiza** - Metoda koja se koristi za detekciju, indentifikaciju i/li određivanje analita u ispitvanom uzorku,

**Alikvot** - Tačno poznata zapremina ispitivanog rastvora koja se koristi direktno za određivanje prisustva/odsustva ili mase/koncentracije analita bez karakteristične greške uzorkovanja,

**Slepa proba** - Slepa proba je uzorak koji sadrži sve komponente kao ispitvani uzorak izuzev analita,

**Detekcija** - Određivanje prisustva analita kao hemijskog entiteta,

**Određivanje (kvantifikacija)** - Određivanje apsolutnog sadržaja analita (mase, zapremine, količine) ili relativnog sadržaja analita (frakcije mase, masene koncentracije) u ispitvanom uzorku,

**Matriks** - Sve komponente ispitvanog uzorka izuzev analita,

**Ispitivanje** - tehnička operacija za utvrđivanje jedne ili više karakteristika datog proizvoda, procesa ili usluge po specificiranom postupku,

**Provera (validacija) ispitnih metoda** - potvrđivanje ispitivanjem i prikupljanjem objektivnih dokaza da su posebni zahtevi za predviđenu upotrebu zadovoljeni,

**Predmet ispitivanja/ispitni uzorak** - materijal ili predmet podvrgnut procesu ispitivanja,

**Metoda ispitivanja** - utvrđeni tehnički postupak za obavljanje ispitivanja,

**Rezultat ispitivanja** - vrednost jedne karakteristike dobijena kao rezultat jedne specificirane metode ispitivanja,

**Srednja vrednost rezultata ispitivanja ( $\bar{x}$ )** - zbir pojedinačnih rezultata ispitivanja  $x$  podeljen sa brojem ispitivanja  $n$ ,

**Stvarna vrednost** - bliskost u slaganju aritmetičkih sredina (srednjih vrednosti) rezultata velikog broja ispitivanja sa istinitom vrednošću ili (ukoliko ona nije poznata) prihvaćenom referentnom vrednošću,

**Broj stepena slobode (df)** - broj ispitivanja umanjen za 1 ( $n-1$ ),

**Standardna devijacija (procenjena) ( $s$ )** - mera rasipanja vrednosti slučajne promenljive oko srednje vrednosti  $x$ , izražena u jedinicama u kojima je izražena i slučajna promenljiva,

**Varijansa slučajne promenljive** ( $\sigma^2$ ) - mera rasipanja kvadrata standardnog odstupanja/ devijacije slučajne promenljive oko matematičkog očekivanja (prave vrednosti):  $\sigma^2$  odnosno  $s^2$  u slučajevima procenjene varijanse,

**Verovatnoća** (p) - verovatnoća realizacije nekog događaja izražena kroz odnos broja realizacija povoljnih tom događaju i broja ukupno mogućih realizacija,

**Interval poverenja** - interval u kojem se po utvrđenoj verovatnoći pretpostavlja da će se naći merena veličina,

**Preciznost** - određuje se u odnosu na bliskost u slaganju između nezavisnih rezultata merenja jedne veličine koja su više puta izvedena na istom uzorku i pod identičnim unapred utvrđenim uslovima merenja. Ona se po konvenciji izražava standardnom devijacijom,

**Granica ponovljivosti** (r) - vrednost manja ili jednaka apsolutnoj razlici između dva pojedinačna rezultata merenja koji su dobijeni pod uslovima ponovljivosti i kod očekivane verovatnoće 95%,

**Reproduktivnost** (R) - razlika između dva pojedinačna i nezavisna rezultata dobijena od različitih izvršilaca koji rade u različitim laboratorijama na istom uzorku,

**Uslovi reproduktivnosti** - uslovi kod kojih su rezultati ispitivanja na identičnom materijalu dobijeni u izmenjenim uslovima koji mogu biti: različite metode, različite laboranti, različita oprema, referentni standardi, lokacija i vreme,

**Granica reproduktivnosti** - vrednost manja ili jednaka apsolutnoj razlici između dva pojedinačna rezultata merenja dobijena pod uslovima reproduktivnosti i kod očekivane verovatnoće 95%,

**Relativna standardna devijacija ili koeficijent varijacije cv (rsd)**- bezdimenziona veličina koja predstavlja odnos standardne devijacije i srednje vrednosti,

**Kritična interval (critical range) cr** - maksimalna razlika rezultata n-ispitivanja za verovatnoću raspodele kod koje je srednja vrednost rezultata prihvatljiva,

**Greška** - razlika između stvarne vrednosti i vrednosti dobijene pojedinačnim ispitivanjem. Greške se mogu podeliti na: slučajne, sistematske i grube,

**Gruba greška** - neprihvatljivi rezultat merenja nastao najčešće kao ljudska greška ili greška u funkciji instrumenta. Uzroci pojave grubih grešaka su obično banalni: upotreba pogrešnog reagensa, vazdušni mehuri u protočnoj kiveti spektrofotometra, kontaminacija uzorka itd. Merenja sa ovakvim greškama se moraju identifikovati i kroz jedan test proceniti i eventualno odbaciti kako ne bi uticali na podatke statističke analize,

**Sistematska greška merenja (bias)**- razlika između srednje vrednosti n pojedinačnih merenja i stvarne vrednosti. One se mogu poznati po konstantno povećanim ili smanjenim



vrednostima rezultata merenja i mogu se korigovati ukoliko se prepoznaju. Rezultat merenja treba korigovati za sve prepoznate značajne sistematske greške,

**Slučajna greška merenja** - razlika između pojedinačnog rezultata merenja i srednje vrednosti od  $n$  pojedinačnih merenja. Ove greške prouzrokuju da rezultati merenja padaju sa obe strane srednje vrednosti i na taj način smanjuju preciznost mernih rezultata. Ova greška se ne može eliminisati ali se može smanjiti porastom broja merenja. Slučajne greške su predmet proučavanja matematičke statistike koja se odnosi na procenu najverovatnije vrednosti merne veličine,

**Mod** - najčešće ponavljana vrednost u skupu podataka,

**Medijana** - broj koji razdvaja gornju polovinu uzoraka, populacije ili raspodela verovatnoće od donje polovine,

**Referentni materijal (rm)** - materijal ili supstanca kod koje su jedna ili više vrednosti svojstava dovoljno homogeni i dobro uspostavljeni da se mogu koristiti za kalibraciju aparata, ocenjivanje metode merenja ili za određivanje vrednosti materijala,

**Sertifikovani referentni materijal (crm)** - referentni materijali koji su praćeni certifikatom, čije su jedna ili više vrednosti svojstava certificirane procedurom koja uspostavlja sledljivost prema tačnoj realizaciji jedinice u kojoj su vrednosti svojstva izraženi i za koji je svaka certificirana vrednost praćena nesigurnošću kod određenog nivoa poverenja,

**Limit detekcije (LOD)** - predstavlja najmanju koncentraciju ispitivane supstance u uzorku koja, pod datim eksperimentalnim uslovima, može bit registrovana (detektovana), ali nije potrebno da bude tačno i određena pod datim eksperimentalnim uslovima,

**Limit kvantifikacije (LOQ)** - predstavlja najmanju koncentraciju ispitivane supstance u uzorku koja, pod datim eksperimentalnim uslovima, može bit određena sa prihvatljivom preciznošću i tačnošću,

**Linearnost** - definiše sposobnost metode u dobijanju rezultata odnosno signala koji su proporcionalni koncentracij analita,

**Tačnost** - sposobnost mernog instrumenta i metode da rezultat koji je blizak pravoj odnosno tačnoj vrednosti,

**Preciznost** - blizina niza nezavisnih rezultata merenja koji su dobijeni pod tačno definisanim uslovima,

**Osetljivost** - promena mernog signala pri promeni jedinice sadržaja analita. Ova promena je praktično jednaka nagibu kalibracione krive analita,

**Selektivnost** - sposobnost metode da pod tačno definisanim uslovima ispitivanja odredi tačno i specifično traženi analit u prisustvu drugih komponenata koji čine matriks uzorka,

**Ponovljivost** - sposobnost mernog instrumenta da pri istim uslovima merenja prilikom ponovljene analize da približno iste ispitivane vrednosti,

**Reproduktivnost** - dobijanje rezultata istom metodom pod identičnim eksperimentalnim uslovima u drugim laboratorijama od strane drugih analitičara korišćenjem drugih instrumenata,

**Robusnost** - robusnost jedne analitičke metode je mera njene sposobnosti da se ne menja pod dejstvom male, ali prisutne varijacije parametara metode, čime se potvrđuje i pouzdanost primenjene metode,

**Preporučeni dnevni unos (Recommended daily allowances - RDA)** - nivo za koji se smatra da je dovoljan da zadovolji potrebe skoro svih ljudi u grupi sa sličnim karakteristikama,

**Dnevni unos (Daily intake - DI)** - predstavlja onu količinu nutrijenta koja je potrebna da bi se izbegao njihov deficit i obezbedili neophodni metabolički procesi u ljudskom organizmu,

**Referentna oralna doza (Referente oral dose - R<sub>f</sub>D)** - referentna oralna doza za metal (mg/dan), na 70 kg telesne težine,

**Uslovno prihvatljiv nedeljni unos (Provisional tolerable weekly intake - PTWI),**

**Hazard Quotient (HQ)** - rizik po zdravlje, predstavlja odnos između izloženosti i referentne oralne doze (R<sub>f</sub>D),

**Target Hazard Quotient (THQ)** - rizik po zdravlje, predstavlja odnos između izmerene koncentracije i oralne referentne doze, u zavisnosti od dužine i vremena učestalosti ekspozicije, količine unosa i telesne težine,

**World Health Organization (WHO)** – Svetska zdravstvena organizacija,

**TIBC test** (total iron binding capacity) – test ispitivanja sadržaja gvožđa u krvi,

**EVM** - Expert Group on Vitamins and Minerals, England,

**FNB** - Food and Nutrition Board: Institute of Medicine – FNB, USA,

**FAO** - Food and Agriculture Organization,

**EFr** - učestalost ekspozicije,

**EDtot** - trajanje ekspozicije (prosečni životni vek),

**SFI** - masa proizvoda uneta u organizam,

**MCSinorg** - koncentracija neorganske vrste proizvoda uneta u organizam,

**BWa** - prosečna telesna masa odraslih,

**ATn** - prosečno vreme ne kancerogena.

**NCRS** – Natural Resources Conservation Service

**PCA** – Principal component analysis

**OIV** – Office International de la Vigne et du Vin

**EPA** – Environmental Protection Agency

## Sadržaj

1.	UVOD.....	1
2.	TEORIJSKI DEO.....	5
2.1.	Atomsko apsorpciona spektrometrija.....	6
2.2.	Validacija metoda za određivanje metala AAS metodom.....	10
2.2.1.	Analiza varijanse (ANOVA).....	18
2.2.2.	Analiza glavnih komponenti (PCA — Principal Component Analysis).....	22
2.3.	Teški metali.....	23
2.3.1.	Putevi dospevanja teških metala do čoveka.....	26
2.3.2.	Bakar.....	29
2.3.3.	Gvožđe.....	32
2.3.4.	Cink.....	38
2.3.5.	Mangan.....	42
2.3.6.	Nikl.....	44
2.3.7.	Olovo.....	47
2.3.8.	Kadmijum.....	48
2.3.9.	Dnevne potrebe za esencijalnim metalima.....	48
2.4.	Samoniklo voće.....	53
2.5.	Grožđe i vino.....	61
2.6.	Lekovito bilje.....	65
2.6.1.	Taksonomski položaj, biološke i hemijske karakteristike odabranog lekovitog bilja.....	68
3.	EKSPERIMENTALNI DEO.....	78
3.1.	Program eksperimentalnog rada.....	79
3.2.	Aparatura.....	80
3.3.	Reagensi.....	80
3.4.	Postupci za pripremu uzoraka.....	81
3.4.1.	Priprema zemljišta.....	81
3.4.2.	Priprema vode.....	81
3.4.3.	Priprema lišća.....	82
3.4.4.	Priprema samoniklog voća.....	82
3.4.5.	Priprema uzoraka grožđa.....	82
3.4.6.	Priprema uzoraka vina.....	83
3.4.7.	Priprema biljaka.....	84
3.4.8.	Priprema vodenih rastvora biljaka.....	84
3.4.9.	Priprema etanolnih rastvora biljaka.....	85
3.4.10.	Priprema metanolnih rastvora biljaka.....	85
3.4.11.	Izračunavanje uzimanja metala iz zemljišta preko ploda oralnim putem.....	85
3.4.12.	Izračunavanje indeksa zdravstvenog rizika metala od kontaminiranog voća.....	85
3.4.13.	Izračunavanje indeksa zdravstvenog rizika metala od kontaminiranog vina.....	86
3.4.14.	Statistička obrada podataka.....	86
4.	REZULTATI I DISKUSIJA.....	87
4.1.	Modifikacija i validacija metoda za određivanje sadržaja metala metodom AAS.....	88
4.1.1.	Modifikacija i validacija metode za određivanje sadržaja Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Cd i Pb metodom AAS.....	89
4.2.	Sadržaj metala u zemljištu, lišću i odabranom samoniklom voću.....	100
4.3.	Sadržaj metala u različitim sortama grožđa.....	128
4.4.	Sadržaj metala u različitim vrstama vina.....	140
4.5.	Sadržaj metala u različitim vrstama lekovitog bilja.....	146
4.6.	Sadržaj metala u vodenim ekstraktima različitih vrsta lekovitog bilja.....	157
4.7.	Sadržaj metala u lekovitim biljkama i njenim ekstraktima.....	173
5.	IZVOD.....	185
6.	SUMMARY.....	190
7.	LITERATURA.....	195
8.	BIOGRAFIJA SA BIBLIOGRAFIJOM.....	219

## **1. UVOD**

Veza između čoveka i biljaka postoji od davnina. Čovek je biljke najpre koristio u ishrani, a kasnije i za lečenje. Kroz istoriju čovečanstva, biljke su dobijale sve veći značaj kao izvor biološki aktivnih supstanci i lekova.

Lekovito bilje je najstariji lek i prvobitna sirovina za izradu raznih preparata koji su ublažavali ili lečili razne bolesti. Kao što svaki narod ima svoju istorijsku, etničku, kulturnu, političku i drugu baštinu, ima i svoju tradiciju u korišćenju hranljivih i lekovitih svojstava bilja sa svog područja.

Upotreba lekovitog bilja u medicini opisana je još u drevnim spisima starih civilizacija Kine, Indije i Starog Egipta. Kolevka biljne medicine je Kina, a poznato je da su stari Vavilonci pre 5000 godina spravljali biljne tablete u kombinaciji sa glinom 600 godina p.n.e. Pitagora je svoje učenike podučavao o načinima lečenja uz pomoć lekovitog bilja.

U kozmetičke svrhe biljke su u upotrebi već 7000 godina. Rimski lekar Galen, zapisao je recept biljne kreme za lice, još pre 1800 godina, koji i danas čini osnovu svih savremenih krema.

U drevnim spisima su detaljno opisani praškovi, pilule, ekstrakti i svi drugi farmaceutski oblici koji se koriste i danas. Najviše su korišćeni žalfija, majoran, nana, luk, ren, pelin, u kombinaciji sa medom, a često i opojne droge. Daljim razvojem, u kulturama stare Grčke i Rima, fitofarmacija se oslobađa misticizma. Arapi znatno unapređuju medicinu i fitofarmaciju kada 850. godine izdaju kodeks "Krabadin", što se smatra prvom zvaničnom farmakopejom u svetu. Neki farmakokinetičari kinesku knjigu o korenju i travama „Pen Tsao”, autora Shen Nunga (2900 godina p.n.e.) smatraju najstarijom farmakopejom na svetu i ona obuhvata opis 365 biljnih droga, od kojih se mnoge i danas upotrebljavaju.

U Evropi prve tragove nalazimo u Velikoj Britaniji dolaskom Saksonaca. I stari Sloveni poznavali su lekovita svojstva meda i pravili su medovinu. U Srbiji je Sveti Sava pisao o lečenju i napisao "Tipke" za Hilandar i Studenicu, kojima je između ostalog dao i odredbe o uređenju manastirskih bolnica. Zaharije Stefanović Orfelin ( 1726 – 1785 ), pisac i lekar, prvi je opisao lekovito bilje naših proizvoda. Njegova knjiga "Veliki srpski travar" opisuje preko 500 biljaka koje se koriste za lečenje. Doktor Sava Petrović 1883. godine napisao je knjigu "Lekovito bilje u Srbiji" i sa dr Josifom Pančićem stvorio osnovu naše botanike i fitoterapije. (*Stojčevski, 2011*)

Tradicionalna medicina tvrdi da lekovite biljke mogu da izleče sve bolesti samo ako se pravilno upotrebe. One oduvek pobuđuju veliko interesovanje. Rastu svuda oko nas, lako se uzgajaju i prerađuju, ne zagađuju i nisu opasne za okolinu, a što je najvažnije - mnogo

manje štete od mnogih sintetičkih sastojaka, koje nalazimo u skoro svim lekovima, kozmetičkim preparatima i hrani.

Može se reći da je u prirodi sve jestivo i lekovito, samo moramo znati nekoliko osnovnih činjenica i odgovore na sledeća pitanja – koja biljna vrsta, koji biljni organ, u koje vreme, u kom obliku i količini? Stalnim pronalaženjem novih lekovitih materija koji se nalaze u biljkama i stalnim traganjem za novim izvorima hrane i novim ukusima, broj lekovitih biljaka koje se koriste se povećava.

Grupa lekovitog bilja obuhvata oko 1700 vrsta koje spadaju u oko 90 botaničkih familija. Među njima oko 50 su u redovnoj proizvodnji, dok se ostale nalaze u divljoj formi. I jedne i druge se koriste kao sirovine za proizvodnju lekova, začina, u kozmetičkoj industriji, u ishrani, prave se čajevi, tinkture, melemi itd. Lekovite, aromatične i začinske biljke su biljke koje svojim hemijskim sastavom utiču na lečenje pojedinih bolesti, poboljšavaju ukus i miris jela, a njihova eterična ulja se često koriste u kozmetičkim proizvodima. Lekovito bilje zauzima veoma značajno mesto kako u ishrani tako i u lečenju ljudi. Svaki treći lekoviti preparat koji se koristi u savremenoj medicini je izolovan iz sirovina biljnog porekla.

Broj biljaka koje su do danas hemijski ispitane čini samo 10%, od ukupno 250.000 vrsta na planeti, zbog čega se može zaključiti da biljni svet i dalje predstavlja nepresušan i još nedovoljno istražen resurs biološki i farmakološki aktivnih jedinjenja.

Tokom XX veka, razvojem farmaceutske industrije došlo je do pada interesovanja za prirodne proizvode. Kako su očekivanja ovih istraživanja precenjena, u poslednjih nekoliko godina svetska naučna javnost ponovo se usmerava na istraživanja prirodnih molekula kao novih lekova i primenu fitoterapije. Pored neospornog značaja za farmaceutsku industriju, prirodni proizvodi biljaka nalaze široku primenu u proizvodnji dijetetskih suplemenata i funkcionalne hrane, koja pored zadovoljavajućih nutritivnih svojstava ispoljava i određene farmakološke i fiziološke efekte na ljudsko zdravlje.

Međutim, biljke pored lekovitih svojstava koje ispoljavaju, mogu imati i toksično dejstvo na čoveka. Toksično delovanje se javlja kao posledica velike koncentracije kako esencijalnih tako i neesencijalnih metala, koji se mogu naći u biljci, pa indirektnim putem završavaju u ljudskom organizmu. Prisustvo velikog broja esencijalnih i neesencijalnih metala u ljudskom organizmu je prevashodno posledica hrane koju konzumiramo. Iz tog razloga je neophodno praćenje sadržaja metala u različitim proizvodima koje svakodnevno unosimo u odnosu na preporučene dnevne potrebe za ovim elementima. Pored vazduha, zemljišta i vode, na sadržaj metala u hrani mogu uticati: upotreba agrotehničkih mera, industrijski procesi obrade hranljivih namirnica, upotreba konzervanasa i aditiva, pakovanje,

skladištenje i transport gotovih proizvoda. Veće prisustvo nekih teških toksičnih metala važan je parametar kako u proceni eventualnog štetnog uticaja tih proizvoda na zdravlje ljudi, tako i kao indikator zagađenja životne sredine.

Na osnovu pomenutih podataka, a u skladu sa svetskom tendencijom i preporukom konzumiranja zdrave hrane, unosa namirnica bogatih esencijalnim elementima i stalnog praćenja stanja životne sredine, nameće se i značaj i uloga savremenih, osetljivih, selektivnih i tačnih analitičkih metoda praćenja sadržaja metala.

Zbog toga je ispitivanje sadržaja metala do sad neispitanih biljnih vrsta i njihovih proizvoda, novim analitičkim metodama od izuzetnog naučnog i praktičnog interesa.

Cilj ovog rada je validacija novih analitičkih metoda i primena AAS metoda određivanja sadržaja metala u uzorcima zemljišta, lekovitog bilja (*Calendula officinalis* L., *Primula officinalis* L., *Origanum vulgare* L., *Cichorium intybus* L., *Satureja Montana* L., *Delphinidum consolida* L., *Papaver rhoeas* L., *Hypericum perforatum* L., *Prunus spinosa* L., *Crataegus laevigata* L., *Cornus mas* L., *Rosa canina* L., *Morus alba* L., *Morus rubra* L. i *Morus nigra* L., *Malva silvestris* L.), njihovim vodenim ekstraktima, etanolnim i metanolnim ekstraktima, kao i u grožđu i njegovom najpoznatijem ekstraktu – vinu, sa prostora jugoistočne Srbije.

U skladu sa postavljenim ciljevima, definisani su i zadaci:

- modifikacija i validacija postojećih analitičkih metoda za određivanje sadržaja metala;
- priprema uzoraka zemljišta, lekovitog bilja i grožđa za analizu metala;
- priprema vodenih i etanolnih ekstrakata za analizu metala;
- određivanje sadržaja metala metodom atomske apsorpcione spektrometrije;
- izračunavanje indeksa zdravstvenog rizika metala od kontaminiranih biljaka
- korelaciona analiza između sadržaja metala u zemljištu, lekovitom bilju i njihovim ekstraktima (PCA, Analyses of Correlations among the Evaluated Parameters).



## **2. TEORIJSKI DEO**

## 2.1. Atomska apsorpciona spektrometrija

Atomska apsorpciona spektrometrija je apsorpciona metoda koja meri smanjenje intenziteta monohromatskog zračenja pri prolasku kroz atomsku paru uzorka. Atomi nekog elementa apsorbovaće samo onu energiju koja im omogućava prelaz sa nižeg na više energetska stanje. Kako su ovi prelazi kvantirani, apsorbovana energija je strogo selektivna i zavisi od vrste ispitivanih atoma. Zbog toga je AAS danas veoma korišćena optička metoda, a razvojem elektromagnetne atomizacije postala je i jedna od najosetljivijih metoda elementarne analize zajedno sa MS i ICP.

Iako je fenomen atomske apsorpcije poznat još od 19. veka, on je korišćen samo u astrofizici. Tek 1955. godine radovima Wollsha, Alkamada i Millazza i dr. počinje njegova primena, jer oni kao izvor zračenja uvode lampu sa šupljom katodom, koja emituje intenzivno monohromatsko zračenje.

AAS predstavlja spektrometrijsku metodu za kvantitativno određivanje elemenata koji apsorbuju u UV i VIS delu spektra. Većina elemenata u periodnom sistemu se može određivati ovom metodom. Najviše se koristi za određivanje metala u tragovima (uzorci prašine, hrane, površinskih i otpadnih voda).

Atomsku apsorpciju karakterišu linijski spektri. Linijske spektre karakteriše određena talasna dužina, jer atomi u slobodnom stanju apsorbuju odnosno emituju elektromagnetno zračenje tačno određenje talasne dužine. Kod linijskih spektara, koji su karakteristični za atome, emituje se strogo određena talasna dužina na čemu se temelji visoka selektivnost atomske apsorpcione spektrometrije.

AAS je karakterisana eksponencijalnim zakonom (Lambert–Beer–ov zakon) smanjenja intenziteta upadnog zračenja posle prolaza kroz apsorpcioni sloj koji sadrži slobodne atome ispitivanog uzorka.

$$I_{\lambda} = I_{0\lambda} \cdot e^{-kbc}$$

$I_{\lambda}$  – intenzitet zračenja talasne dužine nakon prolazka kroz apsorpcioni sloj

$I_{0\lambda}$  – intenzitet upadnog zračenja talasne dužine

$k$  – apsorpcioni koeficijent

$b$  – dužina apsorpcionog sloja

$c$  – koncentracija slobodnih atoma

Jednačina se može pisati i u obliku:

$$\log I_0 / I = A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

A – apsorbancija – signal kod spektrometrije  
 $\epsilon$  – molarni apsorpcioni koeficijent ( molarna apsorpcija )

Lambert–Beer–ov zakon daje linearnu zavisnost apsorbancije od koncentracije.

Budući da samo atomi u osnovnom stanju daju odziv, uslovi isparavanja i dekompozicije moraju biti takvi da uzrokuju minimalnu jonizaciju i maksimalnu atomizaciju.

Uvođenjem uzorka u plamen dolazi do fizičko – hemijskih procesa:

- isparavanja rastvarača i stvaranja čvrstih čestica;
- prevođenje uzorka u gasnu fazu ili direktno slobodne atome usled termičke disocijacije molekula;
- zbog visoke temperature može doći do termičke ekscitacije atoma i termičke jonizacije prisutnih atoma i molekula;
- slobodni atomi mogu da reaguju sa drugim atomima i radikalima koji su prisutni u plamenu.

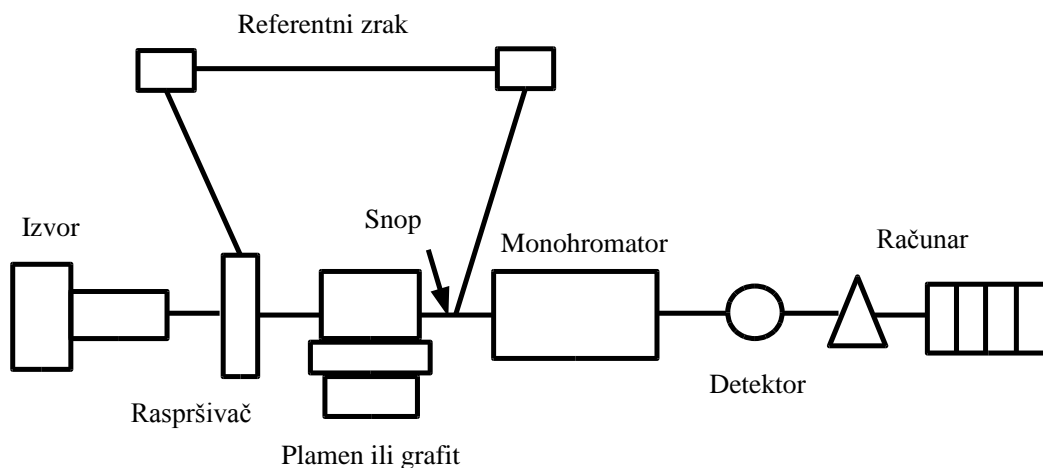
Kod AAS jedina funkcija plamena i jeste konverzija uzoraka u atomsku paru koja se zatim apsorbuje u primarni izvor svetlosti (šuplja katodna lampa)

Pet osnovnih komponenata svakog atomsko apsorpcionog instrumenta jesu:

- Izvor svetlosti koji emituje spektar ispitivanog elementa
- "Apsorpciona ćelija" – nebulajzer u kojoj se proizvode atomi uzoraka (plamen, grafitna pećnica...)
- Monohromator za disperziju svetla
- Detektor, koji meri intenzitet svetlosti i pojačava signal
- Displej na kome se očitavaju obrađeni podaci

Postoje dva osnovna tipa atomsko apsorpcionog instrumenta: jednozračni atomski apsorpcioni spektrometar (single beam) i dvozračni atomski apsorpcioni spektrometar (double beam). Atomski apsorpcioni spektrometar na kome su rađena merenja u ovom radu je dvozračni, tako da će se pažnja posvetiti njemu.

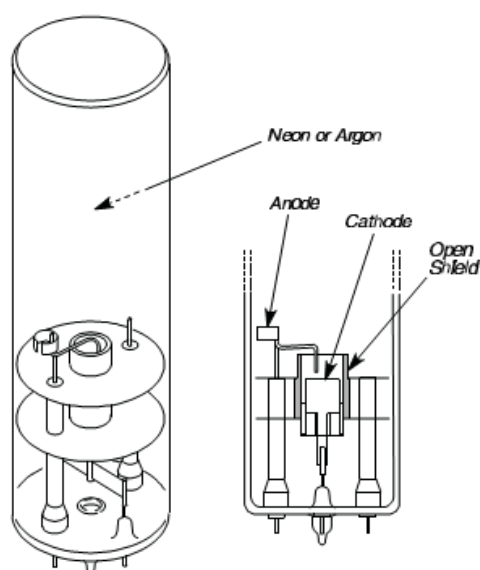
Kod double beam AAS svetlost iz lampe je podeljena na uzorak zraka koji je usmeren kroz uzorak ćelije i na referentni zrak koji prolazi oko uzorka ćelije. Kod ove vrste AAS očitavanje predstavlja odnos uzorka i referentnog snopa. Zbog toga, oscilacije u izvornom intenzitetu ne utiču na očitavanje instrumenta, i stabilnost je povećana. Takođe, analize se mogu vršiti odmah bez prethodnog zagrevanja lampi.



Slika 1. Dvoznačni atomski apsorpcioni spektrometar

### Izvori svetlosti za AAS

Pošto atomi apsorbuju svetlost na vrlo specifičnim talasnim dužinama, neophodno je da se koriste uske linije izvora koji emituje uzak spektar linije ispitivanog element. Uske linije izvori obezbeđuju visok intenzitet i čine atomsku apsorpcionu spektrometriju specifičnom analitičkom tehnikom. Glavni izvori koji se koriste za atomsku apsorpciju su šuplje katodne lampe (HCL) i "electrodeless discharge lamp" (EDL). Šuplje katodne lampe su odličan, svetao i stabilan izvor za većinu elemenata. Međutim, za neke isparljive elemente, gde su nizak intenzitet i kratak vek trajanja lampi problem, EDL lampe su dostupne. EDL lampe su obično intenzivnije od šupljih katodnih lampi, pa mogu ponuditi bolju preciznost i niže granice detekcije za neke elemente.



Slika 2. Šema šuplje katodne lampe

Katoda je šuplji cilindar izgrađen u celosti ili u delu od metala čiji spektar se proizvodi. Anoda i katoda su zapečaćene u staklenom cilindru koji je ispunjen neonom ili argonom. Cilindar ima kvarcni ili UV stakleni prozor za optimalno prolazak emitovanog zračenja. Optimalno punjenje gasa je izabrano tako da daje najbolji intenzitet uzimajući u obzir spektralne smetnje iz neona ili argona. Lampe punjene neonom emituju crvenu svetlost, a punjen argonom plavu svetlost. Šuplje katodne lampe su dostupne za više od 60 elemenata.

Etiketa na svakoj šupljoj katodnoj lampi prikazuje vrednosti jačine funkcionalne i maksimalne struje. Preporučena jačina operativne struje je vrednost koja se kroz niz merenja pokazala kao idealna za većinu analitičkih situacija. Međutim, moguće je dobiti zadovoljavajuće rezultate i ukoliko lampa radi na manjoj vrednosti od preporučenog struje. Radom pri manjoj jačini struje smanjuje se emitovanje svetlosti i stoga zahteva bolje podešavanje instrumenta. Ukoliko smanjenje jačine struje u lampi ne utiče na preciznost, to se i preporučuje jer se na taj način produžava vek trajanja lampe. Lampa nikada ne bi trebalo da radi iznad maksimalne struja, jer će se dramatično skratiti vek lampe, a i analitička osetljivost može biti lošija.

U zavisnosti od ispitivanog jedinjenja menjaju se oksidaciono – redukciona svojstva plamena.

Tabela 1. Plamen i temperatura plamena

<b>Gorivni gas</b>	<b>Oksidans</b>	<b>Temperatura ( K )</b>
Acetilen	Vazduh	2400 – 2700
Acetilen	Azot suboksid	2900 – 3100
Acetilen	Kiseonik	3300 – 3400
Vodonik	Vazduh	2300 – 2400
Vodonik	Kiseonik	2800 – 3000

Smetnje kod AAS analize – mogu da budu:

1. spektralne – zračenje koje dolazi u detektor, a nije rezultat interakcije sa analitom, pozadinsko zračenje (korekcija);

2. hemijske – uzrokovane hemijskim jedinjenjima koji se nalaze ili nastaju u plamenu i koji smanjuju broj slobodnih atoma u analitu;

3. fizičke – posledica promene fizičkih svojstava rastvora (viskoznost, gustina) uzrokovane prisustvom hemijskih jedinjenja (soli, organskih jedinjenja) što uzrokuje promenu u transportu i brzini isparavanja.



Slika 3. Atomsko apsorpcioni spektrometar VARIAN Spectraa 20

## 2.2. Validacija metoda za određivanje metala AAS metodom

Mnogo važnih odluka se donosi na osnovu rezultata kvantitativne hemijske analize. Kad god se odluke zasnivaju na analitičkim rezultatima, važno je da postoje indikacije o kvalitetu tih rezultata. Poverenje u podatke izvan sopstvene organizacije korisnika je preduslov za ostvarivanje ovog cilja.

Metod validacije je važan uslov u praksi hemijske analize. Međutim, svest o njenom značaju, zbog čega bi trebalo da se uradi i kada, šta treba da se uradi, još uvek je na niskom nivou kod većine analitičkih hemičara. Mnogo saveta vezanih za metode validacije već postoje u literaturi, ali su oni nedovoljno iskorišćeni.

U analitičkoj hemiji, u današnje vreme akcenat je stavljen na preciznost rezultata dobijenih korišćenjem određenog metoda. Zbog toga je vrlo bitno da analitičke metode budu validovane. Validacija je postupak kojim se određuje i dokumentuje prihvatljivost analitičke metode za određenu namenu. (ISO 8402:1994)

Najjednostavnija definicija validacije kaže da je to postupak kojim dokazujemo da naša metoda služi svrsi koju smo joj namenili, a najjednostavnija logika da je pre svega potrebno znati tj. definisati svrhu metode. Nakon toga se utvrđuju postupci, tj. planiraju i sprovode eksperimenti čije rezultate treba prikupiti i prikazati kao dokaze o validnosti metode. Sigurno je da se isti postupci neće primenjivati na sve metode - različito se pristupa validaciji kvantitativnih i kvalitativnih metoda. Svakoj metodi se pristupa individualno i procenjuje koji je najbolji način za prikupljanje dokaza svrhovitosti.

Validacija metode je po svojim koracima dosta bliska sa postupcima razvoja metode, pa se može reći da je nekada često teško odrediti granicu kada se završava razvoj metode, a

počinje validacija. Mnogi od parametara koji se primenjuju prilikom validacije jedne metode su u stvari procenjeni, makar i aproksimativno, kao deo postupaka za razvoj metode.

Validacija jedne metode vrši se:

- a) kada se postavlja nova metoda;
- b) kada postoji sumnja da je tokom vremena došlo do promena u postavljenoj metodi;
- c) kada se postavljena metoda koriguje ili se planira primena i u druge svrhe.

Kada se vrši validacija jedne metode, potrebno je odrediti sve njene značajne karakteristike. A to su:

- Selektivnost/specifičnost
- Linearnost
- Područje (koncentracioni opseg)
- Tačnost
- Preciznost (ponovljivost, međupreciznost, obnovljivost)
- Istinitost
- Granica detekcije
- Granica kvantifikacije
- Osetljivost
- Robustnost

Kombinacijom ovih parametara oblikuje se plan validacije za svaku metodu.

### ***Specifičnost/selektivnost***

Specifičnost/selektivnost je svojstvo metode da tačno i specifično odredi željeni analit u prisustvu ostalih komponenata u matrici uzorka pod utvrđenim uslovima ispitivanja. Iako se u praksi često poistovećuju, specifičnost i selektivnost dva su različita svojstva metode. Specifična metoda je ona kojom se može odrediti samo jedan specifični analit. Dok se metoda kojom se može određivati više komponenata istodobno, ali pod uslovom da te komponente pri određivanju ne smetaju jedna drugoj, naziva se selektivnom.

Selektivnost je nezaobilazan parametar za validaciju većine metoda. U praksi se dokazuje upoređivanjem odziva metode na referentni materijal i analit u uzorku.

Pri instrumentalnom određivanju specifična metoda daje signal koji odgovara samo odzivu analita, a selektivna je ona metoda kojom različiti sastojci smeše daju posebne signale i međusobno ne utiču na rezultat određivanja.

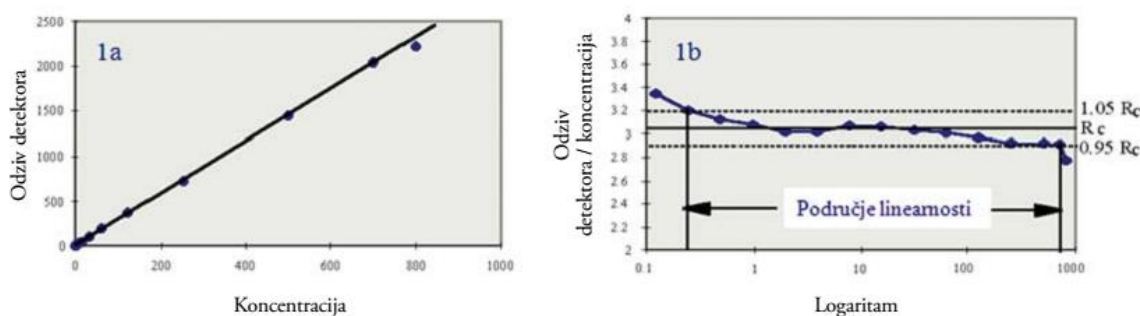
## Linearnost

Linearnost je određena kao mogućnost metode da unutar određenog područja daje ispitne rezultate proporcionalne koncentraciji analita u uzorku.

U praksi se linearnost određuje merenjem odziva metode na različite poznate koncentracije referentnog materijala (preporučuje se najmanje pet koncentracionih tačaka uz tri ponavljanja). Procenjuje se matematički i grafički. Matematički se preko linearne regresije izražava jednačina pravca ( $y = ax + b$ ) i izračuna koeficijent korelacije ( $k$ ). Nagib pravca ( $a$ ) parametar je koji ukazuje na osetljivost metode. Odsečak pravca ( $b$ ) može ukazivati na grešku. Za koeficijent korelacije uobičajeno se postavlja kriterijum  $k \geq 0,99$ . Za vrlo niske koncentracije prihvata se i kriterijum  $k \geq 0,98$ . Grafički prikazi zavisnosti signala o koncentraciji analita važni su zbog mogućnosti vizuelnog nadzora. Najčešće se upotrebljavaju dva načina grafičkog prikaza:

Grafički prikaz odstupanja od regresijskog pravca prema koncentraciji ili logaritmu koncentracije – za linearna područja odstupanja jednoliko raspoređena između pozitivnih i negativnih vrijednosti (slika 1a).

Grafički prikaz relativnih signala (odnos signala i odgovarajuće koncentracije) na osi  $y_i$  odgovarajućih koncentracija na osi  $x$  log skale. Dobijena linija treba biti vodoravna u celom linearnom području, a područje linearnosti prestaje pri koncentracijama gdje linija relativnog odziva seče paralelne linije koje odgovaraju 95% ili 105% koncentraciji (slika 4/1b).



Slika 4. Grafički prikaz odstupanja od regresijskog pravca prema koncentraciji i logaritmu koncentracije

## Područje (koncentracioni opseg)

Područje (koncentracioni opseg) je interval između najviše i najniže koncentracije analita/uzorka u kome se mogu kvantifikovati uz odgovarajuću preciznost, istinitost i



linearnost. Za određivanje tog parametra nije potrebno izvoditi posebne eksperimente, nego se zaključci izvode iz studije linearnosti.

U puno slučajeva područje je određeno svrhom metode i nema potrebe za ispitivanjem krajnjih mogućnosti metode. Naprotiv, sužavanjem područja na koncentracijski raspon uzoraka postižu se bolja tačnost i preciznost metode. Međutim, kad se očekuju uzorci sa širokim rasponom koncentracija, isplati se definisati maksimalno područje metode.

### ***Tačnost***

Tačnost analitičke metode je stepen do koga određena vrednost analita u uzorku odgovara stvarnoj/tačnoj vrednosti. Ukazuje na ukupno odstupanje rezultata od referentne vrednosti, kako zbog slučajnih tako i zbog sistematskih uticaja. Definiše se preko analize uzorka poznate koncentracije (CRM-a) sa kojom se poredi izmerena vrednost i izračunava procenat prinosa, tzv. recovery vrednost.

Tačnost predstavlja blizinu dobijenog rezultata pravoj vrednosti (*ISO 3534-1:2006*). Prilikom validacije metode, u cilju kvantifikacije tačnosti rezultata, primenjuju se kako sistematski tako i proizvoljni uticaji na rezultate tako da se tačnost određuje primenom dve komponente, pouzdanosti i preciznosti. Termin pouzdanost metode izražava koliko je srednja vrednost serije rezultata (koji su primenom metode dobijeni) blizu pravoj vrednosti. Pouzdanost se obično izražava uz pomoć termina sistematska greška.

### ***Preciznost***

Preciznost se određuje kao izraz slaganja između niza merenja izvedenih iz istog homogenog uzorka pod propisanim uslovima. U zavisnosti od uslova u kojima se određuje razlikujemo:

- preciznost pod uslovima ponovljivosti ili ponovljivost - pri čemu uslovi uključuju jednu laboratoriju, istog analitičara, istu aparaturu, kratko razdoblje;
- međupreciznost – preciznost koja se ostvaruje unutar iste laboratorije u većem razdoblju uz očekivane promene nekih uslova (različiti analitičari, instrumenti, reagensi iz različitih boca i različitih dobavljača).

Preciznost pod uslovima obnovljivosti ili obnovljivost – promenljivi uslovi uključuju različite laboratorije. Taj se parametar određuje u svrhu normiranja metode i retko je sastavni deo validacije koju provodi sama laboratorija. Eksperimentima preciznosti kvantifikuju se slučajne greške metode, a numerički je pokazatelj standardna devijacija, koeficijent varijacije ili varijansa. Kod eksperimenata međupreciznosti izuzetno su važna merenja koja se

ponavljaju u uslovima koji su što sličniji onima pri rutinskoj upotrebi metode. U slučaju rezultata koji ne zadovoljavaju treba otkriti najvažniji izvor greške i pokušati ga ukloniti. Preciznost se obično izražava pomoću standardnih devijacija.

Važno je naglasiti da se eksperimenti preciznosti rade na homogenom autentičnom uzorku, odnosno pripremljenom uzorku, a postupak se ponavlja prema metodi, upravo onako kako će se ubuduće i raditi u praksi. Najčešće se radi po tri ponavljanja na nekoliko koncentracionih nivoa koji se, naravno, poklapaju s područjem linearnosti. Kriterijumi prihvatljivosti zavise od vrste analize, matrice uzorka i koncentracije analita koji se određuje. Preciznost određuje koliko su dobijeni rezultati blizu jedan drugom, i obično se izražava merama kao što je standardna devijacija.

Praktična primena pouzdanosti se zasniva na upoređivanju srednje vrednosti dobijenih rezultata metode sa poznatim vrednostima, drugim rečima preciznost metode se ocenjuje naspram referentnih vrednosti (prave vrednosti ili dogovorom uzete prave vrednosti). Za ovaj proces koriste se dve osnovne tehnike: provera rezultata sa referentnim vrednostima odgovarajućih materijala ili upoređivanjem sa rezultatima neke odgovarajuće metode. Referentne vrednosti se vrlo lako mogu proveriti i pratiti preko različitih vrsta internacionalnih standarda.

Kao materijali čije se vrednosti mogu pratiti koriste se sertifikovani referentni materijali, pa se stoga referentna vrednost naziva sertifikovana vrednost-CRM. Prednost upotrebe CRM je njihova velika stabilnost i homogenost dok im je mana visoka cena koštanja i nemogućnost da se uvek dobro poklope sa tipom uzorka koji se određuje.

Da bi se proverila preciznost uz pomoć referentnog materijala, potrebno je odrediti srednju vrednost i standardnu devijaciju serije ponovljenih određivanja, i uporediti ih sa tačno određenom vrednošću referentnog materijala.

Jedan od načina primene referentnih materijala za validaciju metode je spajkovanje ispitivanog materijala sa čistim sertifikovanim referentnim materijalom ili drugim materijalima koji imaju zadovoljavajuću čistoću i stabilnost

### ***Istinitost***

Istinitost metode definiše se kao stepen slaganja između stvarne, tj. prihvaćene referentne vrednosti, i srednje vrednosti dobivene primenjenim postupkom određeni broj puta. Istinitost se izražava kao odstupanje od metode (eng. bias), i dobijen je kao razlika aritmetičke sredine rezultata i referentne vrednosti ili kao njihov odnos, što se posebno primenjuje kod određivanja iskorišćenja. Eksperimenti se sprovode nakon određivanja

selektivnosti, linearnosti i preciznosti, najmanje tri puta za najmanje tri koncentraciona nivoa raspoređena unutar radnog područja metode. Raspon koncentracija treba odgovarati stvarnom uzorku, ali treba uključiti i koncentraciju na granici kvantifikacije (GK) kada je ona bitna.

Istinitost metode moguće je proceniti na nekoliko načina: upoređivanjem rezultata ispitivane metode s rezultatima dobijenim referentnom metodom; analizom uzorka poznate koncentracije (CRM) i upoređivanjem dobijene vrednosti sa vrednostima ispitivane metode. Rezultati se mogu prikazati grafički kao odnos teorijske (očekivane) vrednosti prema izmerenoj koncentraciji, ali obavezno kao srednja vrednost. Relativna standardna devijacija i ovde može poslužiti kao pokazatelj preciznosti.

Istinitost metode merenja je od značaja kada je moguće pojmiti pravu vrednost za svojstvo koje se meri. Iako se za neke metode merenja prava vrednost ne može tačno znati, može se dogoditi da postoji prihvaćena vrednost za svojstvo koje se meri (npr. CRM-ovi ili ako se prihvaćena referentna vrednost može ustanoviti pozivanjem na drugu metodu merenja).

### ***Granica detekcije***

Granica detekcije ili limit detekcije (LOD) predstavlja najmanju koncentraciju ispitivane supstance u uzorku koja, pod datim eksperimentalnim uslovima, može biti registrovana (detektovana), ali nije potrebno da bude tačno i određena pod datim eksperimentalnim uslovima. LOD se određuje izračunavanjem odnosa standardne devijacije dobijenih vrednosti (SD) i nagiba kalibracione krive ( $a$ ) iz sledećeg izraza:

$$LOD = \frac{3 \times SD}{a}$$

pri čemu se SD može izračunati iz:

1. standardne devijacije vrednosti slepe probe;
2. standardne devijacije ostatka kalibracione prave i
3. standardne devijacije odsečka kalibracione prave.

### ***Granica kvantifikacije***

Granica kvantifikacije ili limit kvantifikacije (LOQ) predstavlja najmanju koncentraciju ispitivane supstance u uzorku koja, pod datim eksperimentalnim uslovima, može biti određena sa prihvatljivom preciznošću i tačnošću. LOQ se određuje izračunavanjem odnosa standardne devijacije dobijenih vrednosti (SD) i nagiba kalibracione krive ( $a$ ) iz sledećeg izraza:

$$LOQ = \frac{10 \times SD}{a}$$

pri čemu se SD može izračunati iz:

1. standardne devijacije vrednosti slepe probe;
2. standardne devijacije ostatka kalibracione prave i
3. standardne devijacije odsečka kalibracione prave.

LOQ je izuzetno važna kod metoda kojima se određuju analiti u tragovima, koji u vrlo niskim koncentracijama mogu štetno delovati na zdravlje ljudi i životnu sredinu.

### ***Osetljivost***

Osetljivost je svojstvo metode da razlikuje male količine analita, a karakteriše se nagibom kalibracione prave. Osetljivost predstavlja efektivni gradijent odgovarajuće kalibracione krive tj. ona odgovara promeni odgovora instrumenta koji je u vezi sa promenom koncentracije analita. Tamo gde je odgovor instrumenta linearno zavistan od koncentracije, tj. sa linearnim opsegom metode, osetljivost je pogodan parametar za potrebne proračune (u formuli za kvantifikaciju).

### ***Robusnost***

Robusnost se određuje kao mera otpornosti analitičkog postupka na male, namerne promene radnih uslova metode. Ispitivanje robusnosti sprovodi se kako bi se odredilo kako male promene radnih uslova metode utiču na rezultat analize. Važan su deo razvoja metode jer pomažu otkriću optimalnih uslova metode, i upućuju na to što treba kontrolisati. Tokom eksperimenta menjaju se radni uslovi unutar stvarnih granica i prati kvantitativna promena rezultata. (ISO 3534-1:2006, Lazarević, ISO 8466-1:1994)

Ako promena nekog radnog uslova ne utiče bitno na rezultat, kaže se da je on u području robusnosti metode. Uslove za koje je utvrđeno da utiču na rezultat treba držati pod nadzorom i to jasno naznačiti u opisu metode. Prema podacima o robusnosti postavljaju se parametri za ispitivanje. Pri sprovođenju validacije nije potrebno za svaku metodu odrediti sve parametre. Njihov odabir zavisi od nameni metode, kako što je to prikazano u Tabeli 2.

Razumevanje značenja pojedinih parametara i načina na koji se izvode u laboratoriji, poznavanje metode i regulatornih zahteva predstavljaju osnov za postavljanje kriterijuma prilikom validacije.

Tabela 2. Validacioni parametri potrebni za validaciju analitičkih metoda različitih nameta

Parametar	Identifikacioni testovi	Analiza tragova		Sadržaj
		kvantitativna	Limit test	
Istinitost	Ne	Da	Ne	Da
Preciznost				
Ponovljivost	Ne	Da	Ne	Da
Međupreciznost	Ne	Da	Ne	Da
Selektivnost	Da	Da	Da	Da
LOD	Ne	Ne	Da	Ne
LOQ	Ne	Da	Ne	Ne
Linearnost	Ne	Da	Ne	Da
Područje	Ne	Da	Ne	Da

Prema: ICH Harmonised Tripartite Guideline – Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2(R1)

U cilju dobro izvedene validacije, neophodno je:

- primeniti standardni radni postupak, uz specifičan i detaljan opis protokola odabrane metode;
- ispitati kako matriks i procesne varijable utiču na svaki korak primenjenog analitičkog sistema, počevši od uzorkovanja pa do procene rezultata;
- nastojati da matriks bude isti pri validaciji i pri analizi realnog uzorka;
- definisati tip kalibracije koji će se koristiti pa na osnovu toga uzeti dovoljan broj standarda za određivanje kalibracione krive, pri čemu dobijeni odnos mora biti linearan i reproduktivan;
- tačnost i preciznost odrediti barem za tri koncentracije analita, i to obično najnižu, najvišu i srednju vrednost sa kalibracione prave;
- granicu kvantifikacije odrediti sa najmanje tri ponovljena merenja;
- sertifikovani referentni materijal po sastavu mora biti što sličniji matriksu, što se naziva prilagođavanje standarda matriksu;
- kao mera preciznosti potrebno je koristiti relativno standardno odstupanje, čija vrednost, npr. pri određivanju tragova analita, ne bi smela da bude viša od  $\pm 15\%$ , osim u blizini kvantifikacije, kada se dopušta da ona bude do  $\pm 20\%$ .

Od vrste analize odnosno samog analitičkog sistema zavisi koje će se karakteristike validacije neke metode određivati. Kada je reč o kvalitativnoj analizi ili o indentifikaciji analita, neophodna je potvrda indentiteta tj. sigurnost da odziv instrumenta potiče od analita, a ne od neke komponente koja je fizički i hemijski slična ispitivanom analitu. U tom cilju

treba odrediti specifičnost, odnosno selektivnost izabrane metode. Određuje se i granica do koje je specifičnost pouzdana, a koja se menja za različite reagense. Za kvantitativna određivanja pravila su nešto drugačija. Pri validaciji nove metode određuje se obavezno tačnost, ponovljivost, reproduktivnost, selektivnost, granica kvantitativnosti i linearnost. Za modifikovanu metodu dovoljno je odrediti tačnost i preciznost, a ponekad i granicu kvantitativnosti. Pri određivanju makroelemenata potrebno je ispitati radno područje i linearnost, a za određivanje mikroelemenata najvažnije je određivanje granice detekcije i kvantitativnosti. Ako je analit prisutan u više hemijskih oblika, zahteva se potvrda indentiteta i iskoristivosti, a kada se sumnja na interferencije, treba odrediti specifičnost i selektivnost metode. Kod analiza kod kojih se zahteva velika tačnost i preciznost dobro je ispitati sve karakteristike, sa naglaskom na određivanju tačnosti, ponovljivosti, reproduktivnosti i iskoristivosti. (SRPS ISO 5725-1:2007, SRPS ISO 5725-2:2007, SRPS ISO 5725-3:2007, SRPS ISO 5725-4:2007, ISO 5725-1-6/1994, EA-4/02, EA-2/05, EA-4/16, Zogović i Matović, 2006)

### **2.2.1. Analiza varijanse (ANOVA)**

Analiza varijanse (ANOVA) je analitički model za testiranje značajnosti razlike i koristi se kada imamo više od dve grupe ispitanika. Prednost ove metode se ogleda u tome što u model ulaze u obzir svi varijabiliteti, kao i njihov međusobni uticaj, što je nemoguće proceniti na drugi način.

Prema broju faktora koji deluju na rezultujuće obeležje, analiza varijanse može biti:

- jednofaktorska ( jednosmerna )
- dvofaktorska ( dvosmerna )
- i višefaktorska.

U odnosu na samu prirodu rezultujućeg obeležja, analiza varijanse može biti parametarska i neparametarska.

Kod jednofaktorskih ANOVA razlikujemo:

1. parametarsku tj. za numeričke parametarske podatke
2. neparametarsku analizu u okviru koje postoje : Kruskal-Wallis -ov model i model za atributivna obeležja tj. proporcije.

Kod dvofaktorskih ANOVA postoji takođe parametarska analiza i više neparametarskih: Friedman-ov test, Kohran-ov test i model za atributivna obeležja. Neparametarski model analize varijanse za atributivna obeležja je po autoru model Plohinskog.

Prilikom izbora modela treba voditi računa o prirodi posmatranog obeležja, samim jedinicama posmatranja kao i o karakteristikama samog modela, da bi se na najbolji način zadovoljili postavljeni ciljevi i omogućilo da pomoću prikupljenih podataka dođemo do validnih rezultata.

U statističkim testovima često se sreće pojam nulta hipoteza ( $H_0$ ). Nulta hipoteza  $H_0$  predstavlja tvrdnju o vrednosti nekog parametra osnovnog skupa koja se testira. Cilj je da se ta pretpostavka statistički potvrdi ili ospori.

Polazna hipoteza se proverava izvođenjem F testa. F raspodela je specijalni slučaj Fišerove raspodele. Veličina F, koja predstavlja odnos varijansi dva uzorka od po  $n_1$  i  $n_2$  elementa, pri čemu svaka populacija ima normalnu distribuciju i uz uslov da je  $F > 1$ , ima vrednosti od 0 do  $+\infty$  i pripada distribuciji koja zavisi od dva stepena slobode:

$$V_1 = n_1 - 1 \text{ i } V_2 = n_2 - 1$$

Raspodela je nazvana F distribucija i njena funkcija gustine verovatnoće izražava se kao:

$$f(F) = CF^{\frac{1}{2}(v_1 - 2)} (v_1 + v_2 F)^{-\frac{1}{2}(v_1 + v_2)}$$

Kriva gustine verovatnoće je pozitivno asimetrična, polazi iz koordinatnog početka, dostiže svoj maksimum za  $M_0$  a zatim se asimptotski približava F osi:

$$M_0 = (V_1 - 2V_2)/(V_2 + 2V_1)$$

F test se primenjuje radi provere preciznosti u uslovima reproduktivnosti za određeno ispitivanje, ali i za poređenje preciznosti različitih metoda ispitivanja (npr. interna metoda ispitivanja u odnosu na standardnu).

Upoređuju se vrednosti standardne devijacije za dve serije merenja  $s_1$  i  $s_2$  (njihove varijance). Izračuna se F vrednost:  $F_{v_1, v_2} = \frac{s_1^2}{s_2^2}$

Dobijene vrednosti se porede sa tabličnim vrednostima kritične vrednosti F za broj stepeni slobode  $v_1$  i  $v_2$ , (Tabela 3). Za vrednost  $v_1$  i  $v_2$  kojih nema u tabeli vrednost se utvrđuje interpolacijom.

Izračunata F-vrednost upoređuje se sa kritičnom vrednošću; ukoliko je  $F_{izr} > F_{krit}$  nulta hipoteza se odbacuje sa nivoom rizika manjim od 5% ( $p < 0,05$ ), tj. svi uzorci ne potiču iz iste populacije; ukoliko je  $F_{izr} < F_{krit}$  nulta hipoteza se zadržava sa nivoom rizika većim od 5% ( $p > 0,05$ ), tj. uzorci potiču iz iste populacije. Pošto je izračunata vrednost parametra F veća od kritične, nulta hipoteza se odbacuje, tj. srednje vrednosti uzoraka se značajno razlikuju. Utvrđivanje seta rezultata koji uslovljava odstupanja vrši se tako što se srednje

vrednosti poređaju u rastući niz i upoređuju razlike susednih vrednosti sa najmanjom značajnom razlikom (Davis, 2002)

Tabela 3. Kritične vrednosti parametra F za jednosmerni test (P=0,05)

v <sub>2</sub>	v <sub>1</sub>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5	241,9	243,9	245,9	248,0
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38	19,40	19,41	19,43	19,45
3	10,13	9,552	9,277	9,117	9,013	8,941	8,887	8,845	8,812	8,786	8,745	8,703	8,660
4	7,709	6,944	6,591	6,388	6,256	6,163	6,094	6,041	5,999	5,964	5,912	5,858	5,803
5	6,608	5,786	5,409	5,192	5,050	4,950	4,876	4,818	4,772	4,735	4,678	4,619	4,558
6	5,987	5,143	4,757	4,534	4,387	4,284	4,207	4,147	4,099	4,060	4,000	3,938	3,874
7	5,591	4,737	4,347	4,120	3,972	3,866	3,787	3,726	3,677	3,637	3,575	3,511	3,445
8	5,318	4,459	4,066	3,838	3,687	3,581	3,500	3,438	3,388	3,347	3,284	3,218	3,150
9	5,117	4,256	3,863	3,633	3,482	3,374	3,293	3,230	3,179	3,137	3,073	3,006	2,936
10	4,965	4,103	3,708	3,478	3,326	3,217	3,135	3,072	3,020	2,978	2,913	2,845	2,774
11	4,844	3,982	3,587	3,357	3,204	3,095	3,012	2,948	2,896	2,854	2,788	2,719	2,646
12	4,747	3,885	3,490	3,259	3,106	2,996	2,913	2,849	2,796	2,753	2,687	2,617	2,544
13	4,667	3,806	3,411	3,179	3,025	2,915	2,832	2,767	2,714	2,671	2,604	2,533	2,459
14	4,600	3,739	3,344	3,112	2,958	2,848	2,764	2,699	2,646	2,602	2,534	2,463	2,388
15	4,543	3,682	3,287	3,056	2,901	2,790	2,707	2,641	2,588	2,544	2,475	2,403	2,328
16	4,494	3,634	3,239	3,007	2,852	2,741	2,657	2,591	2,538	2,494	2,425	2,352	2,276
17	4,451	3,592	3,197	2,965	2,810	2,699	2,614	2,548	2,494	2,450	2,381	2,308	2,230
18	4,414	3,555	3,160	2,928	2,773	2,661	2,577	2,510	2,456	2,412	2,342	2,269	2,191
19	4,381	3,522	3,127	2,895	2,740	2,628	2,544	2,477	2,423	2,378	2,308	2,234	2,155
20	4,351	3,493	3,098	2,866	2,711	2,599	2,514	2,447	2,393	2,348	2,278	2,203	2,124

V<sub>1</sub> – broj stepeni slobode brojioaca; V<sub>2</sub> – broj stepeni slobode imenioca

Tabela 4. Kritične vrednosti parametra F za dvosmerni test (P=0,05)

v <sub>2</sub>	v <sub>1</sub>												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647,8	799,5	864,2	899,6	921,8	937,1	948,2	956,7	963,3	968,6	976,7	984,9	993,1
2	38,51	39,00	39,17	39,25	39,30	39,33	39,36	39,37	39,39	39,40	39,41	39,43	39,45
3	17,44	16,040	15,440	15,100	14,880	14,730	14,620	14,540	14,470	14,420	14,340	14,250	14,170
4	12,220	10,650	9,979	9,605	9,364	9,197	9,074	8,980	8,905	8,844	8,751	8,657	8,560
5	10,010	8,434	7,764	7,388	7,146	6,978	6,853	6,757	6,681	6,619	6,525	6,428	6,329
6	8,813	7,260	6,599	6,227	5,988	5,820	5,695	5,600	5,523	5,461	5,366	5,269	5,168
7	8,073	6,542	5,890	5,523	5,285	5,119	4,995	4,899	4,823	4,761	4,666	4,568	4,467
8	7,571	6,059	5,416	5,053	4,817	4,652	4,529	4,433	4,357	4,295	4,200	4,101	3,999
9	7,209	5,715	5,078	4,718	4,484	4,320	4,197	4,102	4,026	3,964	3,868	3,769	3,667
10	6,937	5,456	4,826	4,468	4,236	4,072	3,950	3,855	3,779	3,717	3,621	3,522	3,419
11	6,724	5,256	4,630	4,275	4,044	3,881	3,759	3,664	3,588	3,526	3,430	3,330	3,226
12	6,554	5,096	4,474	4,121	3,891	3,728	3,607	3,512	3,436	3,374	3,277	3,177	3,073
13	6,414	4,965	4,347	3,996	3,767	3,604	3,483	3,388	3,312	3,250	3,153	3,053	2,948
14	6,298	4,857	4,242	3,892	3,663	3,501	3,380	3,285	3,209	3,147	3,050	2,949	2,844
15	6,200	4,765	4,153	3,804	3,576	3,415	3,293	3,199	3,123	3,060	2,963	2,862	2,756
16	6,115	4,687	4,077	3,729	3,502	3,341	3,219	3,125	3,049	2,986	2,889	2,788	2,681
17	6,042	4,619	4,011	3,665	3,438	3,277	3,156	3,061	2,985	2,922	2,825	2,723	2,616
18	5,978	4,560	3,954	3,608	3,382	3,221	3,100	3,005	2,929	2,866	2,769	2,667	2,559
19	5,922	4,508	3,903	3,559	3,333	3,172	3,051	2,956	2,880	2,817	2,720	2,617	2,509
20	5,871	4,461	3,859	3,515	3,289	3,128	3,007	2,913	2,837	2,774	2,676	2,573	2,464

Najčešće upotrebljavan parametrijski test značajnosti za testiranje nulte hipoteze je Studentov t-test. Koristi se za testiranje značajnosti razlika između dve aritmetičke sredine.

Uslovi za primenu t testa:



- Obe varijable koje se testiraju moraju biti numeričke;
- Ukoliko je veličina uzorka manja od 30 jedinica, raspored treba biti normalan ili bar simetričan.

Za njegovo realizovanje potrebno je poznavati parametre statističkog skupa: veličinu uzorka ( $n$ ), standardnu devijaciju ( $SD$ ), i aritmetičku sredinu ( $x$ ). Ako je izračunata vrednost statističkog test ( $t$  ili  $F$  vrednost) manja od granične tablične vrednosti za odgovarajući broj stepena slobode i prag značajnosti, nulta hipoteza se prihvata kao tačna, a odbacuje alternativna hipoteza.

Tako na primer:

$t_{izr} < t_{(krit i 0,05)}$  nulta hipoteza  $H_0$  se ne odbacuje jer je rizik veći od 5% ( $p > 0,05$ )

Obrnuto, ako je izračunata  $t$ -vrednost jednaka ili veća od granične tablične vrednosti, za odgovarajući broj stepena slobode i prag značajnosti, nulta hipoteza se odbacuje kao netačna, a prihvata se alternativna hipoteza:

- $t_{izr} \geq t_{(krit i 0,05)}$ , odbacuje se nulta hipoteza za nivo rizika  $p=0,05$ , odnosno za nivo sigurnosti  $P=0,95$  (95%)
- $t_{izr} \geq t_{(krit i 0,01)}$ , odbacuje se  $H_0$  i za nivo rizika  $p=0,01$ , odnosno za nivo sigurnosti  $P=0,99$  (99%).

Tabela 5. Kritične vrednosti parametra  $t$  za određeni nivo poverenja i broj stepeni slobode

Broj stepeni slobode $v$	Nivo poverenja / Nivo značajnosti			
	90% 0,1	95% 0,05	98% 0,02	99% 0,01
1	6,31	12,71	31,82	63,66
2	2,92	4,30	6,96	9,92
3	2,35	3,18	4,54	5,84
4	2,13	2,78	3,75	4,60
5	2,02	2,57	3,36	4,03
6	1,94	2,45	3,14	3,71
7	1,89	2,36	3,00	3,50
8	1,86	2,31	2,90	3,36
9	1,83	2,26	2,82	3,25
10	1,81	2,23	2,76	3,17
12	1,78	2,18	2,68	3,05
14	1,76	2,14	2,62	2,98
16	1,75	2,12	2,58	2,92
18	1,73	2,10	2,55	2,88
20	1,72	2,09	2,53	2,85
30	1,70	2,04	2,46	2,75
50	1,68	2,01	2,40	2,68
$\infty$	1,64	1,96	2,33	2,58

### 2.2.2. Analiza glavnih komponenti (PCA — *Principal Component Analysis*)

Analiza glavnih komponenti (PCA — *Principal Component Analysis*) vrlo je široko korišćen postupak za analizu podataka. Omogućuje jednostavnu, neparametarsku metodu izlučivanja bitne informacije i značaja iz skupova podataka upotrebom rešenja iz linearne algebre. Područja upotrebe su vrlo raznolika (medicina, kompresija podataka, kompjuterske igre itd.). Zbog svojstava koje poseduje, PCA metoda nalazi vrlo veliku primenu i u području raspoznavanja uzoraka, posebno u kombinaciji s Fisherovom višestrukom diskriminantnom analizom.

Matematički gledano, postupak analize glavnih komponenti traži novi koordinatni sastav s manje koordinatnih osa kako bi predstavio podatke uz što manji gubitak informacije. Drugim rečima, omogućuje učinkovitu redukciju dimenzionalnosti podataka. To je vrlo korisna stvar u praktičnim situacijama gde je često nepogodno rukovati uzorcima u prostoru izvorne dimenzionalnosti. (*Markuš, 2011*)

Ovu tehniku je prvi put opisao Karl Pearson 1901. godine. Iako je vršio izračunavanja sa samo dve ili tri varijable Pearson je verovao da se analiza glavnih komponenti može upotrebiti i za rešavanje problema sa puno više promenljivih. Opis izračunavanja je dat mnogo kasnije od strane Hotelling-a, 1933. godine. (*Armitage i sar, 1994*)

Međutim, i dalje su izračunavanja bila previše komplikovana i zamorna kada bi trebalo napraviti analizu sa većim brojem varijabli. Široka upotreba analize glavnih komponenti je usledila zapravo tek sa pojavom računara.

Analiza glavnih komponenti predstavlja jednu od najjednostavnih multivarijantnih tehnika. Ona se primenjuje kada je velik broj varijabli u skupu redundantan, odnosno kada se više varijabli odnosi na istu dimenziju i kada ne pružaju nikakvu dodatnu informaciju koja već nije obuhvaćena nekom drugom varijablom. Geometrijski gledano, to znači da na prostoru od  $k$  dimenzija imamo  $p$  varijabli pri čemu je  $k < p$ . Očekuje se da će  $k$  najvećih glavnih komponenti biti dovoljno da objasni varijabilitet podataka u skupu.

Cilj analize je da se uzme  $p$  varijabli ( $X_1, X_2, \dots, X_p$ ) i da se pronađe kombinacija istih da bi se izračunale nove varijable ( $Z_1, Z_2, \dots, Z_p$ ) koje međusobno nisu u korelaciji i koje će opisivati varijacije podataka. Nepostojanje korelacije znači da nove varijable mere međusobno različite „dimenzije“ podataka i njihove varijanse su poredane u opadajući niz ( $\text{Var}(Z_1) \geq \text{Var}(Z_2) \geq \dots \geq \text{Var}(Z_p)$ ).

Promenljive  $Z$  predstavljaju zapravo glavne komponente. Kada se radi analiza glavnih komponenti, želja je da varijanse većine promenljivih  $Z$  budu toliko male da su zanemarljive.

U tom slučaju, veći deo varijacija originalnih podataka se može adekvatno opisati sa svega nekoliko glavnih komponenti, čime se postiže određeni stepen uštede.

Analiza glavnih komponenti ne uspeva uvek u tome da veliki broj originalnih varijabli  $X$  smanji na mali broj izvedenih varijabli  $Z$ . Ako originalne varijable nisu u korelaciji, analiza neće postići nikakav rezultat. Najbolji rezultati se postižu kada su originalne varijable u visokoj korelaciji, bilo pozitivnoj ili negativnoj. Ako postoji takav slučaj, onda se može očekivati da će se skup od 20 originalnih varijabli redukovati na svega dve ili tri glavne komponente. Pored toga, korisna će biti i činjenica da je otkriven visok stepen redundantnosti kod originalnih varijabli. Izvedena promenljiva  $Z$  predstavlja zapravo prosek standardizovanih vrednosti obeležja originalnih promenljivih i može se posmatrati kao indeks.

Analiza glavne komponente tehnika bez supervizije, redukuje dimenzionalnost originalne matrice podataka održavajući maksimalnu količinu varijabilnosti. Dozvoljava vezu između varijabli, kao i prepoznavanje strukture podataka. PCA ima korisnu primenu za procenu kvaliteta vode: površinskih (*Kannel i sar, 2007; Ouyang, 2005; Simeonov i sar, 2003; Kowalkowski i sar, 2006*), podzemnih voda (*Marengo i sar, 2008*), vode za piće i morske vode (*Ruggieri i sar, 2011; Astel i sar, 2006; Stanimirova i sar, 2007*). PCA takođe ima značajnu ulogu za analizu biomaterijala i hrane. (*Razic i sar, 2005; Przybylowicz i sar, 2012*)

CA klasifikuje objekte (slučajeve) u klase (klastere), tako da je svaki objekat sličan drugima unutar klase ali različit od onih u drugim klasama u odnosu na prethodno određen selekcionni kriterijum. Hijerarhijsko aglomerativno klastiranje je najčešći prilaz tipično ilustrovan dendrogramom. CA koja koristi Ward-ovu metodu se smatra vrlo efikasnom metodom i primenjena je na standardizovane podatke iz literature. (*Kowalkowski i sar, 2006 ; Ruggieri i sar, 2011; Varol i sar, 2012*)

### **2.3. Teški metali**

Pojam teški metali obuhvata metale sa specifičnom gustinom većom od  $5 \text{ g/cm}^3$ . Neki teški metali su u vidu elemenata u tragu neophodni - esencijalni za mnogobrojne funkcije u ljudskom organizmu, a njihov manjak dovodi do pojave ozbiljnih simptoma bolesti i nedostataka u metabolizmu. Povećana koncentracija u organizmu je nepoželjna i opasna. Najčešće je pitanje toksičnosti zapravo samo pitanje količine, a ovaj raspon veoma varira kod svakog pojedinog elementa. Akumulacija ovih elemenata u masnim ćelijama, kostima,

žlezdama s unutrašnjim lučenjem, mozgu, dlakama ili u centralnom nervnom sistemu, učestalo rezultira štetnim zdravstvenim posledicama, a neretko teškim bolestima. Svetska zdravstvena organizacija (WHO) je izradila opsežne studije koje su razmatrale i ukazale na opasne efekte teških metala na zdravlje ljudi.

Teški metali mogu u vidu finih čestica prašine dospeti u atmosferu, odakle se talože u vodama i tlu. U vodama se brzo razređuju i talože kao teško rastvorljivi karbonati, sulfati ili sulfidi na dnu vodenih površina. Kada se apsorpcijski kapacitet sedimenata iscrpi, raste koncentracija metalnih jona u vodi.

Kruženje teških metala u prirodi veoma zavisi od promena kojima ovi metali podležu. Koncentracija ovih jedinjenja u njima nepovoljnim uslovima (van minerala zemljišta) je antropološkog porekla i rezultat su industrijskog zagađenja. Povećane koncentracije se javljaju u industrijskim proizvodima (deterdženti, baterije, aditivi hrane i sl.) ili su rezultat tehnološkog procesa (izgaranje goriva, topionice, galvanizacija i dr.).

Teški metali se u vazduhu mogu nalaziti u obliku čestica (aerosola) i gasova. Vreme zadržavanja u atmosferi zavisi od veličine čestica. Što su čestice manje duže će se zadržati u atmosferi. Veće čestice iz industrijskih i urbanih izvora imaju uglavnom kratko vreme zadržavanja, obično oko 10 sati. Ukoliko se radi o sitnijim česticama koje mogu dospeti u stratosferu, vreme zadržavanja može biti i više od godinu dana. Prosečno vreme zadržavanja aerosola u troposferu iznosi od 6 do 12 dana. Ovo je dovoljno vreme da se čestice metala transportuju daleko od izvora emisije i na taj način ugroze veća područja. Glavni izvori za emisiju teških metala su sagorevanje fosilnih goriva, rudnici, topionice, livnice i druge grane industrije. Pored toga postoje i prirodni izvori, npr. vulkani ili raspadanje stena.

Kiselina sredina uzrokuje pojavu jonskih oblika metala u tlu, koji su pokretni i dostupni biljkama. To znači da u kiselom zemljištu postoji mogućnost kontaminacije biljaka teškim metalima. Kod neutralne ili blago alkalne pH vrednosti tla, teški metali prelaze u hidrokside (npr.  $Zn(OH)^+$  ili  $Cu(OH)^+$ ) da bi sa povećanjem pH vrednosti prešli u nerastvorne hidrokside i okside. Znači da se teški metali imobiliziraju u alkalnoj sredini. Takođe, ako je povišen sadržaj karbonata u tlu, teški metali se inaktiviraju tj. prelaze u oblik teško pristupačan biljci. Sadržaj pristupačnih oblika neorganskih i organskih polutanata u tlu je promenljiv i prvenstveno zavisi od matičnog supstrata, pH vrednosti, sadržaja organske mase u tlu,  $CaCO_3$ , teksture i dr. (*Elaborat o zaštiti zemljišta, 2010*)

Korišćenjem biljaka zbog njihovih lekovitih svojstava, lako se mogu uneti u organizam i teški metali. Neki metali pronađeni u ljudskom organizmu mogu biti esencijalni za njega. Npr. normalne količine gvožđa sprečavaju nastanak anemije, dok je cink kofaktor u

preko 100 enzimskih reakcija. Ovi metali se pojavljuju u niskim koncentracijama i vrlo često se nazivaju retkim metalima. U velikim količinama, mogu da budu toksični za čoveka ili mogu da prouzrokuju nedostatak nekih drugih metala.

Više je razloga zašto se još uvek pouzdano ne zna tačan broj esencijalnih metala koji su kod ljudi indentifikovani. Jedan od razloga su analitičke poteškoće prilikom određivanja niskih koncentracija, tačnije jako niskih nivoa u kojima su ovi elementi obično prisutni. Takođe, način njihove klasifikacije predstavlja problem prilikom određivanja broja esencijalnih elemenata. (*Nicholas, 1961*)

Mnogi autori su predložili veliki broj različitih definicija o esencijalnosti elemenata. Jedna od najprostijih je ta da je esencijalni element "metabolički ili funkcionalni nutrijent" (*Mertz, 1981*). Jedna od složenijih definicija je ta da je esencijalni element onaj element koji je neophodan za održavanje života, i da njegov nedostatak može dovesti do narušavanja funkcija od optimalnih do suboptimalnih vrednosti (*Mertz, 1981*). Narušavanje funkcija može dovesti do pojave bolesti, metaboličkih anomalija ili do razvoja određenih poremećaja (*Da Silva, 2001*). Da bi se smatrao esencijalnim jedan element mora:

1. da bude prisutan u zdravom tkivu,
2. da njegova koncentracija bude relativno konstantna kod različitih organizama,
3. da njegov nedostatak izaziva tačno određenu biohemijsku promenu,
4. da ta promena dovodi do sličnih abnormalnosti kod različitih vrsta,
5. da njegov unos dovodi do korekcije izazvanih abnormalnosti (*Cotzias, 1967*).

Kada se govori o svojstvima i biološkoj ulozi esencijalnih elemenata u tragovima važno je reći da oni čine manje od 0,1% totalnog sastava ljudskog tela. Četiri nemetala: vodonik, kiseonik, ugljenik i azot čine 99% sadržaja ne samo ljudskog, nego i svih bioloških sistema. Ostalih sedam elemenata, koji se nazivaju glavnim elementima: natrijum, kalijum, kalcijum, magnezijum, fosfor, sumpor i hlor čine preostalih 0,9% tako da esencijalni metali u tragovima dele tih preostalih 0,1% sa svim ostalim elementima, kako metalima tako i nemetalima (*Szefer, 2006*).

Ovi metali služe za odvijanje različitih funkcija metabolizma. Različite okolnosti mogu da dovedu do različitih problema u organizmu: kompetitivne inhibicije toksičnih elemenata, loše apsorpcije, loše digestije itd. Uspostavljanje optimalne digestivne funkcije može biti veoma bitan aspekt u osnovnoj ishrani.

Teški metali su veoma stabilni i bio-akumulativni, što znači da organizam ne može da ih transformiše i kao takvi se nagomilavaju. Neki teški metali nemaju nikakvu funkciju u organizmu i mogu biti veoma toksični, kao što su npr. živa, olovo, nikel, arsen i kadmijum.

### 2.3.1. Putevi dospevanja teških metala do čoveka

Preko hrane, vazduha i pijaće vode metali mogu inhalacijom, ingestijom i absorpcijom preko kože da dospeju u organizam. Glavni izvor metala u hrani je zemljište na kome se hranljivi proizvodi uzgajaju, pa tako postoji jasna veza između sastava zemljišta i metala koji se hranom unose u ljudski organizam. Zemljište se sastoji od različitih komponenti u čvrstom, tečnom i gasovitom agregatnom stanju. Neorganska jedinjenja sačinjavaju i do 90% prisutne čvrste materije zemljišta. Kod uobičajenog zemljišta koje se redovno đubri, čvrsta komponenta (koju čine 45% minerala i 5% organske supstance) predstavlja 50% njegove ukupne zapremine, dok ostatak čine vazduh i voda čiji je sadržaj približno isti i kreće se od 20-30% (Sparks, 2003). Metali sa najvećim sadržajem u zemljištu su aluminijum, gvožđe, kalcijum, natrijum, kalijum i magnezijum. Većina ostalih metala i metaloida se u zemljištu nalazi u znatno nižim sadržajima. Sadržaj metala u zemljištu dat je u Tabeli 6. Sastav određenog zemljišta prvenstveno zavisi od hemijskog sastava osnovnog materijala od koga se ono formiralo. Osnovni sastav zemljišta može se promeniti navodnjavanjem, kopanjem rude, delovanjem industrijske i poljoprivredne proizvodnje, ili se sastav menja usled prirodnih biogeohemijskih procesa (McBride, 1994)

Tabela 6. Koncentracija metala u zemljištu (Sparks, 2003)

<b>Metal</b>	<b>Opseg koncentracije (mg/kg)</b>	<b>Srednja vrednost (mg/kg)</b>
Aluminijum	7-10000	72000
Arsen	<0,1-97	7,2
Bakar	<1-700	25
Cink	<5-2900	60
Gvožđe	100->100000	26000
Hrom	1-20000	54
Kadmijum	0,01-2	0,35
Kalaj	<0,1-10	1,3
Kalijum	50-63000	15000
Kalcijum	100-320000	24000
Kobalt	<3-70	9,1
Magnezijum	50->100000	9000
Mangan	<2-7000	550
Molibden	<3-15	0,97
Natrijum	<500-100000	12000
Olovo	<10-700	19
Selen	<0,1-4,3	0,39

Nađubrena zemljišta su u stanju da snabdevaju biljke sa svim hranljivim metalima u tragovima koji su neophodni za njihov rast i razvoj. To su bor, kobalt, bakar, gvožđe, mangan, molibden i nikl. Mnogi drugi elementi koji su prisutni u zemljištu (Tabela 6.) takođe se mogu naći u biljkama. Neki od njih kao što su selen i hrom, nisu neophodni biljci, ali su od velikog značaja za životinje i ljude koji te biljne vrste konzumiraju. Teški toksični metali, kao što su kadmijum i olovo, takođe u biljku dospevaju preko zemljišta. Količina metala koje biljke mogu da uzmu iz zemljišta ne zavisi samo od njihovog ukupnog sadržaja u zemljištu, nego i od dostupnosti ovih elemenata samoj biljci. Upravo je ta njihova dostupnost za usvajanje (mobilnost), kao i akumulacija od strane biljaka glavni faktor koji određuje da li će određena biljna vrsta značajno doprineti da hrana bude izvor pojedinih vrsta metala neophodnih u ishrani. Dostupnost metala biljci je određena njihovim osobinama kao što su: hemijski oblik metala, rastvorljivost i sposobnost da se kompleksiraju sa organskom materijom i da tako budu apsorbirani od strane drugih konstituenata zemljišta.

Biljka sama sebi može povećati sposobnost ka uzimanju metala tako što će promeniti hemiju zemljišta na kome se uzgaja, otpuštanjem vodonikovih jona i organskih helatnih agenasa. Kada dospeju u biljku, neki od apsorbiranih metala ostaju u korenu, a neki dospevaju do lišća, ploda, semena gde mogu da se akumuliraju.

Biljke su za ljude primarni izvor transporta neorganskih hranljivih materija iz zemljišta dok su proizvodi od životinja (meso, mleko, jaja) sekundarni izvor ovih elemenata. Kombinacija ova dva puta kojima metali dospevaju u ljudski organizam može biti izuzetno korisna po ljudsko zdravlje.

Tako npr. gvožđe se u biljkama nalazi u vrlo niskim sadržajima i to u obliku koji nije pogodan za apsorpciju, pa se zato ljudski organizam ovim elementom prvenstveno snabdeva preko mesa životinja u kome se gvožđe nalazi u visokim koncentracijama i to pre svega u unutrašnjim organima i mišićima. Ovaj metal se u telu životinja, prevodi u organsku formu koja je znatno lakša za apsorpciju u digestivnom traktu ljudi. Takođe je životinjsko meso mnogo bolji izvor cinka nego što su to biljni proizvodi.

Zemljište je glavni izvor metala u ishrani ljudi koji u ljudsko telo dospevaju preko biljaka i životinja koje se biljkama hrane. Međutim postoje i drugi brojni putevi kojima metali mogu da dospeju u hranu. Industrijska proizvodnja koja dovodi do zagađenja životne okoline glavni je izvor toksičnih metala, kao što su kadmijum i olovo. Sa druge strane tehnološki proces može dovesti i do povećanja pojedinih hranljivih metala u hrani. Tako npr. upotreba posuđa od gvožđa dovodi do povećanja sadržaja ovog metala u ishrani na sasvim zadovoljavajući nivo (*Borigato, 1998*). Postoje dokazi koji potvrđuju da značajna količina

nikla i hroma dolazi u hranu usled oslobađanja ovih metala od strane nerđajućeg čelika koji se koristi za izradu kuhinjskog pribora i posuda za skladištenje hrane (*Smart, 1985*). Bakar, slično kao nikl i hrom, se može oslobađati iz posuđa koje je izrađeno od neke legure ovog metala. Iako su bakar, nikl i hrom esencijalni metali, povišeni sadržaji ovih elemenata u hrani koja se priprema u posudama od njihovih legura može dovesti do oštećenja jetre i to naročito kod dece (*Taner i sar., 1983*).

Ukoliko se teški metali akumuliraju u organizam brže nego li što organizam uspeva da izvrši detoksifikaciju, postepeno dolazi do stvaranja toksina. Izloženost visokoj koncentraciji nekog teškog metala ne znači da će obavezno doći do trovanja organizma istim, već će doći do akumuliranja u organizmu.

Izloženost teškim metalima nije nov fenomen. U istoriji su postojali različiti slučajevi trovanja, npr. u Rimskom carstvu je došlo do trovanja čitavog grada olovom iz grožđa i vina.

Izloženost teškim metalima je značajno porasla poslednjih 50 godina, kao rezultat povećane upotrebe teških metala u industriji. Takođe, danas imamo i hroničnu izloženost živi koja potiče od amalgamskih plombi ili olovu preko vodovodnih instalacija, od hemijskih ostataka u prerađenoj hrani, od proizvoda za ličnu higijenu (kozmetički preparati, šamponi itd.).

Studije o uticaju teških metala na čoveka nam ukazuju da oni direktno utiču na mentalne i neurološke funkcije, na produkciju i korišćenje neurotransmitera, na menjanje brojnih metaboličkih funkcija. Sistemi gde uzrokuju oštećenja ili disfunkciju su: krv i krvotvorni organi, endokrini, kardiovaskularni, respiratorni, gastrointestinalni, urogenitalni, centralni i periferni nervni sistem, koža i podkožno tkivo.

Inhalacijom čestica teških metala ugrožene su sve funkcije u organizmu, čak iako je koncentracija ovih metala daleko ispod dozvoljene doze. Oni takođe uzrokuju alergijske reakcije, genetske mutacije, takmiče se sa "dobrim" metalima tako što se vezuju za određena biohemijske mesta i ponašaju kao antibiotici uništavajući i opasne i korisne bakterije.

Mnoga oštećenja koja su nastala kao posledica dejstva teških metala su ustvari posledica povećanja broja slobodnih radikala. Slobodni radikali su energetske nestabilni molekuli, molekuli sa nesparenim elektronom koji "krađu" elektrone drugih molekula kako bi uspostavili balans. Nastaju kada ćelijski molekuli reaguju sa kiseonikom (oksidacija). Nagomilavanjem teških metala dolazi upravo do povećane produkcije slobodnih radikala. Nekomolirani slobodni radikali mogu da uzrokuju oštećenja organizma i sve degenerativne bolesti. Antioksidanti kao što su vitamin A, C i E smanjuju aktivnost slobodnih radikala.



Takođe, slobodni radikali utiču na povećanje kiselosti krvi. Da bi organizam regulisao pH krvi koristi za to kalcijum iz kostiju.

Sadržaj različitih metala u ljudskom telu zavisi i od sastava hrane koju konzumiramo dok je, sa druge strane, neorganski sastav hrane u direktnoj zavisnosti od uticaja životne sredine (voda, vazduh i zemljište).

### **2.3.2. Bakar**

Bakar je crvenkasti metal koji se u prirodi nalazi u stenama, zemlji, vodi, sedimentima i vazduhu. Nalazi se takođe i u biljkama i u životinjama. To je esencijalni element za čoveka. Prosečna koncentracija u zemljinoj kori je oko 50 ppm, u vazduhu se kreće od nekoliko ng/m<sup>3</sup> do 200 ng/m<sup>3</sup>, u zemlji između 2 i 250 ppm, u pijaćoj vodi od 20 do 75 ppb. Vrlo često mnoga domaćinstva imaju povećanu koncentraciju bakra zbog korišćenja bakarnih cevi i mesinganih slavina.

Bakar se može lako oblikovati, njegova crvena boja najbolje se vidi na američkom centu i električnim žicama, itd. Može se naći u mnogim legurama, od kojih su najznačajnije bronza i mesing.

Postoje mnoga jedinjenja bakra koja su nastala prirodnim putem, kao i jedinjenja koja je čovek proizveo. Najčešće korišćeno jedinjenje bakra je plavi kamen (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O), koje je prepoznatljivo po svojoj plavo-zelenkastoj boji, a koristi se u vinogradstvu. Jedinjenja bakra se koriste u poljoprivredi za tretiranje bolesti biljaka, kao što je kukolj; ili za tretiranje vode i kao zaštitna sredstva za hranu, kožu i tkaninu. Bakar nalazi u vazduhu, vodi, zemlji gde se jako vezuje za čestice prašine i na taj način se ugrađuje u minerale. Nalazi se i u toksičnom otpadu fabrika. Rastvorna jedinjenja bakra kakva se najčešće koriste u poljoprivredi, najviše i utiču na naše zdravlje. (*Encyclopaedia of occupational health and safety, 1971*)

**Fiziološka uloga** - Bakar je važna komponenta mnogih enzima u organizmu koji imaju važnu ulogu u stvaranju energije u ćeliji. Aktivnost ovih enzima je najveća u srcu, mozgu, jetri i bubrezima. Pored toga, enzimi koji su odgovorni za stvaranje vezivnih proteina tkiva (kolagen i elastin) sadrže bakar. Stoga se može reći da je bakar neophodan za razvoj i održavanje krvnih sudova, kože, kostiju i zglobova. Pomaže u očuvanju ćelija nervnog sistema. Povoljno deluje na osteoporozi - bolest krtih kostiju zbog nedostatka kalcijuma. Uključen je u oslobađanju gvožđa iz svojih depoa, kao i stvaranju koštane srži i sazrevanju crvenih krvnih zrnaca. Bakar je takođe neophodan za sintezu fosfolipida ćelijske membrane i

na taj način održava mijelin (ovojnica nervnih ćelija) i reguliše nivo neurotransmitera. (*Stern, 2007; Solioz i sar., 2007*)

Ulazi u sastav enzima bakar-zink superoksid dismutaze (Cu/Zn SOD) koja služi kao antioksidans značajan za očuvanje organizma od oštećenja nastalog dejstvom slobodnih radikala. Održavanje adekvatnog odnosa bakra i cinka je veoma važno za normalno funkcionisanje organizma. (*Ashish i sar, 2013*)

Bakar je veoma važan i za imuni odgovor organizma na infekcije. U toku zapaljenskog procesa (infekcije) dolazi do mobilizacije dva jedinjenja koja u svojoj strukturi uključuju jon bakra: superoksid-dismutazu i ceruloplazmin. Takođe, neophodan za sazrevanje i funkcionisanje T ćelija. Igra važnu ulogu u kontrakcijama srčanog mišića, kao i u normalnom funkcionisanju malih krvnih sudova koji kontrolišu protok krvi, nutrijenata i otpadnih materija. Utiče na normalno funkcionisanje mišića krvnih sudova i uključen je u oblaganju krvnih sudova. Stvaranje melanina (prirodnog pigmenta koji se nalazi u kosi i koži) uključuje enzime koji sadrže bakar. Enzim histaminaza koja metabolizira aminokiselinu histamin takođe sadrži bakar. (*Ashish i sar, 2013*)

Bakar je uključen u metabolizam masti i holesterola, kao i normalnog funkcionisanja insulina (koji reguliše metabolizam šećera). Uključen je i u sintezu prostaglandina - jedinjenja koja regulišu brojne funkcije kao što su: otkucaji srca, krvni pritisak i zarastanje rana. (*Eck and Wilson, 1989.; Stern, 2007; Solioz i sar., 2007;*

<http://www.magsteam.net/mineravita/index.html>;) )

**Metabolizam** - Za resorpciju bakra iz gastrointestinalnog trakta potreban je jedan specifičan mehanizam zbog toga što je jon bakra ( $\text{Cu}^{2+}$ ) praktično nerastvorljiv. Jedna neidentifikovana niskomolekulska supstanca iz sline čoveka i želučanog soka stvara kompleks sa  $\text{Cu}^{2+}$  koji je rastvorljiv na pH intestinalne tečnosti. U ćelijama sluznice tankog creva bakar se verovatno veže za niskomolekulski protein koji vezuje metale i koji se naziva metalotionein. Bakar ulazi u plazmu gde se veže za aminokiseline, naročito histidin.

U roku od jednog sata odstranjuje se iz cirkulacije putem jetre. Jetra obrađuje bakar na dva načina. Prvi je da se bakar izlučuje putem žuči u gastrointestinalni trakt iz kojeg se ne resorbuje. Činjenica je da homeostazu bakra održava isključivo ovo izlučivanje u žuči, tj. što se više bakra izluči to ga više ima u fecesu. Normalno u urinu ima bakra samo u tragovima. (*Encyclopaedia of occupational health and safety, 1971; <http://www.magsteam.net/mineravita/index.html>*)

Drugi put metabolizma bakra u jetri je njegovo ugrađivanje u ceruloplazmin, jedan glikoprotein koji se sintetizuje samo u jetri. Ceruloplazmin je feroksidoza koja je zavisna od

bakra. U njemu je 95% ukupnog bakra plazme. Ceruloplazmin nije transportni protein za  $\text{Cu}^{2+}$ , jer se bakar iz ceruloplazmina ne izmenjuje sa jonom bakra ili bakrom vezanim za druge molekule. Ceruloplazmin sadrži 6 - 8 atoma bakra, polovina je u kupro ( $\text{Cu}^+$ ), a polovina u kupri ( $\text{Cu}^{2+}$ ) obliku. Ceruloplazmin oksiduje  $\text{Fe}^{2+}$  u  $\text{Fe}^{3+}$  što je neophodno potrebno za mehanizam resorpcije gvožđa iz gastrointestinalnog trakta. U druge bakarne metaloproteine spadaju citohrom oksidaza, tirozinaza, monoamin oksidaza, superoksid dismutaza i lizil oksidaza.

Wilsonova bolest spada u grupu metaboličkih poremećaja, a zabeležen je poremećaj metabolizma bakra koji se zbog relativnog viška deponuje u nekim organima, pre svega u jetri i mozgu. Bolest u svom nastanku ima genetsku podlogu, odnosno radi se o autosomno recesivnom poremećaju. Genetsko oštećenje ima za posledicu nedostatak ceruloplazmina, molekula koji prenosi bakar u krvnoj plazmi. Usled nedostatka ceruloplazmina nemoguće je održavanje normalnog metabolizma bakra, koji se zbog nedostatka spomenutog molekula-nosača, labavo veže za serumske proteine i istovremeno se taloži u organima, pogotovu u jetri i mozgu. Klinička obeležja poremećaja metabolizma bakra retko se javljaju pre 6. godine života, a kod oko polovine bolesnika ostaje asimptomatska tokom adolescencije. Pošto bolest najjače pogađa jetru, stoga će taloženje bakra najjače pogađati jetreni parenhim, a poremećaji se mogu očitavati kao akutni hepatitis, hronični aktivni hepatitis i ciroza jetre. Bolest se uglavnom razvija sporo, bez jasno uočljivog akutnog početka. Prvi simptomi ne moraju dolaziti od strane jetre, već zbog oštećenja nervnog sistema. (Solioz i sar., 2007; WHO, 1992; <http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>)

Nedostatak bakra može da dovede do određenih problema, kao što su: izmenjeni srčani ritam, gubitak kose, osećaj slabosti organizma. Kod odojčadi nedostatak bakra utiče na usporen rast, bledu kožu, anemiju, dijareju, nedostatak pigmenata u kosi i koži, ispućene i proširene vene. (Ashish i sar, 2013)

Menkes-ova bolest. Simptomi ove bolesti su kruta i lomljiva kosa. Ovaj poremećaj je vezan za X hromozom, gde dolazi do slabe resorpcije bakra iz tankog creva. Kod bolesnika sa ovom bolešću normalno je preuzimanje bakra u ćelijama sluznice, kao i njegov transport u istim ćelijama. Međutim, defektan je transport kroz seroznu stranu membrane mukozne ćelije, tj. treća faza transporta. Kada se bakar dodaje intravenski kod dece sa ovom bolešću organizam normalno usvaja bakar. Na ovaj način se mnogi teški simptomi ove bolesti (mentalna retardacija, nestabilna telesna temperatura, abnormalan razvoj kostiju i sklonost infekcijama) mogu sprečiti ako se počne sa lečenjem dovoljno rano. (Solioz i sar., 2007)

Kod odraslih osoba nedostatak bakra dovodi do anemija, zadržavanja vode u organizmu, slabljenja zidova krvnih sudova, razdražljivosti, krtih kostiju, depigmentacije, gubitka kvaliteta kose.

Osobe koje ishranom unose veće količine fitata koji vezuje bakar u crevima, zatim osobe koje imaju osiromašenu ishranu, osobe koje imaju dijareju u dužem vremenskom intervalu i osobe koje unose velike količine cinka, kadmijuma, fluorida i molibdena su rizična grupa za simptome nedostatka bakra. (<http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>)

Nedostatak bakra dovodi i do smanjene otpornosti na infekcije, obzirom da je aktivnost leukocita i ćelijskog imunog odgovora smanjena. Odnos cinka i bakra može takođe uticati na efikasnost imunog odgovora i nastanak bolesti. Nedostatak bakra smanjuje funkcije nervnog sistema. To uzrokuje smanjenu koncentraciju, ukočenost, zujanje u ušima i razne druge nervne poremećaje. Takođe, nedostatak bakra je povezan i sa bolestima srca, slabim radom srčanog mišića, opadanju korisnog HDL holesterola i povećanju štetnog LDL holesterola. Unos bakra je povezan sa slabošću srčanog mišića i pucanjem krvnih sudova. Mogu se javiti i promene u obavljanju aktivnosti krvnih sudova. Nedostatak bakra može biti uzorok i visokom krvnom pritisku (*Soliz i sar., 2007*)

Odnos bakra i cinka igra važnu ulogu u regulaciji holesterola. Nedostatak bakra dovodi i do slabog stvaranja kolagena, proteinske komponente vezivnog tkiva, što može dovesti i do deformiteta kostiju, oštećenja krvnih sudova, smanjene elastičnosti kože.

**Izvori bakra** - Najveća koncentracija bakra je u mesu (jetri, bubrezima, srcu), školjkama, orasima i sličnim plodovima, grožđicama, pasulju, grašku, ceralijama, pivskom kvascu, maslinama i čokoladi.

### 2.3.3. Gvožđe

Po rasprostranjenosti gvožđe zauzima četvrto mesto među elementima. Najvažnije rude gvožđa su: hematit ili crvena ruda gvožđa ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), magnetit ili magnetna ruda ( $\text{Fe}(\text{OH}) \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ). Gvožđe, samo po sebi nije naročito tvrdo, ali se njegova tvrdoća povećava posle legiranja sa ugljenikom i posle naglog hlađenja, pri čemu se dobija čelik.

Osim ovih minerala veliki tehnološki značaj imaju karboniklova jedinjenja gvožđa koja se dobijaju iz hlorida gvožđa. Ta jedinjenja su katalizatori brojnih organskih reakcija. (*Encyclopedia of occupational health and safety, 1971*)

**Fiziološka uloga** – Gvožđe je sastavni deo hemoglobina u eritrocitima i mioglobina u tkivima. Uloga gvožđa je u vezivanju kiseonika i prenosu do tkiva, kao i eliminaciji ugljen – dioksida iz organizma. Drugi molekuli proteina koji u svojoj strukturi sadrži gvožđe je

mioglobin koji prenosi kiseonik do mišića i stoga je esencijalan za ćelijsku aktivnost u svim tkivima. (Gurzau, 2003; <http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>)

Gvožđe sadrže mnogi enzimi i hormoni uključeni u metaboličke procese, a neophodno je za deobu, rast ćelija i sintezu molekula DNK. Važna uloga gvožđa je u prenosu kiseonika u citohromima i jačanju imunog sistema.

**Metabolizam** - Gvožđe se u hrani uglavnom nalazi u feri obliku ( $\text{Fe}^{3+}$ ) i čvrsto je vezano u organske molekule. Kod zdravih osoba se iz hrane apsorbira svega 5-10 % gvožđa. U detinjstvu je apsorpcija najveća, a smanjuje se sa godinama. U hrani životinjskog porekla gvožđe je prisutno u formi organskog hem-gvožđa, dok se u biljnim namirnicama nalazi u obliku neorganskog nehem gvožđa. Iz hrane se može prihvatiti oko 20-30% hem gvožđa, za razliku od 2-5% neorganskog gvožđa. Ukoliko se hranom unosi i vitamin C onda se procenat prihvatanja gvožđa povećava na oko 50%. Identična situacija je sa vitaminom A i beta karotenom.

Normalni dnevni gubitak gvožđa iz organizma iznosi svega do 1 mg/dan. Prema tome jedini način kojim se reguliše ukupna količina gvožđa u organizmu je resorpcija gvožđa. Kada je stanje normalno putem hrane se svaki dan dobije oko 10-20 mg gvožđa. Međutim, u organizmu se resorbira manje od 10%. Istovremeno se veliki deo ukupnog gvožđa u telu neprekidno preraspoređuje u razne delove tela pomoću nekoliko metaboličkih krugova. Najveće potrebe za gvožđem su u detinjstvu i pubertetu. Deca u tim stupnjevima razvoja resorbiraju veći procenat gvožđa iz hrane nego odrasli. Nedostatak gvožđa u detinjstvu i pubertetu, može se pripisati nedostatku gvožđa u hrani. Ako se nedostatak javi kod odraslih osoba obično se može pripisati znatnom krvarenju. Broj crvenih krvnih zrnaca raste u trudnoći, pa zato organizam majke koristi veće količine gvožđa, koje se moraju neprestano obnavljati. (WHO Guidelines for Drinking Water Quality, 1998; <http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>)

Resorpcija gvožđa - Ćelije sluznice tankog creva resorbiraju gvožđe vezano za hem. Zatim se hem u ćelijama razgradi i oslobađa se gvožđe. Gvožđe koje nije u hemu resorbira se u fero obliku ( $\text{Fe}^{2+}$ ).  $\text{Fe}^{2+}$  se resorbira u ćelijama duodenuma i proksimalnom jejunumu i tu se brzo oksiduje u  $\text{Fe}^{3+}$ . Feri jon se vezuje za molekul intracelularnog nosača i zatim se, zavisno od stanja metabolizma gvožđa predaje u specifičnim proporcijama apoferritinu ili apotransferinu. Apoferritin (Mr = 500 kDa) je molekul koji se sastoji od 24 identične podjedinice, koje imaju molekulsku težinu oko 18 kDa. Jedan molekul apoferritina može vezati oko 4300 atoma gvožđa pri čemu nastaje ferritin, koji je primarni protein za čuvanje gvožđa. Apotransferin (Mr = 90 kDa) može vezati dva atoma gvožđa i u tom obliku su naziva

transferin. Transferin je pravi nosač gvožđa i u plazmi je jedan od  $\beta$ -globulina. Kapacitet transferina u pogledu vezivanja gvožđa normalno je zasićen 20-33% gvožđem.

U normalnim uslovima, kada se kod odraslih dnevno resorbuje oko 1 mg gvožđa, intracelularni nosač gvožđa u ćeliji sluznice skoro je potpuno zasićen. On predaje znatne količine gvožđa apoferritinu iz kojeg nastaje feritin i prenosi uobičajene količine gvožđa mitohondrijama. Ostatak se prenosi kroz seroznu stranu ćelije apotransferinu.

U slučaju nedostatka gvožđa kapacitet intracelularnog nosača gvožđa se povećava i više će se gvožđa resorbovati ukoliko ga ima na raspolaganju u hrani. Mitohondrije će ponovo dobiti uobičajenu količinu gvožđa, ali se u ćeliji neće stvoriti feritin, pa će najveći deo gvožđa biti predan apotransferinu u plazmi. Kada postoji preopterećenje gvožđem kapacitet intracelularnog nosača gvožđa se jednostavno smanji i zasiti. U ćeliji sluznice se stvore znatne količine feritina i manje gvožđa se predaje već skoro potpuno zasićenom apotransferinu. Gvožđe koje se nalazi u feritinu u ćelijama sluznice gubi se ljuštenjem tih ćelija. Intracelularni transfer gvožđa u mukozi može biti donekle regulisan. Zna se da hormon eritropoetin može nekim nepoznatim mehanizmom ubrzati transfer mukoznog gvožđa na transferin u plazmi.

Predaja gvožđa smeštenog u feritinu ( kao  $\text{Fe}^{3+}$ ) u plazmi uključuje redukciju u  $\text{Fe}^{2+}$  da bi se ovaj mogao osloboditi iz feritina. Zatim se  $\text{Fe}^{2+}$  ponovo oksiduje u  $\text{Fe}^{3+}$  da bi mogao biti vezan u transferinu. (*Gurzau i sar, 2003; <http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>*)

Obzirom da je gvožđe hemijski veoma aktivno moglo bi izazvati oštećenja proteina i masti u ćelijskim membranama. Ono se zato u organizmu vezuje za proteine čime se smanjuje njegov toksični efekat.

Transport gvožđa - Gvožđe se transportuje u mesta za deponovanje u koštanoj srži i donekle u jetri u obliku  $\text{Fe}^{3+}$  vezanom za transferin koji se nalazi u plazmi. Na mestima gde se čuva gvožđe ( $\text{Fe}^{3+}$ ) se opet predaje apoferritinu u stabilnom, ali izmenjenom i za čuvanje sposobnom obliku. Feritin je pogodan oblik u retikuloendotelnom sistemu za čuvanje gvožđa. Feritin se međutim može denaturisati i agregovati u micle hemosiderina. Hemosiderin ima više gvožđa nego feritin i ima mikroskopski vidljive čestice. Gvožđe iz hemosiderina može poslužiti za sintezu hemoglobina, ali je mobilizacija gvožđa iz hemosiderina mnogo sporija nego iz feritina. Količina gvožđa u transferinu plazme je u ravnoteži sa gvožđem u sačuvanim oblicima u gastrointestinalnom traktu i retikuloendotelijalnom sistemu. U nastajanju feritina iz apoferritina prvo se veže  $\text{Fe}^{2+}$  na unutrašnju površinu ljuske apoferritina. Apoferritin sada deluje kao ferooksidaza i oksiduje  $\text{Fe}^{2+}$  u  $\text{Fe}^{3+}$  koji se onda čvrsto vezuje za feritin. Da bi se oslobodio iz feritina gvožđe mora biti redukovano. (*Gurzau i sar, 2003, Beard, 2001*)

Hemohromatoza - urođeni poremećaj u regulaciji resorpcije gvožđa sluznicom dovodi do sindroma preopterećenja gvožđem. U toj bolesti, koja zahvata nekoliko organskih sistema, resorbuje se dnevno 2 do 3 mg iz gastrointestinalnog trakta, a ne kao što je normalno oko 1 mg. Kod muškaraca će to za 20-30 godina dovesti do toga da će se u organizmu nagomilati 20-30 g gvožđa, tj. mnogo više od normalnih 3-4 g. Nagomilano gvožđe se čuva u hemosiderinu deponovanom u jetri, pankreasu, koži i zglobovima, a to će dovesti do oboljenja.

Hemosideroza može nastati kako zbog povećanog unosa gvožđa putem hrane, tako i zbog povećanog raspada eritrocita i povećane resorpcije gvožđa što prati eritropoezu, koja je u tom slučaju kompenzacijska reakcija. Kada depoziti hemosiderina počnu remetiti normalnu funkciju ćelija i organa, onda govorimo o hemohromatozi. (*Lieu i sar, 2001*)

Nedostatak gvožđa u organizmu je jedan od najčešćih nutritivnih poremećaja u razvijenom svetu. Nedostatak gvožđa i anemija koja nastaje zbog nedostatka gvožđa su i dalje česti kod devojaka u adolescenciji i kod trudnica. Ukoliko se kod trudnica javi nedostatak gvožđa može lakše doći do infekcije ploda nakon porođaja, spontanih pobačaja i prevremenog porođaja. Nedostatak gvožđa može uzrokovati malu telesnu masu kod novorođenih beba i povećan rizik od anemije deteta. U drastičnim slučajevima može doći i do smrti deteta pri rođenju. (*Lieu i sar, 2001*)

Deca ispod dve godine starosti su u opasnosti od nedostatka gvožđa zbog njihovog brzog rasta, malih rezervi gvožđa i niskog sadržaja gvožđa u mleku. Nedostatak gvožđa se može javiti i kod starijih osoba zato što se kod njih smanjuje količina hlorovodinične kiseline u želucu. Nedostatak gvožđa je povezan i sa povećanom smrtnošću starijih osoba zato što nizak nivo gvožđa povećava rizik od srčanih oboljenja. Prilikom operacija i u povredama gde dolazi do velikog gubitka krvi dolazi do anemije.

Simptomi nedostatka gvožđa uključuju anemiju, zamor, ubrzani rad srca, zadihanost, smanjenu koncentraciju, vrtoglavicu, poremećen san, teške menstrualne bolove i krvarenje, ispucale usne, zapaljenje oka, čir usana i gubitak kose. Nedostatak gvožđa može uzrokovati i probleme spavanja, glavobolje, reumatoidni artritis i sindrom oduzetih nogu, znojenje, nesvesticu, smanjenu efikasnost i smanjenu produktivnost na poslu i dnevnu pospanost. Nedostatak gvožđa izaziva teškoće pri telesnim i mentalnim naporima, smanjuje imunitet, uzrokuje anemiju (malokrvnost), bolove u mišićima, glavobolju i opadanje kose. (*Lieu i sar, 2001*)

Nizak nivo gvožđa u krvnoj plazmi može da uzrokuje svrab kože posebno kod starijih osoba. Nokti postaju meki, krta i beli.

Anemija je krajnja faza nedostatka gvožđa. Pre nego što se anemija odrazi na eritrocite pogađa enzime koji u svojoj strukturi sadrže gvožđe. Imuna funkcija se takođe smanjuje. Simptomi uključuju male, blede eritrocite, veliki zamor, slabu koncentraciju, gubitak daha i nesvesticu. Simptomi anemije se mogu javljati postepeno i nekada nisu lako prepoznatljivi. Određivanje hemoglobina i hematokrita u krvi ne moraju uvek ukazati na anemiju u ranoj fazi. Najpouzdaniji testovi za anemiju su određivanje serumskog feritina i sadržaja gvožđa u krvi (TIBC test). Nivo gvožđa može varirati iz dana u dan i zato je prosečna vrednost više urađenih testova najpouzdaniji pokazatelj anemije. Može dovesti do usporenog rasta dece i slabijeg razvoja mentalnih sposobnosti.

Novorođenčad čije majke nemaju nedostatak gvožđa, u svom organizmu imaju dovoljno gvožđa za najmanje četiri meseca nakon rođenja, a mogu dobiti dodatne količine gvožđa preko majčinog ili adaptiranog mleka. Majčino mleko ima malo gvožđa, ali zato ima dosta laktoze (mlečnog čecera) i vitamina C koji povećavaju resorpciju gvožđa.

Imuni sistem može kod osoba sa nedostatkom gvožđa biti znatno oslabljen. Gljivične infekcije i herpes su mnogo učestalije kod osoba koje u ishrani koriste namirnice sa niskim sadržajem gvožđa ili gde je gvožđe u slabo usvojivom obliku. Određene ćelije koje učestvuju u imunom odgovoru i uključuju gvožđe generišu oksidativne reakcije koje omogućavaju ćelijama da unište bakterije i ostale patogene. Ukoliko je nivo gvožđa nizak onda ove ćelije ne funkcionišu adekvatno.

Kod sportista naporne vežbe dovode do nedostatka gvožđa u organizmu. To se dešava usled povećane proizvodnje hemoglobina koja se javlja kada se započinje sa treniranjem. Simptomi nedostatka gvožđa kod sportista uzrokuju brže zamaranje i samim tim kraće vreme treninga, ubrzani rad srca, zadihanost i povećanu količinu mlečne kiseline (što se manifestuje kroz upalu mišića). Nedostatak gvožđa nastaje usled povećanih metaboličkih zahteva za gvoždem, povećane sinteze eritrocita i povećanog gubitka gvožđa znojenjem. Nakon prilagođavanja i adaptacije organizma anemija se smanjuje ukoliko je ishrana adekvatna. Unos gvožđa kod sportista mora biti pažljivo doziran.

Nedostatak gvožđa je povezan i sa Plamer-Vinsonovim sindromom, koji se manifestuje stvaranjem membrana nalik mreži na površini ezofagusa što dovodi do poteškoća u gutanju hrane i vode. Ova bolest, koja je nekada bila učestala u Švedskoj, je iskorenjena kada je u hrani počelo da se dodaje gvožđe. (*Novacek, 2006*)

Velike količine gvožđa mogu u organizmu uzrokovati oštećenje crevnog trakta, povraćanje, dijareju, oštećenje jetre, abdominalne i bolove u zglobovima, gubitak telesne mase, zamor, osećaj žeđi i gladi, kancer, srčane poremećaje, artritis, osteoporozu, dijabetes i



razne psihijatrijske poremećaje, cirozu jetre, prekomernu pigmentaciju kože, slabost organizma. Osobama sa povišenim nivoom gvožđa u organizmu je neophodna brza medicinska pomoć. (*Robert i sar, 2012*)

Jetra je posebno osetljiva na prekomernu količinu gvožđa u organizmu obzirom da je to glavno mesto gde se skladišti gvožđe. Količine od preko 3 grama mogu kod dece dovesti do smrti. Godišnje se u svetu zabeleži više slučajeva trovanja dece gvožđem. Zatvor je takođe jedan od čestih sporednih efekata veće količine gvožđa u organizmu, ali se može javiti i dijareja. Sporedni efekti se mogu redukovati ukoliko se gvožđe unosi u manjim porcijama, kao suplement.

Visok nivo gvožđa (preko 200µg feritina/l krvi), dovodi do povećanog rizika od kardiovaskularnih bolesti. Ovo se javlja zbog oksidativnih oštećenja srca i krvnih sudova i povišene oksidacije LDL holesterola. (*Robert i sar, 2012*)

Neke studije su pokazale da gvožđe može inhibirati razvoj tumora, dok druge pokazuju da gvožđe može uticati na razvoj tumora.

Enzim ciklo-oksigenaza (EC 1.49.99.1) je holoenzim koji katalizuje oksigenaciju i ciklizaciju masnih kiselina dajući endoperoksidni prostanoidni prekursor prostaglandin G2. Ovaj enzim sadrži hem koji deluje kao katalizirajući centar za stvaranje kiseoničnih kofaktora. Malo se zna o efektima disbalansa metaboličkog gvožđa na sintezu prostanoidnih molekula. Poznato je da reumatoidna sinovijska membrana sadrži visoku koncentraciju gvožđa i da su prostanoidni molekuli posrednici u inflamatornim (zapaljenskim) procesima. Stoga se predlaže da se kod ovakvih bolesti koriste određeni helatori gvožđa koji vezuju gvožđe koje se nalazi u enzimu ciklo-oksigenazi i time je deaktiviraju. (*Beard, 2001*)

**Izvori gvožđa.** Gvožđe se u hrani uglavnom nalazi u obliku feri jona ( $Fe^{3+}$ ) i čvrsto je vezano za organske molekule. Dobrim izvorima gvožđa se smatraju meso, a posebno jetra, pasulj, orah, sušeno voće, živinsko meso, riba, školjke. Kuvanjem namirnica u gvozdenim posudama može se povećati količina gvožđa u hrani i do 20%, ali gvožđe se u ovom obliku teško usvaja. Što se duže hrana kuva u takvom posudu više se gvožđa ugradi u hranu. Zamenom gvozdenih posuda sa aluminijumskim, od nerđajućeg čelika i plastičnim, smanjio se unos gvožđa u organizam.

Osobe koje u svojoj ishrani ne koriste crveno meso, koje je najbolji izvor gvožđa za organizam moraju u svojoj ishrani da povećaju sadržaj biljnih namirnica sa tamno-zelenim listovima, pasulja i žitarica. Vegetarijanci bi trebali da unose veću količinu vitamina C koja pomaže u resorpciji gvožđa.

#### 2.3.4. Cink

Cink se nalazi svuda u prirodi u količinama koje se kreću do približno 0,02% zemljine kore. Veoma je važan sastojak ishrane biljaka, a takođe je sastavni deo anhidraze, enzima koji je bitan za respiraciju čoveka i većine životinjskih vrsta. Nalazi se u prirodi kao sulfid (sfalerit), karbonat, oksid ili silikat.

Ukoliko se izloži dejstvu vazduha cink se prekriva žilavom skramom oksida, koja štiti metal od dalje oksidacije. Ova otpornost prema atmosferskoj koroziji predstavlja bazu za jednu od najuobičajenih primena ovog metala, za zaštitu čeličnih delova putem cinkovanja. Metalni cink se koristi za izradu delova u automobilskoj industriji, industriji električne opreme i za lake mašine, itd.

Udisanje sveže formiranih dimova cinka od isparavanja cinka prouzrokuje groznicu metalnih para. Izvestan broj cinkovih soli može ući u telo udisanjem, kroz kožu ili putem hrane, čime prouzrokuje intoksikaciju. Utvrđeno je da cinkov hlorid prouzrokuje čireve kože, a pare ovog hlorida su veoma toksične.

Uopšte govoreći, cinkove soli su opore, higroskopne, korozivne i antiseptične. Njihovo dejstvo pri taloženju na proteinima formira bazu za njihove opore i antiseptične efekte i oni se relativno lako apsorbuju kroz kožu. Prag ukusa za cinkove soli ima mlečan izgled i metalan ukus kada koncentracija dostigne 40 ppm. Cinkove soli su iritantne za gastro-intestinalni trakt, a emetske koncentracije za cinkove soli u vodi se kreću od 675 do 2.280 ppm.

Rastvorljivost cinka u razblaženim rastvorima kiselina, u prisustvu gvožđa može da izazove slučajno gutanje velikih količina cinkovih soli kada se kisela hrana, kao što su voćni sokovi, priprema u pohabanim gvozdenim posudama. Groznica, mučnina, povraćanje, grčevi u stomaku i dijareja javljaju se u roku od 20 minuta do 10 časova posle gutanja.

U jednom eksperimentu, koji je prvobitno bio predviđen za procenu karcinogeneze, 24 miša su dobijala u pijaćoj vodi 1,25-5,00 ppm cinkovog sulfata tokom 1 godine. Osim teške anemije, kod životinja nije bilo drugih nepovoljnih dejstava od cinka. (*Encyclopaedia of occupational health and safety, 1971; <http://en.wikipedia.org/wiki/zink>; <http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>*)

**Fiziološka uloga** - Cink učestvuje u preko 200 enzimskih reakcija u organizmu. Igra ključnu ulogu u sintezi i stabilizaciji genetičkog materijala. Neophodan je za ćelijsku deobu, kao i za sintezu i degradaciju ugljovodonika, lipida i proteina. Stoga se smatra esencijalnim za rast tkiva. Kao deo enzima bakar-zink superoksid dismutaze (Cu/Zn SOD) cink pomaže u zaštiti ćelija i drugih jedinjenja od štetnog delovanja slobodnih radikala. (*Plum i sar, 2010*)

Cink je neophodan i za strukturu i normalno funkcionisanje ćelijskih membrana. Učestvuje u stvaranju vezivnog tkiva, zuba, kostiju, noktiju, kose i kože. Igra i važnu ulogu u prihvatanju kalcijuma u kostima i utiče na delovanje hormona rasta. (*Nriagu, 2007; <http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>;*)

Smatra se jednim od najvažnijih nutrijenata imunog sistema jer je neophodan za formiranje antitela, leukocita, štitne žlezde i funkcionisanje hormona. Stoga je značajan za očuvanje rezistencije organizma na infekcije, kao i za zarastanje rana. Jedna od važnih uloga cinka je učestvovanje u sekreciji, sintezi i upotrebi insulina. Takođe, štiti  $\beta$ -ćelije pankreasa (ćelije koje proizvode insulin) od raspadanja. Cink je uključen u procesima metabolizma kod tiroidnih i adrenalnih žlezda, ovarijuma i testisa. Važan je za normalan razvoj muških polnih hormona i rad prostate.

Normalno funkcionisanje kože zahteva prisustvo cinka. Uključen je u funkcionisanje znojnih žlezda, aktiviranju lokalnih hormona, stvaranju proteina koji vezuje vitamin A, kontrolu zapaljenskih procesa i regeneraciju tkiva.

Cink je esencijalan i za normalan rast i razvoj fetusa i za proizvodnju mleka u toku laktacije. Nivo cinka u trudnoći je povezan sa normalnim razvojem nepca i usni, mozga, očiju, srca, kostiju, pluća i urogenitalnog sistema kod odojčadi. Adekvatan unos cinka je neophodan za normalan rast ploda i normalno održavanje trudnoće. Neophodan je i za stvaranje neurotransmitera u mozgu. Normalno funkcionisanje i oslobađanje vitamina A iz jetre zahteva prisustvo cinka. Cink je neophodan i za očuvanje vida, čula ukusa i mirisa. Najzastupljeniji je mikroelement u oku. Uključen je u stvaranje hlorovodonične kiseline u stomaku i u pretvaranje masnih kiselina u prostaglandine koji regulišu telesne procese kao što su srčani ritam i krvni pritisak. Cink je neophodan za kontrakcije mišića i održavanje kiselo-bazne ravnoteže u organizmu. Takođe, pomaže u detoksifikaciji od alkohola.

Do danas je poznato preko 20 poznatih metaloenzima u čiju strukturu ulazi cink. Tu spadaju: karboanhidraza, laktat dehidrogenaza, glutamat dehidrogenaza, alkalna fosfataza, timidin kinaza i dr. Zato ne iznenađuje da nedostatak cinka prati multisistemska disfunkcija. Glavni cink protein u slinama se naziva gustin i ima važnu ulogu u ukusu. (*Encyclopaedia of occupational health and safety, 1971; <http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>*)

**Metabolizam** - U lumenu tankog creva prisutan je faktor ( pikolinska kiselina ) koju luči pankreas koji vezuje cink. Da bi se sintetizovala pikolinska kiselina neophodno je prisustvo vitamina B<sub>6</sub>. Kompleks cink-pikolinat se transportuje kroz ćeliju u tanko crevo (intestinum), a nakon toga u jetru gde se skladišti. Nedostatak vitamina B<sub>6</sub> može, naročito kod starijih osoba dovesti do smanjene resorpcije cinka. Cink, kao i gvožđe može u ćelijama

sluznice biti vezan za jedan protein. Zatim se prenosi kroz seroznu membranu ćelije sluznice u serumu i vezuje za albumin. Bakar može uticati na resorpciju cinka zbog konkurencije za vezivna mesta na albuminu u serumu. Kad u hrani ima puno fosfata i kalcijuma može nedostatak cinka biti teži. Cink se obrađuje u soku pankreasa i u manjoj meri u žuči. Stoga je glavni put ekskrecije cinka putem fecesa. Znatne količine cinka se mogu izgubiti i putem znojenja, posebno u tropskim predelima. Kada se poveća sadržaj cinka (kao i bakra) on se u jetri vezuje za metalotionin. (*Plum i sar, 2010*)

Cink se ne skladišti dovoljno dobro u organizmu, tako da smanjenjem unosa cinka hranom može relativno brzo doći do nedostatka cinka u organizmu. Nivo cinka u organizmu se najbolje može odrediti njegovim merenjem u eritrocitima i leukocitima.

Studije iz 1997. godine su pokazale da se resorpcija cinka dvostruko povećava u toku laktacije što omogućava bolju sintezu mleka, ali nema podataka da se to dešava i u toku trudnoće. Hormonska terapija često može biti uzročnik slabe resorpcije cinka. U tretmanu estrogenom kod žena u postmenopauzi dolazi do opadanja resorpcije cinka za 35% nakon samo 3 meseca tretmana.

Akrodermatitis enteropatika je jedne retke autozomalne recesivne bolesti koja dovodi do nedostatka cinka usled poremećaja resorpcije cinka. Ona je se manifestujm dermatoloških, oftalmološkim, gastrointestinalnim i neuropsihijatrijskim promenama, uz zaostajanje u rastu i hipogonadizam. Sekundarni nedostatak cinka nastaje zbog male apsorpcije usled bilo kog uzroka ili zbog suviše velikog izlučivanja u urinu. Ovo poslednje izgleda da je relativno čest uzrok deficita cinka kod bolesnika sa srpastom anemijom. Cink iz hrane mogu u crevima vezati fitati (inozitol heksofosfat) koga ima mnogo u nekim vrstama hleba. Kompleks cink-fitat se ne resorbuje, pa može nastati izolovani nedostatak cinka u obliku sindroma u koji spada zaostajanje u rastu, hipogonadizam, alopecija i smanjen apetit. Akutno konzumiranje alkohola povećava izlučivanje cinka u urinu.

Nedostatak cinka dovodi do kožnih promena kao što su akne i ekcemi po licu, opadanje kose, usporava se razvitak i rast, dolazi i do apatije, kašnjenja menstrualnog ciklusa kod žena. Zatim nastaju problemi sa spavanjem, česte prehlade, oslabljeno čulo ukusa, vida i mirisa. Takođe se povećavaju mogućnosti za oboljevanje od raka. Kod muškaraca dolazi do slabije proizvodnje spermatozoida i defekta u reproduktivnim organima. Kod omladine izaziva usporen seksualni razvitak, a kod žena neredovne menstruacije. Takođe, izaziva slab razvoj umnih sposobnosti i usporava razvoj novorođenčeta.

Kod bolesnika sa nedostatkom cinka aktivnost serum ribonukleaze je visoka, dok je aktivnost karboanhidraze u eritrocitima niska. Kod osoba sa nedostatkom cinka rane teško

zarastaju. Bolesti gastro-intestinalnog sistema, kao što su razni zapaljenski procesi u stomaku i celijačna bolest redukuju resorpciju cinka u organizam i lako može doći do simptoma deficita cinkom. Nizak nivo cinka se može naći i kod osoba obolelih od srpaste anemije i kod osoba koje imaju poremećaj u metabolizmu masti. (*Plum i sar, 2010*)

Mogu se javiti i komplikacije pri porođaju ukoliko kod trudnica nema dovoljno cinka. Ukoliko se nedostatak cinka javi u ranoj fazi trudnoće povećava se rizik od kongenitalnih defekata kod ploda, male telesne mase novorođenčeta, spontanog pobačaja, prevremenog porođaja, mentalnih poremećaja i problema u ponašanju kod novorođenčeta. Takođe povećava rizik za pojavu visokog pritiska kod trudnica. Majke koje unose niske količine cinka u toku trudnoće rizikuju, da njihove bebe budu sklonije infekcijama. (*Krebs, 2000*)

Kod starijih osoba resorpcija cinka je znatno smanjena i često se javljaju simptomi nedostatka cinka. Osim toga starije osobe često piju lekove koji ometaju resorpciju cinka.

Alkoholizam takođe utiče na nedostatak cinka u organizmu, posebno ukoliko je obolela jetra. Nedostatak cinka kod alkoholičara je povezan sa promenama u metabolizmu vitamina A, smanjenom imunitetu, problemima sa vidom i problemima sa seksualnim funkcijama.

Promene u metabolizmu cinka se mogu primetiti i kod osoba obolelih od dijabetesa (tip I i tip II). U tom slučaju povećano je eliminisanje cinka kroz urin. Takođe, nedostatak cinka u ishrani povećava rizik oboljenja od dijabetesa.

Nizak nivo cinka u organizmu je povezan i sa kardiovaskularnim bolestima. Postoje podaci da cink štiti unutrašnji omotač krvnih sudova od oštećenja i na taj način pomaže u sprečavanju ateroskleroze. Ovo se može objasniti i njegovim antiinflamatornim i antioksidativnim osobinama.

Osobe obolele od HIV-a (i AIDS-a) često boluju od nedostatka cinka u organizmu što nepovoljno utiče i na imuni sistem.

Nedostatak cinka vodi i do smanjenja ili gubitka vida obzirom da nekoliko enzima koji igraju važnu ulogu u funkcionisanju oka sadrže cink. Nivo ovih enzima opada sa godinama. Nedostatak cinka dovodi do degeneracije centralnog dela retine.

Dokazano je da je nivo cinka kod neplodnih muškaraca niži što dovodi do niskog nivoa testosterona i stvaranja manje količine sperme. Nedostatak cinka u adolescenciji može uzrokovati kašnjenje puberteta, jer cink kontroliše nivo testosterona u serumu kod muškaraca. Nedostatkom cinka je pogođen i imuni sistem jer dovodi do smanjene količine nekoliko vrsta T ćelija, ćelija prirodnih ubica (eng. natural killer cells) i drugih komponenti imunog sistema.

Ovo dovodi do povećane osjetljivosti na infekcije i sporo zarastanje rana. (Prasad,1985; Wang i sar, 2002)

Višak cinka u organizmu se retko javlja jer je povećan unos (preko 200 mg) praćen bolovima u stomaku, mučninom i povraćanjem. Drugi simptomi uključuju dehidraciju organizma, letargiju, anemiju i nesvesticu. (<http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>; <http://www.lef.org/protocols/prtcl-156.shtml>)

Dugotrajno unošenje većih količina cinka u organizam može uzrokovati nedostatak bakra u organizmu. Ovo se može javiti ukoliko se dnevno unosi preko 25 mg cinka. Dugotrajno unošenje cinka u količinama od preko 150 mg dnevno dovodi do smanjene funkcije imunog sistema i smanjenog nivoa HDL holesterola koje dovodi do bolesti srca. Povećan unos cinka u trudnoći može biti štetno za plod.

**Izvori cinka.** Važan izvor cinka su životinjski proteini, dok ga obrađena hrana, limunski plodovi i povrće bez lišća sadrže veoma malo. Bogati cinkom su školjke, ostrige, meso, posebno jetra, riba, tvrdi sir, lešnik, jaja i zrnavlje. (<http://en.wikipedia.org/wiki/zink>)

Prosečno se resorbuje oko 20-40% cinka koji je unet hranom. Međutim resorpcija zavisi i od količine cinka u organizmu - što ga je manje lakše se resorbuje. Iskorišćenost cinka utiču i drugi nutrijenti koji se unose, kao i vrsta hrane. Cink se lakše prihvata iz hrane animalnog porekla (i iz ribe), obzirom da ove visokoproteinske namirnice sadrže aminokiseline koje vezuju cink i čine ga rastvorljivijim. Cink se iz biljaka, voća i cerealiya teško usvaja jer ova hrana sadrži jedinjenja kao što su fitati i oksalati - jedinjenja koja vezuju cink i redukuju količinu cinka koji može da se resorbuje. Aditivi koji se dodaju u hrani takođe mogu da smanje njegovu resorpciju. Prisustvo EDTA i velika količina biljnih proteina smanjuju resorpciju cinka. Resorpcija cinka opada i sa godinama, tako da osobe koje imaju preko 65 godina mogu da resorbuju čak u upola manje cinka od osoba koje imaju između 25 i 30 godina.

Pojedine bolesti, kao što su na primer jetra obolela od alkoholizma, opekotine, stanje nakon operacije, stres, gubitak telesne mase, hronične infekcije, virusni hepatitis, dijabetes i neke bolesti bubrega zahtevaju povećani unos cinka. Takođe i osobe koje se intenzivno bave sportom moraju unositi veće količine cinka u organizam.

### **2.3.5. Mangan**

Zastupljen je u zemljinoj kori u količini od 950 ppm u obliku rude koju čine mešavine nekoliko vrsta oksida. Najvažniji minerali su oksidi mangana: braunit, piroluzit i hausmanit.

Mangan je 1774. god. otkrio J.G. Gahna. To je tvrd, srebrnast i krh metal. Vrlo je reaktivan, na vazduhu se pali, reaguje sa vodom gradeći hidroksid. Mangan ima slične osobine kao i alkalni metali. Mangan se masovno koristi kao dodatak čeliku, jer smanjuje njegovu temperaturu topljenja i popravlja mehaničke osobine. Najpoznatije jedinjenje mangana je kalijumpermanganat  $KMnO_4$ , koji ima baktericidne osobine, a koristi se i za borbu protiv gljivičnih oboljenja kože.

Svega 3-5% mangana se resorbuje iz hrane. Nakon resorpcije mangan se transportuje do jetre. Njega bi trebalo dnevno unositi u količini od najmanje 1 miligram. U velikim količinama soli mangana su toksične. (<http://www.osha.gov/SLTC/metalsheavy/index.html>; <http://en.wikipedia.org/wiki/manganese>; *Encyclopedia of occupational health and safety, 1971*)

Mangan je esencijalni mikroelement za čoveka. Prosečan odrasli organizam sadrži između 12 i 20 miligrama, a najviše ga ima u kostima, jetri, bubregu i srcu.

**Fiziološka uloga.** Mangan učestvuje u mnogim enzimskim sistemima, iako njegova uloga još nije u potpunosti rasvetljena. Deluje kao kofaktor u enzimima koji su neophodni za proizvodnju energije, a uključen je i u metabolizam glukoze, čuvanje glikogena u jetri, digestiju proteina i sintezu holesterola i masnih kiselina. Takođe je neophodan za sintezu DNK i RNK molekula.

Mangan je neophodan za rast i održavanje nervnog sistema, razvoj i održavanje kostiju i zglobova, funkciju ženskih polnih hormona i tiroidnih hormona. (*Santamaria, 2008*)

Superoksid dismutaza (SOD, MnSOD) je antioksidativni enzim koji u svojoj strukturi sadrži mangan. Pravilnim funkcionisanjem, ovaj enzim obezbeđuje zaštitu od slobodnih radikala i štete koju bi oni prouzrokovali u organizmu. Osim toga, ovaj protein štiti ćelije mozga od oštećenja koje se javlja kod moždanog udara i kod Alchajmerove bolesti. MnSOD štiti i jetru od oštećenja. Kod alkoholičara je uočena veća količina MnSOD koji najverovatnije štiti organizam od oksidativnih oštećenja prouzrokovanih alkoholom.

Simptomi nedostatka mangana se javljaju relativno retko i prvi put su zabeleženi 1972. godine. Nedostatak se najčešće javlja ukoliko se konzumiraju veće količine rafinisane hrane. Mali unos mangana povećava gubitak kalcijuma iz kostiju i povećava mogućnost pojave osteoporoze.

Osobe obolele od dijabetesa imaju nizak nivo mangana, što doprinosi slaboj regulaciji glukoze i smanjenoj funkciji ćelija pankreasa.

Nedostatak mangana igra važnu ulogu i u epilepsiji i neplodnosti. Dovodi do oštećenja arterija, obzirom da enzimi koji u svojoj strukturi sadrže mangan učestvuju u

stvaranju arterijskog vezivnog tkiva. Oštećenje arterijskih zidova dovodi do vezivanja štetnog LDL holesterola i stvaranja arterosklerotičnih pločica.

Ostali simptomi nedostatka mangana su: nesvestica, problemi sa kostima, usporen rast kose i noktiju, opšta slabost organizma, problemi sa sluhom, gubitak telesne mase, nepravilan hod, problemi sa kožom. Kod dece se mogu javiti paraliza i slepilo. (*Manganese, U.S. EPA*)

Štetni efekti koji se javljaju pri velikom unosu mangana se javljaju retko i uključuju pojavu letargije, nevoljne pokrete, promene u tonusu i stavu mišića, a u težim slučajevima i komu. Toksični efekat poznat pod nazivom "mangansko ludilo" je prvi put zapaženo kod rudara u rudnicima mangana. Simptomi uključuju nekontrolisani smeh, impulsivnost, nesanicu, nasilno ponašanje i halucinacije.

**Izvori.** Dobri izvori mangana su cerealije, spanać, hleb od integralnog brašna, orah, voće, povrće sa tamno zelenim listovima (kelj, brokoli, ...), celer, aronija, smokva, čaj, jetra, pšenične mekinje, nepolirani pirinač, badem, heljda, sočivo, grašak, šargarepa, suvo grožđe, suva šljiva.

### 2.3.6. Nikl

Za razliku od Kineza, koji su izgleda za nikl znali od davnina, u Evropi se tek pred kraj sedamnaestog veka pojavio nemački izraz kupfernickel koji je značio „lažni bakar“, a odnosio se na rudu koja je imala izgled bakarne, ali nije davala bakar kada je tretirana uobičajnim procesom. Axel Fredrik Cronstedt je 1751. godine konstatovao da ova ruda sadrži neki novi metal. Njegovo gledište tada nije bilo prihvaćeno, pa je Le Sage tvrdio da je u pitanju jedinjenje kobalta, gvožđa, arsena i bakra. Bergman je dokazao da je Cronstedt-ov metal zapravo novi element, ali ne u čistom stanju. Zastupljen je u zemljinoj kori u količini od 80 ppm u obliku minerala koji skoro obavezno sadrže i kobalt: milerita, garsdorfit i garnierita. Najvažnija nalazišta se nalaze u Sadberiju (Ontario, Kanada). Čist nikl se nalazi u nekim meteoritima. Rude ovog metala obično sadrže i halkopirit i druge minerale bakra i gvožđa.

Nikl je umereno tvrd, blistav metal srebrnobeke boje otporan na koroziju. Magnetičan je. Na vazduhu je postojan na običnim temperaturama, a u kiseoniku sagoreva gradeći oksid. Razblažena hlorovodonična i sumporna kiselina sporo deluju na njega, ali azotna kiselina deluje lako i tada se gradi niklo-nitrat. Nikl gradi niz jedinjenja, okside, hidroksid i soli. Gradi i niz kompleksnih jedinjenja kao na primer heksammin-nikl(II)-bromid. (*Das i sar, 2008*)



Koristi se za prevlačenje drugih metala (niklovanje) radi zaštite, jer je sam otporan na koroziju i ima srebrnast sjaj. U ovu svrhu posebno se upotrebljava legiran sa srebrom. Nikl u prahu se koristi kao katalizator u mnogim reakcijama u industriji, kao što je proizvodnja margarina (pri stvrdnjavanju ulja). Legure nikla i bakra se koriste za izradu kovanog novca, pribora za jelo. Nikl se takođe dodaje čeliku i drugim legurama da bi povećao njihovu otpornost na koroziju (tada ima 6-12% nikla). Niklohromni čelici (1,5-3,0% nikla) su veoma tvrdi i otporni na udarce, pa se koriste za pravljenje delova motora sa unutrašnjim sagorevanjem. U zavisnosti od procentnog udela nikla u leguri, kao i elemenata koji se uz nikl koriste za legiranje, dobijaju se različite legure koje imaju različite namene (invar, permaloj, platinit, monel-metal, kupronikal, manganin). (*Encyclopedia of occupational health and safety, 1971*)

Značaj nikla za živi svet je prvi put otkriven krajem šezdesetih godina prošlog veka, a do tada se nikl posmatrao samo u smislu svoje toksičnosti za organizam. Od tada se nikl posmatra kao "mogući" esencijalni mikroelement za čoveka, ali se o njegovoj ulozi u organizmu i dalje malo zna. Naveći broj istraživanja koji se odnose na ulogu nikla u organizmu je rađen na pilićima i pacovima.

Smatra se da u ljudskom organizmu ima oko 10 mg nikla. Nikl je mikroelement prisutan u mnogim enzimima. Dnevno bi ga trebalo minimalno unositi u količini 0,3 miligrama. (*Cempel and Nickel, 2006; <http://en.wikipedia.org/wiki/Nickel>;*)

Izloženost metalnom niklu i rastvorljivim jedinjenjima nikla ne treba da prelazi 0,05 mg/cm<sup>3</sup> za 40 sati nedeljno. Dim i prašina nikl-sulfida su kancerogeni, a pretpostavlja se da su i mnoga druga jedinjenja takođe kancerogena. Nikl karbonil je ekstremno toksičan gas.

**Fiziološka uloga.** Biološka uloga nikla se još ne zna u potpunosti. Iako je nikl uglavnom ravnomerno raspoređen u organizmu nešto veća količina se nalazi u okviru nukleinskih kiselina, posebno kod ribonukleinske kiseline (RNK ili RNA) i smatra se da na neki način utiče na strukturu ili funkciju proteina koji su povezani sa nukleinskim kiselinama. Osim toga uloga nikla je povezana sa enzimima koji utiču na razgradnju i upotrebu glukoze, ali i u stvaranju prolaktina (samim tim i u proizvodnju mleka u mlečnim žlezdama). Enzimi koji koriste nikl još nisu otkriveni iako nikl aktivira i inhibira enzime koji sadrže druge metale. Osim njegove uloge kod enzima, nikl je uključen i u proizvodnju i delovanje nekih hormona. (*Cempel and Nickel, 2006*)

Nikl utiče na optimalan rast, zdravu kožu, strukturu kostiju. Uključen je u metabolizam gvožđa (pošto utiče na apsorpciju gvožđa iz hrane) i igra ulogu u stvaranju

crvenih krvnih zrnaca - eritrocita. Neophodan je u metabolizmu šećera, masti, hormona i ćelijske membrane. (*Das i sar, 2008*)

Najveći broj ispitivanja uloge nikla u organizmu je za sada rađen na životinjama, pa zato se njihova relevantnost na ljude još ne može potvrditi.

Nikl izaziva alergije na koži, dermatitis. Ove alergije mogu potiču od nakita jer ga većina sadrži. (*Clarkson, 1988; Kasprzak i sar, 2003*)

**Metabolizam.** Nikl se slabo apsorbuje u organizmu. Manje od 10% se apsorbuje u gastrointestinalnom traktu. U organizmu postoji sedam poznatih enzima koji u svojoj strukturi sadrže nikl. To su ureaza, hidrogenaza, CO-dehidrogenaza, metil koenzim M reduktaza, Ni-superoksid dismutaza, glioksalaza I i cis-trans izomeraza. Kada nikl dospe u organizam on se iz distribuiru u sve organe, a posebno u bubrege, kosti i tiroidnoj žlezdi gde ispoljava i svoju toksičnost. Ukoliko se nikl unese vazduhom zagađenim niklom najčešće se zadržava u plućima. Nikl koji uđe u krvotok se izlučuje urinom, ukoliko se unese hranom izlučuje se fecesom. (*Das i sar, 2008*)

Nedostatak nikla se u organizmu retko dešava jer su njegove količine koje su potrebne organizmu male. Međutim, može se javiti kod preteranog znojenja. Kod čoveka nedostatak nikla još nije dovoljno ispitan, a simptomi kod životinja uključuju: usporen rast, reproduktivne promene i promenjen lipidni (lipidi - masti) i glukozni nivo u krvi. Kod čoveka je još uočena promena u boji kože, kosa postaje grublja, hormonski disbalans i nepravilan rast kostiju. Funkcija jetre je umanjena a pogođen je metabolizam gvožđa, pri čemu se gvožđe slabije usvaja. Metabolizam kalcijuma i vitamina B<sub>12</sub> je takođe poremećen nedostatkom nikla.

Višak nikla se ishranom retko unosi u organizam. Najčešći simptomi su uočeni kada čovek dođe u fizički kontakt sa niklom ili prilikom udisanja vazduha u kome je količina nikla veća (u industrijskim zonama, dim od cigareta, izduvni gasovi automobila). Kod osoba osetljivih na nikl javlja se dermatitis koji se oseća kao svrab. Smatra se da je 10-20% ljudi osetljivo na nikl (kontaktna osetljivost).

U većim količinama nikl se smatra kancerogenim, jer povećava rizik od tumora pluća, nosa i grla. Takođe javljaju se i respiratorni problemi (problemi sa disanjem) u slučajevima kada je nikl unet vazduhom. Ti problemi uključuju astmu i bronhitis. (*Nielsen i sar, 1999*) Ostali problemi koji se javljaju usled viška nikla su: slab razvoj kostiju, opada rezistentnost organizma na infekcije, kratak dah, glavobolja, mučnina, povraćanje.

Preporučene dnevne količine nikla nisu utvđene, ali se prepostavlja da je dovoljno uneti oko 100 mikrograma dnevno. Međutim, neke studije pokazuju da se dnevno može uneti i od 200-750 mikrograma nikla.

**Izvori.** Biljke su glavni izvor nikla. Biljke koje rastu za zemljištu zagađenom niklom mogu imati sadržati veće količine nikla. Najbogatije namirnice niklom su: orasi, lešnici, grašak, pasulj, čokolada, soja, sočivo, ovas, heljda, ječam, kukuruz. Od voća nikla ima u bananama i kruškama. Hrana životinjskog porekla je siromašna niklom, ali se nikl može naći i u pijaćoj vodi.

Osim u hrani nikla ima i u neprehrambenim proizvodima kao što su metalni novac, nakit, ram za naočare, razni kućni aparati, itd. Određena količina nikla tada ulazi u organizam preko kože.

### **2.3.7. Olovo**

U prirodi se olovo najčešće javlja u vidu sulfida, PbS, kao ruda galenit. Prženjem se ruda prevodi u oksid čijom redukcijom nastaje sirovo olovo. Sirovo olovo sadrži: bakar, antimon, arsen, bizmut, cink, sumpor, kalaj, srebro i zlato. Prečišćavanjem sirovog olova (najčešće elektrolitičkim putem) dobija se čisto olovo plavičastobeke boje, samo na svežem preseku je metalnog sjaja, no brzo potamni od stvorenog sloja oksida i baznog olovo(II) karbonata  $Pb(OH)_2 \cdot 2PbCO_3$ , koji ga štite od dalje oksidacije. To je mek metal, velike gustine i niske temperature topljenja.

Olovo se u destilovanoj vodi ne rastvara, dok se rastvara u kiselinama sa oksidacionim dejstvom npr. azotna kiselina. Pri dejstvu razblažene sumporne kiseline stvara se zaštitni sloj olovo-sulfata  $PbSO_4$  te rastvaranje prestaje. Baze ne deluju na olovo. Na vazduhu se fino sprášeno olovo tzv. piroforno olovo pali samo od sebe. Olovo (II) oksid se koristi za glaziranje keramičkih proizvoda, za izradu aluminijuma, kao žuta boja u slikarstvu. Koristi se za izradu limova, kanalizacionih i vodovodnih cevi ukoliko vode nisu kisele; njime se oblažu električni kablovi i prevlači posuđe; u vojnoj industriji, industriji boja, za izradu olovnih akumulatora, za zaštitu od rendgenskog i radioaktivnog zračenja. (*Encyclopedia of occupational health and safety, 1971; <http://www.lef.org/protocols/prtcl-156.shtml>; <http://www.lennotech.com/heavy-metals.htm>*)

Olovo je toksičan metal koji može da dovede do oštećenja nervnog sistema (naročito kod dece) i krvotoka. Duža izloženost olovu ili olovnim solima izaziva neuropatiju i abdominalne bolove. (*Abdullahi, 2013*)

Olovo nije esencijalni metal, ali uneto u organizam može se naći u gotovo svim tkivima i organima sisara. Kao metal sa kumulativnim dejstvom olovo je konkurentno esencijalnim metalima (gvožđu, kalcijumu, bakru i cinku) za njihove brojne funkcije u organizmu, posebno one vezane za prisustvo slobodnih –SH grupa u delovima biomolekula

proteina i enzima. Prema fizičko–hemijskim osobinama,  $Pb^{2+}$  može lako da zameni  $Ca^{2+}$  u kalcifikovanim tkivima (kostima i zubima), ali i u različitim rastvornim kompleksima ovog metala sa bioligandima u biološkim tečnostima i tkivima. Olovo u kostima doprinosi razvoju osteoporoze, smanjenju koštane mase, promeni strukture i povećanoj resorpciji kostiju kod starijih osoba (*WHO, 1998*)

Unošenje nekih namirnica bogatih vitaminom C i gvožđem, može dovesti do povećane mobilnosti ovog metala iz tkiva i povećanja nivoa  $Pb^{2+}$  u krvi. Povećano prisustvo ovog metala pripisuje se, u nekim slučajevima, pojavi hipertenzije, srčane aritmije, malignim promenama u digestivnom traktu, plućima i bubrezima (*Abdullahi, 2013*).

Olovo inhibira i pojedine faze u sintezi hema (*Djarmati, 2009; Florea and Buselberg, 2006*).

### **2.3.8. Kadmijum**

Kadmijum se nalazi slobodan u prirodi. Najpoznatiji mineral kadmijuma je kadmijumsulfid  $CdS$ , ali se obično dobija kao sporedni proizvod pri proizvodnji cinka. Otkriven 1817. godine od strane nemačkog hemičara Fridriha Štrosmajera. Bitnu količinu kadmijuma u sebi sadrže rude cinka i fosilnih goriva (npr. kameni uglj). Usled njihovog eksploataisanja znatne količine kadmijuma se oslobađaju u atmosferu i hidrosferu. Kadmijum je element velike toksičnosti (nekoliko puta veće od arsena). Ima kancerogeno dejstvo, oštećuje bubrege, izaziva anemiju i bolesti kostiju. Štetno deluje i na sistem za kruženje materija. (*Smirjtkova i sar, 2005*) Skladišti se u jetri i biološko poluvreme je između 10 i 35 godina., samim tim dovodi do brojnih disfunkcija. (*WHO, 2010*)

Unos hrane koja je kontaminirana kadmijumom dovodi i do gastrointestinalnih poremećaja (povraćanje i dijareja), a sistematsko izlaganje uticaju kadmijuma dovodi do povećane ekskrecije kalcijuma, što predstavlja povećan rizik za stvaranje kamena u bubrezima i oštećenje kostiju (*Encyclopedia of occupational health and safety, 1971*). Takođe, povećana koncentracija kadmijuma u organizmu utiče na aktivnost brojnih enzima (<http://en.wikipedia.org/wiki/cadmium>).

### **2.3.9. Dnevne potrebe za esencijalnim metalima**

Potrebe za određenim esencijalnim metalom su najmanje količine koje su neophodne da pojedinac sačuva dobro zdravlje. Razlikuju se među pojedincima, čak i među osobama istog uzrasta, pola, veličine tela i nivoa fizičke aktivnosti.

Preporučeni dnevni unos (RDA) nekog nutrijenta je nivo za koji se smatra da je dovoljan da zadovolji potrebe skoro svih ljudi u grupi sa sličnim karakteristikama (kao što je uzrast, pol, veličina tela i nivo fizičke aktivnosti). RDA je definisan za vitamine, većinu minerala i proteine i zadovoljava najviše nivoe populacije.

Dnevni unos (eng. Daily Intake – DI) dosta zavisi kako od spoljnih tako i od unutrašnjih faktora kao što su hemijski oblik minerala, njihovo prisustvo i nivo u konzumiranoj hrani, procenat apsorpcije u gastrointestinalnom traktu, ali i navike u toku ishrane, težina, godine, pol i ekonomski status pojedinca. Može se reći da DI predstavlja onu količinu nutrijenta koja je potrebna da bi se izbegao njihov deficit i obezbedili neophodni metabolički procesi u ljudskom organizmu.

([http://en.wikipedia.org/wiki/Reference\\_Daily\\_Intake](http://en.wikipedia.org/wiki/Reference_Daily_Intake))

Preporučeni dnevni unos (eng. Recommended daily allowances - RDA) esencijalnih minerala predstavlja standarde u ishrani koje je postavila Nacionalna akademija nauke U.S. i izražava se u miligramima po jedinki. RDA definiše nivo esencijalnih nutrijenata koji su neophodni kako bi se dostigle hranljive potrebe za jednu normalnu, zdravu osobu.

([http://en.wikipedia.org/wiki/Recommended\\_daily\\_allowance](http://en.wikipedia.org/wiki/Recommended_daily_allowance))

U Tabeli 7. je dat dnevni unos (DI) nekih mikroelemenata, njihov procenat apsorpcije (PA) u gastrointestinalnom traktu kao i preporučeni dnevni unos (RDA) ovih elemenata koji je neophodan da bi se ostvarili optimalni pozitivni efekti po zdravlje odraslih jedinki. Rezultati u Tabeli 3 predstavljaju sumirane podatke tri relevantne svetske organizacije iz ove oblasti i to EVM (eng. *Expert Group on Vitamins and Minerals – EVM*, England), FNB (*Food and Nutrition Board: Institute of Medicine – FNB*, USA), FAO (eng. *Food and Agriculture Organization*), WHO (*World Health Organization*) (Hodgson and Levi, 2004.; Sparks, 1995; McBride, 1994)

Tabela 7. DI, PA u gastrointestinalnom traktu i RDA makro i mikro metala izraženih u miligramima za odrasle osobe

<b>Elementi</b>	<b>DI<sup>a</sup></b>	<b>PA<sup>b</sup></b>	<b>RDA<sup>c</sup></b>
Gvožđe	15	10-40	10-15
Cink	12-18	30-70	12-15
Mangan	5,6-8	40	2-3
Bakar	2,4	25-60	1,5-3
Molibden	>0,15	70-90	0,075- 0,250
Hrom	<0,15	10-25	0,05-0,20
Nikl	0,16-0,20	30-50	0,05-0,3
Kobalt	0,003- 0,012	30-50	0,002d
Vanadijum	0,012-0,030	<1	0,01-0,025
Selen	0,06-0,22	~70	0,055-0,07
Silicijum	21-200	3-40	21-46
Bor	1-3	>40	1-2
Litijum	<0,001- 0,99	60-100	-

<sup>a</sup>Dnevni unos; <sup>b</sup>Procenat apsorpcije; <sup>c</sup>Preporučeni dnevni unos; <sup>d</sup>0,002 mg kobalta iz vitamina B12

Medicinski fakultet Akademije nauka Sjedinjenih Američkih Država objavio je preporučene dnevne doze minerala u zavisnosti od uzrasta i pola, Tabele 8, 9 i 10.

Tabela 8. Preporučene dnevne doze za bebe i decu do 9 godina

<b>Mineral</b>	<b>0-6 meseci</b>	<b>7-12 meseci</b>	<b>1-3 godine</b>	<b>4-8 godine</b>
<b>Kalcijum</b>	210 mg	270 mg	500 mg	800 mg
<b>Hrom</b>	0,2 µg	5,5 µg	11 µg	15 µg
<b>Bakar</b>	200 µg	220 µg	340 µg	440 µg
<b>Fluor</b>	0,01 mg	0,5 mg	0,7 mg	1 mg
<b>Jod</b>	110 µg	130 µg	90 µg	90 µg
<b>Gvožđe</b>	0,27 mg	11 mg	7 mg	10 mg
<b>Magnezijum</b>	30 mg	75 mg	80 mg	130 mg
<b>Mangan</b>	0,003 mg	0,6 mg	1,2 mg	1,5 mg
<b>Molibden</b>	2 µg	3 µg	17 µg	22 µg
<b>Fosfor</b>	100 mg	275 mg	460 mg	500 mg
<b>Selen</b>	15 µg	20 µg	20 µg	30 µg
<b>Cink</b>	2 mg	3 mg	3 mg	5 mg
<b>Kalijum</b>	0,4 g	0,7 g	3,0 g	3,8 g
<b>Natrijum</b>	0,12 g	0,37 g	1,0 g	1,2 g

Tabela 9. Preporučene dnevne doze za stariju decu (9 do 18 godina)

<b>Mineral</b>	<b>Muškarci 9-13 godina</b>	<b>Muškarci 14-18 godina</b>	<b>Žene 9-13 godina</b>	<b>Žene 14-18 godina</b>
<b>Kalcijum</b>	1300 mg	1300 mg	1300 mg	1300 mg
<b>Hrom</b>	25 µg	35 µg	21 µg	24 µg
<b>Bakar</b>	700 µg	890 µg	700 µg	890 µg
<b>Fluor</b>	2 mg	3 mg	2 mg	3 mg
<b>Jod</b>	120 µg	150 µg	120 µg	150 µg
<b>Gvožđe</b>	8 mg	11 mg	8 mg	15 mg
<b>Magnezijum</b>	240 mg	410 mg	240 mg	360 mg
<b>Mangan</b>	1,9 mg	2,2 mg	1,6 mg	1,6 mg
<b>Molibden</b>	34 µg	43 µg	34 µg	43 µg
<b>Fosfor</b>	1250 mg	1250 mg	1250 mg	1250 mg
<b>Selen</b>	40 µg	55 µg	40 µg	55 µg
<b>Cink</b>	8 mg	11 mg	8 mg	9 mg
<b>Kalijum</b>	4,5 g	4,7 g	4,5 g	4,7 g
<b>Natrijum</b>	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g

Tabela 10. Preporučene dnevne doze za trudnice i dojilje

<b>Mineral</b>	<b>Trudnice 14-18 godina</b>	<b>Trudnice 19-50 godina</b>	<b>Dojilje 14-18 godina</b>	<b>Dojilje 19-50 godina</b>
<b>Kalcijum</b>	1300 mg	1000 mg	1300 mg	1000 mg
<b>Hrom</b>	29 µg	30 µg	44 µg	45 µg
<b>Bakar</b>	1000 µg	1000 µg	1300 µg	1300 µg
<b>Fluor</b>	3 mg	3 mg	3 mg	3 mg
<b>Jod</b>	220 µg	220 µg	290 µg	290 µg
<b>Gvožđe</b>	27 mg	27 mg	10 mg	9 mg
<b>Magnezijum</b>	400 mg	360 mg	360 mg	320 mg
<b>Mangan</b>	2,0 mg	2,0 mg	2,6 mg	2,6 mg
<b>Molibden</b>	50 µg	50 µg	50 µg	50 µg
<b>Fosfor</b>	1250 mg	700 mg	1250 mg	700 mg
<b>Selen</b>	60 µg	60 µg	70 µg	70 µg
<b>Cink</b>	12 mg	11 mg	13 mg	12 mg
<b>Kalijum</b>	4,7 g	4,7 g	5,1 g	5,1 g
<b>Natrijum</b>	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g

U Republici Srbiji su na bazi internacionalnih naučnih saznanja, kao i na bazi sprovedenih ispitivanja o nacionalnoj ishrani i nacionalnih nutritivnih preporuka definisane preporučene dnevne doze pojedinih nutrijenata u cilju preventive i što bolje zdravstvene zaštite ljudi (Tabela 11). Podaci o pojedinim makro i mikronutrijentima regulisani su

Pravilnikom o deklarisanju i označavanju upakovanih namirnica (*Pravilnik o deklarisanju i označavanju upakovanih namirnica. Sl. list SCG (br. 4/204, 2/204 i 48/204)*) kojim su propisane RDA vrednosti za vitamine i mineralne materije koje su usklađene sa evropskim vrednostima, bez oznake na koju populacionu grupu se odnose, dok su Pravilnikom o uslovima u pogledu zdravstvene ispravnosti dijetetskih proizvoda koji se mogu stavljati u promet (*Pravilnik o uslovima u pogledu zdravstvene ispravnosti dijetetskih namirnica koje se mogu stavljati u promet. "Sl. list SFRJ", br. 4/85, 70/86 i 69/91, "Sl. list SCG", br. 56/203 - dr. pravilnik i "Sl. glasnik RS", br. 35/208*) maksimalno dozvoljene količine vitamina i minerala koje se mogu naći u suplementima definisane u posebnom prilogu, kao i hemijski oblici jedinjenja koja se mogu koristiti.

Tabela 11. Preporučeni dnevni unos pojedinih metala u RS za odrasle osobe

<b>Element</b>	<b>RDA</b>
Kalijum	2000 mg
Kalcijum	800 mg
Magnezijum	375 mg
Gvožđe	14 mg
Cink	10 mg
Bakar	1 mg
Mangan	2 mg
Selen	55 µg
Hrom	40 µg
Molibden	50 µg

U Tabeli 12. su date vrednosti DI, PA za toksične metale kao i njihov uslovno prihvatljiv nedeljni unos (eng. Provisional Tolerable Weekly Intake - PTWI) za odrasle osobe.

Tabela 12. DI, PA i PTWI za toksične metale po preporuci FAO/WHO (*WHO, Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, 1986; WHO, Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, 1989*)

	<b>Aluminijum</b>	<b>Arsen</b>	<b>Kadmijum</b>	<b>Olovo</b>	<b>Živa</b>
DI <sup>*a</sup>	9-36	0-0,29	<0,01-0,1	<0,1-0,2	<0,02-0,1
PA	<1-7	>90	3-10	5-10	90
PTWI <sup>*b</sup>	0-7	0,015	0,007	0,025	0,005

\* Dnevni unos; <sup>\*</sup> Uslovno prihvatljiv nedeljni unos; a mg/odrasla osoba; b mg/kg odrasle osobe



Na osnovu ovih podataka o teškim metalima može se izvesti klasifikacija bolesti i njihovih mogućih uzroka. Klasifikacija bolesti izvršena je od strane Svetske zdravstvene organizacije (Tabela 13). (<http://www.who.int/classifications/icd/en/>)

Tabela 13. Tabelarni prikaz grupa bolesti i njihovih mogućih uzroka

Red. br.	Grupa bolesti	Mogući uzroci	
		Nedostatak	Višak
1.	II grupa – Tumori	Zn	Zn, Fe
2.	III grupa – Bolesti krvi i bolesti krvotvornih organa i poremećaji imuniteta	Cu, Zn, Fe	Zn
3.	IV grupa – Bolesti žlezda sa unutrašnjim lučenjem, ishrane i metabolizma	Zn, Mn	
4.	V grupa – Duševni poremećaji i poremećaji ponašanja	Cu, Zn, Fe,	Cu, Mn, Fe
5.	VI grupa – Bolesti nervnog sistema	Fe, Mn, Cu	Cu
6.	VII grupa – Bolesti oka i pripojaka oku	Zn, Mn, Fe	
7.	VIII grupa – Bolesti uva i bolesti mastoidnog nastavka	Cu	
8.	IX grupa – Bolesti sistema krvotoka	Cu, Zn, Mn, Fe	Fe
9.	X grupa – Bolesti sistema za disanje		
10.	XI grupa – Bolesti sistema za varenje	Zn, Fe, Mn	Fe, Cu, Zn
11.	XII grupa – Bolesti kože i potkožnog tkiva	Cu, Mn, Zn, Fe,	Cu, Fe
12.	XIII grupa – Bolesti mišićno – koštanog sistema i vezivnog tkiva	Fe, Cu, Mn, Zn	Fe, Cu, Mn
13.	XIV grupa – Bolesti mokraćno – polnog sistema	Zn	Cu, Fe
14.	XV grupa – Trudnoća, rađanje i babinje	Zn, Fe, Mn	
15.	XVIII grupa – Simptomi, znaci i patološki klinički i laboratorijski nalazi	Zn, Fe, Cu, Mn	

#### 2.4. Samoniklo voće

U poređenju sa gajenim, samoniklo voće ima niz prednosti. Samoniklo voće raste u prirodi bez neposrednog uticaja čoveka. Ono nije zalivano, zaprašivano hemikalijama, đubreno mineralnim đubrivima i sl., tako da je samoniklo voće znatno vrednije i sa higijenskog i sa prehrambenog aspekta.

Ono je biološki vrednije, otpornije i manje ugroženo od prouzrokovala bolesti i štetocina, a plodovi su bogatiji bioaktivnim sastojcima, jer se razvijaju u optimalnim prirodnim uslovima. Sadrže više vitamina, minerala, enzima i to u količinama koje ljudskom organizmu najviše odgovaraju.

Utvrđeno je da mineralna đubriva koja se koriste kod gajenih kultura indirektno (ugrađujući se u plodove) štetno deluju na ljudski organizam. Pre svega se misli na nitrite, jer se njihovim termičkim preobražajem u hrani i varenjem u organizmu transformišu u nitrozamine – kancerogene materije.

Samoniklo voće sadrži dosta mineralnih materija naročito kalijuma, kalcijuma, fosfora, gvožđa, magnezijuma i mangana. Svi ovi minerali imaju važnu ulogu u metabolizmu, jer omogućavaju razne složene hemijske reakcije koje imaju veliki biološki značaj. U nekim plodovima samoniklog voća, kao što je trešnja, može se naći i jod.

Glavni energetski sastojci samoniklog voća su šećeri (uglavnom glukoza i fruktoza) i njihov sadržaj se kreće od 5 do 35%. Organske kiseline daju prijatan i osvežavajući ukus, a najviše su zastupljene jabučna, limunska i vinska, a ređe mravlja, ćilibarna, salicilna i dr.

Pored vitamina C, u plodovima samoniklog bilja dosta je zastupljen i karoten. On je najčešće zastupljen u pokožici crvenih i naranžastih bobica, a ponekad i u njihovom mesu i soku.

U ovom radu pažnja je posvećena na ono samoniklo voće koje se na prostoru jugoistočne Srbije može naći, a samim tim i najviše koristi.

Tabela 14. Sistematika odabranog samoniklog voća (NCRS, United States Department of Agriculture <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol> )

Sistematika	<i>Crataegus laevigata</i> L.	<i>Prunus spinosa</i> L.	<i>Cornus mas</i> L.	<i>Rosa canina</i> L.	<i>Morus nigra, rubra, alba</i> L.
<b>Carstvo</b>	Plantae	Plantae	Eudicots	Plantae	Plantae
<b>Razdeo</b>	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Asterids	Magnoliophyta	Magnoliophyta
<b>Klasa</b>	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Cornales	Magnoliopsida	Magnoliopsida
<b>Red</b>	Rosales	Rosales	Cornaceae	Rosales	Rosales
<b>Porodica</b>	Rosaceae	Rosaceae	<i>Cornus</i>	Rosaceae	Moraceae
<b>Rod</b>	Crataegus	Prunoideae	Cornus	Rosa	Morus L.
<b>Vrsta</b>	C. laevigata	P. spinosa	Eudicots		

### **Glog (*Crataegus laevigata* L., *Crataegus oxyacantha* L.)**

Narodni nazivi: beli glog, bela drača, beli trn, crveni glog, gloginja, glogovac

Engleski naziv: Hawthorn

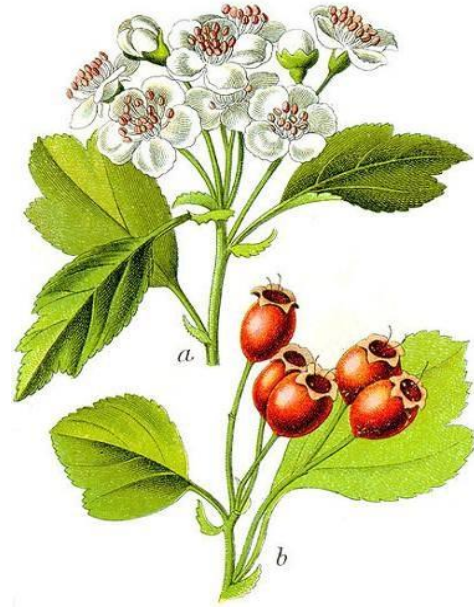
Opis: Glog je trnovit žbun ili nisko drvo sa svetlim zelenim listovima i belim cvetovima. Drvo gloga je tvrdo i žilavo. Kora je glatka, sivo-pepeljaste boje s granama na kojima izrasta trnje dužine do 1,5 cm. Listovi su trokrpasti i peterokrpasti, sa donje strane su

svetlo plavkasto-zeleni, a sa gornje strane tamnozeleni i sjajni. Plod je svetlo crvena bobica sa jednim, tri ili pet semena (u zavisnosti od vrste).

Do sada je utvrđeno oko 280 vrsta. Rasprostranjen je u istočnoj Aziji, Evropi i Severnoj Americi. Glog se često nalazi na rubovima šuma, a često raste u šikarama, kao i uz ograde i živice.

(<http://www.narodnilijek.com/web/glog/>)

Hemijski Sastav: Plodovi, lišće i cvetovi gloga sadrže brojna hemijska jedinjenja. Za pojedina je dokazano farmakološko delovanje, a za pojedina pretpostavlja da imaju izvesna lekovita svojstva. Od hemijskih jedinjenja su prisutni: flavonoidi ( 0,1-1% u plodovima, 1-2% u lišću i cvetovima), oligomerni protocijanidini (1-3% u plodovima ili lišću sa cvetovima), triterpenske kiseline (0,5-1,4% u plodovima), organske kiseline (2-6%), steroli, kardioaktivni amini ( u tragovima), neki šećeri, karotenoidi, vitamin C itd.



Slika 5. Glog (*Crataegus laevigata* L.)

Od flavonoida u ekstraktu gloga najzastupljeniji su: hiperozid, glikozidi, kvercetin i rutin; od oligomernih protocijanidina najzastupljeniji su: epikatehin, procijanidin B2; od triterpenskih kiselina: kateholna, ursolna, oleanolna kiselina; a od organskih kiselina: kafena i hlorogenska kiselina. (*Chang i sar, 2002; Svedstrom i sar, 2002*)

Lekovito dejstvo: Veruje se da je glog jedna od najdelotvornijih lekovitih biljaka za srce. Izvanredan je regulator krvnog pritiska kod oslabljenog srčanog mišića. Daje dobre rezultate u lečenju oštećenog srčanog mišića u starosti, kod upale srčanog mišića, u lečenju zakrčenja krvnih sudova i angine pektoris. Glog deluje umirujuće na nervni sistem. Pored ovoga, preparatima gloga se pripisuju i antiinflamatorno, antiulcerogeno i antimikrobno delovanje. Etanolni ekstrakt je pokazao efekat na posebno na gram pozitivne bakterije *Micrococcus flavus*, *Bacillus subtilis* i *Listeria monocytogenes*. (*Farmakološke osobine roda Crataegus, 2010*)

### **Trnjina (*Prunus spinosa* L.)**

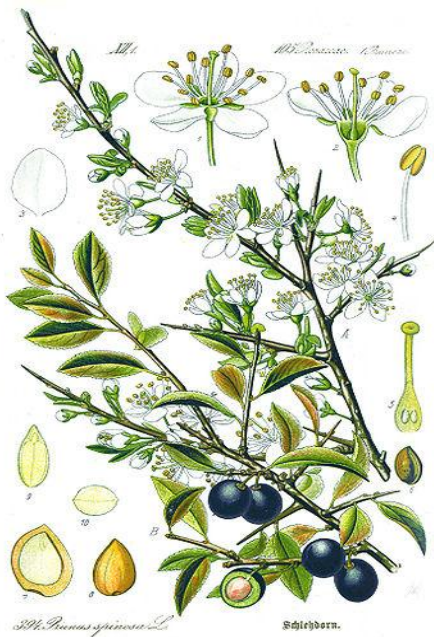
Narodni nazivi: trnjina, trnula, trnavka, trn, crni trn, divlja šljiva, mačja šljiva

Engleski naziv: Blackthorn

Opis: Trnjina je listopadni, vrlo razgranat, trnovit grm sa crnom korom. Naraste do 4 m visine. Širi se po okolini pomoću izbojaka iz korena. Listovi su naizmenični, imaju peteljke, jajoliki su, nazubljenog oboda, dlakavi po žilicama naličja. Cvetovi su dvopolni, petočlani, rastu pojedinačno na kratkim drškama, a cvetaju pre listanja. Latice su bele. Cveta u aprilu i maju. Plodovi su okrugle, tamnoplavo-sivkaste koštunice, oporog i kiselog ukusa. Raste po grmovitim obroncima, obodima šuma, krčevinama i drugim pustim nizijskim i brdskim predelima. (Rushforth, 1999).

Hemijski Sastav: Plod sadrži tanine, organske kiseline, vitamin C. Semenka ploda je otrovna jer sadrži otrovni glukozid amigdalini koji daje cijanovodoničnu kiselinu. (Ruiz-Rodriguez i sar, 2014; Turker i sar, 2012)

Lekovito dejstvo: Cvet se koristi kao diuretik, kao blagi laksativ i za poboljšanje metabolizma i povećanje nepropustljivosti kapilarnih zidova. Plod se koristi kod probavnih smetnji praćenih prolivom, a spolja za ispiranje usta i ždrela kod upale sluzokože. Čaj od kore korena se preporučuje za lečenje groznice. Čaj od cvetova se ne sme uzimati za vreme trudnoće i dojenja. (Jurikova i sar, 2012)



Slika 6. Trnjina (*Prunus spinosa* L.)



Slika 7. Drenjina (*Cornus mas* L.)

### ***Drenjina (Cornus mas L.)***

Narodni nazivi: drenak, drenić, drenka, drenovina, drenj, drijen, drin, drinovina, žuti drenak, rumeni dren

Engleski naziv: Cornelian cherry, Sorbet

Opis: Dren je listopadni grm ili nisko drvo sa gustom krunom. Može da živi duže od 200 godina, dostigne prečnik blizu pola metra, a naraste u visinu od 3-6 m. Kora debela je siva ili žutosiva, a mladih grana je tanka, glatka i sjajna. Mladi izbojci su pri vrhu četvorougao, na preseku zelenkasto smeđi i uglavnom fino dlakavi. Na granama se uočavaju dve vrste pupoljaka: lisni i cvetni. I jedni i drugi stoje naspramno. Lisni pupoljci su meki i oštro zašiljeni. Dugi su 5 mm, a široki 3 mm.

Cvetni pupoljci su okruglasti i znatno krupniji (5-8 mm). Nalaze se na kratkim izdancima. Pokriveni su brojnim zelenkastožutim ljuspama. Listovi zelene ili zelenosive boje i kratkih peteljki (5-10 mm) stoje naspramno. Imaju jajast oblik i malo su zakrivljeni. Najčešće narastu 3 cm u širinu i 5-8 cm u dužinu. Po 10-20 pravilnih, dvopolnih i dosta sitnih cvetića grupisano je u bočne štitaste cvasti. Drška cvasti duga je od 4-9 mm. Plod je izduženo jajasta viseća koštunica crvene boje. Dostižu dužinu 10-20(35) mm, a širinu 5-10 (20) mm. U mesnatom omotaču smeštena je duguljasta koštica. Ona je elipsoidna i na površini gotovo glatka.

Hemijski sastav: U drenjini se nalazi prosečno oko 16,5% suve materije. Od toga 9–15% šećera i 2,1% ukupnih kiselina. Po sadržaju vitamina C, spada u red onih voćnih vrsta, koje ga imaju najviše. Vitamina C ima od 20–145 mg na 100g, što je više i od limuna, pomorandže i drugih voćnih vrsta. Plod sadrži dosta vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, E i karotina. Vrlo je bogat taninskim materijama (oko 4%). (*Ercisli i sar, 2011; Tural, 2008*)

Lekovito dejstvo: Dren je veoma lekovita biljka i dokazano je da je na stablu drene sve lekovito, od lišća, preko grančica i kore, do plodova, koštica. Plodovi, kora, stablo i listovi imaju antimikrobiološko dejstvo. Meso plodova i ulje iz semenki može se koristiti za regeneraciju spoljašnjih i unutrašnjih epidermalnih tkiva. Koristi se takođe za lečenje: grla, malokrvnosti, boginja, bolesti bubrega, bolesti organa za varenje, dijareje, hemoroida, šećerne bolesti. (*Gunduz i sar, 2013*)

### **Šipak (*Rosa canina L.*)**

Narodni nazivi: šipurak, divlja ruža, pasja ruža, pasja drača, plotna ružica, bela ruža, šepurika itd.

Engleski naziv: Dog rose

Opis: Šipak je listopadni žbun visok od 1–5 m sa dugim, debelim i razgranatim granama koje rastu uspravno. Koren je veoma razvijen i duboko prodire u zemljište. Grane su obrasle jakim trnovima koji su pri osnovi široki i srpasto se povijaju prema dole. Kora na starim granama je smeđa, a na mladim mrkozeleno, često crvena.



Slika 8. Šipak (*Rosa canina* L.)

U sebi sadrže veći broj uglastih, dlakavih oraščića. Plod je poznatiji pod narodnim nazivom šipak, pa se i čitava biljka tako zove. Sazreva u septembru i oktobru. (Gostuški, 1979).

Hemijski sastav: Kao droga se upotrebljavaju plod (*Cynosbati fructus* или *Rosae caninae fructus*) i seme (*Cynosbati semen*). Glavni lekoviti sastojak u plodu je L-askorbinska kiselina, odnosno vitamin C. Pored toga u šipku se nalaze: pektini, tanini, šećeri, voćne kiseline, karotenoidi, flavonoidi i u tragovima antocijani. (Chrubasik i sar, 2008)

Lekovito dejstvo: Šipak je lekovita biljka koja ima veliku količinu vitamina C. Za lek se koriste plodovi i cvetne latice. Čaj se preporučuje majkama za vreme dojenja. Proizvodi od šipka otklanjaju tzv. prolećni umor, malaksalost, bledilo kože i bezvoljnost, kao i ostale tegobe izazvane nedostatkom vitamina C. Šipak blagotvorno deluje na sistem organa za varenje i na izlučivanje mokraće (bez ikakvih nadražaja bubrega). Čaj sprečava nastanak kamena u bubrezima i mokraćnim kanalima. Čisti krv, a koristi se kod upale bubrega i bešike. Cvetne latice šipka koriste se za pripremanje čaja kod krvarenja iz želuca, creva, pluća i hemoroida, kao i protiv proliva i želudačnih grčeva. (Chrubasik i sar, 2008).

#### **Dud (*Morus nigra* L.-crni dud; *Morus alba* L.-beli dud; *Morus rubra* L.-crveni dud)**

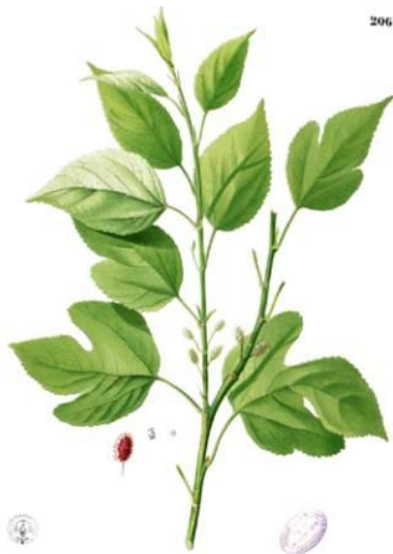
Narodni nazivi: Crni dud - murgav dud, crna murva, crnica, crnicka, šamdud, šandud, šanduda

Engleski naziv: Mulberry



Opis: Dud je voćka i ornamentalno listopadno drvo sa oko 100 vrsta širom sveta. Među njima je rašireno desetak vrsta u toplim i umerenim područjima. Drvo je do 20 metara visoko sa okruglastom, bogatom krošnjom. Kora je duboko ispucala. List je širokojajast, nazubljenog oboda. Složeni plod je cvast srasla u jedno plodište, dudinju (nalik kupini), slatkog ukusa, bez izražene arome i kiselosti te široke palete boja – od bele, ružičaste, crvene, crvenocrne, crnoljubičaste do crne u zavisnosti od vrste.

Crni, crveni i beli dud su rasprostranjeni u južnoj Evropi, na Bliskom istoku, severnoj Africi i Indiji gde drvo i plod imaju imena po regionalnim dijalektima.



Slika 9. Beli dud (*Morus alba* L.)



Slika 10. Crni dud (*Morus nigra* L.)



Slika 11. Crveni dud (*Morus rubra* L.)

**Beli dud** (*Morus alba* L.) je poreklom iz Kine i istočne Azije. Stablo je oko 20 metara visine, 1 metra debljine i čak do 250 godina starosti. Krošnja je svetla, okrugla. Kora svetlosiva do smeđa, dosta glatka, kasnije prelazi u plutu sa podužnim brazdama. Grančice su beličasto dlakave, kasnije ogole i sa mlečnim sokom (kao kod svih dudova). Pupaljci su

jajasti, naglo zašiljeni, smeđezeleni i goli. Lišće ima plitko srcoliko urezanu osnovu: 3-10 cm dugo i 4-10 cm široko, često nesimetrično i samo sa donje strane duž nerava dlakavo; sa lica svetlozeleni, a sa naličja zelenosivi. Dudinje su bele i crvenkaste, zeleno-bele, ređe crvenocrne, slatke. Plod sazreva u junu-julu.

**Crni dud** (*Morus nigra* L.) je poreklom iz Persije i Avganistana. Stablo je preko 20 metara visoko, ima gušću krošnju od belog duda. Kora je sivosmeđa, brazdasta. Koren je srcast. Grančice su crvenkasto smeđe, sa pupoljcima u 2 reda, dlakave. Pupoljci su 6-9 mm tamnosmeđi, jajasti, naglo zašiljeni, smeđezeleni i goli. List je urezan srcoliko pri osnovi. Dole, nekad i gore je rapav i kratko, meko dlakav. Cvetovi su zelenkaste boje. Plodovi su mnogo duži od svoje peteljke, crne boje. Krupniji su nego kod belog duda.

**Crveni dud** (*Morus rubra* L.) je u Evropu prenet sa istoka SAD-a. Stablo je preko 30 metara visoko, i ima gušću krošnju od belog duda. Krošnja je okruglasta. Mlade grančice u početku dlakave. Lišće je dugačko zašiljeno, kožasto, gore plavičasto-zeleno, dole meko dlakavo; jajasti ili okrugli, na mladim granama duboko režnjeviti sa lica rapavi, a sa naličja dlakavi. Cveti u aprilu i maju. Plodovi su skoro crni, sočni, nakiselo slatki, sazrevaju u julu-avgustu. (*Ognjanov, 2013*)

Hemijski sastav: Dudinje sadrže oko 10% invertnog šećera, oko 2% slobodnih organskih kiselina (limunske i jabučne), vitamin C, sluz, pektinske i druge korisne materije. U plodovima se nalaze i fitonutrijenti- antocijanini, biljni pigmenti koji imaju sve veću ulogu u ishrani protiv mnogih bolesti. Nivo antocijanina u svežem soku od duda iznosi 148-2725 mg po litru, zavisno od vrste. Ovo voće je bogato vitaminima i mineralima, biljnim kiselinama i voćnim šećerima. Kalorijska vrednost duda je 43 kcal/100 g. Pored antocijanina, sadrži i mnoge fitonutrijente dobre za očuvanje zdravlja. Resveratrol je još jedan od njih, za koji je dokazano da smanjuje rizik od šloga. Sadržaj vitamina C je veoma visok, 36,4 mg/100 g pa je ovo voće odličan izvor ovog vitamina, koji deluje i kao antioksidans. Pored njega, sadrži i manju količinu vitamina A i E, i drugih antioksidanasa poput luteina, zeaksantina (pomaže u zaštiti mrežnjače od štetnih UV zraka). Dud sadrži i kompleks B vitamina i vitamin K.

Kao što je već rečeno, dud je bogat gvožđem, koji je retka pojava među bobičastim voćem, pa ima 1,85 mg/ 100 g, što zadovoljava čak 23% preporučenog dnevnog unosa ovog minerala. To znači da je ovo voće odlično za proizvodnju hemoglobina i crvenih krvnih zrnaca. Pored toga dud sadrži i kalijum, mangan i magnezijum. Kalijum je važan za kontrolu rada srca i krvnog pritiska. (*Memon i sar, 2010*)

Lekovito dejstvo: Zrele, vrlo slatke bele i aromatične nakiselo-slatke tamnoljubičaste ili potpuno crne dudinje jedu se sveže, prerađene ili osušene. Osušene dudinje mogu da



zamene šećer i zbog toga ih melju i dodaju testu pri izradi slatkiša. Od dudinja izrađuju sokove, komplete, slatka, želea, sirupe i dr. Od iscedenog soka uparavanjem dobija se sirup koji podseća na med (i sadrži u koncentrovanom obliku hranljive sastojke svežeg soka dudinja). U narodnoj medicini sveže nedozrele dudinke daju protiv proliva, a zrele kao blag laksans. Sok dudinja daju i za lakše iskašljavanje, znojenje i mokrenje, za ispiranje kod zapaljenja grla i usta, naročito sok crnih dudinja, koji deluje i antiseptično.

U korejskoj tradicionalnoj medicini od lisnih pupoljaka duda koje sakupljaju preko zime i suše spravljaju čaj protiv gojaznosti i oboljenja kardiovaskularnog sistema.

Prašak od kore duda upotrebljava se spolja u obliku melema za brže zaraščivanje rana, a odvar kore pije se kod povišenog krvnog pritiska.

U Kini je kora duda sastojak biljnih smeša za lečenje šećerne bolesti. U zapadnoj Evropi i na Balkanu u iste svrhe koriste osušeno dudovo lišće koje se ponegde kao prašak posipa po hrani (npr. varivu).

Antidijabetično delovanje se delimično pripisuje prisustvu vitamina B2 i ima značaj kao dopunska terapija.

U Japanu se iz cvetova duda izrađuje kozmetički krem za odstranjivanje pega i drugih nečistoća na koži. Još od vremena Dioskorida preporučuje se gorka kora korena duda kao lek protiv crevnih parazita (naročito protiv tenie odn. pantljičare). (*Hoseini i sar, 2009; Nikkhah, 2012*)

## **2.5. Grožđe i vino**

Grožđe je naziv za plod biljaka iz roda *Vitis* (vinove loze), kojim se često naziva i 12 osnovnih i najpoznatijih vrsta vinove loze, od kojih se pravi većina svetskih vina. Ranije su se vina označavala prema području na kome se grožđe gaji, ali kasnije je broj proizvođača i područja sa vinogradima toliko porastao da je uvedeno označavanje prema varijetetu grožđa. Grožđe ima dugačku i bogatu istoriju. Smatra se da je divlje grožđe raslo i u praistoriji, a nađeni su dokazi da je proizvodnja grožđa bila poljoprivredna grana u Aziji 5000 p.n.e. (*This i sar, 2006*) Poput smokve, i grožđe ima bitnu ulogu u biblijskim parabolama, gde je nazvano "plodom vinove loze". Crteži ovog voća nađeni su i u egipatskim piramidama, među hijeroglifima. Tokom grčke i rimske civilizacije, grožđe dobija još jednu bitnu ulogu, koja je opstala do danas: počinje da se koristi u proizvodnji vina. Plod grožđa sastoji se od sitnih bobica sa glatkom kožicom oko želatinaste unutrašnjosti. Postoji puno vrsta grožđa i veoma su različite među sobom. Neke vrste sadrže npr. sitne semenke, a neke ne. Kombinacija glatke strukture i slatkog ukusa učinila je ovo voće popularnim. Veoma je rasprostranjeno u

svetu i smatra se da ima nekoliko hiljada vrsta. Neke vrste grožđa koriste se za jelo u prirodnom obliku, neke se koriste u proizvodnji vina, a neke za proizvodnju suvog grožđa. Smatra se da postoji više hiljada vrsta. Razlikuju se po boji, veličini, ukusu i drugim karakteristikama.

Hemijski sastav bobica grožđa je vrlo kompleksan i sadrži sledeće komponente: vode 70-85%, šećera i to glukoze i fruktoze (groždani i voćni šećer) od 16-35%, organskih kiselina (limunske, jabučne, vinske i mlečne) 6-8 g na jedan litar, celuloze 0,1-0,28%, tanina 0,01-0,1%, azotnih materija 0,03-0,5%, različiti makro i mikroelementi od kojih najviše ima kalijuma, zatim natrijuma, kalcijuma, fosfora, sumpora, mangana, gvožđa, hlora, aluminijuma, molibdena, cinka, magnezijuma, kobalta, bora, bakra i drugih elemenata. Grožđe sadrži i obilje vitamina i to vitamin A, zatim vitamin C, vitamine B-kompleksa i vitamin D. Od enzima u grožđu su prisutni: invertaza, proteaza, lipaza i pektinaza. Pored ovoga plodovi sadrže i aminokiseline, zatim pentozane, aromatične i bojene materije i drugo.

Hranljiva vrednost ovih pristupačnih plodova proizilazi iz navedenih sastojaka koje sadrže. Grožđe predstavlja pre svega odličan bioenergetski materijal iz koga se sagorevanjem brzo oslobađaju kalorije. Tako jedan kilogram grožđa ima 700-800 kalorija, što uglavnom odgovara istoj vrednosti jednog litra mleka, ili 10 komada jaja, ili 500 g mesa ili 150 g oraha. Ako se uzme da je dnevna energetska potreba čoveka između 2400—5000 kalorija, što zavisi od težine posla kojim se bavi, proizilazi da bi se ova količina energije mogla ostvariti iz 3 do 6 kilograma grožđa.

Hranljivu vrednost grožđa povećava sadržaj mineralnih materija, fermentata i vitamina koji imaju biokatalizatorsku i zaštitnu ulogu. Ovo je posebno značajno za decu, bolesne, trudnice i starije osobe u čijoj zdravstvenoj situaciji zaštita organizma od oboljenja ima veliki značaj. Šećeri iz grožđa odlaze, bez prethodnih transformacija, neposredno u krv, lako se apsorbuju i prenose do ćelija koje ih koriste kao energetski materijal što je veoma važno za osobe kojima je brzo i neophodno potrebna veća količina energije, a to su deca, sportisti, fizički radnici i slično. Glukoza i fruktoza dobro deluju na rad mišića, a posebno srčanog mišića. Osim toga ovi šećeri mogu se brzo transformisati u glikogen koji služi kao rezervna materija u organizmu.

Pod vinom se podrazumeva proizvod dobijen potpunom ili delimičnom alkoholnom fermentacijom od svežeg grožđa vinskih sorti vinove loze. Sorta vinove loze ima pored zrelosti i drugih svojstava ploda, odlučujući uticaj na kvalitet vina. Postoji samo jedna vrsta vinove loze koja se koristi za pravljenje vina (*vitis vinifera*). Međutim, danas u svetu postoji

nekih 10000 podvrsta grožđa. One su rezultat prirodne selekcije uz ogroman uticaj generacija uzgajivača grožđa.

Vino se od postanka civilizacije pa do danas smatra najkultivisanijim i najcivilizovanijim sredstvom za uživanje. Nastalo je kao proizvod alkoholnog vrenja šećera koji se nalazi u grožđanom soku, a karakteriše se posebnim hemijskim sastavom i senzornim karakteristikama koje su mu oduvek davale uzvišeno mesto u životu ljudi. Još je grčki filozof Plutarh (50 do 125 godina pre naše ere) konstatovao da je vino: "Od sveg pića najkorisnije, od svih lekova najukusnije i od sve hrane najprijatnije", dok je otac moderne enologije (nauke o vinu) Luj Paster za vino rekao da je to "najzdravije i najhigijenskije od svih pića".

U vinu se pored alkohola nalazi i niz drugih sastojaka: organske kiseline, mineralne materije, vitamini, fenolna jedinjenja (bojene i taninske materije) koje veoma povoljno deluju na organizam i u velikoj meri ublažavaju dejstvo alkohola. Vinska kiselina deluje diuretički, što znači da stimuliše i aktivira rad bubrega. S druge strane, crvena (crna) vina su bogatija u pogledu sadržaja fosfora i gvožđa pa se preporučuju licima koja boluju od malokrvnosti. Odavno je dokazano da vino uništava izazivače tifusa i kolere. Fenolna jedinjenja koja se nalaze u vinu (proantocijanidoli, kvercetin i resveratrol), u stanju su da preduprede izazivače šećerne bolesti, Alchajmerove bolesti, infarkta srca i krvnih sudova. Treba napomenuti da jedan litar vina daje čoveku energiju kao i jedan litar mleka, ili 10 jaja, ili čak skoro pola kilograma raženog hleba. Ali, ne sme se zaboraviti da se pre svega vino "pije viljuškom", što znači da traži određenu podlogu u želucu. Još je stari lekar Paracelsus govorio "Dosis facit venenum" – što znači da samo od količine zavisi da li će neka materija biti otrov ili ne.

Kvalitet vina zavisi od kvaliteta grožđa (kvalitet grožđa je uslovljen sortom, loznom podlogom, klimom, zemljištem, fitosanitarnim stanjem prinosa, momentom i načinom berbe) i kvalitetom tehnološkog postupka prerade grožđa. Momenat berbe je od izuzetnog značaja za kvalitet budućeg vina. Kada se govori o proizvodnji vina in stricto sensu (u doslovnom smislu reči) grožđe obrano pre tehnološke zrelosti npr. sa 13 do 15% šećera i posle tehnološke zrelosti u prezrelom stanju npr. sa 24 do 26% šećera daje vino po kvalitetu daleko ispod vina koje se proizvede od grožđa ubranog u tehnološkoj zrelosti npr. 20 do 22%.

Proizvodnja vina počinje berbom grožđa i zato posebnu pažnju treba obratiti na vreme kada grožđe brati. Početak berbe je bitan i kod ostalog voća, a pošto je vino "piće nad pićima" onda bi grožđe kao plod vinove loze bilo "plod nad plodovima", pa zato nije ni malo slučajno što se reč "berba" može naći kako u knjigama o vinogradarstvu i vinarstvu tzv. stručnim, tako i u pesničkim knjigama. Generalno pravilo glasi "da se grožđe bere u stanju

tehnološke zrelosti", jer tada ima najpovoljniji hemijski sastav, a prvenstveno se misli na sadržaj šećera od koga nam zavisi količina alkohola (etanola) u budućem vinu.

Međutim, grožđe pored šećera, bojanih, mirisnih i drugih hemijskih supstanci, sadrži i organske kiseline, koje će prilikom prerade preći u širu, a kasnije će se oko polovine njihove količine naći u vinu.

Fizičko-hemijski sastav i senzorne karakteristike vina zavise od mašina koje se koriste u primarnoj preradi grožđa (tip muljače, način ceđenja kljuka) i uslovi pod kojima se izvodi alkoholna fermentacija (prečišćavanje šire, obrada bentonitom, primena čiste kulture selekcionisanog vinskog kvasca i temperaturom u toku vrenja). Pored ovoga za očuvanje kvaliteta vina realizovanog savremenim tehnološkim konceptom proizvodnje neophodno je tokom čuvanja i nege vina obratiti pažnju na pretakanje vina, dolivanje sudova, održavanje slobodnog SO<sub>2</sub> na određenom nivou, a naročito o visini temperature na kojoj se čuva vino.

Razlikujemo dve vrste vina: crno i belo.

U crna vina spadaju: Cabernet Sauvignon, Merlot, Nebbiolo, Pinot noir, Shyraz, Sangioves, Beaujolais nouvea.

U bela vina spadaju: Chardonnay, Chenin blanc, Risling , Sauvignon blanc, Semillon.

Crno i belo vino se dobijaju na gotovo identičan način. Boja crnog vina potiče od kožice crnog grožđa, što znači da se i od crnog grožđa može dobiti belo vino, samo je potrebno kožicu ukloniti pre fermentacije. Kožica se uklanja presovanjem grožđa, odnosno procedivanjem, tako da ako želimo crno vino prvo ćemo fermentisati pa presovati, a ako želimo belo - prvo ćemo presovati da odstranimo kožicu, a onda dozvoliti, ili bolje rečeno - podstaći fermentaciju.

Hranljivi metali koji se takođe javljaju u većini voća i povrća i predstavljaju bitne elemente neophodne za normalno funkcionisanje organizma (kao što su Zn i Cu), mogu biti i toksični ukoliko se prekorače dozvoljene doze. (*Zoecklein i sar, 1994; Wang and Mannino, 1989; Ibanez i sar, 2008*)

Pored toksičnost i nedostatak ovih metala može predstavljati ozbiljan problem. Veliki broj simptoma/bolesti: anemija, dermatitis, patuljasti rast, elektrolit-disbalans, neurološki poremećaju, letargija, mučnina, su povezati sa nedostatkom i toksičnošću Zn i Cu kod ljudi i životinja. (*Eschnauer and Ostapczuk., 1992; Ibanez i sar, 2008; Zakharova i sar, 1996*). Osim toga, prisustvo tragova elemenata u voću i povrću propisuje njihovu apsorpciju iz zemljišta i izvora, kao što su đubrivo, poljoprivredne hemikalije i zagađivači. Drugi izvori kontaminacije teškim metalima mogu biti poljoprivredna mehanizacija, spejevi, konzervana semena i komponente koje potiču od globalnog zagađenja. (*Domingez i sar, 1999*)

Dakle, potreba da se odredi ili prati sadržaj Zn i Cu u voću i povrću je postao imperativ zbog njegove suštinske uloge. Istraživanje literature ukazuje na to da je takvih studija malo, naročito u jugoistočnom regionu Srbije.

Mikroelementi u uzorcima vina se mogu određivati različitim tehnikama: stripping voltametrijom (*Wand and Mannino, 1989; Marin and Ostapczuk, 1992*), ICP-AES, ICP-MS (*Eschnauer i sar, 1989; Goossens, 1993*) i UV-Vis spektrofotometrijom (*Weber, 1993 and Schwedt, 1982*).

Međutim, zvanične metode za određivanje teških metala u vinu određene su od strane internacionalne kancelarije za vina (Office International de la Vigne et du Vin) i američkog društva etnologa (American Society of Enologists) i zasnivaju se na atomskoj apsorpcionoj spektrometriji (AAS). (*Stafilov i sar, 2002*). Plamena AAS (F-AAS) je zvanična metoda za određivanje Na, K, Mg, Ca, Fe, Ag i Zn u vinima po evropskoj regulativi. (*Aceto i sar, 2002*)

Plamena-AAS se uglavnom koristi za analizu vina uglanom zbog niskih troškova održavanja instrumenta, što ovu tehniku čini lako dostupnom. Takođe, pogodna je za određivanje Cu, Fe, Mn i Zn u odnosu na raspon koncentracija ovih metala u vinima.

## 2.6. Lekovito bilje

Lekovitost biljke ili njenog organa dolazi od hemijskog sastava, odnosno materija koje imaju lekovito dejstvo na ljudski ili životinjski organizam. Neke materije su lekovite u malim količinama, dok u većim deluju kao otrovi.

Biološke osobine lekovitih, aromatičnih i začinskih biljaka zavise od njihovog porekla. Po poreklu se dele na biljke umerenog, sutropskog i tropskog klimata. Prema dužini života mogu biti jednogodišnje, dvogodišnje ili višegodišnje. Prema građi se dele na zeljaste biljke, polužbunove, žbunove i drvenaste biljke, a prema načinu razmnožavanja na one koje se razmnožavaju vegetativno (oživljavanjem delova biljke) ili generativno (semenom). Zahtevi prema uslovima spoljne sredine (temperatura, vlažnost, dužina dana, intenzitet svetlosti itd.) zavise od porekla odnosno klimata odakle potiču. (*Tucakov, 1984.*)

Biljke su sa nama od kada postoji ljudski rod - služe kao baza za mnoge lekove, a nauka je omogućila da supstance koje ona nude, postanu mnogo jače i delotvornije na zdravlje. Lekovito bilje je pravi dar prirode. Danas je u upotrebi oko 10 000 vrsta biljaka, a istraživanja o njihovim lekovitim svojstvima se vrše gotovo neprekidno u svim krajevima sveta.

Biološki aktivna jedinjenja, odgovorna za terapijsko delovanje, obično su koncentrisana u pojedinim biljnim organima (list, cvet, seme, koren, plod). Biljka uz pomoć

atmosferskog ugljendioksida tokom procesa fotosinteze sintetiše organske molekule koji se dele na primarne i sekundarne metabolite biljaka. Primarni metaboliti utiču na strukturnu funkciju same biljke, dok sekundarni metaboliti utiču na međucelijsko funkcionisanje biljke i reprodukciju unutar biljke, a nastaju kao odgovor na biotički i abiotički stres (*Hartmann, 2007*).

U primarne metabolite biljaka spadaju ugljeni hidrati, masti, nukleinske kiseline i proteini. Od primarnih metabolita tri klase (ugljeni hidrati, masti i proteini) se smatraju strukturnim i hranljivim materijama. Oni su privukli posebnu pažnju u cilju ispitivanja i dokazivanja farmakološke aktivnosti (*WCRF/AICR, 2008*).

Sekundarni metaboliti biljaka mogu se svrstati u četrnaest osnovnih klasa jedinjenja (alkaloidi, amini, cijanogeni glikozidi, diterpeti, flavonoidi, glukoinolati, monoterpeni, neproteinske aminokiseline, fenilpropani, poliacetileni, poliketoni, seskviterpeni, tetraterpeni, triterpeni, saponini, steroli) i procenjuje se da postoji preko 200.000 hemijskih struktura koje sintetišu biljke (*Wink, 2003*).

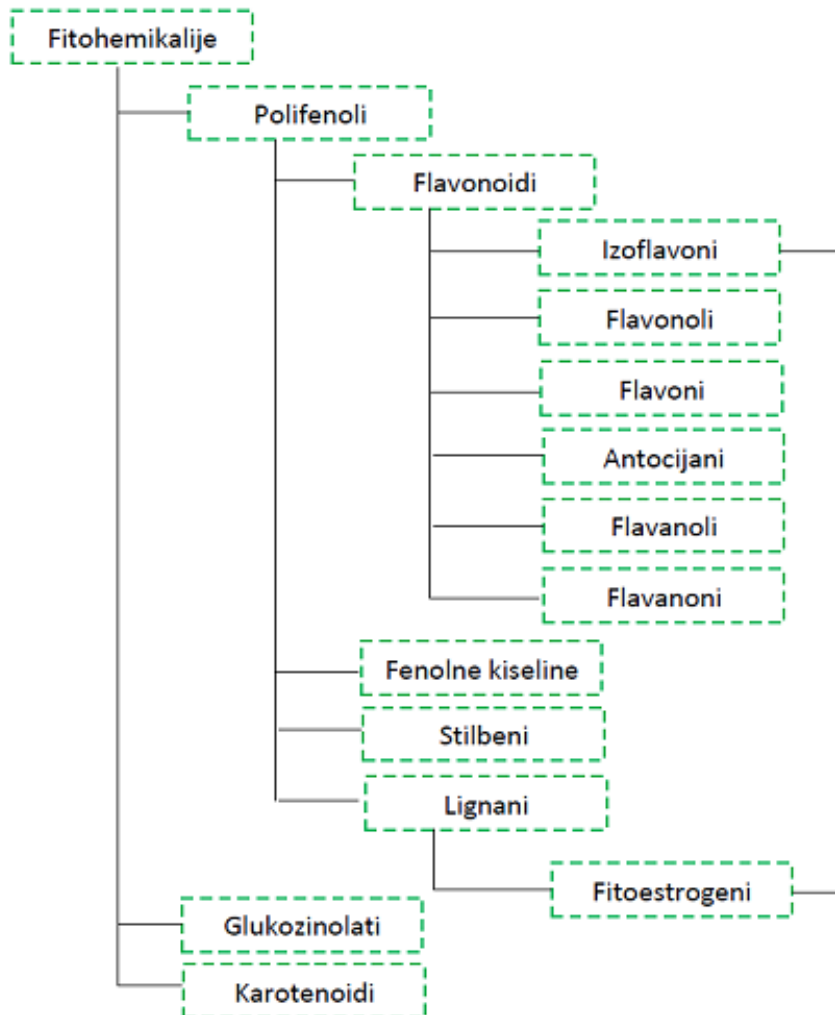
S obzirom na dokazane biohemijske funkcije koje ova jedinjenja poseduju nije iznenađujuće da je ispitan veliki broj lekovitih delovanja. Na bazi bilja formulisano je više od 70% lekova koje se koriste u tradicionalnoj medicini i više od 50% lekova koji se koriste u klasičnoj medicini. Konkretno u terapiji kancera koristi se preko 60% lekova koji su bazirani na biljnim produktima, tj. sekundarnim metabolitima (*Gad, 2005*).

Biljke vezuju ugljendioksid tokom procesa fotosinteze i koriste ugljenik za sintezu primarnih i sekundarnih metabolita. S obzirom na to da primarni metaboliti, npr. ugljeni hidrati, proteini i lipidi, obezbeđuju strukturne i funkcionalne komponente biljkama, sekundarni metaboliti se koriste za komunikaciju, reprodukciju, odbranu, itd. Četrnaest klasa hemijskih komponentata se sintetiše u vidu sekundarnih metabolita biljaka i svaka od klasa vrši biološke aktivnosti koje imaju potencijal da unaprede ljudsko zdravlje kroz njihov efekat na metabolizam mikroorganizama i sisara putem uzimanja ovih hemikalija kao biljne hrane. Najviše hroničnih oboljenja na koje mogu uticati primarni i sekundarni metaboliti biljaka su: kancer, kardiovaskularna oboljenja, dijabetes tipa II i gojaznost, oboljenja koja izazivaju 60% letalnog ishoda u svetu. Na patogenezu ovih oboljenja utiču metabolički procesi koji zavise od biljnih metabolita: metabolizam glukoze, hronična inflamacija, povedana delijska oksidacija i hronična endotoksemija (*Thomson, 2010*).

Sekundarni metaboliti biljaka koji imaju potencijalan pozitivan efekat na zdravlje, a nisu esencijalni nutrijenti se nazivaju fitohemikalijama. Poslednjih decenija su dobile

posebno mesto u mnogim ispitivanjima, a naročito u istraživanjima antioksidativnih supstanci sa visokim antiradikaliskim potencijalom.

Na slici 13. su prikazane neke od podela fitohemikalija sa izraženim antioksidativnim delovanjem (*Blasa i sar, 2010*).



Slika 12. Podela fitohemikalija sa izraženim antioksidativnim delovanjem (*Radojković,2012*)

### 2.6.1. Taksonomski položaj, biološke i hemijske karakteristike odabranog lekovitog bilja

Tabela 15 . Sistematika odabranog lekovitog bilja (NCRS, United States Department of Agriculture <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol> )

Sistematika	<i>Malva silvestris</i> L.	<i>Calendula officinalis</i> L.	<i>Hypericum perforatum</i> L.	<i>Primula vulgaris</i> L.	<i>Satureja montana</i> L.
<b>Carstvo</b>	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
<b>Razdeo</b>	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta
<b>Klasa</b>	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida
<b>Red</b>	Malvales	Asterales	Theales (Guttiferales)	Ericales	Lamiales
<b>Porodica</b>	Malvaceae	Asteraceae	Hypericaceae	Primulaceae	Lamiaceae
<b>Rod</b>	<i>Malva</i>	<i>Calendula</i>	<i>Hypericum</i>	<i>Primula</i>	<i>Satureja</i>
<b>Vrsta</b>	<i>Malva silvestris</i>	<i>C. officinalis</i>	<i>H. perforatum</i>	<i>Primula officinalis</i>	<i>Satureja montana</i>

Tabela 15. Sistematika odabranog lekovitog bilja (NCRS, United States Department of Agriculture <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol> )- nastavak

Sistematika	<i>Cichorium intybus</i> L.	<i>Papaver rhoeas</i> L.	<i>Consolida regalis</i> L.	<i>Origanum vulgare</i> L.
<b>Carstvo</b>	Plantae	Plantae	Plantae	Plantae
<b>Razdeo</b>	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta	Magnoliophyta
<b>Klasa</b>	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida	Magnoliopsida
<b>Red</b>	Asterales	Papaverales	Ranunculales	Lamiales
<b>Porodica</b>	Asteraceae	Papaveraceae	Ranunculaceae	Lamiaceae
<b>Rod</b>	<i>Cichorium</i>	<i>Papaver</i>	<i>Consolida</i>	<i>Origanum</i>
<b>Vrsta</b>	<i>Cichorium intybus</i>	<i>Papaver rhoeas</i>	<i>C. regalis</i>	<i>O. vulgare</i>

#### Crni slez (*Malva silvestris* L.)

Narodni nazivi: Čureća trava, crni slez, velika slezovača, planinski slez, veliki šljez, divlja škura, divlji papel, divlji slez, čureća trava, čurčija trava

Engleski naziv: Malow

Opis: Dvogodišnja ili višegodišnja zeljasta biljka sa uspravnom, pri osnovi odrvenelom stabljikom. Dostiže visinu do 150cm. Koren je vretenast i mesnat, listovi su na dugačkim drškama, različite veličine, bubrežasto srcastog oblika, plće ili dublje deljeni na 3-



7 režnjeva. Cvetovi su u pazuhu listova. Ispod čašice se nalaze tri rašljasta, čekinjasta, šiljasta, uzduž prugasta listića spoljašnje čašice. Čašični listići obrasli su zvezdastim dlakama. Krunični listići su objajastoklinasti, na vrhu usečeni, ružičaste do ljubičaste boje. (Stace i sar, 2008)

Hemijski Sastav: Cvet crnog sleza (Malvae flos) sadrži više od 10% sluzi, tanine, antocijane, heterozide flavona i flavonola. List (Malvae folium) sadrži 6 – 8 % sluzi i malo tanina. (Tabaraki i sar, 2012)

Lekovito dejstvo: Lekoviti sastojci crnog sleza smanjuju nadražaj pri upali sluzokože disajnih puteva. Crni slez je čest sastojak čajnih mešavina koje se koriste kod prehlada, suvog nadražajnog kašlja i za ispiranje usta i grla, kao i kod upale želudačne sluznice i kod blažih proлива. Koristi se za lečenje rana, ekcema, kožnih problema i bronhitisa. (Pirbalouti i sar, 2009)



Slika 13. Crni slez (*Malva silvestris* L.)

### **Neven (*Calendula officinalis* L.)**

Narodni nazivi: Kalendula, prstenčac, bilec, ognjač, vrtni ognjač, zimorod, žutelj.

Engleski naziv: Marigold

Opis: Neven (lat. *Calendula officinalis* L.) je jednogodišnja ili ređe dvogodišnja zeljasta biljka. Stablo nevena je uspravno, granato i izbrazdano. Oblik listova se razlikuje ovisno od njihovog položaja: gornji su duguljasti ili kopljasti, srednji su obrnuto jajasti i obuhvaćaju stablo, a donji su s krilatom drškom. Cvetovi su sakupljeni u glavičaste, narandžasto žute, krupne latice. Periferiju cvetova grade jezičaste latice naslagane u 2-3 reda, a sredinu cevaste latice. Omotač cveta čine uzani, zeleni, ljepljivi i dlakama pokriveni listići.

Hemijski sastav: Cvetovi nevena sadrže eterično ulje, tanine, šećere, likopen (koji je izuzetno dobar antioksidans i štiti od raka grlića materice), belančevine, pigmente karotenoide (daju boju cvetovima), kalendulin, minerale (kalijum, sumpor i dr.), gorke supstance i dr. (Okoh i sar, 2008)

Upotrebljava se u obliku čaja, kao dodatak salatama i drugim jelima, a za spoljanju upotrebu u obliku ulja, masti ili obloga. (Chandran i Kuttan, 2008)

Lekovito dejstvo: Primena nevena u terapijske svrhe poznata je još od Starog Egipta, odakle se proširila u Evropu. Neven deluje antiseptično i antibakterijski pa je vrlo efikasan protiv različitih zapaljenja, gljivičnih infekcija, a najnovija istraživanja govore da je koristan u borbi protiv HIV-a. Koristan je za uklanjanje toksina koji prate različite hronične infekcije, grozničava stanja, kožne bolesti kao što su ekcemi i akne. Dobar je kao sredstvo za umirenje grčeva, protiv astme, kašlja, lupanja srca i nesаницe. Od davnina se u narodnoj medicini koristi za lečenje rana, uboda, čireva, bradavica i dr. Hladan čaj od nevena se upotrebljava za ispiranje očiju kod konjuktivitisa ili desni posle vađenja zuba. Zbog blagog estrogenskog dejstva koristi se za uspostavljanje redovitog menstrualnog ciklusa i umanjena menstrualnih bolova. (Chandran i Kuttan, 2008)



Slika 14. Neven (*Calendula officinalis* L.) Slika 15. Kantarion (*Hypericum perforatum* L.)

### ***Kantarion (Hypericum perforatum L.)***

Narodni nazivi: kantarion, žuta metlica, bogorodična ruka, bljuzga, zvončac, gorčac.

Engleski naziv: St. Johns Wort

Opis: Kantarion (lat. *Hypericum perforatum* L.) je zeljasta biljka. Ima pravu, razgranatu i glatku stabljiku, visoku 30-60 cm, sa čvorovima i dva ruba. Listovi su mali, naspramno raspoređeni u paru (na svakom čvoru, bez drške), glatki, duguljasto-ovalnog oblika, sa sitnim providnim tačkama. Cvetovi imaju zlatno-žutu boju i grupisani su u obliku štita na vrhu stabljike i grana. Imaju zašiljene listiće, latice sa crnim tačkicama, najviše po ivicama, i mnogobrojne prašnike.

Raste po pašnjacima, čestarima, šumovitim terenima, kao i pored puteva. Cvetovi ove biljke su raspoređeni tako da formiraju štiti, a mogu se prepoznati po crvenom soku koji se dobija kada pritisnemo cvetove prstima. (Mehta, 2014)

Hemijski sastav: Tanin katehinske prirode, male količine etarskog ulja smeštenog u providnim tačkicama listova, flavonski glikozidi kao hiperin, rutin, kvercetin, lokalizovani u laticama i epidermu stabljike i listova, obojene materije (hipericin) koje se nalaze u crnim tačkama na površini biljke, karotin, saponin, askorbinska kiselina, nikotinska, valerijanska kiselina, galaktoza, holin. (Greeson i sar, 2001)

Lekovito dejstvo: Kantarion se koristi kao antiseptik, antidepresiv, sedativ, antibiotik, antiinflamator koristi se spolja i iznutra. Aktivna supstanca je hiperflorin. (Wenk i sar, 2004). Ekstrakt kantariona povišuje koncentraciju neurotransmitera serotonina i noradrenalina na sinapsama. Kantarionovo ulje (Oleum hyperici) je naširoko poznato i koristi se za ublažavanje i lečenje opekotina. Dobija se prelivanjem (maceracijom) svežih cvetova kantariona maslinovim uljem.

Antidepresivno dejstvo je poznavao već u srednjem veku Paracelzus, a školska medicina ga je 70-tih godina prošlog veka potvrdila. Kaže se da kantarion koji cveta u sred leta skuplja sunčeve zrake da bi ih ljudima dao za vreme tamnih meseci.

Treba biti oprezan pri korišćenju ove biljke jer interaguje sa velikim brojem lekova. Na neke lekove deluje povećavanjem metabolizma i brzine izbacivanja tih lekova, čime se smanjuje njihova koncentracija u plazmi krvi, i samim tim i njihovo dejstvo. Tu spadaju grupe lekova: benzodijazepini (za smirenje i anksioznost); antiretroviralni lekovi; hormonski kontraceptivi; imunosupresanti; antiaritmici, beta-blokatori i blokatori kalcijumovih kanala (lekovi za srce i pritisak); statini (za smanjivanje holesterola i triglicerida). Takođe deluje i na pojedinačne lekove kao što su digoksin, metadon, omerazol, fenobarbital, teofilin, varfarin, levodopa i drugi.

Sa lekovima koji deluju na centralni nervni sistem interakcija može biti opasna po život. Tu spadaju antidepresivi, opijati uključujući tramadol, stimulansi, litijum i drugi. (Gurley i sar, 2008)

### **Jagorčevina (*Primula vulgaris* L.)**

Narodni nazivi: jaglac, galcina, jaglac rani, jaglika, krstata jaglika i lestegin, bela bukunica, galčina, grmuljica, jaglica, jagorčina, jagotac, krstato jagličice, krstato jegličice, kunjavac. (*Natural History Museum: Primula vulgaris*)

Engleski naziv: Herb Peter

Opis: Jagorčevina (lat. *Primula officinalis* L. preimenovana je u *Primula vulgaris* L.) je višegodišnja zeljasta biljka sa kratkim valjkastim korenom. Nadzemni delovi biljke pokriveni su višecelijskim i žlezdanim dlakama sa crvenim glavicama. Listovi su u prizemnim rozetama, većinom jajasti, postepeno ili naglo prelaze u lisnu dršku, na naličju dlakavi, pa zato beličasti. Cvetovi u štitastoj cvasti na vrhu stabljike. Čašica je petorežnjevita, široko zvonasta. Krunica je levkasta. Grade je pet listića koji su srasli u kruničnu cev. Plod je ovalna čaura, 6 -10 mm dugačka. Cveti u aprilu i maju. (*Blamey i Grey-Wilson, 1989*).

Hemijski Sastav: Jagorčevina ima dosta askorbinske kiseline i saponozida, čija količina varira u popriličnoj meri jer zavisi od vrste i podvrste jagorčevine i doba godine kad se analizira. U cvetu ima i flavonoida, a u listu i karotena. (*Basbulbul i sar, 2008*)

Lekovito dejstvo: Jagorčevina je dobar lek za lečenje plućnih bolesti, nesvestice i lupanja srca. Čaj pripremljen od cvetova povećava broj crvenih krvnih zrnaca. Osim toga, koristi se u lečenju nesanic, migrene i neuredne menstruacije. Pospešuje cirkulaciju krvi i izbacivanje sluzi. Čaj od korena vrlo uspešno deluje kao umirujuće sredstvo za stišavanje glavobolje, nervoze, nesanic, vrtoglavice i nesvestice. Pored svega, koristi se i za lečenje bolesnih bubrega i reumatizma. (*Orhan i sar, 2012*)



Slika 16. Jagorčevina (*Primula vulgaris* L.)



Slika 17. Rtanjski čaj (*Satureja montana* L.)

### ***Rtanjski čaj (Satureja montana L.)***

Narodni nazivi: planinski čubar, vrijesak

Engleski naziv: Winter savory

Opis: Višegodišnja je žbunasta biljka visoka 10-40 cm čiji su donji delovi stabla i grana odrveneli, poluuspravni ili uspravni. Listovi su kožasti i sjajni linearnolancelastog oblika, celog oboda pokriveni svetlucavim žlezdama. Cvetovi su dvousni sakupljeni u pazuhu listova, sa kruničnim listićima bele, ružičaste ili ljubičaste boje. Plod je jajasta i svetlomrka orašica sa žlezdanim tačkama.

Hemijski sastav: Prikupljaju se cvetni vrhovi. Resursi ove biljke u prirodi su jako umanjeni. Rtanjski čaj nije dovoljno hemijski proučena biljka i sastav jako varira u zavisnosti od porekla. Sadrži etarsko ulje (do 2%), tanin (do 7%), timol (1–5%), p-kumen (10-20%) i karvakrol (30-75%) i dr. (*Damjanović-Vratnica i sar, 2011; Bezić i sar, 2005*)

Lekovito dejstvo: Koristi se u narodu za lečenje bolesti organa za disanje, varenje i mokraćnog sistema. Spolja se upotrebljava kod upala kože i sluzokože. Po nekim narodnim travarima ova biljka ima svojstva opšteg tonika koji jača organizam, ali to nije dokazano kliničkim ispitivanjima. Veoma se uspešno koristi u lečenju bronhitisa, astme, kašlja i upale disajnih organa kod dece, kao i u lečenju starih osoba. Kliničkim ispitivanjima je utvrđeno da ulje rtanjskog čaja inhibira rast glive *Candida albicans*. (*Oberg i sar, 2005; Bezić i sar, 2005*)

Takođe, testiran je i etanolni ekstrakt (1:1) na jedanaest vrsta bakterija i pet vrsta gljiva. Pri čemu je utvrđeno da najače deluje na *Bacillus subtilis*, *Sarcina flava*, *Candida tropicalis* i *Candida krusei*. (*Pepeljnjak i sar, 1999*)

### ***Cikorija (Cichorium intybus L.)***

Narodni nazivi: vodopija, ženetrga, gologuza, divlja gologuza, konjogriz, divlji radic

Engleski naziv: Blue Sailors

Opis: Cikorija, vodopija, konjogriz ili divlji radic (lat. *Cichorium intybus L.*) je višegodišnja zeljasta biljka, visoka 1,5 m. ima trajni, valjkasti i vretenasti koren izvana žućkasto-bele boje, a iznutra bele boje. Stabljika je uspravna, kruta, uglasta, u gornjem delu razgranata. Stabljika i listovi su pokriveni kratkim dlakama. Listovi su duguljasti suženi u dršku, duboko režnjevito testerasto usečeni. Cela biljka, pogotovo mlada ima mlečnog soka. Listovi su grubo nazubljeni i podsećaju na maslačak. U pazuhu listova ili na vrhu grana razvijaju se pojedinačno po celoj biljci cvetne glavice svetloplave boje. Cvetovi su svetloplavi, vrlo lepi i upadljivi, sakupljeni glavice koje izbijaju pojedinačno na stabljici ili na



granama. (Francis, 1981). Cveta obilno preko celog leta. Raste svuda kao korov, najviše pored staza i puteva, po pašnjacima i livadama, po obodima šuma i drugde.

**Hemijski sastav:** U korenu cikoriје se nalaze: inulin, gorki glikozidi, saponini, alfa-amirin, tarakeron, baurenil acetat, beta-sitosterol, mineralne materije, organske kiseline, seskviterpenski laktoni, vitamini, masti, manitol, lateks i dr. (Judžentiene i Budiene, 2008)

**Lekovito dejstvo:** Za lek koriste se koren, cvetovi i listovi. Od druge polovine marta do kraja maja kopa se koren, a listovi i cvetovi za vreme cvetanja. Cikoriја čisti i jača želudac, popravlja probavu, odvaja prekomernu žuč, čisti jetru, bubrege i slezinu, leči žuticu i anemiju. Više se koristi u narodnoj nego u naučnoj medicini kao neotrovna gorka droga za lečenje organa za varenje, pre svega, za pojačavanje apetita, za jačanje želudca, za bolje varenje hrane, za obilnije lučenje mokraće i žuči i dr. Pošto je bogata inulinom, a zna se da je to polisaharid koji hidrolizom daje samo fruktozu (voćni šećer), razumljivo je zašto kod nas u narodnoj medicini cikoriју koriste dijabetičari. Ovo je sasvim opravdano, jer sve biljke iz familije glavočika, a njih ima vrlo mnogo, umesto skroba kao rezervnu hranu imaju inulin. Prema tome, osobe obolele od šećerne bolesti mogu koristiti sve biljke iz te porodice kao dijetalnu hranu. (Heckendorn i sar., 2007; Tzamaloukas i sar., 2006)



Slika 18. Cikoriја (*Cichorium intybus* L.)



Slika 19. Bulka (*Papaver rhoeas* L.)

### ***Bulka (Papaver rhoeas L.)***

Narodni nazivi: turčinjak, divlji mak

Engleski naziv: Corn poppy

Opis: Bulka (lat. *Papaver rhoeas* L.) je jednogodišnja, ređe dvogodišnja zeljasta biljka. Stabljike su uspravne, jednostavne ili slabo razgranate i pokrivene dlakama, a listovi jajasti, sivozeleni i pokriveni ostrim dlakama. Cvetovi su krupni (prečnika do 10 cm), upadljivi na dugačkim drškama na dole nagnuti, tamnocrvene, svetlocrvene ili ređe bele boje. Kruničnih listića ima četiri i vrlo su nežni, tanki često pri dnu tamniji. Plod je čahura loptastog oblika ispunjena mnogobrojnim, sitnim, plavosivim, bubrežastim semenima. (*Blamey i sar., 2003*)

Hemijski Sastav: Sadrži bezopasne alkaloidne za razliku od svog srodnika, maka (*Papaver somniferum*), koji je bogat morfinom i drugim opijumskim alkaloidima. Pored alkaloida sadrži još i crvenu boju, organske kiseline, gorke supstance, tanine, skrob, a najlekovitija materija u bulki je sluz i nalazi se u cvetovima.

Lekovito dejstvo: Bulka se koristi uglavnom u narodnoj medicini za lečenje oboljenja i smetnji disajnih organa, želuca i duševnih bolesti. Čajevi i sirupi na bazi ove biljke smiruju kašalj, pomažu iskašljavanje, pomažu kod prehlade i upale grla, krajnika i pluća, hroničnog bronhitisa i astme. Krunični listići poboljšavaju varenje, smiruju grčeve i bolove u želucu, a zajedno sa semenkama deluju smirujuće pa pomažu kod depresija, neuroze i nesаницe. (*Zargari, 1995*)

### ***Žavornjak (Delphinium Consolida L.)***

Narodni nazivi: žavornjak, samorotka, kokotić, vranini nokti, ajdovsko zelje

Engleski naziv: Forking larkspur

Opis: Žavornjak (lat. *Consolida regalis* L. ili *Delphinium Consolida* L.) je jednogodišnja biljka, 20-50 cm visoka. Koren ove biljke je smeđ i raste do dubine od 50 cm, tako da može da preživi duge periode suše. Stabljika je uspravna, razgranata i veoma dlakava. Listovi su naizmenično raspoređeni, dvostruko ili trostruko deljeni. Cvetovi su plave ili ljubičaste boje, grade retke često granate grozdove. Stanište žavornjaka je pored puteva, pored pruga, po oranicama, u žitu, po livadama, pored oboda šuma. Može se naći u skoro celoj Evropi, Maloj Aziji, Armeniji, u oblasti Urala. U Srbiji je veoma rasprostranjena.

Hemijski Sastav: U biljci se detektuju različite bioaktivne supstance kao što su linoleinska kiselina,  $\beta$ -pinen, skvalen. Svi delovi biljke su otrovni u velikim dozama, naročito seme koje sadrži do 1,4% alkaloida. (*Kokoska i sar, 2012*)

**Lekovito dejstvo:** Čaj od žavornjaka deluje pozitivno i smirujuće na psihičko stanje ljudi, opušta i pomaže kod umora i nesаницe.



Slika 20. Žavornjak (*Consolida regalis* L.)



Slika 21. Vranikovka (*Origanum vulgare* L.)

### ***Vranikovka (Origanum vulgare L.)***

Narodni nazivi: mravinac, mirišijavac, crnovr, crnovrška, džodžan, dušica, bolmet, bolja dušica, vrgan, gorka meta, gocman, dobrovoljka, zabrta, zavrt, mažuran, majoran, mravinjac, origanj, rigan, rohogan, sušica, crljena metvica.

Engleski naziv: Wild marjoram

Opis: Zeljasta, aromatična, višegodišnja biljka sa čvrstom stabljikom. Visoka je 20-50 cm i razgranata u gornjem delu, crvenkaste ili zelene boje. Listovi su ovalni, zašiljeni, skoro glatki, nazubljeni. Cvetovi su purpurno-crveni, ređe beli, raspoređeni u klasje, koje se sjedinjuje u štit. Cveti u periodu jun-avgust.

Raste po livadama, na periferiji šuma, po čestarima, u ravničarskim krajevima pa sve do podalpskih zona, a takođe i na suvim i kamenitim mestima. (*Peter, 2011*)

Hemijski Sastav: Nadzemni deo biljke u cvetu (*Origanum herba*) ima 0,3 – 1,2% etarskog ulja čiji su glavni sastojci timol i karvakrol (16 – 50%). Osim toga sadrži još tanine i gorke materije. (*Teixeira, 2013*)

Lekovito dejstvo: Spada u grupu aromatičnih, oporih, gorkih biljaka. Lekovitost biljke bila je cenjena još u antičkoj Grčkoj. Hipokratu je služila za ubrzavanje poroda i u lečenju hemoroida. Danas se koristi, pripremljen kao čaj, protiv grčeva u trbuhu, bolesti probavnog trakta i gornjih disajnih puteva. Spolja blagotvorno deluje protiv raznih zapaljenja kože i



sluznica. Etarsko ulje od vranilovke sadrži oko 50% timola, zbog čega ima veoma izražena antibakterijska svojstva. Vranilovka ima jako antioksidativno dejstvo, zbog velike količine fenolnih kiselina i flavonoida koje sadrži. (*Faleiro i sar., 2005*). Na taj način se može i objasniti vekovna upotreba i ogromno poverenje u lekovitu moć ove biljke u nekim našim krajevima. Nazivaju je vranilovkom zato što je do otkrića sintetskih boja upotrebljavana za crno bojenje vune.

### **3. EKSPERIMENTALNI DEO**

### 3.1. Program eksperimentalnog rada

Eksperimentalni deo ove doktorske disertacije realizovan je u Laboratoriji za kvalitet radne i životne sredine u Institutu "1. maj". Deo istraživanja je urađen u laboratorijama departmana za hemiju na Prirodno matematičkom fakultetu u Nišu.

Istraživanja u okviru ove doktorske disertacije imala su za cilj evaluaciju postojećih i validaciju novih metoda za određivanje metala metodom atomske absorpcione spektrometrije u odabranom samoniklom voću, grožđu, vinu i lekovitom bilju, kao i u njihovim vodenim i etanolnim ekstraktima, određivanje metala i njihov transfer iz zemljišta u listove i plodove, kroz sledeće aktivnosti:

- konstruisanje kalibracione prave u različitim opsezima pri odabranim parametrima instrumenta korišćenjem standardnih rastvora ispitivanih elemenata;
- validacija metode kroz sledeće parametre: linearnost kalibracione prave, limit detekcije (LOD), limit kvantifikacije (LOQ), koeficijent linearne korelacije, koeficijent determinacije, korigovani koeficijent determinacije, standardna greška, relativna standardna devijacija (RSD);
- ispitivanje tačnosti i preciznosti metode korišćenjem standardnih rastvora određene koncentracije i poređenjem sa deklarisanim koncentracijama; kao i korišćenjem realnih spajkovanih uzoraka;
- primena razvijenih metoda na ispitivanim realnim uzorcima, odnosno određivanje sadržaja metala u uzorcima samoniklog voća (*Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Rosa canina* L., *Morus nigra* L., *Morus rubra* L. i *Morus alba* L.); grožđa i vina; lekovitog bilja (*Malva silvestris* L., *Calendula officinalis* L., *Hypericum perforatum* L., *Primula vulgaris* L., *Satureja Montana* L., *Delfinidum consolida* L., *Origanum vulgare* L.) kao i u njihovim vodenim, metanolnim i etanolnim ekstraktima; zemljištu;
- statistička obrada dobijenih rezultata u cilju dobijanja optimalnog opsega kalibracione prave, izabira najoptimalnije metode, izvođenja korelacija između sadržaja i vrste uzorka. Dobijeni rezultati su obrađivani primenom statističkih testova ANOVA i PCA analiza. Primenjeni statistički testovi su imali za cilj da utvrde postojanje statistički značajne razlike ili ne u sadržaju detektovanih elemenata kako po vrsti uzorka u svakoj od grupa ispitivanih biljaka, tako i u okviru svakog tipa uzorka, a koji se razlikuju po pripremi uzoraka ili ekstrakcije;

- Utvrđivanje stepena transfera teških metala iz zemljišta u odabrano voće i lekovito bilje, određivanje koeficijenta usvajanja metala, procena dnevnog unosa metala i indeksa zdravstvenog rizika.

### **3.2. Aparatura**

- Atomsko apsorpcioni spektrometar Varian SpectrAA 20
- Atomsko apsorpcioni spektrometar PERKIN ELMER 3100
- Peć za žarenje Iskra Iskraterm 2K, Slovenija
- Analitička vaga Mettler Toledo MF PH 204L, Švajcarska
- Dejonizator HEMING PO - 3a, Srbija
- Automatske varijabilne pipete

### **3.3. Reagensi**

- Hlorovodonična kiselina, JT Baker, 38 % " Baker Analysed "
- Azotna kiselina, JT Baker, 65 % " Baker Analysed "
- Perhlorna kiselina, MERCK,
- EDTA, MERCK, pa
- Standardni rastvori bakra, MERCK,  $1001 \pm 2$  mg/l, CertiPUR i AccuStandard 1000  $\mu\text{g/ml} \pm 1\%$
- Standardni rastvori cinka, MERCK,  $1002 \pm 2$  mg/l, CertiPUR i AccuStandard 1000  $\mu\text{g/ml} \pm 5\%$
- Standardni rastvori gvožđa, MERCK,  $1002 \pm 2$  mg/l, CertiPUR i AccuStandard 1000  $\mu\text{g/ml} \pm 5\%$
- Standardni rastvori olova, MERCK,  $1000 \pm 2$  mg/l, CertiPUR i AccuStandard 1000  $\mu\text{g/ml} \pm 5\%$
- Standardni rastvori nikla, MERCK,  $1000 \pm 2$  mg/l, CertiPUR i AccuStandard 1000  $\mu\text{g/ml} \pm 5\%$
- Standardni rastvori kadmijuma, MERCK,  $1002 \pm 2$  mg/l, CertiPUR i AccuStandard 1000  $\mu\text{g/ml} \pm 5\%$
- Standardni rastvori mangana, MERCK,  $999 \pm 2$  mg/l, CertiPUR i AccuStandard 1000  $\mu\text{g/ml} \pm 5\%$

### 3.4. Postupci za pripremu uzoraka

Za identifikaciju teških metala u uzorcima biljaka i njihovim ekstraktima korišćen je atomsko apsorpcioni spektrometar Varian SpectrAA 20 i PERKIN ELMER 3100. Uzorci su ispitivani na prisustvo sledećih metala: Fe, Zn, Cu, Ni, Mn, Cd, Pb. Za identifikaciju svakog metala postoji određena talasna dužina i slit koji su karakteristični za isti, tako da je nemoguće da neki drugi metal ometa dokazivanje ispitivanog metala (Tabela 16.). Prilikom određivanja koncentracije ispitivanog uzorka konstruiše se kalibraciona kriva u određenom opsegu koncentracija.

Optimalni opseg koncentracija određen je regresionom analizom.

Tabela 16. Radni uslovi AAS-a

Metal	Talasna dužina (nm)	Slit (nm)	Protok acetilena (l/min)	Struja lampe mA
Gvožđe (Fe)	248,3	0,2	2,0	40
Bakar (Cu)	324,8	1,0	1,8	25
Cink (Zn)	213,9	0,5	2,0	25
Mangan (Mn)	279,5	0,2	1,8	25
Nikl (Ni)	232,0	0,2	2,0	40
Kadmijum (Cd)	228,8	0,5	2,0	25
Olovo (Pb)	217,0	1,0	2,0	12

#### 3.4.1. Priprema zemljišta

Uzorci zemljišta su najpre prosušeni na vazduhu, a zatim su sušeni u sušnici na 105°C tokom dva sata. Nakon sušenja zemljište je prosejano kroz 2 mm sito. 10 grama uzoraka je rastvoreno u 100 ml dejonizovane vode, a zatim filtrirano kroz filter papir Watman No. 42. U 25ml filtrata je izmerena pH vrednost, a preostalih 75 ml je upareno do suva na vodenom kupatilu. Nakon toga suvi ostatak je rastvoren sa 5 ml 1:1 HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O i 5 ml HCl:H<sub>2</sub>O, a zatim razblažen do 25 ml.

Uzorci zemljišta su uzimani u neposrednoj blizini analiziranih vrsta samoniklog voća, grožđa i lekovitog bilja, po prethodno pomenutoj proceduri. Jedinu izuzetku jeste grožđe vrste *Plovdina* gde su uzorci zemljišta uzeti sa dve lokacije, na rastojanju od 0m (odnosno neposredno uz lokalni put) i na 50m od lokalnog puta (u samom vinogradu).

#### 3.4.2. Priprema vode

Uzorci vode uzeti su iz potoka i reka koji se nalaze u neposrednoj blizini vinograda i koriste se za navodnjavanje. 1 litar uzorka vode je zakišeljjen sa 2,5ml (HCl:H<sub>2</sub>O) i 2,5 ml

(HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O), i nakon toga je izvršeno uparavanje uzorka na vodenom kupatilu do zapremine od 100 ml.

#### **3.4.3. Priprema lišća**

Uzorci listova su najpre isprani destilovanom vodom kako bi se uklonila prašina i eventualno prisustvo parazita, zatim su sušeni na 105°C i homogenizovani. Za pripremu uzoraka korišćen je standard AOAC (2000). Tačno 1 gram uzorka je pripremljen u mikrotalsnoj peći na 450 °C tokom 2 sata, zatim je dodato 5ml HCl. Vodilo se računa da sav pepeo dođe u kontakt sa kiselinom. Nakon toga je izvršena digestija uzorka na vrućoj ploči kako bi se dobio bistar rastvor. Ostatak je rastvoren u 0,1 M HNO<sub>3</sub> do 25ml.

#### **3.4.4. Priprema samoniklog voća**

Mesta na kojima je izvršeno uzorkovanje izabrana su u skladu sa standardnom procedurom (*Reimann i sar, 2007*), 300 metara od glavnog puta, 100 metara od lokalnog puta i 5 metara od šumskog puta, kako bi se izbeglo zagađenje od izduvnih gasova vozila. Prikupljeni su uzorci *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Rosa canina* L., *Morus nigra* L., *Morus rubra* L. i *Morus alba* L. u jugoistočnoj Srbiji na lokacijama u: Pukovcu, Mokri, Svrljigu, Aleksincu i Soko Banji, tokom septembra 2010. godine. Samoniklo voće i lišće su prikupljeni od istih biljaka. Uzorkovanje zemljišta je izvršeno po cik-cak principu na dubini od 0-30cm.

Uzorci samoniklog voća su najpre isprani destilovanom vodom kako bi se uklonila prašina i eventualno prisustvo parazita, zatim su sušeni na 105°C i homogenizovani. Za pripremu uzoraka korišćen je standard AOAC (2000). Tačno 1 gram uzorka je pripremljen u mikrotalsnoj peći na 450 °C tokom 2 sata, zatim je dodato 5ml HCl. Vodilo se računa da sav pepeo dođe u kontakt sa kiselinom. Nakon toga je izvršena digestija uzorka na vrućoj ploči kako bi se dobio bistar rastvor. Ostatak je rastvoren u 0,1 M HNO<sub>3</sub> do 25ml.

#### **3.4.5. Priprema uzoraka grožđa**

Uzorci grožđa su prikupljeni u fazi zrenja krajem septembra meseca 2010 god. sa više lokacija na području Jugoistočne Srbije.

Analiza grožđa je vršena pomoću tri različite metode, radi upoređivanja efikasnosti i preciznosti tih metoda; kao i izračunavanja stepena transfera teških metala iz zemljišta u grožđe.

Za analizu su korišćene različite vrste grožđa sa različitih lokacija. Analizirane vrste grožđa su sledeće: plovina, muskat, hamburg, cabernet sauvignon, prokupac i afuzalija, sa sledećih lokacija: Mokra, Sićevo, Svrlijig, Aleksinac, Sićevo i Medoševac.

**Metoda I** - Uzorak grožđa težine 1 gram prelije se sa 10 ml koncentrovane azotne kiseline i kuva oko 30 minuta, tj. kuva se sve dok izlaze pare. Nakon toga se dodaje oko 8 ml perhlorne kiseline i kuva još 15 minuta. Kada se uzorak prohladi dodaje se malo destilovane vode, procedi kroz kvantni levak i razblaži destilovanom vodom u normalnom sudu od 50 ml do crte.

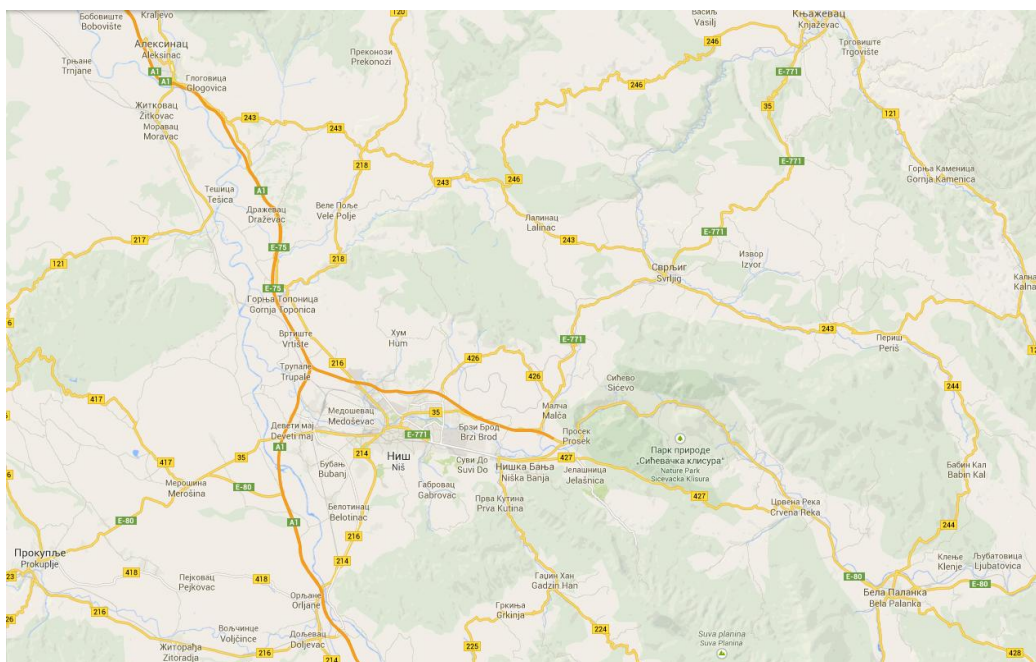
**Metoda II** - Uzorak grožđa težine 1 gram prelije se sa 10 ml HNO<sub>3</sub> : H<sub>2</sub>O i kuva sve dok izlaze žute pare, nakon toga dodaje se 10 ml HCl : H<sub>2</sub>O i kuva još 30 min. Dobijeni uzorak se procedi i razblaži u normalnom sudu od 25 ml.

**Metoda III** - Uzorak grožđa težine 1 gram se mineralizuje u peći za žarenje na temperaturi od oko 800°C (2 sata).

### 3.4.6. Priprema uzoraka vina

U ovom radu analizirani su uzorci vina različitih proizvođača ovih napitaka koji su najzastupljeniji na području grada Niša.

Takođe, analizirani su uzorci vina iz domaće produkcije sa sledećih lokacija: Mokra, Sićevo, Svrlijig, Aleksinac, Sićevo i Medoševac.



Slika 24. Deo jugoistočne Srbije gde je vršeno uzorkovanje zemljišta, vode, lišća, samoniklog voća, grožđa, vina i lekovitog bilja

### **3.4.7. Priprema biljaka**

Biljni materijal je prikupljan u faci cvata sa prirodnog staništa biljaka *Calendula officinalis* L., *Primula officinalis* L., *Origanum vulgare* L., *Cichorium intybus* L., *Satureja Montana* L., *Delphinidum consolida* L., *Papaver rhoeas* L., *Hypericum perforatum* L., *Prunus spinosa* L. sa područja Jugoistočne Srbije u julu 2010. godine.

Proučavana staništa su u okolini Niša. Niš ima oko 300.000 stanovnika i treći po veličini grad u Srbiji, međutim industrija je u ovoj oblasti vrlo slabo razvijena. Izbor lokacija na kojima je izvršeno uzorkovanje biljnog materijala izvršen je u skladu sa European moss monitoring project (*Zechmeister i sar., 2003*). Minimalno rastojanje od glavih puteva i većih mesta iznosi oko 300m, 100m od sporednih puteva i kuća i 5m od šumskih puteva. Biljke su najpre oprane destilovanom vodom kako bi se eliminisala prašina i eventualno prisustvo parazita, a zatim su sušene na 24 časa na temperaturi od 105°C. Biljni materijal je nakon toga homogenizovan (samleven blenderom).

Priprema uzoraka za analizu teških metala izvršena je u skladu sa metodom opisanom od strane Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000). 1gram uzorka je prebačen u peć za žarenje tokom 3 sata na temperaturi od 450 °C. Nakon toga dodato je 5ml HCl uzorku i zadržan je na toplom mestu. Nakon toga uzorak je rastvoren pomoću 0,1 M HNO<sub>3</sub> do 25ml.

Standardni radni rastvori su pripremljeni pomoću 0,1 M HNO<sub>3</sub>, radi provere linearnosti. Takođe, urađena je i modifikacija pomenute metode. Temperatura u peći za žarenje je povećana sa 450°C na 1000°C, dok su ostali parametri ostali nepromenjeni.

### **3.4.8. Priprema vodenih rastvora biljaka**

Da bi se utvrdilo na koji način se u organizam unese više teških metala, čajevi su pripremljeni na dva najčešće korišćena načina u svakodnevnom životu.

#### **Metoda I (dekoka)**

U 100 ml ključale dejonizovane vode stavljeno je 2g biljnog materijala i kuvano je 5 minuta. Tako pripremljeni uzorak je ostavljen na sobnoj temperaturi 5 minuta i zatim je proceden, kroz filter papir Watman No 1. Dodato je 2,5ml (HCl:H<sub>2</sub>O) i 2,5 ml (HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O) i dopunjeno do dejonizovanom vodom do 100ml.

#### **Metoda II (infus)**

U 100 ml tople dejonizovane vode (90°C, temperatura je merenja staklenim živinim termometrom) dodato je 2g biljnog materijala. Tako pripremljeni uzorak je ostavljen na



sobnoj temperaturi 5 minuta i zatim je proceden, kroz filter papir Watman No: Dodato je 2,5ml (HCl:H<sub>2</sub>O) i 2,5 ml (HNO<sub>3</sub>:H<sub>2</sub>O) i dopunjeno do dejonizovanom vodom do 100ml.

#### **3.4.9. Priprema etanolnih rastvora biljaka**

2 grama biljnog materijala ekstrahovana su tri puta rastvaračem sa zapreminama od 30, 20 i 20 ml. Kao rastvarač korišćeni su voda, mešavina etanol-voda (1:1) i etanol. Uzorci su mešani u ultrazvučnom kupatilu tokom postupka ekstrakcije. Ovako pripremljeni uzorci su filtrirani na Bihnerovom levku preko Whatman No.1 filter papira. Čvrsti ostatak je ispran više puta kako bi se dobio transparentni ekstrakt. Konačna zapremina ekstrakta iznosila je 100 ml.

#### **3.4.10. Priprema metanolnih rastvora biljaka**

10 grama biljnog materijala ekstrahovana su tri puta rastvaračem sa zapreminama od 30, 20 i 20 ml. Kao rastvarač korišćeni su voda, mešavina metanol-voda (1:1) i metanol. Uzorci su mešani u ultrazvučnom kupatilu tokom postupka ekstrakcije. Ovako pripremljeni uzorci su filtrirani na Bihnerovom levku preko Whatman No.1 filter papira. Čvrsti ostatak je ispran više puta kako bi se dobio transparentni ekstrakt. Konačna zapremina ekstrakta iznosila je 100 ml.

#### **3.4.11. Izračunavanje uzimanja metala iz zemljišta preko ploda oralnim putem**

Dnevni unos metala iz voća određen je na sledeći način (*Jolly i sar., 2013*):

$DIM = \text{Dnevno konzumiranje voća} \times \text{srednja vrednost koncentracije metala (mg/kg, sveže mase)}$ .

Pretpostavljeno je da dnevno konzumiranje voća iznosi 300 g po osobi.

#### **3.4.12. Izračunavanje indeksa zdravstvenog rizika metala od kontaminiranog voća**

Rizik po zdravlje karakteriše Hazard Quotient (HQ), koji predstavlja odnos između izloženosti i referentne oralne doze (R<sub>f</sub>D).

$$HQ = DIM/R_fD$$

R<sub>f</sub>D je referentna oralna doza za metal (mg/dan), na 70 kg telesne težine. Ukoliko je vrednost HQ manje od 1, znači da ne postoji očigledan rizik. Iako HQ ne procenjuje kvantitativno verovatnoću negativnih efekta na zdravlje, on pruža indikaciju zdravstvenog rizika. (*Jolly i sar., 2013*)

### **3.4.13. Izračunavanje indeksa zdravstvenog rizika metala od kontaminiranog vina**

Rizik po zdravlje karakteriše Target Hazard Quotient (THQ), koji predstavlja odnos između izmerene koncentracije i oralne referentne doze, u zavisnosti od dužine i vremena učestalosti ekspozicije, količine unosa i telesne težine.

$$THQ = (EF_r \times ED_{tot} \times SFI \times MCS_{inorg}) / (R_fD \times BW_a \times AT_n) \times 10^{-3}$$

$EF_r$  je učestalost ekspozicije,  $ED_{tot}$  trajanje ekspozicije (prosečni životni vek), SFI masa proizvoda uneta u organizam,  $MCS_{inorg}$  koncentracija neorganske vrste proizvoda uneta u organizam ( $\mu\text{g/g}$  wet weight),  $R_fD$  je referentna oralna doza za metal (mg/dan),  $BW_a$  prosečna telesna masa odraslih,  $AT_n$  prosečno vreme ne kancerogena,  $10^{-3}$  konverzioni factor. (Hague i sar., 2008)

### **3.4.14. Statistička obrada podataka**

U cilju ispitivanja i odabira optimalnog opsega kalibracione prave, izabira najoptimalnije metode, izvođenja korelacija između sadržaja i vrste uzorka na dobijene vrednosti sadržaja primenjeni su statistički testovi ANOVA i Studentov t-test.

Procesiranje statističkih podataka je izvedeno korišćenjem XLSTAT 2014.2.03 korišćenjem originalnih podataka za koncentraciju. Multivarijantna analiza podataka je izvedena korišćenjem PCA/FA i CA. PCA i HCA su upotrebljene za analizu rasporeda i prostornu varijaciju prisutnih metala u uzorcima.

## **4. REZULTATI I DISKUSIJA**

#### 4.1. Modifikacija i validacija metoda za određivanje sadržaja metala metodom AAS

U cilju ispitivanja sadržaja metala u zemljištu, lišću, samoniklom voću, grožđu i vinu, lekovitom bilju i njihovim ekstraktima, kao i njihovom uticaju na čoveka, najpre je neophodno definisati metode za njihovo analitičko određivanje. Svi metali su određivani na najosetljivijoj talasnoj dužini i slitu kako bi se izbegle spektralne interferencije, a urađena je i korekcija pozadine radi dobijanja što većeg odnosa signal/pozadina. Podešavanje instrumenta u smislu struje u lampi, protoka, pozadinskih korekcija, izvršeno je po preporuci proizvođača opreme sa kojom je vršeno određivanje sadržaja metala, a vrednosti su date u Tabeli 16.

Radi odabira najpogodnijeg opsega za određivanje metala, izvršena je statistička obrada dobijenih podataka.

Pre eksperimenta izabran je preliminarni radni opseg, koji zavisi od: predmeta kalibracije u odnosu na praksu (radni opseg mora pokrivati što je moguće više opseg primene za analizu i najčešće očekivana koncentracija uzorka treba da leži u sredini mernog opsega); mogućnosti tehničke realizacije (dobijene izmerene vrednosti moraju imati linearnu korelaciju sa koncentracijama; što znači da izmerena vrednost dobijena u blizini donje granice radnog opsega može da se razlikuje od slepe probe; donja granica radnog opsega zato treba da bude jednaka ili veća od gornje granice detekcije metode); varijansa informacione vrednosti mora biti nezavisna od koncentracije. (SRPS ISO 8466-1:1994)

U skladu sa prethodno pomenutim zahtevima korišćena su tri opsega kalibracione prave kako bi se izabrao najoptimalniji. Takođe, statističkom obradom rezultata došlo se do podataka o koeficijentu linearne korelacije, koeficijentu determinacije, korigovanom koeficijentu determinacije, standardnoj grešci, odsečka, nagiba. Korišćen je što veći broj tačaka prilikom kalibracije, sa višestrukim očitavanjem absorbance (u radu je prikazana srednja vrednosti tri očitavanja) u dva ponavljanja. Izračunati su limiti detekcije i limiti kvantifikacije izvođenjem 6 ponovljenih analiza slepe probe.

Tačnost i preciznost metoda određeni su prethodno definisanim optimalnim uslovima. Dobijene vrednosti su upoređivane sa deklarisanim vrednostima od strane proizvođača standarda. Takođe, izvršeno je i poređenje sa vrednostima iz prirodnih uzoraka, što je za validaciju metode vrlo bitan podatak.

Procenjena je merna nesigurnost svake metode ponaosob, pri čemu su uzimani u obzir svi faktori koji na neki način utiču na određivanje.

Kao osnovne metode na kojima je urađena validacija, korišćene su metode američke agencije za zaštitu životne sredine (US EPA). Korišćene su ove metode zato što se po njima i

radi određivanje sadržaja metala u tečnim uzorcima, ali u različitim tipovima voda. Ovim radom smo proverili i dokazali da je uz određene modifikacije metode, moguće određivanje sadržaja metala i u drugim tečnim uzorcima.

#### **4.1.1. Modifikacija i validacija metode za određivanje sadržaja Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Cd i Pb metodom AAS**

**Cink.** Kao osnova za modifikaciju korišćena je standardna metoda Američke Agencije za zaštitu životne sredine, *Epa Method 289.1:1974: Zinc (AA, Direct Aspiration)*. Linearnost metode *Epa Method 289.1:1974* je u opsegu od 0,05-1,00 mg/l. Zbog većih koncentracija cinka koje se mogu detektovati u biljkama i njihovim ekstraktima, eksperimentalnim putem i statističkom obradom podataka (povećanjem mernog opsega) određivana je linearnost za sledeće opsege koncentracija: 0,05-1,00 mg/l; 0,05-2,00 mg/l i 0,05-9,00 mg/l.

Tabela 18. Kalibracioni podaci dobijeni za opsege: 0,05-1,00 mg/l; 0,05-2,00 mg/l i 0,05-9,00 mg/l

Standard	0,05-1,00 mg/l			0,05-2,00 mg/l			0,05-9,00 mg/l		
	Konc (mg/l)	Abs	Abs	Konc (mg/l)	Abs	Abs	Konc (mg/l)	Abs	Abs
Stand. broj 1	0,05	0,109	0,111	0,05	0,006	0,111	0,05	0,006	0,010
Stand. broj 2	0,10	0,261	0,263	0,20	0,047	0,053	1,00	0,210	0,202
Stand. broj 3	0,15	0,310	0,315	0,40	0,088	0,095	2,00	0,350	0,304
Stand. broj 4	0,20	0,340	0,344	0,80	0,170	0,194	3,00	0,500	0,521
Stand. broj 5	0,40	0,361	0,358	1,00	0,206	0,218	4,00	0,695	0,689
Stand. broj 6	0,50	0,430	0,428	1,20	0,229	0,248	5,00	0,752	0,771
Stand. broj 7	0,55	0,505	0,509	1,40	0,259	0,270	6,00	0,89	0,903
Stand. broj 8	0,60	0,109	0,111	1,60	0,293	0,300	7,00	1,020	1,109
Stand. broj 9	0,80	0,261	0,263	1,80	0,322	0,330	8,00	1,203	1,352
Stand. broj 10	1,00	0,310	0,315	2,00	0,350	0,380	9,00	1,421	1,566

Tabela 19. Statistički podaci dobijeni regresionom analizom

	<b>0,05-1,00 mg/l</b>	<b>0,05-2,00 mg/l</b>	<b>0,05-9,00 mg/l</b>			
Koeficijent linearne korelacije	0,9998	0,9688	0,9973			
Koeficijent determinacije	0,9995	0,9386	0,9946			
Korigovani koeficijent determinacije	0,9995	0,9310	0,9939			
Standardna greška	0,0029	0,0309	0,0348			
Broj uzoraka	10	10	10			

<b>Izvor varijacije</b>	<b>Broj stepena slobode</b>	<b>Zbir kvadrata</b>	<b>Srednja vrednost zbira kvadrata</b>	<b>F-odnos</b>		
<b>0,05-1,00 mg/l</b>						
Regresija (protumačen modelom)	1	0,1404	0,1404	16864,7593		
Ostatak (neprotumačen modelom)	8	0,0001	0,0000			
Ukupno	9	0,1404				
<b>0,05-2,00 mg/l</b>						
Regresija (protumačen modelom)	1	0,1171	0,1171	122,3859		
Ostatak (neprotumačen modelom)	8	0,0077	0,0010			
Ukupno	9	0,1248				
<b>0,05-9,00 mg/l</b>						
Regresija (protumačen modelom)	1	1,7884	1,7884	1474,3445		
Ostatak (neprotumačen modelom)	8	0,0097	0,0012			
Ukupno	9	1,7981				

	<b>Koeficijent</b>	<b>Standardna greška</b>	<b>t Stat</b>	<b>P-vrednost</b>	<b>Donji limit 95%</b>	<b>Gornji limit 95%</b>
<b>0,05-1,00 mg/l</b>						
Odsečak (a)	-0,0025	0,0025	-1,0194	0,3378	-0,0083	0,0032
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	1,0015	0,0077	129,8644	0,0000	0,9837	1,0193
<b>0,05-2,00 mg/l</b>						
Odsečak (a)	-0,0370	0,0233	-1,5870	0,1512	-0,0907	0,0168
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	1,0640	0,0962	11,0628	0,0000	0,8422	1,2858
<b>0,05-9,00 mg/l</b>						
Odsečak (a)	0,0474	0,0204	2,3297	0,0482	0,0005	0,0944
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,8850	0,0230	38,3972	0,0000	0,8318	0,9381

Tabela 20. Uporedni prikaz parametara kalibracionih pravih za različite opsege određivanja

Opseg	0,05 – 1,00 mg/l	0,05 – 2,00 mg/l	0,05 – 9,00 mg/l
Regresiona jednačina	$y = 1,0015x - 0,0025$	$y = 1,0640x - 0,0370$	$y = 1,0640x - 0,0370$
Y-odsečak (a)	-0,0025	-0,0370	0,0474
Nagib krive (b)	1,0015	1,0640	0,8850
Ukupan broj merenja (N)	20	20	20
Broj koncentracionih nivoa (k)	10	10	10
Standardna greška (Sy/x)	0,0029	0,0309	0,0348
Standardna greška odsečka (Sa)	0,0025	0,0233	0,0204
Donji limit	-0,0083	-0,0907	0,0005
Gornji limit	0,0032	0,0168	0,0944
Nula uključena	DA	DA	NE
SS <sub>1</sub>	0,000151	0,017186	0,021799
SS <sub>2</sub>	0,000149	0,006662	0,061376
Z <sub>1</sub>	1,07	3,54	-0,80
Linearnost	DA	DA	NE

Iz prethodne tabele se može zaključiti da metoda ima linearan odgovor kroz opseg 0,05 – 1,00 mg/l i 0,05 – 2,00 mg/l. Obzirom da je  $Z_1 < F_{0,95}$  (ISO 2854:1976) linearnost se usvaja, pa su ovi opsezi prihvatljivi za određivanje. Takođe, na osnovu vrednosti donjeg i gornjeg limita vidi se da je nula uključena što je vrlo bitna činjenica. Vrednosti standardne greške i standardne greške odsečka su na zadovoljavajuće niskom nivou.

U opsegu 0,05-9,00 mg/l metoda nema linearan opseg, pa je ovaj opseg neprihvatljiv. Na osnovu ovih podataka potvrđuje se činjenica da radni oseg treba smanjivati što je moguće više kako bi se dobila linearna kalibraciona funkcija (SRSP ISO 8466-1:1994).

**Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)** su određeni izvođenjem 6 ponovljenih analiza slepe probe. (određivanje je urađeno pod uslovima ponovljivosti)

Tabela 21. Limit detekcije (LOD) i limit kvantifikacije (LOQ)

Tip uzorka	Srednja vrednost (mg/l)	Standardna devijacija (mg/l)	Broj uzoraka	Limit detekcije (mg/l)	Limit kvantifikacije (mg/l)
Slepa proba	0,030	0,0096	6x2	0,059	0,126

Kod određivanja **preciznosti i tačnosti** vršilo se poređenje sa sintetičkim uzorcima (standardnim rastvorima tačno određene koncentracije), kao i sa realnim uzorcima poznate koncentracije, pri čemu se vodilo računa da ispitivani uzorci budu u mernom opsegu.

Tabela 22. Uzorci korišćeni za određivanje preciznosti i tačnosti

1.	Slepa proba		
2.	Uzorak sa dodatim standardom, N1	Sintetički	0,15 mg/l
3.	Uzorak lekovitog bilja, N2	Prirodni	oko 0,2
4.	Uzorak lekovitog bilja spajkovan, N3	Spajkovan	sa 0,1 mg/l
5.	Uzorak ekstrakta lekovitog bilja, N4	Prirodni	oko 0,3 mg/l
6.	Uzorak ekstrakta lekovitog bilja spajkovan, N5	Spajkovan	sa 0,1 mg/l
7.	Uzorak sa dodatim standardom, N6	Sintetički	1,00 mg/l
8.	Uzorak lekovitog bilja, N7	Prirodni	oko 1,20 mg/l
9.	Uzorak lekovitog bilja spajkovan, N8	Spajkovan	sa 0,1 mg/l
10.	Uzorak sa dodatim standardom, N9	Sintetički	2,00 mg/l

Tabela 23. Vrednosti preciznosti i tačnosti ispitivanih uzoraka

Tip uzorka	Broj uzoraka	Srednja vrednost, mg/l	Standardna devijacija, mg/l	Rikaveri, %	Istinitost, %	Preciznost			
						Ponovljivost, mg/l		Varijacija, %	
						Sw	Sb	CVw	CVb
N1	6x2	0,149	0,0036	94,6 -102,6	99,3	0,0032	0,0037	2,15	2,48
N2	6x2	0,203	0,0049			0,0035	0,0050	1,72	2,46
N3	6x2	0,102	0,0039	97 - 110	102	0,0039	0,0039	3,82	3,82
N4	6x2	0,266	0,0039			0,0044	0,0039	1,65	1,47
N5	6x2	0,105	0,0037	101 - 111	105	0,0032	0,0038	3,05	3,62
N6	6x2	1,035	0,0360	99,2 – 108,4	103,5	0,0277	0,0370	2,68	3,57
N7	6x2	1,301	0,0263			0,0180	0,0270	1,38	2,07
N8	6x2	0,105	0,0060	91 - 112	105	0,0061	0,0042	5,81	4,00
N9	6x2	2,027	0,0565	95,5 – 104,5	101,35	0,0509	0,0564	2,51	2,78

Procena merne nesigurnosti metode za određivanje sadržaja cinka izvršena je analizom kontrolnih uzoraka, svaki put pre analize predmetnog uzorka. Kontrolni uzorci su napravljeni od rastvora cinka (1,20 mg/l). Dobijeni rezultati su upisivani u grafikon sa granicama upozorenja i akcije (ove granice odgovaraju vrednostima dvostruke i trostruke standardne devijacije).

Obzirom da je referentni kontrolni uzorak tretiran u laboratoriji, u izračunavanju merne nesigurnosti za referentni materijal neophodno je uključiti i mernu nesigurnost koja proizilazi iz procesa tretiranja u laboratoriji po ispitnoj metodi. (Tabela 24.)



Tabela 24. Proširena merna nesigurnost

Srednja vrednost (mg/l)	1,23
Standardna devijacija (mg/l)	0,037
Bias (%)	2,50
Koeficijent varijacije (%)	3,00
Nesigurnost nominalnih vrednosti ( $u(c_{ref})$ ) (%):	0,94
Merna nesigurnost normalnog suda B1 od 25 ml(%)	0,13
Nesigurnost standardnog rastvora cinka (Fisher chemical) (%)	0,29
Nesigurnost standardnog rastvora cinka (Accustandard) (%)	0,29
Nesigurnost hlorovodonične kiseline (%)	0,20
Nesigurnost azote kiseline (%)	0,12
Merna nesigurnost AAS-a (%)	0,46
Merna nesigurnost pipete od 100 – 1000 $\mu$ l (%)	0,05
Standardna nesigurnost (%)	2,67
Kombinovana standardna nesigurnost (%)	3,66
Proširena merna nesigurnost (%)	7,32

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom obradom podataka možemo zaključiti da je predložena metoda za određivanje sadržaja cinka metodom AAS u uzorcima zemljišta, lišća, samoniklog voća, duda, grožđa i lekovitog bilja i njihovim ekstraktima, adekvatna i da se primenjuje na adekvatan način, obzirom da je:

- metoda je linearna u opsegu od 0,05 do 2 mg/l
- limit detekcije je određen na 0,059 mg/l
- limit kvantifikacije je određen na 0,126 mg/l
- rikaveri varira u opsegu od 91 – 112 %
- ponovljivost se kreće u granicama od 0,0032 mg/l do 0,0509 mg/l
- vrednosti preciznosti kreću se u granicama za CVw: 1,38 – 5,81 % i za CVb: 1,47 – 4,00 %
- proširena merna nesigurnost iznosi  $\pm 7,32\%$
- poređenjem vrednosti standardne devijacije i biasa laboratorijskih kontrolnih uzoraka koncentracije 0,28 mg/l, kao i prirodnih uzoraka čija se vrednost kreće oko 0,3 mg/l, sa vrednostima iz metode EPA METHOD 289.1, 1974 može se zapaziti značajan stepen slaganja dobijenih rezultata.

Na istom principu urađena je modifikacija i validacija metoda i za ostale metale, a rezultati su prikazani u sledećim Tabelama 25,26,27,28,29 i 30.

Tabela 25. Statistički podaci dobijeni regresionom analizom za opsege bakra (*Epa Method 220.1:1974: Copper (AA, Direct Aspiration)*): 0,00-5,00 mg/l; 0,00-10,00 mg/l; 0,00-7,00 mg/l

	0,00-5,00 mg/l	0,00-10,00 mg/l	0,00-7,00 mg/l
Koeficijent linearne korelacije	1,0000	0,9975	0,9995
Koeficijent determinacije	0,9999	0,9951	0,9991
Korigovani koeficijent determinacije	0,9999	0,9945	0,9989
Standardna greška	0,0010	0,0199	0,0063
Broj uzoraka	11	11	8
Koeficijent odsečka (a)	-0,0002	-0,0046	0,0073
Koeficijent X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,9930	0,9803	1,0309
Standardna greška odsečka (a)	0,0006	0,0107	0,0038
Standardna greška koeficijenta X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,0031	0,0230	0,0128
T stat odsečka (a)	-0,3568	-0,4273	1,9049
T stat			
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	324,2481	42,6769	80,6456
Donji limit odsečka (a)	-0,0015	-0,0287	-0,0021
Gornji limit odsečka (a)	0,0011	0,0195	0,0166
Regresiona jednačina	$y = 0,9930x - 0,0003$	$y = 0,8850x + 0,0474$	$y = 1,0309x + 0,0073$
Ukupan broj merenja (N)	22	22	16
Broj koncentracionih nivoa (k)	11	11	8
Nula uključena	DA	NE	DA
SS <sub>1</sub>	0,000020	0,024221	0,000556
SS <sub>2</sub>	0,000017	0,333604	0,010747
Z <sub>1</sub>	0,22	-1,13	-1,26
Linearnost	DA	NE	NE
LOD	0,08	/	/
LOQ	0,167	/	/
Stdev	0,0126	/	/
Rikaveri	93 - 112 %	/	/
Ponovljivost	0,0018-0,0293 mg/l	/	/
CVw	0,46-5,60 %	/	/
CVb	0,18-6,25 %	/	/
Proširena nesigurnost	2,40%	/	/

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom obradom podataka možemo zaključiti da je predložena metoda za određivanje sadržaja bakra metodom AAS u uzorcima zemljišta, lišća, samoniklog voća, duda, grožđa i lekovitog bilja i njihovim ekstraktima, adekvatna i da se primenjuje na adekvatan način, obzirom da je: metoda linearna u opsegu od 0,00 do 5,00 mg/l, limit detekcije je određen na 0,08 mg/l, limit kvantifikacije na 0,167 mg/l, rikaveri varira u opsegu od 93 – 112 %, ponovljivost se kreće u granicama od 0,0018 mg/l do 0,0293 mg/l, vrednosti preciznosti kreću se u granicama za CVw: 0,46 – 5,60 % i za CVb: 0,18 – 6,25 %, a proširena merna nesigurnost iznosi  $\pm 2,40\%$

Tabela 26. Statistički podaci dobijeni regresionom analizom za opsege gvožđa (*Epa Method 236.1:1974: Iron (AA, Direct Aspiration)*): 0,00-5,00 mg/l; 0,00-7,00 mg/l; 0,00-10,00 mg/l

	0,00-5,00 mg/l	0,00-7,00 mg/l	0,00-10,00 mg/l
Koeficijent linearne korelacije	0,9994	0,9887	0,9989
Koeficijent determinacije	0,9988	0,9775	0,9978
Korigovani koeficijent determinacije	0,9987	0,9737	0,9976
Standardna greška	0,0034	0,0290	0,0114
Broj uzoraka	11	11	11
Koeficijent odsečka (a)	-0,0004	0,0278	-0,0035
Koeficijent X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,9933	0,9704	1,0223
Standardna greška odsečka (a)	0,0022	0,0167	0,0065
Standardna greška koeficijenta X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,0113	0,0601	0,0160
T stat odsečka (a)	-0,1791	1,6588	-0,5410
T stat			
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent	88,049	16,1555	64,0555
Donji limit odsečka (a)	-0,0054	-0,0132	-0,0182
Gornji limit odsečka (a)	0,0046	0,0687	0,0112
Regresiona jednačina	$y = 0,9933x - 0,0004$	$y = 0,9704x - 0,0278$	$y = 1,0223x - 0,0035$
Ukupan broj merenja (N)	22	14	22
Broj koncentracionih nivoa (k)	11	7	11
Nula uključena	DA	DA	DA
SS <sub>1</sub>	0,00023	0,0033	0,0059
SS <sub>2</sub>	0,0000685	0,0091	0,0123
Z <sub>1</sub>	2,88	-0,45	5,03
Linearnost	DA	NE	NE
LOD	0,01	/	/
LOQ	0,03	/	/
Stdev	0,0025	/	/
Rikaveri	92 – 118 %	/	/
Ponovljivost	0,0023-0,1109 mg/l	/	/
CVw	0,77 – 6,43 %	/	/
CVb	0,77 – 6,44 %	/	/
Proširena nesigurnost	12,1	/	/

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom obradom podataka možemo zaključiti da je predložena metoda za određivanje sadržaja gvožđa metodom AAS u uzorcima zemljišta, lišća, samoniklog voća, duda, grožđa i lekovitog bilja i njihovim ekstraktima, adekvatna i da se primenjuje na adekvatan način, obzirom da je: metoda linearna u opsegu od 0,00 do 5,00 mg/l; limit detekcije je određen na 0,01 mg/l; limit kvantifikacije na 0,03 mg/l; rikaveri varira u opsegu od 92 – 118 %; ponovljivost se kreće u granicama od 0,0023 mg/l do 0,1109 mg/l; vrednosti preciznosti kreću se u granicama za CVw: 0,77 – 6,43 % i za CVb: 0,77 – 6,44 %, a proširena merna nesigurnost iznosi ±12,1%.

Tabela 27. Statistički podaci dobijeni regresionom analizom za opsege mangana (*Epa Method 243.1:1978: Manganese (AA, Direct Aspiration)*): 0,00-5,00 mg/l; 0,00-7,00 mg/l; 0,00-10,00 mg/l

	0,00-5,00 mg/l	0,00-7,00 mg/l	0,00-10,00 mg/l
Koeficijent linearne korelacije	1,0000	0,9974	0,9931
Koeficijent determinacije	0,9999	0,9948	0,9862
Korigovani koeficijent determinacije	0,9999	0,9941	0,9847
Standardna greška	0,0023	0,0108	0,0250
Broj uzoraka	11	9	11
Koeficijent odsečka (a)	0,0027	-0,0144	0,0680
Koeficijent X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,9950	1,1124	0,9313
Standardna greška odsečka (a)	0,0013	0,0058	0,0125
Standardna greška koeficijenta X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,0028	0,0307	0,0367
T stat odsečka (a)	2,0604	-2,4636	0,5397
T stat			
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent	351,4893	36,6337	25,3868
Donji limit odsečka (a)	-0,0003	-0,0282	-0,0216
Gornji limit odsečka (a)	0,0057	-0,0006	0,0351
Regresiona jednačina	$y = 0,9950x + 0,0027$	$y = 1,1124x - 0,0144$	$y = 0,9313x + 0,0680$
Ukupan broj merenja (N)	22	18	22
Broj koncentracionih nivoa (k)	11	9	11
Nula uključena	DA	NE	DA
SS <sub>1</sub>	0,000106	0,001866	0,012500
SS <sub>2</sub>	0,000095	0,001944	0,048025
Z <sub>1</sub>	0,14	-0,36	-0,90
Linearnost	DA	NE	NE
LOD	0,01	/	/
LOQ	0,03	/	/
Stdev	0,0025	/	/
Rikaveri	93 – 116 %	/	/
Ponovljivost	0,025-0,130 mg/l	/	/
CVw	0,65 – 5,92 %	/	/
CVb	0,80 – 6,01 %	/	/
Proširena nesigurnost	9,1 %	/	/

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom obradom podataka možemo zaključiti da je predložena metoda za određivanje sadržaja mangana metodom AAS u uzorcima zemljišta, lišća, samoniklog voća, duda, grožđa i lekovitog bilja i njihovim ekstraktima, adekvatna i da se primenjuje na adekvatan način, obzirom da je: metoda linearna u opsegu od 0,00 do 5,00 mg/l; limit detekcije je određen na 0,01 mg/l; limit kvantifikacije na 0,03 mg/l; rikaveri varira u opsegu od 93 – 116 %; ponovljivost se kreće u granicama od 0,025 mg/l do 0,130 mg/l; vrednosti preciznosti kreću se u granicama za CVw: 0,65 – 5,92 % i za CVb: 0,80 – 6,01 %, a proširena merna nesigurnost iznosi ±9,1%.

Tabela 28. Statistički podaci dobijeni regresionom analizom za opsege nikla (*Epa Method 249.1:1978, Nickel (AA, Direct Aspiration)*): 0,00-5,00 mg/l; 0,00-7,00 mg/l; 0,00-10,00 mg/l

	0,00-5,00 mg/l	0,00-7,00 mg/l	0,00-10,00 mg/l
Koeficijent linearne korelacije	0,999831	0,9956	0,9978
Koeficijent determinacije	0,999662	0,9912	0,9957
Korigovani koeficijent determinacije	0,99962	0,9899	0,9953
Standardna greška	0,002161	0,0192	0,0186
Broj uzoraka	10	9	11
Koeficijent odsečka (a)	-0,0016	-0,0048	-0,0093
Koeficijent X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	1,0066	0,9677	0,9839
Standardna greška odsečka (a)	0,001415	0,0104	0,0100
Standardna greška koeficijenta X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,006543	0,0345	0,0215
T stat odsečka (a)	-1,09597	-0,4551	-0,9309
T stat			
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	153,8554	28,0507	45,7817
Donji limit odsečka (a)	-0,00481	-0,0294	-0,0319
Gornji limit odsečka (a)	0,001712	0,0199	0,0134
Regresiona jednačina	$y=1,0066x - 0,0016$	$y=0,9477x - 0,0048$	$y=0,9839x - 0,0093$
Ukupan broj merenja (N)	20	18	22
Broj koncentracionih nivoa (k)	10	9	11
Nula uključena	DA	DA	DA
SS <sub>1</sub>	0,000054	0,005898	0,006919
SS <sub>2</sub>	0,0000215	0,001259	0,000879
Z <sub>1</sub>	1,89	4,74	8,39
Linearnost	DA	NE	NE
LOD	0,06	/	/
LOQ	0,36	/	/
Stdev	0,0114	/	/
Rikaveri	98– 103 %	/	/
Ponovljivost	0,0089 - 0,014 mg/l	/	/
CVw	0,20 – 1,74 %	/	/
CVb	0,02 – 0,98 %	/	/
Proširena nesigurnost	2,92	/	/

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom obradom podataka možemo zaključiti da je predložena metoda za određivanje sadržaja nikla metodom AAS u uzorcima zemljišta, lišća, samoniklog voća, duda, grožđa i lekovitog bilja i njihovim ekstraktima, adekvatna i da se primenjuje na adekvatan način, obzirom da je: metoda je linearna u opsegu od 0,00 do 5,00 mg/l, limit detekcije je određen na 0,06 mg/l, limit kvantifikacije na 0,36 mg/l, rikaveri varira u opsegu od 98 – 103 %, ponovljivost se kreće u granicama od 0,0089 mg/l do 0,0140 mg/l, vrednosti preciznosti kreću se u granicama za CVw: 0,20 – 1,74 % i za CVb: 0,02 – 0,98 %, a proširena merna nesigurnost iznosi  $\pm 2,92\%$ .

Tabela 29. Statistički podaci dobijeni regresionom analizom za opsege olova (*Epa Method 239.1:1974, Lead (AA, Direct Aspiration)*): 0,00-5,00 mg/l; 0,00-7,00 mg/l; 0,00-10,00 mg/l

	0,00-5,00 mg/l	0,00-20,00 mg/l	0,00-40,00 mg/l
Koeficijent linearne korelacije	0,9997	0,9999	0,9904
Koeficijent determinacije	0,9993	0,9998	0,9809
Korigovani koeficijent determinacije	0,9993	0,9998	0,9788
Standardna greška	0,0083	0,0030	0,0392
Broj uzoraka	11	11	11
Koeficijent odsečka (a)	-0,0046	-0,0024	0,0382
Koeficijent X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	1,0095	1,0055	0,8844
Standardna greška odsečka (a)	0,0051	0,0018	0,0214
Standardna greška koeficijenta X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,0087	0,0047	0,0411
T stat odsečka (a)	-0,8869	-1,3906	1,8151
T stat			
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	116,2946	214,67	21,5088
Donji limit odsečka (a)	-0,0162	-0,0065	-0,0094
Gornji limit odsečka (a)	0,0071	0,0016	0,7914
Regresiona jednačina	$y = 1,0095x - 0,0046$	$y = 1,0055x - 0,0024$	$y = 0,8844x + 0,0382$
Ukupan broj merenja (N)	22	22	22
Broj koncentracionih nivoa (k)	11	11	11
Nula uključena	DA	DA	DA
SS <sub>1</sub>	0,001378	0,000165	0,030733
SS <sub>2</sub>	0,004438	0,000082	0,094291
Z <sub>1</sub>	-0,84	1,26	-2,81
Linearnost	NE	DA	NE
LOD	/	0,27	/
LOQ	/	0,55	/
Stdev	/	0,0437	/
Rikaveri	/	91 – 116 %	/
Ponovljivost	/	0,0028 - 0,0207 mg/l	/
CVw	/	0,26 – 3,56 %	/
CVb	/	0,24 – 4,71 %	/
Proširena nesigurnost	/	2,9%	/

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom obradom podataka možemo zaključiti da je predložena metoda za određivanje sadržaja olova metodom AAS u uzorcima zemljišta, lišća, samoniklog voća, duda, grožđa i lekovitog bilja i njihovim ekstraktima, adekvatna i da se primenjuje na adekvatan način, obzirom da je: metoda linearna u opsegu od 0,00 do 20,00 mg/l, limit detekcije je određen na 0,27 mg/l, limit kvantifikacije na 0,55 mg/l, rikaveri varira u opsegu od 91 – 116 %, ponovljivost se kreće u granicama od 0,0028 mg/l do 0,0207 mg/l, vrednosti preciznosti kreću se u granicama za CVw: 0,26 – 3,56 % i za CVb: 0,24 – 4,71 %, a proširena merna nesigurnost iznosi ±2,90%.

Tabela 30. Statistički podaci dobijeni regresionom analizom za opsege kadmijuma (*Epa Method 213.1:1974, Cadmium (AA, Direct Aspiration)*): 0,00-5,00 mg/l; 0,00-7,00 mg/l; 0,00-10,00 mg/l

	0,00-5,00 mg/l	0,00-7,00 mg/l	0,00-10,00 mg/l
Koeficijent linearne korelacije	0,9995	0,9954	0,9942
Koeficijent determinacije	0,9990	0,9909	0,9885
Korigovani koeficijent determinacije	0,9989	0,9896	0,9872
Standardna greška	0,0035	0,0177	0,0247
Broj uzoraka	11	9	11
Koeficijent odsečka (a)	-0,0048	-0,0118	-0,0228
Koeficijent X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	1,0343	1,0833	1,0368
Standardna greška odsečka (a)	0,0021	0,0102	0,0148
Standardna greška koeficijenta X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	0,01064	0,0392	0,0373
T stat odsečka (a)	-2,3202	-1,1627	-1,5392
T stat			
X Varijable 1 (b) (Regresijski koeficijent)	97,2313	27,6098	27,8193
Donji limit odsečka (a)	-0,0094	-0,0358	-0,0561
Gornji limit odsečka (a)	0,0001	0,0122	0,0107
Regresiona jednačina	$y = 1,0095x - 0,0046$	$y = 1,0833x - 0,0118$	$y = 1,0368x - 0,0228$
Ukupan broj merenja (N)	22	18	22
Broj koncentracionih nivoa (k)	11	9	11
Nula uključena	DA	DA	DA
SS <sub>1</sub>	0,000245	0,005013	0,012202
SS <sub>2</sub>	0,000133	0,008591	0,018950
Z <sub>1</sub>	1,04	-0,53	-0,43
Linearnost	DA	NE	NE
LOD	0,05	/	/
LOQ	0,10	/	/
Stdev	0,0126	/	/
Rikaveri	95 - 105 %	/	/
Ponovljivost	0,0018-0,0280 mg/l	/	/
CVw	0,40-5,10 %	/	/
CVb	0,21-6,00 %	/	/
Proširena nesigurnost	4,6%	/	/

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom obradom podataka možemo zaključiti da je predložena metoda za određivanje sadržaja kadmijuma metodom AAS u uzorcima zemljišta, lišća, samoniklog voća, duda, grožđa i lekovitog bilja i njihovim ekstraktima, adekvatna i da se primenjuje na adekvatan način, obzirom da je: metoda linearna u opsegu od 0,00 do 5,00 mg/l, limit detekcije je određen na 0,05 mg/l, limit kvantifikacije na 0,10 mg/l, rikaveri varira u opsegu od 95 – 105 %, ponovljivost se kreće u granicama od 0,0018 mg/l do 0,0280 mg/l, vrednosti preciznosti kreću se u granicama za CVw: 0,40 – 5,10 % i za CVb: 0,21 – 6,00 %, a proširena merna nesigurnost iznosi ±4,60%.

## 4.2. Sadržaj metala u zemljištu, lišću i odabranom samoniklom voću

Metali koji se nalaze u površinskom sloju zemlje vode poreklo od stena i padavina. Urbana područja sadrže mnogo više metala antropogenog porekla, zbog veće gustine naseljenosti, intenziteta saobraćaja i blizine industrijskih postrojenja. Njihovo dugotrajno taloženje može da smanji puferski kapacitet zemljišta i može dovesti do kontaminacije podzemnih voda. (Arora i sar.,2008) Voće i povrće akumulira metale iz zemljišta tokom rasta i obrade. Kako metali nisu biorazgradivi oni se akumuliraju i ulaze u lanac ishrane. Takođe, zagađenjem životne sredine može doći do povećanog unosa metala u organizam čoveka, na direktan ili indirektan način, što može dovesti do ozbiljnih bolesti. (Jabeen i sar., 2010)

Zbog toga je vrlo bitno pratiti sadržaj metala u zemljištu, voću i njihovim proizvodima. Mnoge vrste šumskih plodova koje se koriste u ishrani i narodnoj medicini rastu na području jugoistočne Srbije. *Crataegus laevigata* L., *Cornus mas* L., *Prunus spinosa* L., *Morus nigra* L. i *Morus alba* L., se široko koriste u svežem stanju, ali i kao voćni sokovi, džemovi i čajevi, pa zbog toga sadržaj teških metala mora biti kontrolisan.

U narednim tabelama predstavljeni su rezultati teških metala u zemljištu, lišću i plodovima *Crataegus laevigata* L., *Cornus mas* L., *Prunus spinosa* L., *Morus nigra* L. i *Morus alba* L., kao i njihov odnos i stepen transfera. Odnosi među dobijenim podacima obrađeni su PCA analizom. Takođe, izračunat je i indeks zdravstvenog rizika.

Sadržaj detektovanih metala Zn, Mn, Fe, Cu, Pb, Ni i Cd prikazan je u sledećoj tabeli.



Tabela 31. Koncentracija metala u zemljištu, lišću i plodu samoniklog voća *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L. i *Rosa canina* L.

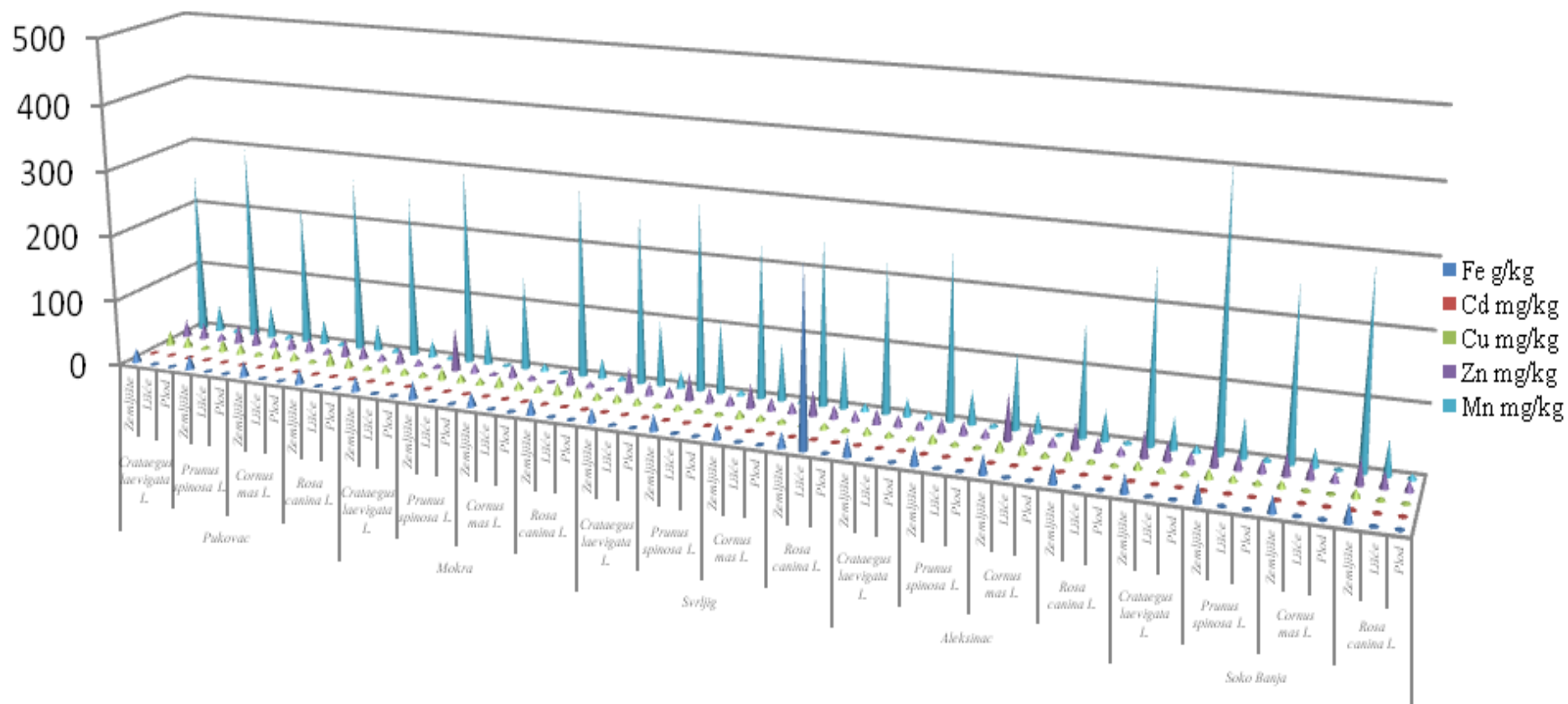
Lokacija	Vrsta	Uzorak	Fe mg/kg	Zn mg/kg	Cu mg/kg	Mn mg/kg	Ni mg/kg	Pb mg/kg	Cd mg/kg
Pukovac	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište - 1	21184,50±423,7	25,31±0,76	21,46±0,43	249,30±7,48	20,03±0,60	-	0,40±0,008
		Lišće - 2	189,76±3,79	23,60±0,47	16,01±0,32	40,55±0,81	-	-	0,13±0,023
		Plod - 3	145,60±2,91	11,50±0,35	4,97±0,09	5,47±0,16	-	-	0,10±0,008
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište - 4	20995,50±419,9	28,92±0,87	18,47±0,37	298,10±8,94	25,22±0,76	-	0,54±0,011
		Lišće - 5	216,99±4,34	27,80±0,56	14,75±0,29	48,19±0,96	-	-	0,35±0,037
		Plod - 6	162,80±3,26	14,78±0,44	6,62±0,13	6,94±0,21	-	-	0,22±0,006
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište - 7	22592,30±451,8	20,43±0,61	17,22±0,34	213,89±6,42	21,63±0,65	-	0,50±0,01
		Lišće - 8	173,30±3,47	20,40±0,60	13,21±0,26	36,44±0,73	-	-	0,22±0,024
		Plod - 9	138,90±2,78	9,68±0,29	5,01±0,10	5,23±0,16	-	-	0,08±0,009
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište	21009,54±420,19	26,61±0,53	20,06±0,40	267,42±5,35	22,54±0,45	-	0,46±0,009
		Lišće	199,97±3,99	21,30±0,43	15,32±0,31	40,69±0,81	-	-	0,30±0,006
		Plod	150,30±3,01	10,50±0,21	7,06±0,14	6,11±0,12	-	-	0,11±0,002
Mokra	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište - 10	21604,60±432,1	24,65±0,74	11,93±0,24	246,78±7,40	12,25±0,37	-	0,53±0,011
		Lišće - 11	219,05±4,38	9,43±0,19	10,16±0,20	25,78±0,51	-	-	0,23±0,019
		Plod - 12	182,70±3,65	6,06±0,18	7,96±0,16	4,69±0,14	-	-	0,09±0,007
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište - 13	26934,40±538,7	65,74±1,97	18,16±0,36	300,68±9,02	19,40±0,58	-	0,69±0,014
		Lišće - 14	745,57±14,91	14,28±0,28	11,92±0,24	60,18±1,20	-	-	0,31±0,021
		Plod - 15	164,50±3,29	4,26±0,13	9,73±0,19	2,67±0,08	-	-	0,20±0,006
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište - 16	21882,50±437,6	19,54±0,59	16,93±0,34	139,59±4,19	8,25±0,25	-	0,94±0,019
		Lišće - 17	229,70±4,59	6,89±0,14	12,99±0,26	10,96±0,22	-	-	0,54±0,028
		Plod - 18	123,80±2,48	2,82±0,08	10,38±0,21	2,25±0,07	-	-	0,38±0,007
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište	22950,10±459,0	26,12±0,52	17,50±0,35	289,90±5,80	12,51±0,25	-	0,31±0,006
		Lišće	250,62±5,01	8,52±0,17	14,82±0,30	30,15±0,60	-	-	0,19±0,004
		Plod	143,50±2,87	3,38±0,07	10,04±0,20	5,90±0,12	-	-	0,11±0,002

Tabela 31. Koncentracija metala u zemljištu, lišću i plodu samoniklog voća *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L. i *Rosa canina* L. (nastavak)

Lokacija	Vrsta	Uzorak	Fe mg/kg	Zn mg/kg	Cu mg/kg	Mn mg/kg	Ni mg/kg	Pb mg/kg	Cd mg/kg
Svrljig	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište – 19	21681,30±433,6	39,52±1,18	11,70±0,23	257,46±7,72	18,00±0,54	1,21±0,02	0,46±0,009
		Lišće – 20	181,75±3,63	18,70±0,37	10,19±0,20	97,08±1,94	-	-	0,26±0,012
		Plod – 21	176,50±3,53	16,49±0,49	6,62±0,13	25,21±0,76	-	-	0,16±0,007
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište – 22	25318,10±506,4	40,36±1,21	9,48±0,19	284,57±8,54	16,12±0,32	1,08±0,02	0,46±0,009
		Lišće – 23	316,11±6,32	21,51±0,43	6,78±0,14	107,89±2,15	-	-	0,23±0,017
		Plod – 24	251,30±5,03	15,62±0,47	5,64±0,11	8,34±0,25	-	-	0,13±0,006
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište – 25	22556,40±451,1	36,11±1,08	12,50±0,25	232,00±6,96	13,01±0,39	1,12±0,02	0,40±0,008
		Lišće – 26	294,75±5,89	19,12±0,38	9,17±0,18	85,90±1,72	-	-	0,24±0,015
		Plod – 27	205,50±4,11	16,54±0,49	7,21±0,14	7,99±0,24	-	-	0,14±0,007
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište	23598,70±471,97	37,85±0,76	10,90±0,22	248,7±4,97	15,40±0,31	1,10±0,02	0,42±0,008
		Lišće	269,30±5,39	20,06±0,40	8,92±0,18	90,60±1,81	-	-	0,25±0,005
		Plod	190,83±3,82	16,08±0,32	6,10±0,12	10,62±0,21	-	-	0,12±0,006
Aleksinac	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište – 28	28307,40±566,1	22,16±0,66	10,29±0,21	224,73±6,74	13,60±0,41	-	0,52±0,010
		Lišće – 29	336,37±6,73	17,35±0,35	8,69±0,17	26,71±0,53	-	-	0,24±0,016
		Plod – 30	256,50±5,13	13,59±0,41	7,25±0,14	10,63±0,32	-	-	0,12±0,007
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište – 31	28226,50±564,5	20,48±0,61	13,27±0,26	249,28±7,48	15,35±0,46	-	0,47±0,009
		Lišće – 32	346,08±6,92	19,29±0,39	6,30±0,13	49,73±0,99	-	-	0,25±0,023
		Plod – 33	222,70±4,45	13,67±0,41	4,85±0,09	5,05±0,15	-	-	0,13±0,007
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište – 34	30007,60±600,1	68,89±2,07	16,95±0,34	114,71±3,44	13,70±0,41	-	0,53±0,011
		Lišće – 35	283,55±5,67	23,85±0,48	16,27±0,32	30,17±0,60	-	-	0,27±0,031
		Plod – 36	177,80±3,56	13,05±0,39	7,47±0,15	2,85±0,08	-	-	0,14±0,009
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište	29057,31±581,1	38,72±0,77	14,52±0,29	169,86±3,40	14,20±0,38	-	0,50±0,010
		Lišće	340,50±6,81	22,06±0,44	6,90±0,14	45,41±0,91	-	-	0,28±0,008
		Plod	190,94±3,82	12,05±0,24	4,90±0,10	4,20±0,08	-	-	0,16±0,005

Tabela 31. Koncentracija metala u zemljištu, lišću i plodu samoniklog voća *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L. i *Rosa canina* L. (nastavak)

Lokacija	Vrsta	Uzorak	Fe mg/kg	Zn mg/kg	Cu mg/kg	Mn mg/kg	Ni mg/kg	Pb mg/kg	Cd mg/kg
Soko Banja	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište – 37	27993,3±559,9	39,69±1,19	11,32±0,23	258,93±7,77	16,05±0,48	1,28±0,02	0,41±0,008
		Lišće – 38	348,96±6,98	28,63±0,57	7,81±0,16	48,20±0,96	-	-	0,21±0,022
		Plod – 39	272,8±5,46	17,25±0,52	6,52±0,13	10,78±0,32	-	-	0,09±0,008
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište – 40	29501,6±590,0	42,64±1,28	14,56±0,29	410,52±12,32	20,65±0,62	1,26±0,02	0,55±0,011
		Lišće – 41	358,07±7,16	23,56±0,47	9,92±0,19	59,15±1,18	-	-	0,24±0,013
		Plod – 42	292,1±5,84	18,48±0,55	6,84±0,14	5,99±0,17	-	-	0,13±0,007
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište – 43	24352,6±487,1	33,87±1,02	10,94±0,22	253,65±7,61	11,95±0,36	1,46±0,03	0,44±0,009
		Lišće – 44	549,6±10,99	26,35±0,53	3,49±0,07	27,60±0,55	-	-	0,19±0,014
		Plod – 45	221,7±4,43	14,46±0,43	2,57±0,05	2,22±0,07	-	-	0,12±0,007
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište	27853,4±557,1	40,22±1,10	12,46±0,25	290,45±8,52	17,85±0,37	1,38±0,03	0,48±0,010
		Lišće	420,1±8,41	25,50±0,53	5,22±0,20	52,31±1,06	-	-	0,20±0,004
		Plod	230±4,60	16,21±0,47	3,64±0,06	7,90±0,20	-	-	0,12±0,002



Histogram 1. Prosečne vrednosti sadržaja teških metala (mg/kg) u zemljištu, lišću i plodu samoniklog *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L. i *Rosa canina* L.

Na osnovu prezentovanih metala može se zapaziti da je sadržaj gvožđa nekoliko puta veći nego sadržaj drugih metala, u rasponu od 20995,5 do 30007,6 ppm (mg/kg) u zemljištu, 173,3 do 745,57 ppm u listovima i 123,8 do 292,1 ppm u plodu. Maksimalno dozvoljena koncentracija Fe data od strane Svetske zdravstvene organizacije u jestivim biljkama je 20 ppm. (FAO/WHO, 1984) Međutim, za lekovite biljke svetska zdravstvena organizacija još uvek nije definisala limite. (WHO, 1998).

Cink je izuzetno bitan u sintezi enzima, proizvodnji energije, u održavanju membrane. Koncentracija cinka se kreće od 19,54-68,89 ppm u zemljištu, 9,43-28,63 ppm u listovima i 2,82-18,48 ppm u plodu. Prema literaturi (Kabata-Pendias i sar., 2001) sadržaj cinka u zemljištu ne treba da bude veći od 200-300 ppm. Za većinu vrsta, simptomi deficijencije cinka javljaju se pri koncentraciji od 20-30 ppm u listovima. Poređenjem dobijenih vrednosti sa literaturnim vrednostima, može se zapaziti da su iste bile ispod literaturnih. U jestivim biljkama limit dat od strane svetske zdravstvene organizacije za cink iznosi 27,4 ppm. (FAO/WHO, 1984)

Mangan u zemljištu varira od 114,71 do 410,52 ppm, u listovima od 10,96 do 107,89 ppm, a u voću od 2,22 ppm (*Cornus mas* L., Soko Banja) do 25,21 ppm (*Crataegus laevigata* L., Svrljig). Limit dat od strane Svetske zdravstvene organizacije u jestivim biljkama je 2 ppm. (FAO/WHO, 1984) Sadržaj mangana u voću je iznad dozvoljene granice.

Koncentracija bakra u zemljištu kreće se od 9,48-24,46 ppm u zemljištu, 3,49-16,27 ppm u listovima, a u voću od 2,57-10,38 ppm. Prema Allaway (Miclean, 2000) sadržaj bakra u poljoprivrednim proizvodima treba biti između 4 i 15 ppm, dok po limitu svetske zdravstvene organizacije iznosi 3 ppm i manje. (FAO/WHO, 1984)

Bakar je nutritivno suštinski element, ali njegove kritične doze mogu izazvati anemiju, akne, hiperaktivnost nadbubrežne žlezde, alergiju, gubitak kose, rak, depresiju itd. (Lokeshappa i sar., 2012)

Kadmijum je u koncentraciji od 0,40 do 0,96 ppm pronađen u zemljištu, 0,13-0,54 u listovima i 0,08-0,38 ppm u plodu (Maobe i sar., 2012). Po svetskoj zdravstvenoj organizaciji sadržaj kadmijuma u jestivim biljkama je ograničen na 0,21 ppm. (Maobe i sar., 2012) Za lekovita bilja MDK u pogledu sadržaja kadmijuma je po WHO, u Kanadi, u Kini i na Tajlandu 0,3 ppm. U Kanadi ograničenja u pogledu kadmijuma kod gotovih biljnih proizvoda su 0,006 mg/dan (WHO, 2005).

Nikl je detektovan samo u zemljištu i to u niskim koncentracijama, od 8,25 do 25,22 ppm. Takođe, niske koncentracije olova detektovane su u uzorcima zemljišta "Svrljig" i "Soko Banja". Nijedan od ovih metala nije detektovan u listovima i plodu. Svetska

zdravstvena organizacija propisuje da ograničenje za Pb u jestivim biljkama iznosi 1,63 ppm. (FAO/WHO, 1984)

Drugi autori su prezentovali slične rezultate (Tabela 60.). U nezagađenoj zemlji u Indiji prosečna koncentracija cinka je 89,65 ppm, bakra 27,41 ppm i Cd 1,28 ppm. Dok je sadržaj ovih metala u biljkama 25,30 ppm za Zn, 16,72 ppm za Cu i 0,20 ppm za Cd. (Singh i sar., 2010).

U Severozapadnoj Rumuniji sadržaj metala u zemljištu varira od 66,3 do 238,1 ppm za Cu, 108-397 ppm za Pb i 0,48-3,12 ppm Cd. Koncentracija metala u biljkama sa ovog područja je 2,64-19,55 (Cu), 0,26-3,24 ppm (Pb) i 0,09-4,21 ppm (Cd). (Miclean, 2000).

Reiman sa saradnicima je detektovao veće vrednosti za metale u ispitivanim uzorcima. Gvožđe se kreće u opsegu od 20-400 ppm, cink 15,3-864 ppm, mangan 20-55,91 ppm i kadmijum 0,02-1,47 ppm. (Reimann i sar., 2007).

Usvajanje metala iz zemljišta zavisi od pH vrednosti zemljišta, organskog sastava, tipa zemljišta, ali koncentracija metala u samom zemljištu je dominantan faktor. (Jung, 2008). Takođe, zavisi i od procenta usvajanja metala kroz koren biljke, vode, od njihovog odnosa prema kinetici rastvaranja metala u zemljištu; bioloških parametara, uključujući i kinetiku transporta kroz membranu, jonske interakcije metaboličkoj sposobnosti apsorpcije jona; sposobnosti biljaka da se prilagode metaboličkoj promeni metala u životnoj sredini. (Cataldo i Wildung, 1978)

Analizom sadržaja metala u zavisnosti od lokacije može se primetiti da se veće koncentracije metala javljaju u uzorcima sa lokaliteta u Soko banji, Svrlijgu i Aleksincu. Jedino odstupanje je kod sadržaja bakra, gde se najveće koncentracije detektuju na lokalitetu u Mokri. Kadmijum se u svim uzorcima na svim lokalitetima kreće u sličnim granicama.

Na osnovu dobijenih rezultata određeni su korelacionom analizom pomoću ANOVA dodatka, koeficijenti korelacije između sadržaja metala u zemljištu i lišću, lišću i plodu i zemljištu i plodu. Koeficijenti korelacije gvožđa su izuzetno veliki što ukazuje na veliki transfer gvožđa iz zemljišta u lišće, tj. u plod. Nešto manji su koeficijenti korelacije cinka. Koeficijenti korelacije bakra i mangana su poprilično niski, što nam ukazuje da postoji mali transfer metala iz zemljišta u plod. Za nikel, olovo i kadmijum nije bilo moguće svugde odrediti korelacione koeficijente obzirom da isti nisu detektovani u uzorcima zemljišta, lišća i ploda ispitivanog samoniklog voća. Rezultati su prikazani u Tabelama 32, 33,34,35,36,37,38,39,40,41,42.

Tabela 32. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i lišću samoniklog voća *Crataegus laevigata* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1													
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<b>0,9818</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,0689	0,0262	1,0000											
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	0,3957	0,3580	<b>0,5345</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,5506	-0,5355	-0,2651	0,2801	1,0000									
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	-0,6955	-0,6965	-0,3531	0,0605	<b>0,9652</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,3933	-0,3593	0,8042	0,4057	0,1817	0,1000	1,0000							
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,3051	-0,4243	0,7862	0,2400	-0,0843	-0,0283	<b>0,6109</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	-0,3702	-0,4526	0,3628	0,6405	0,7231	0,6676	0,4902	0,5479	1,0000					
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	0,1927	0,1408	0,9902	0,5408	-0,3654	-0,4571	0,7169	0,7588	0,2916	-	1,0000			
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	0,0647	0,0807	-0,5079	-	-0,6048	-0,4273	-0,6339	-0,3395	-0,8529	-	-0,4497	-	1,0000	
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	0,2551	0,2005	0,2909	-	-0,9233	-0,8049	-0,1241	0,3359	-0,5797	-	0,3681	-	<b>0,6534</b>	1,0000

zem.- zemljište

Tabela 33. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i plodu samoniklog voća *Crataegus laevigata* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,9687</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,0689	0,1996	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	0,4908	0,4684	<b>0,7357</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,5506	-0,6934	-0,2651	-0,2243	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	0,2293	0,3834	-0,1414	-0,3445	<b>-0,8370</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,3933	-0,2562	0,8042	0,2925	0,1817	-0,3192	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,0416	0,0149	0,6880	0,6777	-0,3821	0,0104	<b>0,3143</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	-0,3702	-0,4786	0,3628	0,4521	0,7231	-0,9398	0,4902	0,2941	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	0,1927	0,3186	0,9902	0,7912	-0,3654	-0,0785	0,7169	0,7122	0,2916	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	0,0647	0,1259	-0,5079	-0,5279	-0,6048	0,8786	-0,6339	-0,0645	-0,8529	-	-0,4497	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-0,1814	-0,1920	0,3497	0,4698	-0,2314	-0,0187	0,0239	0,9141	0,2942	-	0,3716	-	<b>0,1069</b>	1,0000

Tabela 34. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u lišću i plodu samoniklog voća *Crataegus laevigata* L.

	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,9711</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	0,3580	0,3239	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	0,3689	0,4684	<b>0,7609</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	-0,6965	-0,8340	0,0605	-0,3378	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	0,2814	0,3834	-0,7068	-0,3445	<b>-0,7345</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,4243	-0,2401	0,2400	0,6182	-0,0283	-0,2382	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,1884	0,0149	0,1190	0,6777	-0,2991	0,0104	<b>0,9214</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	0,2005	0,3972	-0,4387	0,1920	-0,8049	0,7928	0,3359	0,6080	-	-	-	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-0,3506	-0,1920	-0,0992	0,4698	-0,0762	-0,0187	0,8009	0,9141	-	-	-	-	<b>0,5325</b>	1,0000

Korelacioni koeficijenti nezavisno od toga čiji odnos se posmatra (zemljište-plod, lišće-plod, zemljište-lišće) ukazuju da najveća povezanost postoji kod sadržaja gvožđa. Takođe, dobru povezanost ima i bakar, čiji koeficijenti korelacije iznose: 0,9652 (Cu zemljište/lišće), -0,8370 (Cu zemljište/plod) i -0,7345 (Cu lišće/plod). Koeficijent korelacije mangana varira od 0,3143 (Mn zemljište/plod) do 0,9124 (Mn lišće/plod), što nam ukazuje na veću povezanost između sadržaja ovog metala u lišću i plodu, nego između zemljišta i ploda.

Tabela 35. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i lišću samoniklog voća *Prunus spinosa* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<b>0,3863</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,2012	0,8514	1,0000											
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	-0,5411	-0,8891	<b>-0,6036</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,3227	0,3403	0,2867	0,0225	1,0000									
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	-0,6043	0,0925	0,2780	0,3368	<b>0,8841</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	0,3589	0,0026	0,3210	0,2731	0,1431	0,2605	1,0000							
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,0128	-0,0561	0,2142	-0,0993	-0,7690	-0,4887	<b>-0,0852</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	-0,6039	-0,1947	0,0612	0,6059	0,7588	0,9460	0,4024	-0,4735	1,0000					
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	0,3793	-0,2591	0,1040	0,2400	-0,6276	-0,3749	0,6567	0,6146	-0,1811	-	1,0000			
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	0,0593	0,8295	0,8295	-0,4907	0,7546	0,6163	0,2650	-0,3477	0,3838	-	-0,3310	-	1,0000	
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-0,7200	0,1185	0,1272	0,1959	0,8806	0,9043	-0,1650	-0,5453	0,7836	-	-0,7127	-	<b>0,5373</b>	1,0000

Tabela 36. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i plodu samoniklog voća *Prunus spinosa* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,6411</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,2012	-0,1691	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	0,0206	0,7164	<b>-0,6546</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,3227	-0,7011	0,2867	-0,4869	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	0,0119	-0,4613	0,9061	-0,7490	<b>0,6637</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	0,3589	0,5517	0,3210	0,3879	0,1431	0,2814	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	0,0119	-0,4613	0,9061	-0,7490	0,6637	1,0000	<b>0,2814</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	-0,6039	-0,4029	0,0612	0,0703	0,7588	0,3644	0,4024	0,3644	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	0,3793	0,8861	0,1040	0,6400	-0,6276	-0,2204	0,6567	-0,2204	-0,1811	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	0,0593	-0,4991	0,8295	-0,7641	0,7546	0,9815	0,2650	0,9815	0,3838	-	-0,3310	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-0,7117	-0,8879	0,2843	-0,5324	0,8583	0,6051	-0,1400	0,6051	0,7577	-	-0,6549	-	<b>0,6230</b>	1,0000

Tabela 37. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u lišću i plodu samoniklog voća *Prunus spinosa* L.

	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>-0,3200</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	-0,8891	0,1619	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	-0,8747	0,7164	<b>0,7812</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	0,0925	-0,6239	0,3368	-0,2558	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	0,8279	-0,4613	-0,4831	-0,7490	<b>0,5970</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,0561	0,3835	-0,0993	0,1553	-0,4887	-0,1719	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	0,8279	-0,4613	-0,4831	-0,7490	0,5970	1,0000	<b>-0,1719</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	0,1185	-0,8823	0,1959	-0,4485	0,9043	0,4921	-0,5453	0,4921	-	-	-	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	0,2296	-0,8879	0,1072	-0,5324	0,9094	0,6051	-0,4254	0,6051	-	-	-	-	<b>0,9836</b>	1,0000

Kod samoniklog voća *Prunus spinosa* L. korelacioni koeficijenti opadaju u sledećem nizu: Cu>Zn>Cd>Fe>Mn (zemljište/lišće); Cu>Zn>Fe>Cd>Mn (zemljište/plod) i Cd>Zn>Cu>Fe>Mn (lišće/plod). Najveću korelaciju možemo primetiti između sadržaja kadmijuma u lišću i plodu (0,9836), a najnižu kod sadržaja mangana u zemljištu i lišću (-0,0852).



Tabela 38. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i lišću samoniklog voća *Cornus mas* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<b>0,1639</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,9526	0,1787	1,0000											
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	0,5474	0,5574	<b>0,5356</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	0,1724	-0,8448	0,0256	-0,4581	1,0000									
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	0,3715	-0,8368	0,3107	-0,3452	<b>0,9296</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,5200	0,4987	-0,4447	0,4135	-0,7738	-0,8427	1,0000							
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,1611	-0,0384	0,1059	0,2546	-0,4425	-0,1948	<b>0,4779</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	0,0114	-0,3726	-0,0768	0,4355	0,2739	0,2191	0,2734	0,2167	1,0000					
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000			
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	-0,2468	-0,3808	-0,3491	-0,8786	0,5549	0,3889	-0,6228	-0,6659	-0,5225	-	-	-	1,0000	
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-0,2738	-0,4050	-0,3065	-0,9320	0,4882	0,3882	-0,6206	-0,4901	-0,6149	-	-	-	<b>0,9727</b>	1,0000

Tabela 39. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i plodu samoniklog voća *Cornus mas* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,2694</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,9526	0,4172	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	0,3399	0,8950	<b>0,5041</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	0,1724	-0,8850	0,0256	-0,6680	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	-0,0704	-0,6199	-0,0012	-0,5981	<b>0,5849</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,5200	0,5692	-0,4447	0,5234	-0,7738	-0,7431	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,3449	0,1942	-0,1193	0,4876	-0,1888	0,0026	<b>0,4279</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	0,0114	-0,1337	-0,0768	0,2304	0,2739	-0,4638	0,2734	0,4014	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	-0,2468	-0,7639	-0,3491	-0,9429	0,5549	0,7450	-0,6228	-0,5208	-0,5225	-	-	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-0,3002	-0,5430	-0,3090	-0,7857	0,3023	0,7881	-0,5200	-0,4007	-0,7511	-	-	-	<b>0,9380</b>	1,0000

Tabela 40. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u lišću i plodu samoniklog voća *Cornus mas* L.

	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,8121</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	0,5574	0,7401	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	0,4951	0,8950	<b>0,8239</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	-0,8368	-0,6963	-0,3452	-0,4232	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	-0,6431	-0,6199	-0,8339	-0,5981	<b>0,6580</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,0384	0,5052	0,2546	0,7193	-0,1948	-0,1069	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,3346	0,1942	0,0608	0,4876	-0,0158	0,0026	<b>0,9349</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-0,4050	-0,6948	-0,9320	-0,8620	0,3882	0,8527	-0,4901	-0,3698	-	-	-	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-0,2222	-0,5430	-0,8933	-0,7857	0,2105	0,7881	-0,4630	-0,4007	-	-	-	-	<b>0,9784</b>	1,0000

Visoki koeficijenti korelacije kod *Cornus mas* L. se javljaju kod sadržaja kadmijuma nezavisno od toga čiji odnos se posmatra (zemljište/lišće - 0,9727, zemljište/plod-0,9380, lišće/plod-0,9784). Najniži koeficijent korelacije od 0,1639 pokazuje sadržaj gvožđa između zemljišta i lišća.

Tabela 41. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i lišću samoniklog voća *Rosa canina* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<b>0,8957</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,8138	0,8186	1,0000											
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	0,4769	0,5283	<b>0,6967</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,5655	-0,6484	-0,8811	-0,3864	1,0000									
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	-0,8851	-0,9069	-0,9835	-0,6773	<b>0,8308</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,5260	-0,1171	-0,4153	-0,2878	0,1723	0,3683	1,0000							
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	0,0313	0,1000	0,5847	0,3788	-0,7783	-0,4413	<b>-0,1251</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	-0,3732	-0,2279	-0,1840	0,5594	0,3930	0,2057	0,2403	-0,0222	1,0000					
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	0,2837	0,6021	0,6856	0,5037	-0,8065	-0,6618	0,3389	0,6822	0,0610	-	1,0000			
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	0,5529	0,4703	0,6354	0,9484	-0,2405	-0,6256	-0,5270	0,2086	0,4917	-	0,2324	-	1,0000	
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-0,1527	-0,4198	-0,0515	0,4214	0,3040	0,1460	-0,6091	0,1181	0,5382	-	-0,4084	-	<b>0,5786</b>	1,0000

Tabela 42. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i plodu samoniklog voća *Rosa canina* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,7617</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,8138	0,9348	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	0,4178	0,8346	<b>0,8303</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,5655	-0,8006	-0,8811	-0,7225	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	-0,7128	-0,9064	-0,8747	-0,8889	<b>0,5926</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,5260	-0,1229	-0,4153	-0,1945	0,1723	0,3443	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,2430	0,3515	0,3186	0,5694	-0,6351	-0,1678	<b>0,4075</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	-0,3732	-0,0061	-0,1840	0,3228	0,3930	-0,2768	0,2403	0,0708	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	0,2837	0,8096	0,6856	0,7756	-0,8065	-0,6009	0,3389	0,8011	0,0610	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	0,5529	0,6249	0,6354	0,7389	-0,2405	-0,8953	-0,5270	-0,1100	0,4917	-	0,2324	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	0,7938	0,3694	0,5969	0,2533	-0,3131	-0,5058	-0,9315	-0,4504	-0,3481	-	-0,1742	-	<b>0,5791</b>	1,0000

Tabela 43. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u lišću i plodu samoniklog voća *Rosa canina* L.

	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,9053</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	0,5283	0,7506	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	0,5284	0,8346	<b>0,8821</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	-0,9069	-0,9568	-0,6773	-0,7627	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	-0,7559	-0,9064	-0,9457	-0,8889	<b>0,8772</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	0,1000	0,4600	0,3788	0,7484	-0,4413	-0,3985	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	0,0310	0,3515	0,1706	0,5694	-0,2117	-0,1678	<b>0,8544</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-0,4198	-0,2111	0,4214	0,2195	0,1460	-0,2002	0,1181	-0,2320	-	-	-	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	0,4491	0,3694	0,3632	0,2533	-0,6023	-0,5058	0,0372	-0,4504	-	-	-	-	<b>0,3547</b>	1,0000

Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu, lišću i plodu samoniklog voća *Rosa canina* L. imaju visoke vrednosti za gvožđe (0,8957, 0,7617, 0,9053). Nešto niže vrednosti korelacionih koeficijenata ima cink, zatim bakar i mangan. Takođe, kod korelacionog koeficijenta mangana (zemljište/plod: -0,1251) imamo istu situaciju kao kod *Prunus spinosa* L. (zemljište/plod: -0,0852), gde je vrednost istog izuzetno mala i sa negativnom predznakom.

Odnosi između koncentracije metala u zemljištu, lišću i plodu se mogu definisati i takozvanim PUF faktorom (faktor usvajanja), kojim se meri efikasnost akumulacije metala. (Gardiner, 1997).

PUF vrednosti se izračunavaju na sledeći način:

$$\text{PUFsf} = \text{koncentracija u plodu} / \text{koncentracija u zemlji}$$

$$\text{PUFsl} = \text{koncentracija u listovima} / \text{koncentracija u zemlji}$$

$$\text{PUFsl} = \text{koncentracija u plodu} / \text{koncentracija u listovima}$$

Ovi faktori su prikazani u Tabeli 44 .

Tabela 44. PUF vrednosti (*Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L. , *Cornus mas* L., *Rosa canina* L.)

Lokacija	Vrsta	PUF	Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	Pb	Cd
Pukovac	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište/Lišće	0,009	0,933	0,450	0,163	-	-	0,650
		Zemljište/Plod	0,007	0,454	0,230	0,022	-	-	0,250
		Lišće/Plod	0,767	0,487	0,310	0,135	-	-	0,770
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište/Lišće	0,010	0,930	0,450	0,160	-	-	0,650
		Zemljište/Plod	0,750	0,510	0,360	0,020	-	-	0,400
		Lišće/Plod	0,750	0,530	0,450	0,140	-	-	0,630
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište/Lišće	0,008	0,510	0,760	0,170	-	-	0,570
		Zemljište/Plod	0,006	0,470	0,290	0,025	-	-	0,160
		Lišće/Plod	0,800	0,470	0,380	0,140	-	-	0,360
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište/Lišće	0,009	0,800	0,764	0,152	-	-	0,652
		Zemljište/Plod	0,007	0,396	0,352	0,023	-	-	0,239
		Lišće/Plod	0,752	0,493	0,461	0,150	-	-	0,367
Mokra	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište/Lišće	0,010	0,383	0,850	0,104	-	-	0,430
		Zemljište/Plod	0,008	0,246	0,667	0,019	-	-	0,170
		Lišće/Plod	0,834	0,643	0,783	0,181	-	-	0,390
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište/Lišće	0,030	0,220	0,810	0,200	-	-	0,450
		Zemljište/Plod	0,006	0,070	0,530	0,009	-	-	0,290
		Lišće/Plod	0,220	0,300	0,781	0,044	-	-	0,645
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište/Lišće	0,010	0,350	0,610	0,078	-	-	0,570
		Zemljište/Plod	0,006	0,140	0,610	0,016	-	-	0,400
		Lišće/Plod	0,540	0,400	0,790	0,200	-	-	0,710
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište/Lišće	0,011	0,326	0,847	0,104	-	-	0,613
		Zemljište/Plod	0,006	0,129	0,574	0,020	-	-	0,355
		Lišće/Plod	0,573	0,397	0,677	0,196	-	-	0,579
Svrljig	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište/Lišće	0,010	0,473	0,650	0,376	-	-	0,560
		Zemljište/Plod	0,008	0,417	0,566	0,098	-	-	0,350
		Lišće/Plod	0,970	0,882	0,649	0,260	-	-	0,630
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište/Lišće	0,012	0,530	0,830	0,370	-	-	0,500
		Zemljište/Plod	0,010	0,380	0,590	0,030	-	-	0,280
		Lišće/Plod	0,790	0,720	0,820	0,080	-	-	0,560
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište/Lišće	0,013	0,530	0,730	0,370	-	-	0,600
		Zemljište/Plod	0,009	0,450	0,580	0,030	-	-	0,350
		Lišće/Plod	0,690	0,860	0,780	0,093	-	-	0,580
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište/Lišće	0,011	0,530	0,818	0,364	-	-	0,595
		Zemljište/Plod	0,008	0,425	0,559	0,043	-	-	0,286
		Lišće/Plod	0,709	0,802	0,684	0,117	-	-	0,480

Tabela 44. PUF vrednosti (*Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Rosa canina* L.) - nastavak

Lokacija	Vrsta	PUF	Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	Pb	Cd
Aleksinac	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište/Lišće	0,012	0,610	0,810	0,120	-	-	0,520
		Zemljište/Plod	0,009	0,613	0,705	0,047	-	-	0,230
		Lišće/Plod	0,690	0,783	0,834	0,398	-	-	0,500
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište/Lišće	0,012	0,940	0,475	0,200	-	-	0,530
		Zemljište/Plod	0,008	0,660	0,360	0,020	-	-	0,270
		Lišće/Plod	0,640	0,710	0,760	0,100	-	-	0,520
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište/Lišće	0,010	0,350	0,600	0,260	-	-	0,510
		Zemljište/Plod	0,006	0,180	0,440	0,025	-	-	0,510
		Lišće/Plod	0,620	0,540	0,460	0,094	-	-	0,290
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište/Lišće	0,012	0,569	0,475	0,267	-	-	0,560
		Zemljište/Plod	0,561	0,311	0,337	0,025	-	-	0,320
		Lišće/Plod	0,006	0,546	0,710	0,092	-	-	0,571
Soko Banja	<i>Crataegus laevigata</i> L.	Zemljište/Lišće	0,012	0,720	0,690	0,190	-	-	0,510
		Zemljište/Plod	0,010	0,435	0,576	0,042	-	-	0,220
		Lišće/Plod	0,782	0,602	0,832	0,224	-	-	0,430
	<i>Prunus spinosa</i> L.	Zemljište/Lišće	0,012	0,550	0,690	0,144	-	-	0,360
		Zemljište/Plod	0,010	0,430	0,470	0,015	-	-	0,240
		Lišće/Plod	0,810	0,780	0,690	0,100	-	-	0,650
	<i>Cornus mas</i> L.	Zemljište/Lišće	0,023	0,770	0,320	0,110	-	-	0,430
		Zemljište/Plod	0,009	0,430	0,240	0,009	-	-	0,270
		Lišće/Plod	0,400	0,550	0,730	0,080	-	-	0,632
	<i>Rosa canina</i> L.	Zemljište/Lišće	0,015	0,634	0,419	0,180	-	-	0,417
		Zemljište/Plod	0,008	0,403	0,292	0,027	-	-	0,250
		Lišće/Plod	0,547	0,637	0,697	0,094	-	-	0,600

Na osnovu dobijenih vrednosti primećuje se da se Cd, Cu i Zn uglavnom u većoj meri akumuliraju u listovima, u odnosu na Mn i Fe. Cu, Fe i Zn se akumuliraju više u plodu, nego u listovima.

Sledeća tabela prikazuje približan dnevni unos metala iz analiziranog voća. Vrednosti su izračunate na osnovu iz srednje vrednosti metala u voću, uz pretpostavku da je dnevna potrošnja voća 300 g. (Guenther i sar., 2006) Obzirom da plod u većoj meri čini voda, analize su urađene na bazi suve materije, a ove promene mogu usloviti povećanu koncentraciju metala. U tabeli su pored dnevnog unosa metala iz analiziranog voća prikazane i preporučene vrednosti od strane različitih agencija.

Tabela 45. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analiziranog ploda *Crataegus laevigata* L.

Metal	Srednja vrednost koncentracije <i>Crataegus laevigata</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Crataegus laevigata</i> L. (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>f</sub> D (mg/day)	HQ ( <i>Crataegus laevigata</i> L.)	Lit.
Zn	12,978	3,893	15,00	0,259	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Mn	11,356	3,407	0,5-5,0	0,681	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	206,820	62,046	10,0-60,0	1,034	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Pb	0	0	0,25	0	<i>WHO, 1993</i>
Ni	0	0	1,40	0	<i>U. S. EPA, 2010</i>
Cu	6,664	1,999	2,0-3,0	0,666	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cd	0,143	0,043	0,07	0,614	<i>U. S. EPA, 2010</i>

Tabela 46. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analiziranog ploda *Prunus spinosa* L.

Metal	Srednja vrednost koncentracije <i>Prunus spinosa</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Prunus spinosa</i> L. (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>f</sub> D (mg/day)	HQ ( <i>Prunus spinosa</i> L.)	Lit.
Zn	15,690	4,707	15,00	0,314	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Mn	5,798	1,739	0,5-5,0	0,348	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	208,680	62,604	10,0-60,0	1,043	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Pb	0	0	0,25	0	<i>WHO, 1993</i>
Ni	0	0	1,40	0	<i>U. S. EPA, 2010</i>
Cu	6,736	2,021	2,0-3,0	0,674	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cd	0,162	0,049	0,07	0,700	<i>U. S. EPA, 2010</i>

Tabela 47. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analiziranog ploda *Cornus mas* L.

Metal	Srednja vrednost koncentracije <i>Cornus mas</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Cornus mas</i> L. (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>f</sub> D (mg/day)	HQ ( <i>Cornus mas</i> L.)	Lit.
Zn	11,310	3,393	15,00	0,226	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Mn	4,108	1,232	0,5-5,0	0,246	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	173,540	52,062	10,0-60,0	0,868	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Pb	0	0	0,25	0	<i>WHO, 1993</i>
Ni	0	0	1,40	0	<i>U. S. EPA, 2010</i>
Cu	6,528	1,958	2,0-3,0	0,653	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cd	0,172	0,052	0,07	0,743	<i>U. S. EPA, 2010</i>

Tabela 48. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analiziranog ploda *Rosa canina* L.

Metal	Srednja vrednost koncentracije <i>Cornus mas</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Cornus mas</i> L. (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>D</sub> (mg/day)	HQ ( <i>Cornus mas</i> L.)	Lit.
Zn	11,644	3,493	15,00	0,233	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Mn	6,946	2,084	0,5-5,0	0,417	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	181,1	54,334	10,0-60,0	0,906	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Pb	0	0	0,25	0	<i>WHO, 1993</i>
Ni	0	0	1,40	0	<i>U. S. EPA, 2010</i>
Cu	6,348	1,904	2,0-3,0	0,635	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cd	0,124	0,037	0,07	0,529	<i>U. S. EPA, 2010</i>

Indeks zdravstvenog rizika za ispitivane metale u odabranom samoniklom voću ukazuje da je konzumacija bezbedna, obzirom da su vrednosti < 1. Izuzev gvožđa u plodu *Prunus spinosa* L. i *Crataegus leavigata* L., gde zdravstveni rizik iznosi 1,034 tj. 1,043.

Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da vrednost indeksa HQ opada u sledećem nizu: Fe>Cd>Cu>Mn>Zn>Pb=Ni za *Prunus spinosa* L., *Crataegus laevigata* L., *Cornus mas* L. i *Rosa canina* L.

Poređenjem dobijenih vrednosti za dnevni unos iz analiziranog voća sa vrednostima za dnevni unos koje propisuju EVM, FNB, FAO, WHO (Tabela 7.), može se zaključiti da su vrednosti ispod dozvoljenih i da je analizirano voće bezbedno za upotrebu.

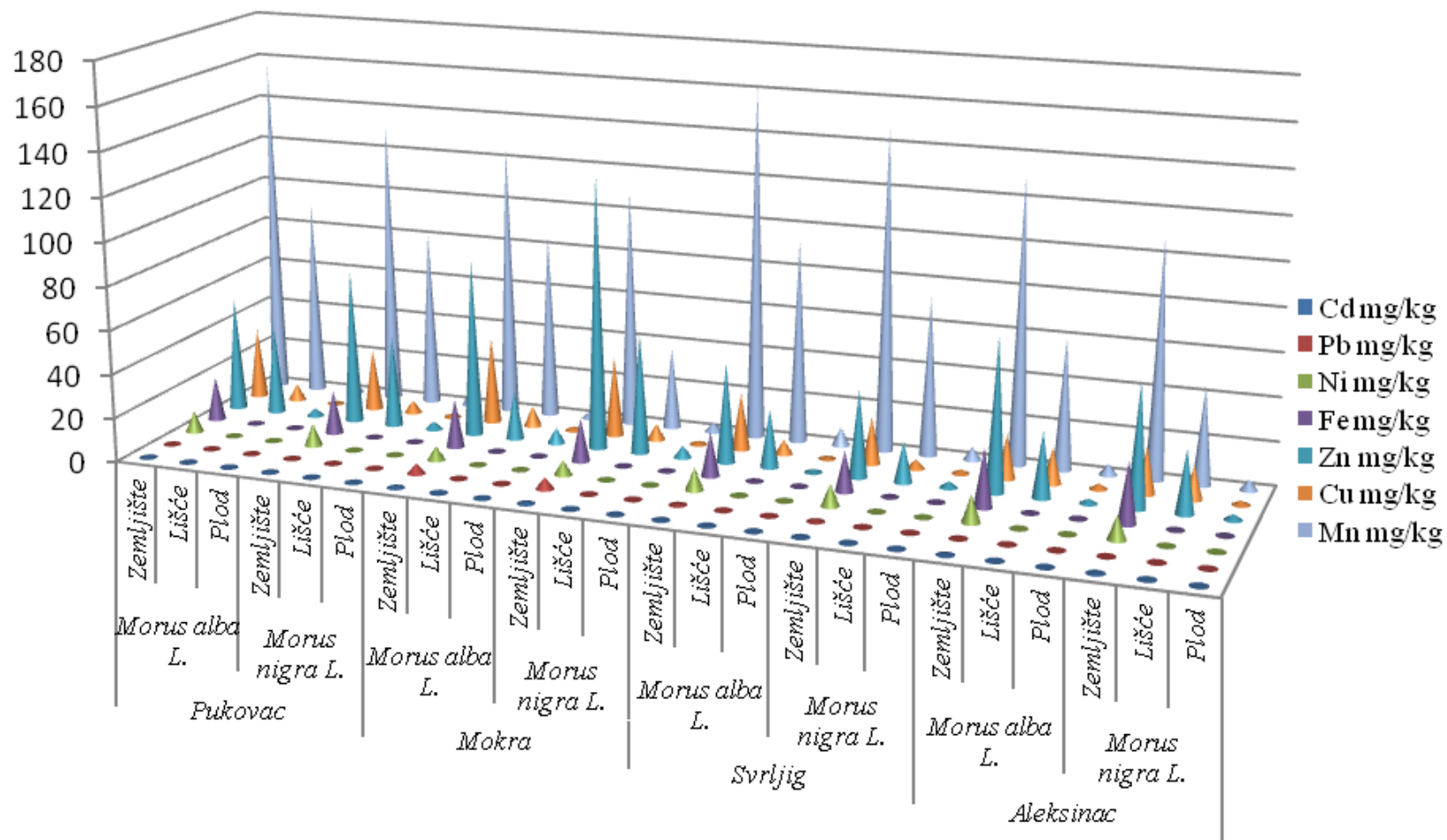
Medicinski fakultet Akademije nauka Sjedinjenih Američkih Država je takođe propisao preporučene dnevne doze u zavisnosti od uzrasta. Poređenjem dobijenih vrednosti sa propisanim za odrasle osobe (bakar - 0,89 mg, gvožđe – 11 mg, mangan - 2,2 mg i cink – 11 mg) takođe se dobija zadovoljavajući rezultat, tj. voće se može smatrati bezbednim za konzumaciju.

Na području jugoistočne Srbije rastu tradicionalno beli i crni dud. Oni se koriste kako u ishrani tako i u lečenju. Dud se kod nas, a i u svetu najviše koristi kao stočna hrana. Pored lišća, dud ima sladak plod dobrog ukusa i mirisa sa hranljivim elementima od vitalnog značaja za ljudski metabolizam.

Zbog toga smo izvršili analizu sadržaja metala u zemljistu, lišću i plodovima crnog i belog duda sa različitih lokacija. U tabeli 49. prikazan je sadržaj metala u zemljištu, lišću i plodu crnog i belog duda.

Tabela 49. Koncentracija metala u zemljištu, lišću i plodu samoniklog voća *Morus alba* L. i *Morus nigra* L.

Lokacija	Vrsta	Uzorak	Fe mg/kg	Zn mg/kg	Cu mg/kg	Mn mg/kg	Ni mg/kg	Pb Mg/kg	Cd mg/kg
Pukovac	<i>Morus alba</i> L.	Zemljište – 1	20153,10±403	52,53±1,05	32,57±0,65	156,96±3,14	9,45±0,19	-	0,55±0,01
		Lišće – 2	160,84±3,22	40,96±0,82	7,55±0,151	90,01±1,80	-	-	-
		Plod – 3	12,33±0,25	3,56±0,07	1,06±0,02	5,13±0,10	-	-	-
	<i>Morus nigra</i> L.	Zemljište – 4	19895,20±397	71,12±1,42	28,65±0,53	130,25±2,61	10,36±0,21	-	0,63±0,01
		Lišće – 5	143,87±2,88	42,37±0,85	5,69±0,11	81,59±1,63	-	-	-
		Plod – 6	10,36±0,21	3,56±0,07	1,52±0,03	8,96±0,18	-	-	-
Mokra	<i>Morus alba</i> L.	Zemljište – 7	22136,50±442	81,69±1,64	40,06±0,80	125,67±2,51	6,35±0,13	4,67±0,09	0,87±0,01
		Lišće – 8	183,82±3,68	22,72±0,45	9,47±0,19	84,71±1,69	-	-	-
		Plod – 9	15,82±0,32	7,18±0,14	1,90±0,04	3,03±0,06	-	-	-
	<i>Morus nigra</i> L.	Zemljište – 10	19862,20±398	125,77±2,52	36,89±0,74	109,43±2,19	6,72±0,13	5,38±0,11	0,91±0,02
		Lišće – 11	115,09±2,31	55,37±1,11	7,51±0,15	37,03±0,74	-	-	-
		Plod – 12	26,89±0,54	5,48±0,11	1,56±0,03	4,38±0,09	-	-	-
Svrljig	<i>Morus alba</i> L.	Zemljište – 13	19985,30±399	45,78±0,92	26,21±0,52	162,04±3,25	10,25±0,20	1,00±0,02	0,39±0,01
		Lišće – 14	120,56±2,42	26,85±0,54	6,52±0,13	93,52±1,87	-	-	0,20±0,01
		Plod – 15	9,57±0,19	1,37±0,03	1,14±0,02	8,55±0,17	-	-	0,12±0,01
	<i>Morus nigra</i> L.	Zemljište – 16	18569,70±371	40,02±0,80	21,5±0,43	148,21±2,96	9,96±0,20	0,97±0,02	0,41±0,01
		Lišće – 17	131,56±2,63	18,65±0,37	4,32±0,08	72,57±1,45	-	-	0,22±0,01
		Plod – 18	10,26±0,20	2,99±0,06	1,87±0,04	5,96±0,12	-	-	0,13±0,01
Aleksinac	<i>Morus alba</i> L.	Zemljište – 19	26895,60±537	70,25±1,41	20,36±0,41	130,05±2,60	12,54±0,25	-	0,50±0,01
		Lišće – 20	200,77±4,01	30,26±0,60	16,52±0,33	60,20±1,20	-	-	-
		Plod – 21	19,39±0,39	2,24±0,04	2,59±0,05	5,20±0,10	-	-	-
	<i>Morus nigra</i> L.	Zemljište – 22	27987,70±559	56,37±1,13	22,05±0,44	108,92±2,18	11,22±0,22	-	0,52±0,01
		Lišće – 23	206,63±4,13	28,99±0,58	15,23±0,30	44,53±0,89	-	-	-
		Plod – 24	23,00±0,46	2,69±0,05	1,96±0,04	4,96±0,10	-	-	-



Histogram 2. Prosečne vrednosti sadržaja teških metala (mg/kg) u zemljištu, lišću i plodu samoniklog voća *Morus alba* L. i *Morus nigra* L.



Nekoliko naučnih istraživanja bavilo se pitanjem sadržaja mikro-, makro- i toksičnih elemenata u različitim vrstama duda (*Ercisli i Orhan, 2007; Imran i sar., 2010*). Istraživanja su uglavnom bazirana na ispitivanju mineralnog sastava ploda različitih vrsta duda koja su pokazala da plod duda sadrži čitav spektar mineralnih materija. Gvožđe, mangan i cink su najzastupljeniji u ispitivanim uzorcima, dok ostalih metala ima manje.

Sadržaj gvožđa je i u ovom slučaju u najvećoj koncentraciji prisutan u zemljištu u rasponu od 18569,7 do 26895,6 ppm (mg/kg). Gvožđe je detektovano u većoj koncentraciji u odnosu na druge metale i kod uzoraka lišća i ploda; 115,09-206,63 ppm u lišću; 9,57– 26,89 ppm u plodu.

Takođe, analizom dobijenih podataka u pogledu sadržaja metala, može se primetiti da plodovi crnog duda imaju veći sadržaj u odnosu na beli dud.

Koncentracija cinka u zemljištu u literaturnim podacima dosta varira, što je verovatno posledica hemijskog sastava zemljišta ili eventualne zagađenosti životne okoline. U ispitivanim uzorcima zemljišta, lišća i duda koncentracija cinka je: 40,02-125,77 ppm, 18,65-55,37 ppm i 1,37-7,18 ppm. *Pehlivan* sa saradnicima je detektovao veće koncentracije cinka od naših i one se kreću od: 295,4-330,7 ppm za zemljište, 18,55-23,88 ppm za plod i 5,97-8,74 ppm za plod. (*Pehlivan i sar., 2012*)

Obzirom da je mangan esencijalan element kako za čoveka, tako i za biljke jer učestvuje u nekoliko metaboličkih procesa, uglavnom u fotosintezi i kao enzim antioksidazakofaktor, njegovo prisustvo u ispitivanim uzorcima je vrlo bitno. Međutim, višak ovog mikroelementa može biti toksičan i za čoveka i za biljke jer dovodi do biohemijskih poremećaja. (*Millaleo i sar., 2010*) Poređenjem rezultata koji su prezentovani u ovom radu sa literaturnim podacima, može se primetiti da su one znato manje.

Mangan u zemljištu varira od 108,923 do 162,04 ppm, u listovima od 37,03 do 93,52 ppm, a u voću od 3,03 ppm (*Morus alba L., Mokra*) do 8,96 ppm (*Morus nigra L., Pukovac*). Dozvoljena količina mangana u jestivim biljkama je 2 ppm. (FAO/WHO, 1984)

Bakar se u uzorcima zemljišta kreće u opsegu od 20,3655 (*Morus alba L., Aleksinac*)-40,0569 (*Morus alba L., Mokra*) ppm, lišća od 4,3254 (*Morus nigra L., Svrlijig*) -16,5204 (*Morus alba L., Aleksinac*) i ploda 1,0563 (*Morus alba L., Pukovac*) -2,5861 (*Morus alba L., Aleksinac*) ppm. Dozvoljena količina bakra u jestivim biljkama je do 3ppm. (FAO/WHO, 1984)

Na osnovu dobijenih rezultata korelacionom analizom pomoću ANOVA dodatka određeni su koeficijenti korelacije između sadržaja metala u zemljištu i lišću, lišću i plodu i

zemljištu i plodu za *Morus alba* L. i *Morus nigra* L. Rezultati su prikazani u Tabelama 50,51,52,53,54 i 55.

Tabela 50. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i lišću samoniklog voća *Morus alba* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<b>0,8142</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,5842	0,8325	1,0000											
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	-0,1835	-0,0424	<b>-0,5057</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,5221	0,0039	0,3748	-0,1789	1,0000									
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	0,9962	0,8267	0,5546	-0,0980	<b>-0,5356</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,4430	-0,1088	-0,4079	0,9188	0,2181	-0,3648	1,0000							
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,9938	-0,8132	-0,5259	0,0738	0,5611	-0,9994	<b>0,3501</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	0,5203	0,0580	-0,3889	0,3452	-0,9826	0,5492	-0,0514	-0,5768	1,0000					
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	-0,1416	0,1512	0,6643	-0,7361	0,7866	-0,2014	-0,4259	0,2351	-0,8687	-	1,0000			
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	0,0447	0,5206	0,8302	-0,3852	0,8271	0,0214	-0,0891	0,0109	-0,8192	#DIV/0!	0,8588	-	1,0000	
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000

Tabela 51. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i plodu samoniklog voća *Morus alba* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,9308</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	0,5842	0,7981	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	-0,0642	0,2796	<b>0,7612</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,5221	-0,1934	0,3748	0,8844	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	0,9680	0,9506	0,7482	0,1410	<b>-0,3346</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,7324	-0,8883	-0,9798	-0,6165	-0,1817	-0,8659	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,3284	-0,6506	-0,8638	-0,8689	-0,5950	-0,4537	<b>0,7879</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	0,5203	0,2216	-0,3889	-0,8693	-0,9826	0,3086	0,2003	0,5244	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	-0,1416	0,0880	0,6643	0,8548	0,7866	0,1107	-0,5347	-0,5500	-0,8687	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	0,0447	0,3761	0,8302	0,9934	0,8271	0,2521	-0,7020	-0,8933	-0,8192	-	0,8588	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-0,4776	-0,7365	-0,6821	-0,5778	-0,2828	-0,4935	0,6626	0,8974	0,1570	-	-0,1254	-	<b>-0,6064</b>	1,0000

Tabela 52. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u lišću i plodu samoniklom voću *Morus alba* L.

	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,9670</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	-0,0424	-0,1644	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	0,4430	0,2796	<b>-0,3306</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	0,8267	0,9318	-0,0980	-0,0840	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	0,8450	0,9506	-0,3829	0,1410	<b>0,9478</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,8132	-0,9206	0,0738	0,1155	-0,9994	-0,9369	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,8037	-0,6506	0,0796	-0,8689	-0,3356	-0,4537	<b>0,3108</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000

Korelacioni koeficijenti za gvožđe kod samoniklog voća *Morus alba* L. ukazuju na jako pozitivnu linearnu korelaciju. Srednju linearnu korelaciju možemo primetiti kod cinka (-0,5057 zemljište/lišće, 0,7612 zemljište/plod, -0,3306 lišće/plod). Korelacione koeficijente nije bilo moguće odrediti za nikel i olovo, obzirom da pomenute metali nisu ni detektovani. Kadmijum je detektovan samo na lokalitetu u Svrlijgu i njegov korelacioni koeficijent iznosi -0,6064, što ukazuje na srednje negativnu linearnu korelaciju.

Tabela 53. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i lišću samoniklog voća *Morus nigra* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<b>0,9432</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	-0,1967	-0,4845	1,0000											
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	0,9432	1,0000	<b>-0,4845</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,3752	-0,6184	0,9750	-0,6184	1,0000									
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	0,9845	0,8704	-0,0379	0,8704	<b>-0,2323</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,6353	-0,3669	-0,6319	-0,3669	-0,4739	-0,7464	1,0000							
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,4809	-0,1711	-0,5871	-0,1711	-0,3946	-0,6233	<b>0,8297</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	0,5086	0,7658	-0,8749	0,7658	-0,8763	0,3499	0,2789	0,4875	1,0000					
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	-0,3652	-0,6524	0,8714	-0,6524	0,8329	-0,1969	-0,3869	-0,6312	-0,9837	-	1,0000			
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	-0,1883	-0,4651	0,9965	-0,4651	0,9801	-0,0362	-0,6376	-0,5452	-0,8406	-	0,8293	-	1,0000	
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000

Tabela 54. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i samoniklog voća *Morus nigra* L.

	<i>Fe<sub>zem</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>zem</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>zem</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>zem</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>zem</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>zem</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>zem</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>zem</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,4754</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>zem</sub></i>	-0,1967	0,6837	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	-0,4410	0,5356	<b>0,9612</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>zem</sub></i>	-0,3752	0,5046	0,9750	0,9733	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	0,5954	0,0274	-0,6923	-0,7310	<b>-0,8284</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>zem</sub></i>	-0,6353	-0,9050	-0,6319	-0,4060	-0,4739	0,0874	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,3315	-0,7956	-0,3189	-0,2891	-0,1329	-0,4386	<b>0,4930</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>zem</sub></i>	0,5086	-0,5151	-0,8749	-0,9633	-0,8763	0,5789	0,2789	0,4344	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>zem</sub></i>	-0,3652	0,6441	0,8714	0,9333	0,8329	-0,4495	-0,3869	-0,5837	-0,9837	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>zem</sub></i>	-0,1883	0,6543	0,9965	0,9475	0,9801	-0,7320	-0,6376	-0,2493	-0,8406	-	0,8293	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-0,4647	-0,5713	-0,5967	-0,3671	-0,5354	0,4314	0,8496	-0,0344	0,1338	-	-0,1602	-	<b>-0,6443</b>	1,0000

Tabela 55. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u lišću i plodu samoniklog voća *Morus nigra* L.

	<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	<i>Zn<sub>plod</sub></i>	<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	<i>Cu<sub>plod</sub></i>	<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	<i>Mn<sub>plod</sub></i>	<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	<i>Ni<sub>plod</sub></i>	<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	<i>Pb<sub>plod</sub></i>	<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	<i>Cd<sub>plod</sub></i>
<i>Fe<sub>lišće</sub></i>	1,0000													
<i>Fe<sub>plod</sub></i>	<b>0,1563</b>	1,0000												
<i>Zn<sub>lišće</sub></i>	1,0000	0,1563	1,0000											
<i>Zn<sub>plod</sub></i>	-0,7011	0,5356	<b>-0,7011</b>	1,0000										
<i>Cu<sub>lišće</sub></i>	0,8704	0,6222	0,8704	-0,2851	1,0000									
<i>Cu<sub>plod</sub></i>	0,6682	0,0274	0,6682	-0,7310	<b>0,5336</b>	1,0000								
<i>Mn<sub>lišće</sub></i>	-0,1711	-0,9836	-0,1711	-0,4615	-0,6233	-0,1717	1,0000							
<i>Mn<sub>plod</sub></i>	-0,0800	-0,7956	-0,0800	-0,2891	-0,4520	-0,4386	<b>0,8903</b>	1,0000						
<i>Ni<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000					
<i>Ni<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
<i>Pb<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000			
<i>Pb<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000		
<i>Cd<sub>lišće</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000	
<i>Cd<sub>plod</sub></i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000

Kod vrste *Morus nigra* L. korelacioni koeficijenti cinka ukazuju na srednju (-0,4845 zemljište/lišće) i jaku korelaciju (0,9612 zemljište/plod i -0,7011 lišće/plod). Takođe, kadmijum je detektovan samo u uzorcima na području Svrlljiga, a koeficijent korelacije iznosi -0,6443.

Na osnovu svih izračunatih koeficijenata korelacije može se zaključiti da se metali akumuliraju u plodu što preko zemljišta, što preko lišća. Ali takođe nam se nameće i činjenica da akumulacija metala zavisi i od biljne vrste i njene sposobnosti da akumulira određeni metal.

Odnosi između koncentracije metala u zemljištu, lišću i plodu se mogu definisati i takozvanim PUF faktorom (faktor usvajanja), kojim se meri efikasnost akumulacije metala. (Gardiner, 1997).

Tabela 56. PUF vrednosti (*Morus alba* L. i *Morus nigra* L.)

Lokacija	Vrsta	PUF	Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	Pb	Cd
Pukovac	<i>Morus alba</i> L.	Zemljište/Lišće	0,008	0,780	0,232	0,573	-	-	-
		Zemljište/Plod	6,11 10 <sup>-4</sup>	0,068	0,032	0,033	-	-	-
		Lišće/Plod	0,076	0,087	0,140	0,140	-	-	-
	<i>Morus nigra</i> L.	Zemljište/Lišće	0,007	0,596	0,199	0,626	-	-	-
		Zemljište/Plod	5,21 10 <sup>-4</sup>	0,050	0,053	0,069	-	-	-
		Lišće/Plod	0,072	0,084	0,267	0,110	-	-	-
Mokra	<i>Morus alba</i> L.	Zemljište/Lišće	0,008	0,278	0,236	0,674	-	-	-
		Zemljište/Plod	7,15 10 <sup>-4</sup>	0,088	0,047	0,024	-	-	-
		Lišće/Plod	0,086	0,316	0,200	0,036	-	-	-
	<i>Morus nigra</i> L.	Zemljište/Lišće	0,006	0,440	0,204	0,338	-	-	-
		Zemljište/Plod	0,001	0,043	0,042	0,040	-	-	-
		Lišće/Plod	0,079	0,099	0,208	0,118	-	-	-
Svrljig	<i>Morus alba</i> L.	Zemljište/Lišće	0,006	0,586	0,249	0,577	-	-	0,513
		Zemljište/Plod	4,79 10 <sup>-4</sup>	0,030	0,044	0,053	-	-	0,321
		Lišće/Plod	0,079	0,051	0,175	0,091	-	-	0,626
	<i>Morus nigra</i> L.	Zemljište/Lišće	0,007	0,466	0,201	0,489	-	-	0,542
		Zemljište/Plod	5,52 10 <sup>-4</sup>	0,075	0,087	0,040	-	-	0,329
		Lišće/Plod	0,078	0,160	0,432	0,079	-	-	0,607
Aleksinac	<i>Morus alba</i> L.	Zemljište/Lišće	0,007	0,431	0,811	0,463	-	-	-
		Zemljište/Plod	7,2 10 <sup>-4</sup>	0,032	0,127	0,040	-	-	-
		Lišće/Plod	0,096	0,074	0,156	0,086	-	-	-
	<i>Morus nigra</i> L.	Zemljište/Lišće	0,007	0,514	0,690	0,409	-	-	-
		Zemljište/Plod	8,2 10 <sup>-4</sup>	0,048	0,888	0,045	-	-	-
		Lišće/Plod	0,111	0,093	0,129	0,111	-	-	-

Na osnovu dobijenih PUF vrednosti primećuje se da se kao i kod samonikolog voća *Prunus spinosa* L. *Cornus mas* L., *Rosa canina* L., *Crataegus laevigata* L. Cd, Cu i Zn uglavnom u većoj meri akumuliraju u listovima, u odnosu na Mn i Fe. PUF vrednosti za Cu i Fe ukazuju da se ovi metali akumuliraju više u plodu, nego u listovima.

Tabele 57., 58. i 59. prikazuju približan dnevni unos metala iz ploda voća *Morus alba* L. i *Morus nigra* L., kao i njihove objedinjene vrednosti. Vrednosti su izračunate na osnovu iz srednje vrednosti metala u voću, uz pretpostavku da je dnevna potrošnja voća 300 g. (Guenther i sar., 2006) Obzirom da plod u većoj meri čini voda, analize su urađene na bazi suve materije, a ove promene mogu usloviti povećanu koncentraciju metala. U tabelama su

pored dnevnog unosa metala iz analiziranog voća prikazane i preporučene vrednosti od strane različitih agencija.

Tabela 57. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analiziranog ploda *Morus alba* L.

Metal	Srednja vrednost koncentracije <i>Morus alba</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Cornus mas</i> L. (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>p</sub> D (mg/day)	HQ ( <i>Cornus mas</i> L.)	Lit.
Zn	35,87	10,76	15,00	0,720	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Mn	5,477	1,643	0,5-5,0	0,329	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	152,12	45,64	10,0-60,0	0,760	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Pb	0	0	0,25	0	<i>WHO, 1993</i>
Ni	0	0	1,40	0	<i>U. S. EPA, 2010</i>
Cu	1,672	0,502	2,0-3,0	0,167	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cd	0,125	0,037	0,07	0,528	<i>U. S. EPA, 2010</i>

Tabela 58. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analiziranog ploda *Morus nigra* L.

Metal	Srednja vrednost koncentracije <i>Morus nigra</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Morus nigra</i> L. (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>p</sub> D (mg/day)	HQ <i>Morus nigra</i> L.	Lit.
Zn	36,80	11,04	15,00	0,740	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Mn	6,068	1,820	0,5-5,0	0,364	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	176,29	52,89	10,0-60,0	0,880	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Pb	0	0	0,25	0	<i>WHO, 1993</i>
Ni	0	0	1,40	0	<i>U. S. EPA, 2010</i>
Cu	1,728	0,518	2,0-3,0	0,173	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cd	0,135	0,041	0,07	0,586	<i>U. S. EPA, 2010</i>

Tabela 59. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analiziranog ploda *Morus alba* L. i *Morus nigra* L. (objedinjene vrednosti)

Metal	Srednja vrednost koncentracije (mg/kg)	Dnevni unos iz (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>p</sub> D (mg/day)	HQ	Lit.
Zn	36,335	10,900	15,00	0,728	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Mn	5,772	1,732	0,5-5,0	0,346	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	159,522	47,860	10,0-60,0	0,798	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Pb	0	0	0,25	0	<i>WHO, 1993</i>
Ni	0	0	1,40	0	<i>U. S. EPA, 2010</i>
Cu	1,700	0,510	2,0-3,0	0,170	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cd	0,130	0,039	0,07	0,643	<i>U. S. EPA, 2010</i>

Indeks zdravstvenog rizika za ispitivane metale u samoniklom voću *Morus alba* L. i *Morus nigra* L. ukazuje da je konzumacija bezbedna, obzirom da su vrednosti < 1.

Na osnovu prikazanih rezultata može se videti da vrednost indeksa HQ opada u sledećem nizu: Fe>Zn>Cd>Mn>Cu>Pb=Ni. Posmatrajući objedinjene vrednosti indeksa zdravstvenog rizika *Morus alba* L. i *Morus nigra* L. vidimo da one iznose 0,728; 0,346; 0,798; 0; 0; 0,17 i 0,643 za Zn, Mn, Fe, Pb, Ni, Cu i Cd.

Poređenjem dobijenih vrednosti za dnevni unos iz analiziranog voća sa vrednostima za dnevni unos koje propisuju EVM, FNB, FAO, WHO (Tabela 7.), može se zaključiti da su vrednosti ispod dozvoljenih i da je analizirano voće bezbedno za upotrebu.

Medicinski fakultet Akademije nauka Sjedinjenih Američkih Država je takođe propisao preporučene dnevne doze u zavisnosti od uzrasta. Poređenjem dobijenih vrednosti sa propisanim za odrasle osobe (bakar - 0,89 mg, gvožđe – 11 mg, mangan - 2,2 mg i cink – 11 mg) takođe se dobija zadovoljavajući rezultat, tj. voće se može smatrati bezbednim za konzumaciju.

Tabela 60. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u uzorcima zemljišta, listovima plodovima samoniklog voća izražen u mg/kg

Poreklo	Uzorak	Mikroelementi							Lit.
		Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd	Ni	
Sjedinjene Američke države	Zemljište		74	31	720	5	0,30	28	<i>Cataldo i Wildung, 1978</i>
	Plod						0,301-2,01	/	
	Plod		10,4-12,1	1,7-3,90	26,1-26,4	5,1-24,6		0,62-14,3	
Kanada	Zemljište	447,01	1,65	115,25					<i>Mehes-Smith i sar., 2013</i>
	Plod	906,81	29,53	65,78					
Pakistan	Zemljište	245,99-324,76	17,81-93,19	4,98-71,89	111,04-247,62	2,08-16,57	0,15-1,99	3,90-23,53	<i>Shah i sar., 2013</i>
	Biljka	33,77-79,6	8,37-47,71	4,93-17,67	3,15-84,73	1,09-6,04	0,00-1,48	0,81-14,73	
Meksiko	Zemljište	3,56-74,228		0,588-35,808	15,214-29,844	0,562-85,656	0,013-5,036		<i>Davila i sar., 2012</i>
	Biljka	766,66-25359,6	31,13-849,74	69,87-213,63	Na-485,14	Nd-293,24			
	PUF	0,07-0,91	0,61-2,86	0,94-1,91	Nd-1,52	Nd-0,21			
Zapadni Alžir	Zemljište	4030-9390	21,15-731,08	4,32-15,32	79,03-244,94	7,99-39,14	1,89-10,18	7,99-39,14	<i>Tahar i Keltoum, 2011</i>
	Biljka	220-1690	432,15-918,89	38,14-44,97	56,52-73,72	5,42-28,47	2,24-6,15	5,42-28,47	
Nigerija	Zemljište	0,27-0,63	0,30-0,40	0,34-0,91		0,10-0,53	0,32-0,84	0,21-0,42	<i>Opaluwa i sar., 2012</i>
	Plod	0,02-0,32	0,02-0,06	0,06-0,49		Nd-0,07	0,02-0,43	0,01-0,02	
Kina	Zemljište					18,57-110,82	0,9-1,76		<i>Liang i sar., 2011</i>
	Plod					0,209	1,133		
Turska	Zemljište		295,4-330,7	184,7-217,5	436,8-527,3	76,6-500,2	16,96-26,45	1,73-4,24	<i>Pehlivan i sar., 2012</i>
	Plod		18,23,88	6,38-8,26	234-354,4	0,86-1,28	0,92-2,02	0,03-0,06	
	Plod		5,97-8,74	2,12-3,14	74,1-127,2	0,28-0,47	0,30-0,75	0,01-0,02	
Irak	Zemljište	0.003-3.26%				29-183	105-208ppm	11-41	<i>Habib i sar., 2012</i>
	Plod	56316 ppm				20-47	27-475	11-20	
	Plod	75-711				21-48	30-127	10-22	

## Hemometrijska analiza biljnih uzoraka

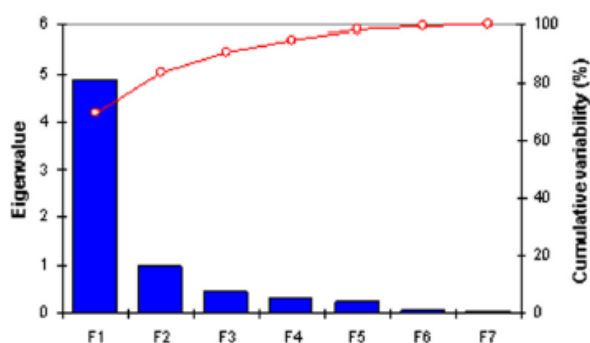
U prvom koraku statističke evaluacije, Kolmogorov-Smirnov test (nivo značajnosti  $\alpha$  je bio 0,05) je preliminarno korišćen za testiranje normalnosti raspodele koncentracije svakog metala. Ovaj test je pokazao da originalni set podataka nije normalno raspodeljen za sve izabrane metale. Nasuprot tome, ln-transformisani podaci su bili normalno raspodeljeni za sve metale (uzorci sa koncentracijama jednakim nuli su bili izbačeni iz svih istraživanja-ln funkcija nije definisana za nulu). Stoga, sve analize podataka su izvedene korišćenjem ln-transformisanih podataka.

Da bi se odredile relacije između izabranih metala, dobijeni podaci su podvrgnuti PCA/FA. PCA redukuje matricu podataka transformišući podatke u ortogonalne komponente koje su linearna kombinacija originalnih promenljivih. Pre PCA modelovanja, trebalo bi testirati matricu podataka da bi se otkrile vrednosti koje odstupaju. Primena Grubb-ovog testa dala je kao rezultat nepostojanje vrednosti koje odstupaju, za sve metale. (Grubbs, 1969)

## Hemometrijska analiza - *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Crataegus laevigata* L.

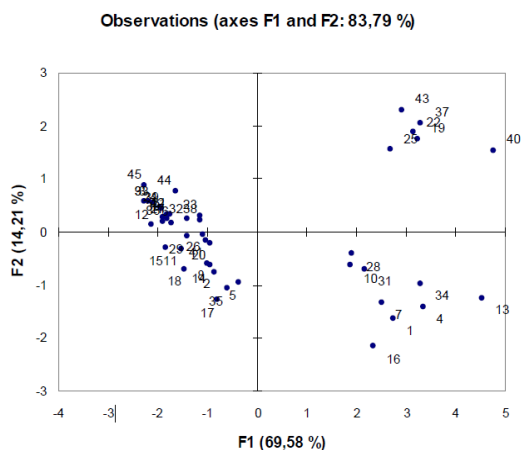
Uzorci se mogu klasifikovati u zavisnosti od njihove distribucije metala. Podaci matrice sadrže 45 reda (zemljište, plod i plod svih vrsta iz pet sa pet lokaliteta) i sedam kolona (koncentracije metala). Sedam glavnih komponenti je objedinjeno radi karakterizacije podataka. Dobijene vrednosti (4,871; 0,995; 0,462; 0,305; 0,258; 0,074 i 0,035) procenjuju i njihove relativne doprinose. Kako F1 i F2 zajedno prikazuju više od 80% varijacija, F3 do F7 se može ignorisati. (Slika 25.). Neke vrednosti faktora (F1, F2, F3 i F4) su pozitivne, a neke su i negativne, ali svi podaci daju pozitivan doprinos F1. Slika 26. pokazuje F1-F2 zavisnost kod samoniklog voća *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L.

Sadržaj cinka raste sa leva na desno, a mangana odozdo na gore.



Slika 25. Scree grafik sopstvenih vrednosti glavnih komponenti kod zemljišta, lišća i ploda samoniklog voća *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L.)





Slika 26. Rezultantni grafik glavnih komponenti F1-F2. (Označavanje: redni broj iz Tabele 31.)

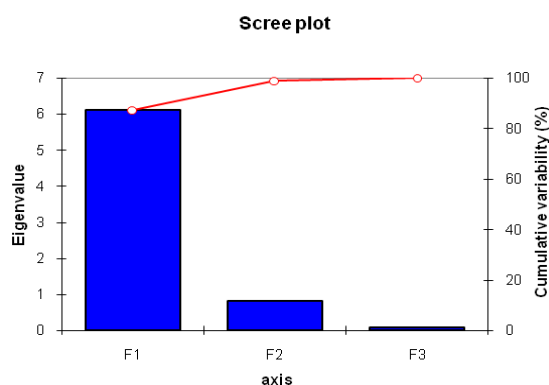
### Hemometrijska analiza - *Morus alba* L. i *Morus nigra* L.

Podaci matrice sadrže 24 reda (zemljište, plod i plod dve vrste duda sa četiri lokaliteta) i sedam kolona (koncentracije metala). Sedam glavnih komponenti je objedinjeno radi karakterizacije podataka.

Kritična vrednost za  $\alpha=0,05$  i  $n=4$  kod zemljišta, lišća i ploda samoniklog voća *Morus alba* L. i *Morus nigra* L. je bila 1,481.

Pozitivne visoke korelacije su primećene između ln-transformisanih podataka Pb i Zn (0,958), i Cd i Pb (0,998), a negativne visoke korelacije između ln-transformisanih podataka Mn i Zn (-0,951), Pb i Ni (-0,986), i Cd i Ni (-0,992). (Varol i sar., 2012; Shrestha i Kazama, 2007)

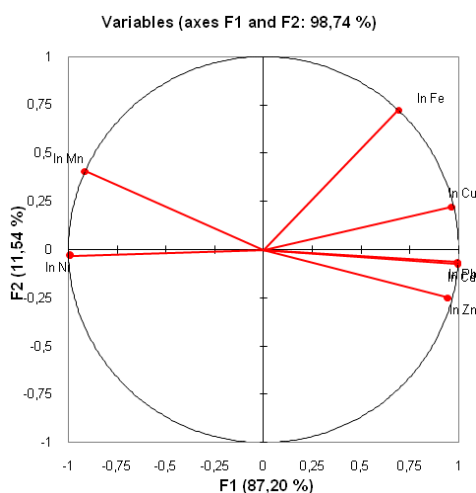
Iz izgleda scree grafika, prikazanog na Slici 27, može se uočiti broj važnih komponenti koje će biti korišćene u daljim kalkulacijama.



Slika 27. Scree grafik sopstvenih vrednosti glavnih komponenti kod zemljišta, lišća i ploda samoniklog voća *Morus alba* L. i *Morus nigra* L.

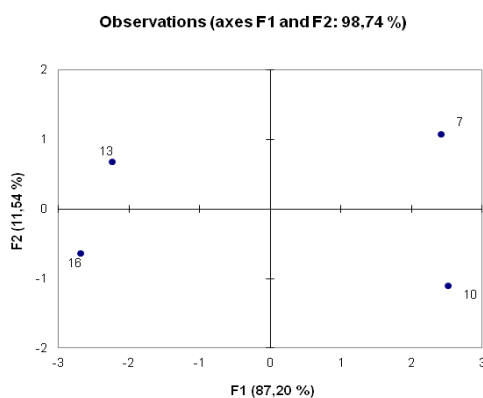
PCA je pokazala prisustvo jedne komponente sa karakterističnom vrednošću (6,104) koja prelazi 1, objašnjavajući 87,20% varijabilnosti. Bazirano na Catel-ovom kriterijumu (Manly, 2005), dve komponente će biti korišćene za dalje objašnjavanje varijanci. Ovo dvokomponentno rešenje objašnjava ukupno 98,744% varijance, sa doprinosom prve komponente od 87,20 i doprinosom druge komponente od 11,544%. Pošto dvokomponentno rešenje bazirano na Catel-ovom kriterijumu objašnjava 98,744% ukupne varijabilnosti, ovaj kriterijum je prihvaćen.

Korelacije i sličnosti između varijabli se mogu videti na Slici 28, koja pokazuje grafik učitavanja prve dve komponente. Promenljive sa niskim učitavanjima nemaju značajniji uticaj na strukturu podataka, dok elementi sa visokim učitavanjima imaju najviše uticaja na grupisanje i odvajanje uzoraka iz biljaka. Visoke korelacije su uočene između ln-transformisanih podataka Pb i Cd, Pb i Zn, Cd i Zn, Cu i Pb, i Cu i Cd.



Slika 28. Grafici učitavanja podataka u uzorcima biljaka

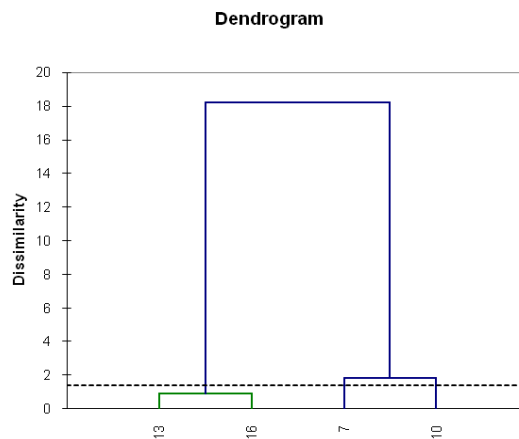
Obzervacioni grafici bazirani na sadržaju metala su predstavljeni na Slici 28 i 29.



Slika 29. Rezultantni grafik glavnih komponenti (F1 and F2) proučavanih biljnih uzoraka bazirani na sadržaju izabranih metala (Označavanje: broj predstavlja redni broj uzorka u tabeli 49)

Sa Slike 29, uočava se visoki sadržaj gvožđa prisutan u uzorcima na desnoj strani grafika, i nizak na levoj strani grafika. Takođe, može se zaključiti da je visok sadržaj cinka prisutan u uzorcima u gornjem delu grafika i nizak na suprotnom kraju grafika.

HCA standardizovanih varijabli korišćenjem Ward-ove metode kao amalgamacionog pravila i kvadratnog Euklidovog rastojanja kao mere bliskosti između uzoraka je izvršeno. Dobijeni dendrogram koji predstavlja klasterovanje analiziranih biljnih uzoraka je prikazano na Slici 30.



Slika 30. Dendrogram biljnih uzoraka klusterskom analizom baziranom na Ward-ovoj povezanosti i Euklidovom rastojanju

Dendrogram pokazuje da svi ispitivani uzorci se mogu grupisati u tri glavna klastera. Klaster I je formiran od ispitivanog uzorka 7, klaster II je formiran od uzorka 10, i klaster III od uzoraka 13 i 16.

### 4.3. Sadržaj metala u različitim sortama grožđa

Teški metali se prirodno nalaze u zemljištu u određenim koncentracijama, a potiču iz matične stene ili podloge na kojoj je formirano zemljište. Vrlo često metali koji se javljaju u zemljištu nisu posledica geohemijskog porekla, već dolaze kao rezultat različitih ljudskih aktivnosti (industrija, sagorevanjem fosilnih goriva, primenom agrotehničkih mera, atmosferskim taloženjem). Urbana područja su u odnosu na ruralna više izložena antropogenom uticaju. (*Alirzayeva i sar., 2006*) Obzirom da u jugoistočnoj Srbiji industrija je slabo razvijena taj uticaj kod analiziranih uzoraka je sveden na minimum.

Interakcija između metala i materija u zemljištu, vodi i vazduhu zavisi od raznih hemijskih faktora koji određuju način migracije zagađivača. Apsorpcija metala iz vode u zemljište, tj, njihova mobilnost je najvažniji faktor koji određuje sadržaj metala u zemljištu. (*Curtis i Smith, 2002*)

Teški metali iz zemljišta ulaze u biljke prvenstveno kroz koren, jer koren je najvažnije mesto biljke za uzimanje materija iz zemljišta. (*Bell, 1992*) Na taj način se i agrotehničkim merama prilikom uzgajanja voća, povrća ili bilo koje kulture biljka dodatno može kontaminirati teškim metalima.

U zemljištu kadmijum je obično prisutan u  $Cd^{2+}$  obliku, koji je veoma mobilan, migrira i akumulira se u biljci. Različite biljke pokazuju i različitu tendenciju ka akumulaciji kadmijuma. Apsorpcija/desorpcija kadmijuma je deset puta brža od olova. (*Fritioff i Greger, 2007*) Soli olova se ne rastvaraju dobro u vodi, zbog pH vrednosti zemljišta i zbog toga su manje mobilne. Kao rezultat toga, olovo se uglavnom akumulira na površini zemljišta. (*Bakirdere i Yaman, 2008*)

U analiziranim uzorcima grožđa prisustvo ovih teških metala nije dokazano, što je verovatno posledica toga da na području na kom je uzorkovano grožđe mogućnost kontaminacije ovim metalima je minimalna.

Kao što je već pomenuto u ovom radu, iako je esencijalni element, bakar može biti i toksičan ukoliko pređe dozvoljeni nivo. Visoke koncentracije su uzrok poremećaja štitne žlezde, depigmentacije kože i kose, dermatitisa, oštećenje respiratornog trakta. (*Yaman i sar., 2005*)

Gvožđe je esencijalni element za ljude i životinje, jer je važna komponenta hemoglobina. Visoke koncentracije gvožđa u zemljištu, vodi i biljkama su rezultat apsorpcije metala iz okruženja. Visoke koncentracije izazivaju oštećenja crevnog trakta, povraćanje, proliv, oštećenje jetre, bol u zglobovima, gubitak telesne težine, umor, osećaj gladi, kancer,

poremećeje srca, razne psihijatrijske poremećaje, prekomernu pigmentaciju kože itd. Takođe, i nedostatak gvožđa može izazvat igastrointestinalne probleme. (*Sakolnik, 1984*)

Cink učestvuje u preko 200 enzimskih reakcija, a potreban je i za normalno funkcionisanje ćelijske membrane. Učestvuje u stvaranju vezivnog tkiva, zuba, kostiju, niktiju, kose i kože. Takođe, ima važnu ulogu u vezivanju kalcijuma u kostima i utiče na hormon rasta. (*Radivojevic i Bashkin, 1999*)

Cilj ovog istraživanja bio je da se najpre odredi sadržaj metala u zemljištu, vodi i grožđu vrste Plovdina (najčešće uzgajivana vrsta na ovom području Srbije), kao i stepen transfera metala iz zemljišta u grožđe. A zatim i da se odabere najbolji metod pripreme uzoraka grožđa za analizu teških metala.

Uzorci su uzimani sa ruralnog područja iz privatnih vinograda, gde ne postoji mogućnost zagađenja metalima od industrije, ali blizu sedimentnih stena. Jaki vetrovi pomeraju male čestice, čime zagađuju okolno područje. Teški metali sa sedimentnih stena mogu da kontaminiraju površinske vode, kao i podzemne vode erozijom. Na taj način, preko vode, zemljišta i na kraju biljke ulaze u lanac ishrane.

Uzorci zemljišta i vode analizirani su na prisustvo Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, Pb i Cd. Samo je prisustvo gvožđa, cinka i olova detektovano u zemljištu; a gvožđa, cinka i bakra u grožđu; u uzorcima vode nije detektovan ni jedan metal.

Rezultati su prikazani u dve grupe u narednoj tabeli u zavisnosti od rastojanja od puta (0 metara i 50 metara od puta).

Tabela 60. Koncentracija Fe, Pb i Zn u uzorcima zemljišta u zavisnosti od rastojanja od puta

Lokacija	Oznaka	Rastojanje od puta (m)	c <sub>Fe</sub> ±U (mg/g)	c <sub>Pb</sub> ±U (µg/g)	c <sub>Zn</sub> ±U (µg/g)
Sićevo	1	0	22.5±0.67(E)	17.8±0.53 (E)	5.2±0.31(E)
	2		19.5±0.58 (W)	21.3±0.64 (W)	3.7±0.22 (W)
	3	50	15.2±0.46 (E)	8.1±0.24 (E)	3.6±0.21(E)
	4		11.2±0.34 (W)	5.3±0.16 (W)	2.7±0.16 (W)
Brod	5	0	13.5±0.39 (N)	19.4±0.58 (N)	4.9±0.29 (N)
	6		9.6±0.28 (S)	15.7±0.47 (S)	2.5±0.15 (S)
	7	50	10.1±0.30 (N)	7.5±0.22 (N)	3.2±0.21 (N)
	8		8.7±0.26 (S)	6.8±0.19 (S)	2.0±0.12 (S)
Aleksinac	9	0	120.7±3.62 (E)	27.3±0.82 (E)	7.8±0.47 (E)
	10		96.9±2.91 (W)	25.8±0.77 (W)	6.1±0.37 (W)
	11	50	83.4±2.53 (E)	9.8±0.28 (E)	6.8±0.39 (E)
	12		80.7±2.45 (W)	7.2±0.21 (W)	4.2±0.25 (W)
Svrljig	13	0	34.9±1.05 (E)	15.3±0.46 (E)	6.1±0.37 (E)
	14		30.6±0.92 (W)	10.9±0.33 (W)	5.0±0.30 (W)
	15	50	20.8±0.62 (E)	10.1±0.30 (E)	4.1±0.25 (E)
	16		21.8±0.65 (W)	6.7±0.20 (W)	3.6±0.22 (W)
Medoševac	17	0	156.3±4.73 (N)	18.9±0.57 (N)	5.8±0.35 (N)
	18		125.1±3.74 (S)	14.9±0.45 (S)	5.0±0.30 (S)
	19	50	97.4±2.92 (N)	10.3±0.31(N)	4.0±0.23 (N)
	20		90.7±2.72 (S)	8.8±0.26 (S)	2.1±0.12 (S)

E – istočno od puta, W – zapadno od puta, N – severno od puta, S – južno od puta

Koncentracije gvožđa, cinka i olova neposredno uz put su u opsegu od 9,6 – 156,3 mg/g, 2,5 – 7,8 µg/g i 10,9 – 27,3 µg/g, respektivno. Koncentracije istih metala na udaljenosti od 50 metara od puta se kreću u granicama od 8,7 – 97,4 mg/g, 2,0 – 6,8 µg/g i 5,3 – 10,3 µg/g. Kao što se može zaključiti vrednosti ispitivanih metala su veće u uzorcima zemljišta koji su uzeti pored puta, nego li na rastojanju od 50 metara. Međutim, i jedne i druge vrednosti su daleko ispod maksimalno dozvoljenih granica utvrđenih propisima Evropske unije za poljoprivredna zemljišta sa pH vrednošću 6 – 7. (*Council Directive 86/278/EEC, 1986*) Izmerene pH vrednosti za ispitivana zemljišta iznose 8,13 (Sićevo), 7,90 (Brod), 7,94 (Aleksinac), 7,57 (Svrljig), 7,95 (Medoševac)

Tabela 61. Maksimalno dozvoljene koncentracije metala za obradiva zemljišta

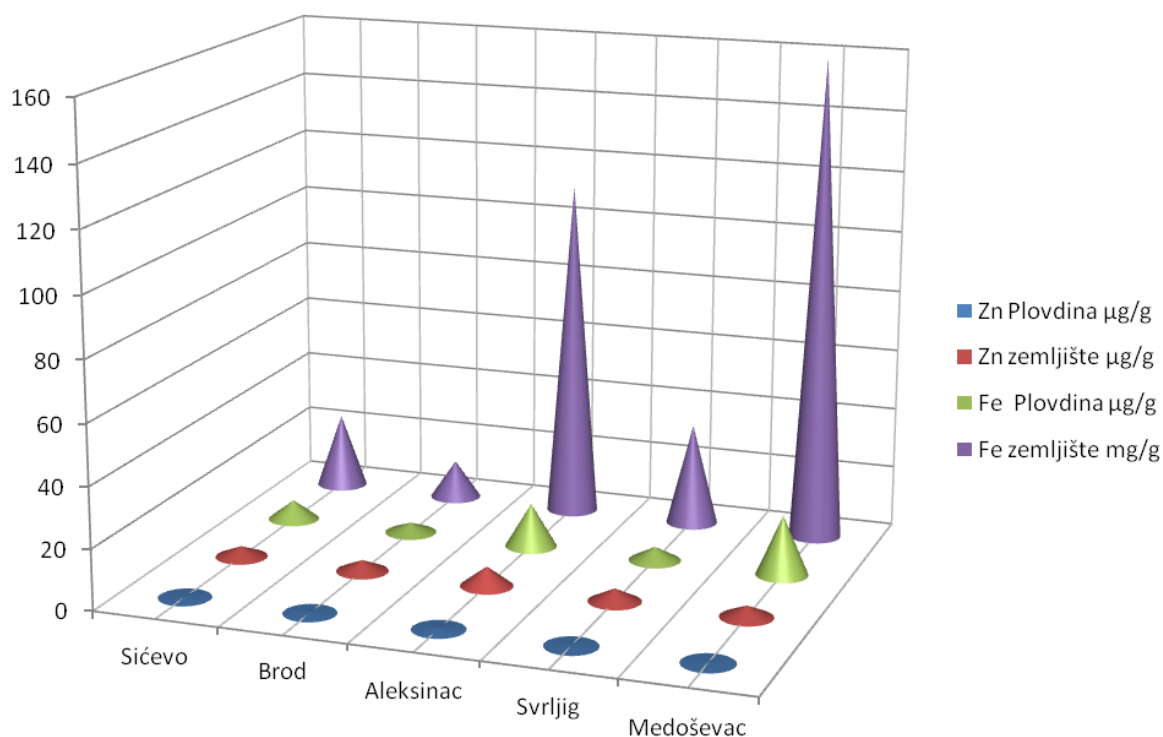
Cd (ppm)	Cu (ppm)	Ni (ppm)	Pb (ppm)	Zn (ppm)
3	140	75	300	300

Sadržaj teških metala, naročito olova, se smanjuje kako se udaljenost od puta povećava. To je očekivano i slično rezultatima Bakirdere-a i Soylak-a. (*Bakirdere i Yaman,*

2008; *Soylak i Turkoglu*, 1999) Bakirdere pokazao da koncentracija olova u zemljištu varira u granicama 1,3 – 45  $\mu\text{g/g}$ , dok se naši rezultati kreću u granicama od 5,3 – 27,3  $\mu\text{g/g}$ . Soyлак i Turkoglu su konstatovali da koncentracija gvožđa i mangana ne zavisi od rastojanja od puta, dok kod olova, cinka, bakra i kadmijuma ta zavisnost postoji. (*Soylak i Turkoglu*, 1999) što je u opozitu sa našim rezultatima.

Tabela 62. Koncentracija metala u zemljištu i grožđu

Lokacija	Zemljište				Grožđe			
	Oznaka	Fe $C_{M\pm U}$ mg/g	Zn $C_{M\pm U}$ $\mu\text{g/g}$	Pb $C_{M\pm U}$ $\mu\text{g/g}$	Oznaka	Fe $C_{M\pm U}$ $\mu\text{g/g}$	Zn $C_{M\pm U}$ $\mu\text{g/g}$	Cu $C_{M\pm U}$ $\mu\text{g/g}$
Sićevo	1S	24,50 $\pm$ 0,73	3,50 $\pm$ 0,21	6,80 $\pm$ 0,20	1G	6,50 $\pm$ 0,19	0,41 $\pm$ 0,04	6,90 $\pm$ 0,14
Brod	2S	12,50 $\pm$ 0,37	3,70 $\pm$ 0,22	5,60 $\pm$ 0,16	2G	3,30 $\pm$ 0,09	0,46 $\pm$ 0,03	3,60 $\pm$ 0,07
Aleksinac	3S	111,70 $\pm$ 3,35	6,50 $\pm$ 0,39	8,80 $\pm$ 0,26	3G	14,40 $\pm$ 0,43	0,63 $\pm$ 0,04	5,30 $\pm$ 0,11
Svrljig	4S	33,60 $\pm$ 1,01	4,20 $\pm$ 0,25	9,30 $\pm$ 0,28	4G	4,50 $\pm$ 0,13	0,37 $\pm$ 0,02	3,40 $\pm$ 0,07
Medoševac	5S	159,30 $\pm$ 4,68	3,80 $\pm$ 0,23	8,30 $\pm$ 0,25	5G	19,80 $\pm$ 0,59	0,31 $\pm$ 0,02	13,60 $\pm$ 0,27



Histogram 3. Koncentracija metala u zemljištu i grožđu

Analizom grožđa dokazano je prisustvo i određena je koncentracija gvožđa, cinka i bakra u opsegu od 3,3-19,8; 0,31-0,63 i 3,4-13,6  $\mu\text{g/g}$ , respektivno. Obzirom da bakar nije

detektovan u uzorcima zemljišta, može se zaključiti da je prisustvo bakra u grožđu posledica upotrebe "Bordovske čorbe" (bakar sulfat, kalcijum hidroksid i voda) kao fungicida za zaštitu vinograda.

Odsustvo olova u grožđu može se objasniti i sporom mobilnošću soli olova, i akumulacijom u površinskom sloju zemlje.

Koncentracija gvožđa u uzorcima se kreće u opsegu od 12,5 do 156,3 mg/g u zemljištu, od 3,30 do 19,8  $\mu\text{g/g}$  u grožđu. Cink se kreće u granicama od 3,5 do 6,5  $\mu\text{g/g}$  u zemljištu i od 0,31 do 0,63  $\mu\text{g/g}$ .

Korelacionom analizom pomoću ANOVA dodatka izračunati su korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u zemljištu i grožđu. Koeficijent korelacije gvožđa je izuzetno veliki (0,9885) što ukazuje na veliki transfer gvožđa iz zemljišta u grožđe. Koeficijent korelacije cinka je nešto niži i iznosi 0,8378. Za bakar i olovo nije bilo moguće odrediti korelacione koeficijente obzirom da se isti nisu detektovali i u zemljištu i u grožđu.

Tabela 63. Koeficijenti korelacije gvožđa i cinka

	$Fe_{zem}$	$Zn_{zem}$	$Pb_{zem}$	$Fe_{grožde}$	$Zn_{grožde}$	$Cu_{grožde}$
$Fe_{zem}$	1,0000					
$Zn_{zem}$	0,3859	1,0000				
$Pb_{zem}$	0,5200	0,5210	1,0000			
$Fe_{grožde}$	0,9885	0,3478	0,4425	1,0000		
$Zn_{grožde}$	-0,0307	0,8378	0,0070	-0,0254	1,0000	
$Cu_{grožde}$	0,7894	-0,2165	0,1444	0,8357	-0,4929	1,0000

### Hemometrijska analiza uzoraka grožđa

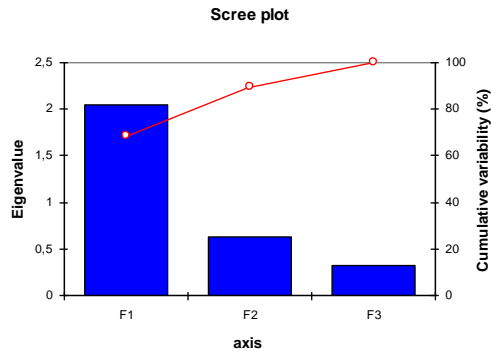
Na eksperimentalnim podacima prikazanim u tabelama 60 i 62, primenjena je PCA analiza kako bi se uočila eventualna razlika između uzoraka. Podaci matrice za Tabelu 60. sadrže 20 reda (na rastojanju od 0 i 50 metara od puta, na pet lokaliteta) i tri kolone (koncentracije metala); za Tabelu 62. sadrže 5 reda (na pet lokaliteta) i 6 kolona.

Glavna prednost je smanjenje broja varijabli eksperimentalnih podataka i iznuđivanje malog broja latentnih faktora za analiziranje odnosa. Ovo dozvoljava mogućnost razvrstavanja uzoraka i distribuciju elemenata. Pearsonova korelacija je pokazala srednje pozitivnu korelaciju između količine cinka i gvožđa (0,537) i cinka i olova (0,641) na osnovu koncentracije Fe, Pb i Zn u uzorcima zemljišta u zavisnosti od udaljenosti od puta. Visoka pozitivna korelacija utvrđena je između količine gvožđa i cinka (0,713) u zemljištu i uzorcima grožđa. Sopstvene vrednosti za prve faktore su veće (2,046 i 1,713) u poređenju sa vrednostima za ostale faktore. Iz izgleda scree grafika, prikazanog na Slici 33a i 33b, može

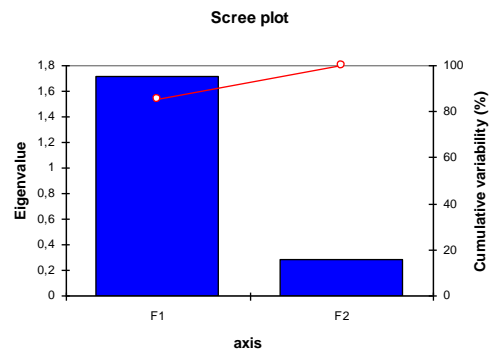


se uočiti broj važnih komponenti koje će biti korišćene u daljim kalkulacijama. Tako da samo jedan faktor se može koristiti za objašnjenje dobijenih varijabilnosti: 68,195% u vezi sa podacima iz tabele 60., i 85,668% u odnosu na podatke iz tabele 62. (slika 33.)

a)



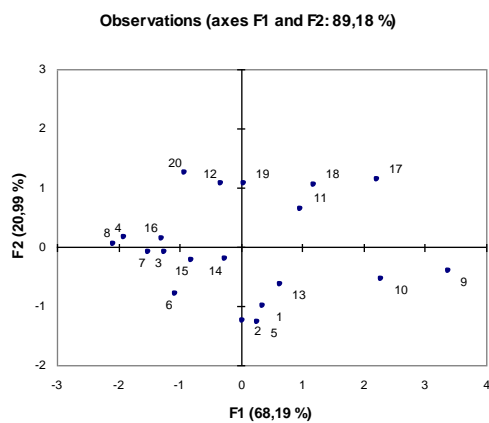
b)



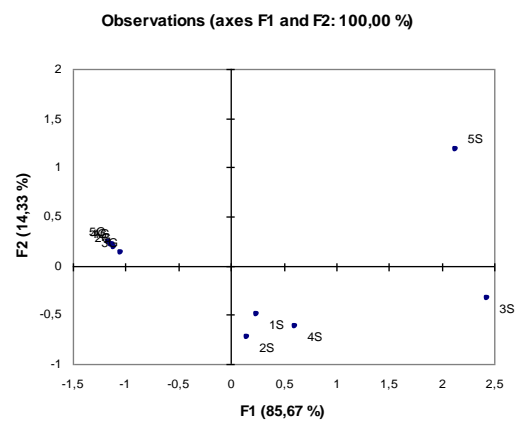
Slika 33. Scree grafik pokazuje značaj faktora i vrednosti kumulativne varijabilnosti – a) podaci vezani za koncentraciju Fe, Pb, Zn u uzorcima zemljišta i u zavisnosti od udaljenosti od puta; - b) podaci koje se odnose na koncentracije metala u uzorcima zemljišta i grožđa

Na sledećoj slici predstavljen je rezultatni grafik komponenti (F1 and F2) na osnovu koncentracija u uzorcima zemljišta u zavisnosti od udaljenosti od puta na Fe, Pb i Zn, i na osnovu koncentracije metala u uzorcima zemljišta i grožđa.

a)



b)



Slika 34. Rezultantni grafik glavnih komponenti (F1 and F2) na osnovu koncentracija u uzorcima zemljišta u zavisnosti od udaljenosti od puta na Fe, Pb i Zn (1 označava da je prvi uzorak iz tabele 60 – lokacija (Sićevo) udaljenost od puta 0m, istočno od puta; b) (F1 i F2) na osnovu koncentracije metala u uzorcima zemljišta i grožđa (1 označava prvi uzoraka iz tabele 62 – 1S lokacija (Sićevo), zemljište, 1G-grožđe)

Sve vrednosti za F1 u oba slučaja su pozitivne, ali neke vrednosti za faktore F2 i F3 su kako pozitivne, tako i negativne.

Kao što se može videti sa slike 34a visok sadržaj gvožđa je prisutan u uzorcima na desnoj strani grafika i nizak na levoj strani grafika. Visok sadržaj olova je prisutan u gornjoj polovini grafika i nizak na suprotnoj strani. Slično, slika 34b pokazuje visok sadržaj gvožđa na desnoj strani, i nizak sadržaj na levoj strani grafika; sadržaj cinka prisutan je u visokoj koncentraciji u uzorcima na gornjoj strani grafika.

Sledeća tabela prikazuje približan dnevni unos metala iz analizirane vrste grožđa. Vrednosti su izračunate na osnovu iz srednje vrednosti metala u voću, uz pretpostavku da je dnevna potrošnja voća 300 g. (*Guenther i sar., 2006*) Obzirom da plod u većoj meri čini voda, analize su urađene na bazi suve materije, a ove promene mogu usloviti povećanu koncentraciju metala. Na osnovu izračunatih vrednosti može se primetiti da unos izabranih metala nije visok, a i u okviru dozvoljenih granica koje preporučuju različite agencije. (*Food and Nutritional board, 2004; Friberg i sar., 1984; US EPA, 2010; WHO, 1993; WHO, 2004*)

Tabela 64. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analizirane vrste grožđa (*Plovdina*)

Metal	Srednja vrednost koncentracije uzoraka <i>Plovdine</i> (mg/kg)	Dnevni unos iz uzoraka <i>Plovdine</i> (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>d</sub> (mg/day)	HQ	Lit.
Zn	0,436	0,131	15,00	0,009	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	9,7	2,91	10,0-60,0	0,048	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cu	6,56	1,968	2,0-3,0	0,656	<i>Jolly i sar., 2013</i>

Indeks zdravstvenog rizika (HQ) za analizirane uzorke *Plovdine* opada u nizu Cu(0,656)>Fe(0,048)>Zn(0,009). Obzirom da je vredost HQ za sve metale ispod 1, može se smatrati da je analizirana *Plovdina* bezbedna za konzumaciju.

Poređenjem dobijenih vrednosti za dnevni unos iz *Plovdine* sa vrednostima za dnevni unos koje propisuju EVM, FNB, FAO, WHO (Tabela 7.), Medicinski fakultet Akademije nauka Sjedinjenih Američkih Država (Tabele 8, 9, 10), kao i Pravilnik o deklarisanju i označavanju upakovanih namirnica, Tabela 11. (*Sl. List SCG br. 4/204, 2/204 i 48/204*) može se zaključiti da su vrednosti ispod dozvoljenih i da je analizirana *Plovdina* bezbedna za upotrebu.

Detekcija metala vršena je i u različitim vrstama grožđa kako bi se odredila najbolja metoda za detekciju istih. Tom prilikom dokazano je prisustvo i određena je koncentracija gvožđa, cinka i bakra. Primenom *metode I* za priremu uzoraka grožđa dobijeni su sledeći rezultati:

Tabela 65. Sadržaj Fe, Zn i Cu u uzorcima grožđa primenom *metode I, metode II i metode III* za pripremu uzoraka grožđa

Vrsta	Metoda	Fe ( $\mu\text{g/g}$ )	Zn ( $\mu\text{g/g}$ )	Cu ( $\mu\text{g/g}$ )
Plovdina	Metoda I	16,50 $\pm$ 0,49	1,50 $\pm$ 0,09	2,40 $\pm$ 0,05
	Metoda II	7,80 $\pm$ 0,23	2,17 $\pm$ 0,13	-
	Metoda III	17,50 $\pm$ 0,52	4,60 $\pm$ 0,27	6,90 $\pm$ 0,14
Muskat	Metoda I	35,60 $\pm$ 1,07	44,20 $\pm$ 2,65	4,70 $\pm$ 0,09
	Metoda II	9,30 $\pm$ 0,28	2,46 $\pm$ 0,15	-
	Metoda III	22,40 $\pm$ 0,67	5,20 $\pm$ 0,31	5,30 $\pm$ 0,11
Hamburg	Metoda I	23,10 $\pm$ 0,69	2,40 $\pm$ 0,14	7,30 $\pm$ 0,15
	Metoda II	9,70 $\pm$ 0,29	3,07 $\pm$ 0,18	-
	Metoda III	32,70 $\pm$ 0,98	5,60 $\pm$ 0,34	13,60 $\pm$ 0,27
Cabernet souvignon	Metoda I	16,10 $\pm$ 0,48	2,60 $\pm$ 0,15	4,60 $\pm$ 0,09
	Metoda II	15,90 $\pm$ 0,48	4,17 $\pm$ 0,25	-
	Metoda III	18,40 $\pm$ 0,55	3,50 $\pm$ 0,21	3,60 $\pm$ 0,07
Prokupac	Metoda I	33,80 $\pm$ 1,01	3,30 $\pm$ 0,19	5,40 $\pm$ 0,11
	Metoda II	5,50 $\pm$ 0,16	1,42 $\pm$ 0,08	-
	Metoda III	15,50 $\pm$ 0,46	3,70 $\pm$ 0,22	3,40 $\pm$ 0,06
Afuzalija	Metoda I	28,50 $\pm$ 0,85	3,30 $\pm$ 0,19	7,10 $\pm$ 0,14
	Metoda II	6,00 $\pm$ 0,18	2,15 $\pm$ 0,13	-
	Metoda III	20,40 $\pm$ 0,61	4,50 $\pm$ 0,27	4,10 $\pm$ 0,08

Upoređivanjem podataka prikazanim u Tabeli 65. može se zaključiti da *metoda I i metoda III* daju približne koncentracije u pogledu sadržaja gvožđa, dok *metoda II* daje nešto niže vrednosti. Postupak demineralizacije uzoraka grožđa smešom HNO<sub>3</sub> i HCl dao je niže vrednosti, pretpostavlja se da nije došlo do potpune razgradnje organskih molekula, koji imaju mogućnost da grade komplekse sa teškim metalima. Dobijeni rezultati sadržaja cinka ukazuju da sve tri metode daju približne rezultate. Jedini izuzetak je uzorak Muskata koji *metodom I* daje ogromnu koncentraciju. Pretpostavlja se da je uzorak kontaminiran ili tokom uzgajanja ili prilikom analize.

Sagledavanjem dobijenih rezultata za bakar zaključuje se da *metoda II* nije pogodan za određivanje koncentracije ovog metala. Dobijeni rezultati su ispod granice detekcije aparata, što je u suprotnosti sa rezultatima dobijenim demineralizacijom grožđa *metodom I i III*. Metodom I dobijaju se nešto veće vrednosti u odnosu na vrednosti koje su dobijene prilikom demineralizacije žarenjem. Ovo se može objasniti unošenjem tragova teških metala koji se nalaze u korišćenim kiselinama.

Radi provere preciznost u uslovima reproduktivnosti, ali i poređenja preciznosti kod ispitnih metoda, kao i utvrđivanjem značajnost razlika između varijabla primenjeni su F test i T test. Rezultati su prikazani u sledećoj tabeli.

Tabela 66. Rezultati T-testa i F-testa

	Metod I	Metod II	Metod I	Metod III	Metod II	Metod III
<b>Fe</b>						
Srednja vrednost	25,600	9,033	25,600	21,150	9,033	21,150
Varijansa	70,992	14,175	70,992	37,667	14,175	37,667
Ispitivani br. uzoraka	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Pearson-ova korelacija	-0,572		-0,021		0,138	
Broj stepena slobode	5,000		5,000		5,000	
t Stat	3,682		1,035		-4,401	
P(T<=t) one-tail	0,007		0,174		0,004	
t Critical one-tail	2,015		2,015		2,015	
P(T<=t) two-tail	0,014		0,348		0,007	
t Critical two-tail	2,571		2,571		2,571	
F	5,008		1,885		0,376	
P(F<=f) one-tail	0,051		0,252		0,154	
F Critical one-tail	5,050		5,050		0,198	
<b>Zn</b>						
Srednja vrednost	9,550	2,573	9,550	4,517	2,573	4,517
Varijansa	288,595	0,896	288,595	0,670	0,896	0,670
Ispitivani br. uzoraka	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000	6,000
Pearson-ova korelacija	-0,068		0,396		-0,064	
Broj stepena slobode	5,000		5,000		5,000	
t Stat	1,001		0,739		-3,689	
P(T<=t) one-tail	0,181		0,247		0,007	
t Critical one-tail	2,015		2,015		2,015	
P(T<=t) two-tail	0,363		0,493		0,014	
t Critical two-tail	2,571		2,571		2,571	
F	322,026		430,953		1,338	
P(F<=f) one-tail	0,000		0,000		0,378	
F Critical one-tail	5,050		5,050		5,050	
<b>Cu</b>						
Srednja vrednost			5,25	6,15		
Varijansa			3,299	15,011		
Ispitivani br. uzoraka			6	6		
Pearson-ova korelacija			0,314			
Broj stepena slobode			5,000			
t Stat			-0,592			
P(T<=t) one-tail			0,290			
t Critical one-tail			2,015			
P(T<=t) two-tail			0,580			
t Critical two-tail			2,571			
F			0,220			
P(F<=f) one-tail			0,061			
F Critical one-tail			0,198			

Izračunata F-vrednost upoređuje se sa kritičnom vrednošću F za broj stepeni slobode  $\nu_1$  i  $\nu_2$  (Tabela 4). Pošto je  $F_{izr} < F_{krit}$  nulta hipoteza se zadržava sa nivoom rizika većim od 5% ( $p > 0,05$ ), tj. uzorci potiču iz iste populacije. Kod poređenja metode I sa metodom II i metodom III,  $F_{izr} > F_{krit}$  pa se nulta hipoteza odbacuje sa nivoom rizika manjim od 5% ( $p < 0,05$ ). Pošto je izračunata vrednost parametra F veća od kritične, nulta hipoteza se odbacuje, tj. srednje vrednosti uzoraka se značajno razlikuju.

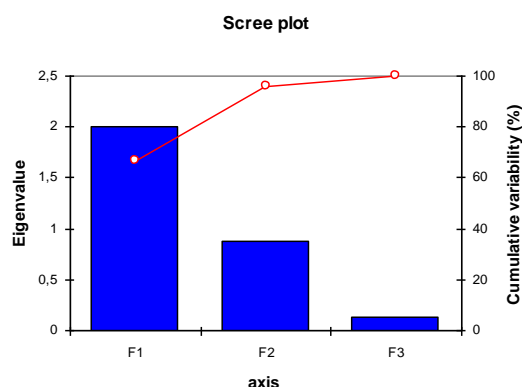
Potvrdu nulte hipoteze dobijamo i analizom T testa, tj.  $t_{izr} < t_{krit \ i \ 0,05}$  nulta hipoteza  $H_0$  se ne odbacuje jer je rizik veći od 5% ( $p > 0,05$ )

Obratno, kod slučajeva gde izračunata t-vrednost veća od granične tablične vrednosti, za odgovarajući broj stepena slobode i prag značajnosti, nulta hipoteza se odbacuje kao netačna, a prihvata se alternativna hipoteza:

- $t_{izr} \geq t_{(krit \ i \ 0,05)}$ , odbacuje se nulta hipoteza za nivo rizika  $p=0,05$ , odnosno za nivosigurnosti  $P=0,95$  (95%)
- $t_{izr} \geq t_{(krit \ i \ 0,05)}$ , odbacuje se  $H_0$  i za nivo rizika  $p=0,01$ , odnosno za nivo sigurnosti  $P=0,99$  (99%).

Na osnovu podataka dobijenih od određivanja koncentracije odabranih metala u uzorcima grožđa (Tabela 65), PCA je korišćen za ispitivanje mogućih razlika uzoraka grožđa. Polazna tačka za proračune PCA je matrica podataka sa dimenzijama  $n \times p$ , gde je  $n$  broj predmeta (redova) i  $p$  je broj varijabli (kolona). U matrici, kao redovi su korišćeni uzorci grožđa (plovčina, Muskat, Hamburg, Cabernet Sauvignon, Prokupac i Afuzalija) iz različitih oblasti iz jugoistočne Srbije tretirani različitim metodama (*Metoda I, Metoda II, Metoda III*). Kolone su bili rezultati izabranog metala u uzorcima grožđa. Kao rezultat PCA izračunavanja dobijene su 3 nove varijable koje karakterišu sopstvene vrednosti 1,997, 0,875, i 0,128. Izvedena statistika sa Pearson-ovom korelacijom matrice na uzorcima grožđa, zasnovana na sadržaju metala "pokazuje da postoji visoka pozitivna korelacija između količine gvožđa i bakra (0,776), i srednje pozitivna korelacija između količine gvožđa i cinka (0,513).

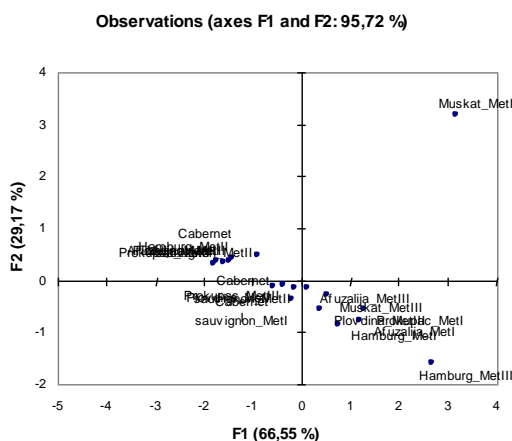
Broj faktora predstavlja ukupan broj varijabli korišćenih u skupu podataka. Sopstvene vrednosti za prvi i drugi faktor su veće (1,997 i 0,875, respektivno) u odnosu na vrednost za treći faktor (0,128), pa treći faktor može da se izostavi za objašnjenje podataka (slika 35).



Slika 35. Scree grafik pokazuje značaj faktora i vrednosti kumulativne varijabilnosti

Neki svojstveni vektori za faktore (F2 i F3) su pozitivni, a neki od njih su negativni. Sve varijable imaju pozitivan doprinos za F1 .

Na sledećoj slici predstavljen je rezultatni grafik komponenti (F1 and F2) ispitivanih uzoraka grožđa na osnovu sadržaja metala.



Slika 36. Rezultatni grafik glavnih komponenti (F1 and F2) ispitivanih uzoraka grožđa na osnovu sadržaja metala (Uzorci su označeni na sledeći način: prvo je označeno ime grožđa, a ostatak označava korišćeni metod)

Sa slike 36., vidljivo je da je visok sadržaj gvožđa prisutan u uzorcima grožđa na desnoj strani grafika i nizak na levoj strani grafika. Takođe, može se zaključiti da je visok sadržaj cinka prisutan u uzorcima grožđa u gornjoj polovini grafika i nizak na suprotnoj strani grafika.

Tabela 67. prikazuje približan dnevni unos metala po čoveku iz mešovitog voća. Vrednosti su izračunate na osnovu srednje vrednosti metala u voću dobijenim primenom metoda I i III, uz pretpostavku da je dnevna potrošnja voća 300 g. (Guenther i sar., 2006) Budući da različite plodove konzumiraju različiti segmenti populacije u različito vreme

tokom godine, ovo može biti realna procena za prosečan dnevni unos metala iz voća. Na osnovu izračunatih vrednosti može se primetiti da unos zabranjenih metala nije visok, a i u okviru dozvoljenih granica koje preporučuju različite agencije. (*Food and Nutritional board, 2004; Friberg i sar., 1984; US EPA, 2010; WHO, 1993; WHO, 2004*)

Tabela 67. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (HQ) iz analizirane uzoraka 6 vrsta grožđa (*Metod I i Metod III*)

Metal	Srednja vrednost koncentracije uzoraka 6 vrsta grožđa ( <i>Metod I i Metod III</i> ) (mg/kg)	Dnevni unos iz uzoraka 6 vrsta grožđa (mg/kg)	Referentna oralna doza R <sub>f</sub> D (mg/day)	HQ	Lit.
Zn	7,033	2,110	15,00	0,141	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Fe	23,375	7,012	10,0-60,0	0117	<i>Jolly i sar., 2013</i>
Cu	5,700	1,71	2,0-3,0	0,570	<i>Jolly i sar., 2013</i>

Indeks zdravstvenog rizika (HQ) opada sledećim redosledom Cu>Zn>Fe. Obzirom da su HQ vrednosti manje od 1, može se zaključiti da je grožđe bezbedno za upotrebu.

Tabela 66. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u uzorcima zemljišta i grožđa izražen u µg/g

Poreklo	Mikroelementi							Lit.	
	Fe	Zn	Cu	Ni	Mn	Cr	Cd		Pb
Slovenija		1,00-1,70	1,13-10,2		0,71-8,9	5,8-23	0,20-0,43	6,1-25	<i>Kristl i sar., 2003</i>
Nigerija		5,2	3,00						<i>Iyaka, 2007</i>
Jordan		70-3440	95-575 ppb	50-330				19-100	<i>Al Nasir i sar., 2001</i>
Španija		0,006 – 0,079	0,0260-0,1427						<i>Olalla i sar., 2004</i>
Makedonija	345-464,5	154,8-188,5	31,1-51,1	145,1-191,8	352,3-400,2			5,25-13,56	<i>Karakaševa i sar., 2012</i>
Čile	0,036-8,12	0,21-1,63							<i>Laurie i sar., 2010</i>

#### 4.4. Sadržaj metala u različitim vrstama vina

U cilju procene nutritivne vrednosti vina u odabranim uzorcima koji su dostupni u marketima na području grada Niša određen je sadržaj gvožđa, cinka i bakra. Dobijeni rezultati prezentovani su u sledećoj tabeli.

Tabela 67. Sadržaj gvožđa, cinka i bakra u odabranim uzorcima vina

Uzorak	Fe mg/l	Zn mg/l	Cu mg/l
Vranac (2001)	6,40±0,19	0,48±0,03	0,40±0,008
Rubnova ružica (2002)	5,84±0,17	0,65±0,04	0,39±0,007
Cabernet souviognon (2001)	2,93±0,09	0,67±0,04	0,11±0,002
As (2003)	36,20±1,08	0,57±0,03	0,14±0,003
Merlot (2005)	6,62±0,19	0,62±0,04	0,57±0,011
Car Lazar (2001)	4,69±0,14	0,61±0,04	0,12±0,002
Medveđa krv (2006)	3,17±0,09	0,54±0,03	0,10±0,001
Pinot Noir (2006)	4,62±0,14	0,55±0,03	0,17±0,003
Kratošija (2003)	9,78±0,29	0,55±0,03	0,12±0,002
Međaš crni (2004)	5,03±0,15	0,57±0,03	0,10±0,001
Župski rizling (2006)	5,37±0,16	0,38±0,02	0,07±0,001
Međaš beli (2001)	6,82±0,20	0,52±0,03	0,08±0,001
Vranac – Rubin (2004)	3,69±0,11	0,49±0,03	0,16±0,003
Navipovo crno Rojal (2001)	4,17±0,12	0,21±0,01	0,19±0,004
Rubinovo crno (2003)	3,53±0,10	0,57±0,03	0,22±0,004
Graševina (2005)	4,75±0,14	0,47±0,03	0,07±0,001
Pinot Noir (2001)	4,22±0,13	0,35±0,02	0,44±0,009
Terra Lazarica (2006)	6,60±0,19	0,64±0,04	0,32±0,006
Jagodinska ružica (2004)	5,51±0,16	0,31±0,02	0,26±0,005
Rose (2002)	11,21±0,34	0,49±0,03	0,26±0,005

Poređenjem sadržaja detektovanih esencijalnih elemenata (Fe, Zn i Cu) u uzorcima vina može se videti da je najveći sadržaj za Fe. Vrednosti se kreću u opsegu od 2,93 mg/l do 36,2 mg/l. Količine ostalih metala su u sledećem opadajućem nizu Zn>Cu.

Dozvoljeni nivoi metala u vinu definisani su standardima. Ustanovljene dozvoljene vrednosti razlikuju se od zemlje do zemlje, iako postoje zajednički standardi koje je propisala



Međunarodna kancelarija za grožđe i vina (International Office for Grapes and Wines). (Zoecklein, 1994)

Pregled dozvoljenih granica za sadržaj metala u vinu u različitim zemljama, kao i onih koje je propisala Međunarodna kancelarija za grožđe i vina (Office International de la Vigne et du Vin, OIV) prikazane su u narednoj tabeli.

Tabela 68. Maksimalno dozvoljene koncentracije teških metala u vinu u različitim zemljama

Zemlja	Al (mg/l)	As (mg/l)	Cd (mg/l)	Cu (mg/l)	Na (mg/l)	Pb (mg/l)	Ti (mg/l)	Zn (mg/l)
Australija	-	0,10	0,05	5,00	-	0,20	-	5,00
Nemačka	8,00	0,10	0,01	5,00	-	0,30	1,00	5,00
Italija	-	-	-	10,00	-	0,30	-	5,00
OIV	-	0,20	0,01	1,00	60,00	0,20	-	5,00

Ustanovljeni sadržaji metala pokazuju nam da bi vina iz ovog dela sveta bi mogla da posluže kao dobar izvor u ishrani, sa aspekta teških metala.

Rezultati dobijeni ovim istraživanjem su vrlo poredivi sa literaturnim i pokazuju visok stepen slaganja. Sadržaj metala pokazuje da odabrani mikroelementi, Zn i Cu, u uzorcima vina iz različitih delova Srbije znatno manji od maksimalno dozvoljene koncentracije prema OIV-u. Pored toga, sadržaj ovih metala u posmatranim srpskim vinima je značajno niži nego kod nekih evropskih vina, ali sličan je vrednostima dobijenim kod nekih Slovenačkih (*Kristl i sar., 2003*) i Mađarskih vina (*Ajtony i sar., 2008*). U Slovenačkim vinima *Kristl* sa saradnicima je odredio koncentraciju Cu i Zn iznad 1 mg/l i 0,6 mg/l, respektivno. Rezultati prezentovani u ovom radu su komparabilni sa rezultatima vina u Sloveniji.

U nemačkim crnim vinima (*Wiese i Schwedt, 1997*), sadržaj bakra je pet puta veći od najveće koncentracije ovog elementa u srpskim i mađarskim vinima. Takođe, u odabranim austalijskim vinima (*Sauvage i sar., 2002*) sadržaj bakra je skoro četiri puta veći nego u našim vinima.

Neočekivano, sadržaj bakra u opsegu od 0,03 do 0,17 mg/l određen je kod ruskih i italijanskih vina (*Brainina, 2004*) što je znatno manje u odnosu na sva druga evropska vina. Sa druge strane, u ruskim i italijanskim vinima, sadržaj cinka je između 0,14 i 0,76 mg/l, što je u potpunosti u skladu sa vrednostima u vinima proizvedenim u drugim evropskim regijama. (*Brainina, 2004*)

Baldo sa saradnicima u italijanskom vinu je detektovao koncentraciju cinka u opsegu od 0,51 – 3,5 mg/l, što je znatno veće nego u našim vinima. Takođe, povećana koncentracija cinka je detektovana i u vinima sa područja Jordana (*Al Nasir i sar., 2001*), Kine (*Bin Du i sar., 2012*), Etiopije (*Woldemariam i Chandravanshi, 2011*) i Čilea (*Laurie i sar., 2010*)

Uzorci vina iz Jordana (*Al Nasir i sar., 2001*) pokazuju relativno visoke vrednosti metala, ali sve one su ispod toksičnog limita dozvoljenog u hrani (*Swiss Standard, 1993*). Ovo se može objasniti domaćim postupkom pripreme proizvodnje. Koncentracija metala u alkoholnim pićima može da varira u zavisnosti od biljnog porekla i tehnologije koja se koristi (home made ili official producer). Šta više, nedavno je dokumentovano da neka alkoholna pića koja su pripremljena u domaćoj produkciji (home made) sadrže prilično visoke koncentracije metala. (*Ibanez i sar., 2008*)

Sadržaj bakra dobijen ovim istraživanjem je sličan literaturnim vrednostima. Povećan sadržaj bakra su detektovali *Woldemariam i Chandravanshi* u uzorcima vina iz Etiopije (0,5-1,5 mg/l) i *Al Nasir* sa saradnicima u uzorcima vina iz Jordana (0,027-2,601 mg/l).

Mađarski nacionalni zakoni su u skladu sa preporukama OIV-a definisali da maksimalno dozvoljeni nivo za bakar u vinu i drugim prehrambenim proizvodima iznosi 1 mg/l. U njihovim vinima sadržaj bakra se kreće u opsegu od 0,02 do 0,64 mg/l. (*Ajtony i sar., 2008*)

Normalan opseg za bakar je u granicama od 0,1-0,3 mg/l. Veće koncentracije ovog metala igraju važnu ulogu u katalitičkoj oksidaciji fenola u vinu. Količine koje prelaze 1 mg/l se mogu čulno detektovati i konzumiranjem takvog vina u dužem vremenskom periodu može se javiti toksično dejstvo. Ukoliko koncentracija bakra premašuje 9 mg/l, on postaje metabolički toksin koji inhibira i odlaže alkoholnu fermentaciju. Pretpostavlja se da bakar u vino može dospeti na tri različita načina: iz različitih preparata za vinogradarstvo, iz opreme za skladištenje vina i dodavanjem soli bakra za korekciju hidrogen-sulfida u vinarskim operacijama.

Upotrebom fungicida koji sadrže bakar može se povećati koncentracija bakra. Takođe, upotrebom "bordovske čorbe" (bakar-sulfat i kreč) nedelju dana pre berbe može se koncentracija bakra u vinu dostruko povećati. U vinima koja sadrže veću koncentraciju bakra ispoljava se nestabilnost stvaranjem crveno-braonkastog amorfnog taloga. Talog se stvara samo pod izuzetno jakim redukcionim uslovima u boci.

Koncentracija gvožđa u vinima analiziranim ovim istraživanjem pokazuje povećanu vrednost u odnosu na literaturne podatke.

Koncentracija metala u vinima zavisi od sadržaja metala u zemljištu vinograda, koji se stepenom usvajanja prenose u grožđe. Pored toga, antropogeni uticaj igra važnu ulogu u određivanju sadržaja metal u vinima. Naime, kako je prethodno i pomenuto, vina dobijena u domaćoj proizvodnji (home made) pokazuju veći sadržaj metala, najverovatnije zbog kontaminacije tokom procesa pravljenja vina i/ili postupka mešanja, skladištenja, kao i korišćenih aditiva.

Vredi naglasiti da su dozvoljene granice za sadržaj metala u alkoholnim pićima više nego one koje su predviđene za vodu. (*Ibanez i sar., 2008*) Ovo je verovatno povezano sa predviđenim niskim unosom alkoholnog pića.

Varijacija razmatranih nivoa koncentracije metala u ovom istraživanju, kao i u onim koje su sproveli drugi autori, sugeriše na neophodnost za uspostavljanje zajedničkih granica.

Tabela 69. prikazuje približan dnevni unos metala iz analiziranih vrsta vina. Vrednosti su izračunate na osnovu srednje vrednosti metala u vinu, uz pretpostavku da je dnevna potrošnja vina 250 ml (jedna čaša), telesna težina 70 kg, prosečan životni vek 70 godina, učestalost ekspozicije 365 dana, a trajanje ekspozicije ne kancerogena 30 godina.

Tabela 69. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) iz analiziranih uzoraka vina

Metal	Srednja vrednost koncentracije uzoraka vina (mg/l)	Dnevni unos iz uzoraka vina (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>d</sub> (mg/day)	THQ	Lit.
Zn	0,512	0,128	6,8-9,4	0,0013	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
Fe	7,058	1,764	6,0-8,1	0,0026	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
Cu	0,215	0,054	0,7	9,342 10 <sup>-4</sup>	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>

Interpretacija indeksa zdravstvenog rizika (THQ) je binarna: THQ je  $\geq 1$  ili  $< 1$ . Ukoliko je THQ  $> 1$  to nam ukazuje na razlog za zdravstveni problem. (*Hague i sar., 2008*) Mora se napomenuti da THQ nije mera rizika (*Tannenbaum i sar., 2003*), ali ukazuje na stepen zabrinutosti.

Za analizirane uzorke vina može se primetiti da THQ opada u nizu Zn(0,216)>Fe(0,038)>Cu(0,013), pa se samim tim može zaključiti i da su vina bezbedna za upotrebu.

Povezanost toksičnih efekata sa metalima se još uvek istražuje, naročito za niske koncentracije i vreme izlaganja. Takođe, za mnoge metale gornje sigurnosne granice još uvek nisu definisane, pa i to utiče da nemogućnost procene THQ.

U crvenom vinu, mali procenat metala je vezan u obliku jedinjenja sa velikom molekulskom masom, i verovatno su vezani, ili inkapsulirani, u makromolekule kao što su proteini. Tako da za detaljniju analizu o doprinosu metala na povećanu vrednost THQ, naročito u crvenom vinu, moraju se uzeti u obzir i individualne razlike, kao što su genetika, okruženje ili koekspozicija. (*Hague i sar., 2008*)

Takođe, istraživanja ovog tipa mogu dovesti u pitanje i popularno verovanje o zdravstvenim svojstvima crnog vina, naročito kada su koncentracije teških metala povećane. Od davnina se veruje da nas svakodnevnom konzumacijom crno vino štiti od srčanog udara, što je u vezi sa nivoima antioksidanasa. Međutim, povećani nivoi metalnih jona mogu biti prooksidansi što dovodi do velikog znaka pitanja u pogledu zaštitne prednosti crnog vina. (*Naughton i Petroczi, 2008*)

Tabela 70. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u uzorcima vina izražen u mg/l

Region	Mikroelementi							Lit.
	Fe	Zn	Cu	Ni	Mn	Cd	Pb	
Meksiko	0,00-23,7	0,00-8,9	0,00-7,62	0,073-19,4	0,00-5,5	0,00-0,052	0,00-1,125	<i>Ibanez i sar., 2008</i>
Slovenija		0,13-1,03	0,06-0,30		0,6-1,78	0,0008-0,0010	0,0164-0,0378	<i>Kristl i sar., 2003</i>
Mađarska			0,02-0,640			0,0005-0,0165	0,006-0,090	<i>Ajtony i sar., 2008</i>
Nemačka			0,17-1,70					<i>Wiese and Schwedt, 1997</i>
Italija		0,36-0,732	0,063-0,521			0,00025-0,019	0,017-0,062	<i>Brainina i sar., 2004</i>
Moldavija		0,138-0,762	0,025-0,185			0,0001-0,00126	0,015-0,060	
Rusija		0,497-0,545	0,046-0,051			0,000160,00019	0,000024-0,000028	
Makedonija				9-40		0,1-6	50-250	<i>Stafilov i sar., 2008</i>
Bugarska				8-40		0,07-0,4	20-90	
Mađarska			0,0203-0,427			0,00005-0,0165	0,006-0,0905	<i>Ajtony i sar., 2008</i>
Italija			0,101-0,855				0,0272-0,129	<i>Baldo i sar., 1997</i>
Jordan		0,112-3,029	0,027-2,601	0,010-0,205			0,00-0,108	<i>Al Nasir i sar., 2001</i>
Italija	1-5	0,5-3,5	0,01-1	0,03-0,05	1-6	0,0001-0,001	0,01-0,3	<i>Acetoy i sar., 2002</i>
Kina	Nd-1,59	0,05-12,36	Nd-0,37	0,07-0,54	1,21-5,12	Nd	Nd	<i>Bin Du i sar., 2012</i>
Etiopija	1,42-3,16	1,82-2,70	0,5-1,5	0,18-0,20	1,04-1,88	Nd	0,14-0,31	<i>Woldemariam and Chandravanshi, 2011</i>
Rumunija	1,24-4,06		0,08-0,34					<i>Ketney i sar., 2013</i>
Brazil			0,056-0,764					<i>Schiavo i sar., 2008</i>
Mađarska			0,031-0,313					<i>Ajtony i sar., 2008</i>
Grčka			0,2-0,6					<i>Galani-Nikolakaki i sar., 2002</i>
Italija			0,347-0,487					<i>Buldini i sar., 1999</i>
Čile	0,036-8,12	0,21-1,63						<i>Laurie i sar., 2010</i>
Turska	0,31-5,79	80,74-5241,95	47,55-525,26	45,29-3605,65	32,89-1901,07	1,96-11,5	1,60-25,92	<i>Mert Alkis i sar., 2014</i>

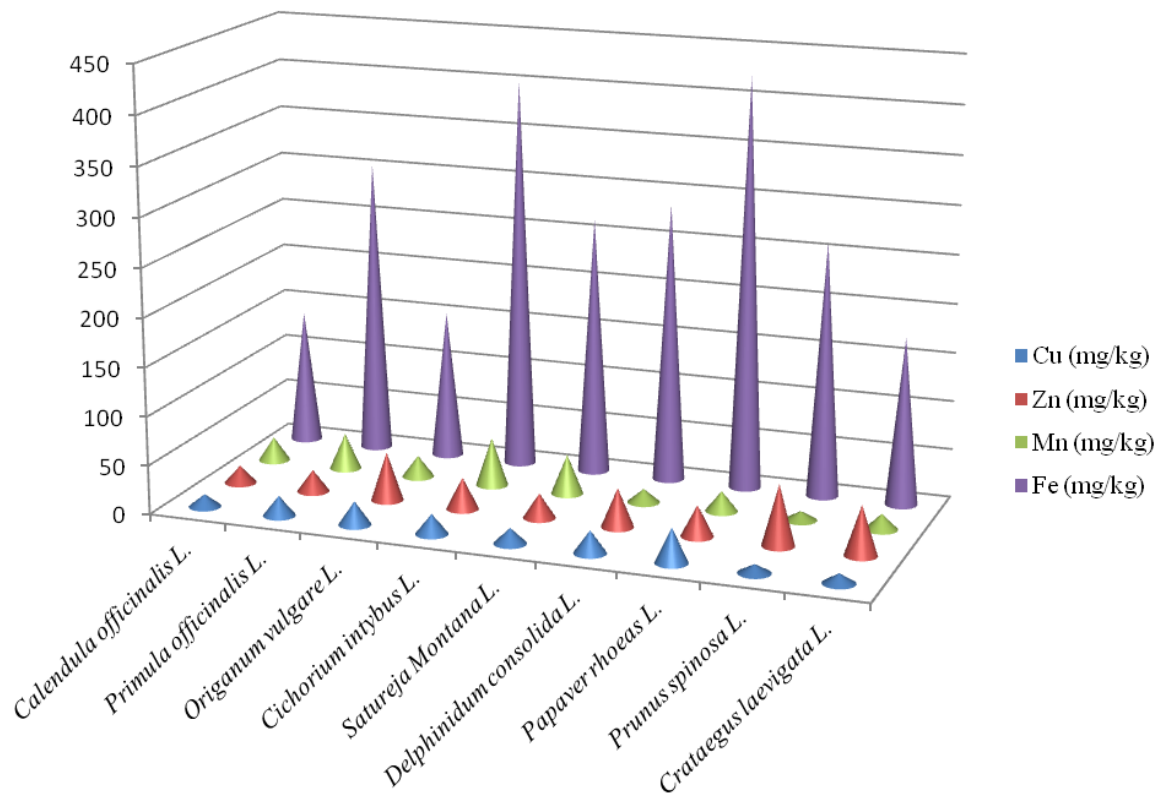
#### 4.5. Sadržaj metala u različitim vrstama lekovitog bilja

U ovom delu Srbije čajevi se koriste kao tradicionalni lek za ublažavanje simptoma mnogih bolesti. Iz tog razloga urađena je analiza sadržaja teških metala onog lekovitog bilja koje se najčešće i koristi. Sadržaj ispitivanih metala (izražen kao mg metala po kg uzorka) određen je kao srednja vrednosti tri merenja i sa pripadajućom proširenom mernom nesigurnošću. U Tabeli 71. prikazan je sadržaj metala u odabranom lekovitom bilju prilikom mineralizacije na 1000°C.

U Tabeli 71. Sadržaj metala u odabranom lekovitom bilju prilikom mineralizacije na 1000°C.

Biljka	Tradicionalni naziv	Engleski naziv	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)
<i>Calendula officinalis</i> L.	Neven	Marigold	137,53±2,75	18,15±0,36	12,82±0,26	24,38±0,48
<i>Primula officinalis</i> L.	Jagorčevina	Herb Peter	303,61±6,07	22,36±0,45	20,35±0,41	36,60±0,73
<i>Origanum vulgare</i> L.	Vranilovka	Wild marjoram	152,00±3,04	49,65±0,99	23,95±0,48	21,80±0,44
<i>Cichorium intybus</i> L.	Cikorija	Blue sailors	402,14±8,04	32,40±0,65	20,50±0,41	49,39±0,98
<i>Satureja Montana</i> L.	Rtanjski čaj	Winter savory	265,24±5,30	25,12±0,50	15,77±0,31	40,65±0,81
<i>Delphinidium consolida</i> L.	Zavornjak	Forking Larkspur	286,50±5,73	39,84±0,79	23,06±0,46	13,84±0,28
<i>Papaver rhoeas</i> L.	Bulka	Corn poppy	423,32±8,47	31,80±0,64	35,50±0,71	20,61±0,41
<i>Prunus spinosa</i> L.	Trnjina	Blackthorn	261,60±5,23	62,20±1,24	8,91±0,18	9,15±0,18
<i>Crataegus laevigata</i> L.	Glog	Hawthorn	172,16±3,44	50,80±1,02	9,97±0,19	16,02±0,30

Prilikom mineralizacije lekovitog bilja na 1000°C detektovani su sledeći metali: cink, gvožđe, mangan i bakar, dok su ostali teški metali bili ispod granice detekcije. Sadržaji određivanih teških metala se, na osnovu dobijenih rezultata, mogu rasporediti u sledeći opadajući niz Fe>Zn>Mn>Cu. U najvećoj koncentraciji javlja se gvožđe i varira u opsegu od 137,53 mg/kg do 423,32 mg/kg. Najniža koncentracija cinka je u biljci *Calendula officinalis* L. (18,15 mg/kg), a najveća u biljci *Prunus spinosa* L. (62,20 mg/kg). Bakar se kreće u granicama od 8,91mg/kg u biljci *Prunus spinosa* L. Do 35,50 mg/kg u biljci *Papaver rhoeas* L. *Prunus spinosa* L. takođe ima najmanji sadržaj mangana, 9,15 mg/kg. Dok je najveća koncentracija mangana od 49,39 mg/kg nađena kod *Cichorium intybus* L.



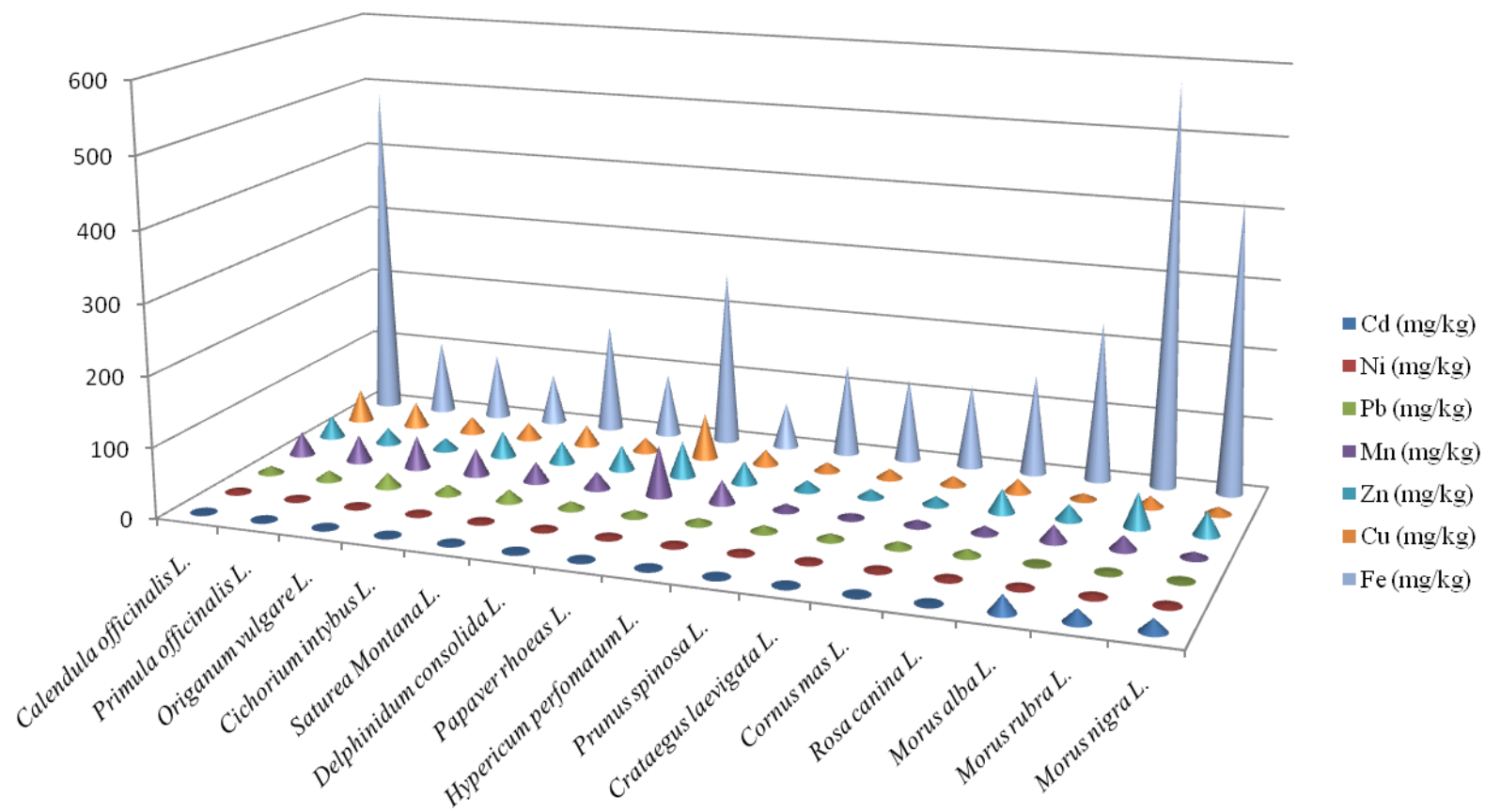
Histogram 4. Prosečna vrednost sadržaja teških metala (mg/kg) u uzorcima lekovitog bilja prilikom mineralizacije na 1000°C

Mineralizacija je vršena i na 450 °C, a rezultati su prezentovani u sledećoj tabeli.

U Tabeli 72. Sadržaj metala u odabranom lekovitom bilju prilikom mineralizacije na 450°C

Biljka	Tradicionalni naziv	Engleski naziv	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)
<i>Calendula officinalis</i> L.	Neven	Marigold	490,62±14,71	31,50±0,63	46,50±0,93	33,25±0,99	3,95±0,11	9,75±0,19	0,75±0,01
<i>Primula officinalis</i> L.	Jagorčevina	Herb Peter	105,30±3,16	22,90±0,45	35,70±0,71	38,20±1,15	2,58±0,07	13,51±0,27	0,68±0,01
<i>Origanum vulgare</i> L.	Vranilovka	Wild marjoram	93,69±2,90	17,10±0,34	23,09±0,46	46,61±1,40	1,97±0,06	20,07±0,40	0,62±0,01
<i>Cichorium intybus</i> L.	Cikorija	Blue sailors	72,35±2,17	36,89±0,74	23,59±0,47	37,80±1,13	2,55±0,07	13,45±0,28	0,23±0,004
<i>Satureja Montana</i> L.	Rtanjski čaj	Winter savory	156,75±4,70	31,00±0,62	28,75±0,57	28,30±0,85	2,46±0,07	16,55±0,33	1,75±0,03
<i>Delphinidum consolida</i> L.	Zavornjak	Forking Larkspur	90,24±2,71	34,98±0,70	19,86±0,40	24,55±0,74	3,07±0,09	10,30±0,21	0,69±0,01
<i>Papaver rhoeas</i> L.	Bulka	Corn poppy	254,13±7,62	50,86±1,01	65,40±1,31	72,96±2,19	3,12±0,09	8,66±0,17	1,06±0,02
<i>Hypericum perforatum</i> L.	Kantarion	St John's wort	65,25±1,96	32,25±0,64	21,75±0,43	33,25±0,99	3,02±0,09	7,75±0,15	0,75±0,01
<i>Prunus spinosa</i> L.	Trnjine	Blackthorn	130,75±3,92	14,50±0,29	13,00±0,26	9,52±0,28	3,20±0,09	8,75±0,17	0,75±0,01
<i>Crataegus laevigata</i> L.	Glog	Hawthorn	119,42±3,58	11,75±0,23	13,25±0,26	6,00±0,18	2,36±0,07	8,25±0,16	0,75±0,01
<i>Cornus mas</i> L.	Drenjina	Cornelian cherry	120,30±3,61	12,56±0,25	12,95±0,26	8,42±0,25	2,87±0,08	8,56±0,17	0,53±0,01
<i>Rosa canina</i> L.	Šipak	Dog rose	143,50±4,31	33,80±0,68	19,40±0,39	10,90±0,33	3,15±0,10	9,53±0,19	1,09±0,02
<i>Morus alba</i> L.	Beli dud	White mulberry	230,60±1,02	22,30±0,17	8,60±3,11	23,30±0,18	3,60±0,01	0,90±0,01	24,60±0,21
<i>Morus rubra</i> L.	Crveni dud	Red Mulberry	573,80±6,25	50,40±0,06	15,10±0,12	19,80±0,20	3,70±0,03	2,00±0,02	18,40±0,15
<i>Morus nigra</i> L.	Crni dud	Black mulberry	421,30±8,14	34,00±0,32	10,70±0,11	8,10±0,06	2,70±0,00	1,40±0,01	17,70±0,13





Histogram 5. Prosečna vrednost sadržaja teških metala (mg/kg) u uzorcima lekovitog bilja prilikom mineralizacije na 450°C

Prilikom mineralizacije odabranog lekovitog bilja na 450°C detektovani su pored gvožđa, cinka, bakra, mangana i nikla, olovo i kadmijum. Sadržaji određivanih teških metala se, na osnovu dobijenih rezultata, mogu rasporediti u sledeći opadajući niz Fe>Mn>Cu>Zn>Ni>Pb>Cd. Gvožđe se u najvećoj koncentraciji javlja kod biljke *Morus rubra L.* sa vrednošću od 573,8 mg/kg. U biljci *Hypericum perforatum L.* gvožđe ima najmanju vrednost i to 65,25 mg/kg. Poređenjem dobijenih vrednosti sa literaturnim pre svega se zapaža da se gvožđe javlja u najvećoj koncentraciji u odnosu na druge metale. Vrednosti variraju u zapisnosti od lokaliteta i u zavisnosti od toga da li je zagađeno ili nezagađeno područje. *Jena* sa saradnicima je na području Chhattisgarcentralne Indije detektovao deset puta veću koncentraciju gvožđa. (*Jena i sar., 2013*)

Rezultati prikazani u radovima *Lasheen-a* sa saradnicima, *Riffat-a* sa saradnicima, *Subramanian-a* sa saradnicima, *Diaconu-a* sa saradnicima i *Lasisi-a* sa saradnicima pokazuju veliki stepen slaganja u pogledu gvožđa. Najmanju koncentraciju gvožđa od 0,97-6,07mg/kg detektovali su u Kisii regionu u Keniji, *Moses* i saradnici u biljkama koje se koriste za tretman kod dijabetesa, malarije i pneumonije. (*Moses i sar., 2012*)

Visok sadržaj gvožđa može biti posledica folijarne apsorpcije iz vazduha. Gvožđe je važan element i kompleks Fe-protein igra vitalnu ulogu u svim živim organizmima (*Kulhari, 2013*), kao osnovna komponenta hemoglobina i olakšava oksidaciju ugljenih hidrata i masti, pri čemu kontroliše telesnu težinu koja je važan faktor u dijabetesu (*Khan i sar., 2008*).

Obzirom da zelene biljke primenjuju gvožđe za proces transformacije energije, tako da biljke koje rastu u zemljištu sa malo gvožđa mogu imati problem rasta (*Lenntech, 2012*). Međutim, predoziranje gvožđem je vodeći uzrok smrti od tokikoloških agenasa kod dece mlađe od 6 godina. Znaci gastro-intestinalne toksičnosti se prikazuju nakon uzimanja više od 20 mg/kg gvožđa organizmima (*Kulhari i sar., 2013*).

Koncentracija cinka u ispitivanom lekovitom bilju je u opsegu od 11,75 do 50,86 mg/kg. Najveći sadržaj cinka detektovan je kod bulke (*Papaver rhoeas L.*). Na osnovu literaturnih podataka možemo primetiti da koncentracija cinka u lekoviom bilju dosta varira. Npr. u lekovitim biljkama u radovima *Reimann-a*, *Jung-a* i *Okunol-a*, koncentracija cinka je i do deset puta veća. To može biti posledica sposobnosti biljke da akumuliraju cink kako iz zemljišta, tako i preko upotrebljenih agrotehničkih mera koja sadrže jedinjenje ovog elementa.

Sve vrednosti ispod 50 mg/kg su po WHO su u dozvoljenim granicama za lekovito bilje. (*Niaz i sar., 2013*). Cink je važan dijeteski mineral za ljude i životinje, ali predoziranje može uticati negativno na njih. (*Lenntech, 2012*). To je suštinski element koji igra važnu

ulogu u ćelijskim procesima, uključujući normalan rast, razvoj mozga, formiranje kostiju, zarastanje rana itd. (Maobe, 2012).

Mučnina, povraćanje, dijareja, grčevi u stomaku i krvarenje su povezani sa predoziranje cinka. (WHO, 2005).

U svim ispivanim biljnim vrstama olovo i kadmijum se nalaze u najmanjim koncentracijama, što je i izuzetno dobro imajući u vidu njihovu toksičnost. Visoko toksičan metal kadmijum detektovan je u svim uzorcima, dosta ujednačen i kreće se u koncentraciji od 0,23 do 1,75 mg/kg. Jedini izuzeci u pogledu sadržaja kadmijuma jesu *Morus alba* L., *Morus rubra* L. i *Morus nigra* L. čije su vrednosti 24,6 mg/kg, 18,4 mg/kg i 17,7 mg/kg. Ovakva vrednost nam ukazuje na eventualno kontaminirano područje sa kojeg potiču uzorci duda ili na kontaminaciju samog uzorka prilikom analize. Radanović sa saradnicima je detektovao kadmijum u opsegu od 0,5-0,75 mg/kg što ukazuje na veliki stepen slaganja. (Radanović i sar., 2007) Poređenjem i sa ostalim literaturnim podacima vidimo da je koncentracija kadmijuma u lekovitom bilju sa područja jugoistočne Srbije dosta ujednačena sa ispitivanim biljnim vrstama u radovima Reimann-a (Reimann i sar., 2007), Jung-a (Jung, 2008), Miclean-a (Miclean i sar., 2000), Subramanian-a (Subramanian i sar., 2012), Sarpong-a (Sarpong i sar., 2012), Baranowska (Baranowska i sar, 2002) i Niaz-a (Niaz i sar., 2013). Okunola sa saradnicima je detektovao skoro deset puta veću koncentraciju što može biti posledica lokaliteta na kome su biljke uzgajivane. (Okunola i sar., 2007)

Toksičan metal olovo je takođe detektovan u svim ispitivanim uzorcima u opsegu od 0,9 do 20,07 mg/kg. Saraf sa saradnicima (Saraf i Samant, 2013), kao i Diac sa saradnicima (Diac i sar., 2011) u ispitivanom lekovitom bilju pronašli najmanju koncentraciju olova i ona varira od 0,00-0,342 mg/kg, tj. od 0,00255-0,01294 mg/kg. Veću koncentraciju olova u lekovitom bilju Okunola O.J. sa saradnicima detektovao je na prostoru Nigerije. Ashraf i saradnici su ustanovili da je na kontaminiranom tlu u Maleziji koncentracija deset puta veća u biljkama u odnosu na naše rezultate. (Ashraf i sar., 2011)

Kao što se može videti detektovana koncentracija olova i kadmijuma u ovom radu su veoma niske u odnosu na ostale određene elemente. Međutim, zbog sposobnosti ovih metala da se deponuju u kostima, jetri i bubrezima i samim tim oštećuju funkciju istih, neophodno je pratiti sadržaj ovih kontaminata.

Dozvoljena granica za olovo po WHO je ispod 10 mg/kg. Kontinuirana potrošnja đubriva, sagorevanje goriva i kanalizacioni mulj su jedni od glavnih razloga koji dovode do zagađenja olovom. (Kulhari i sar., 2013).

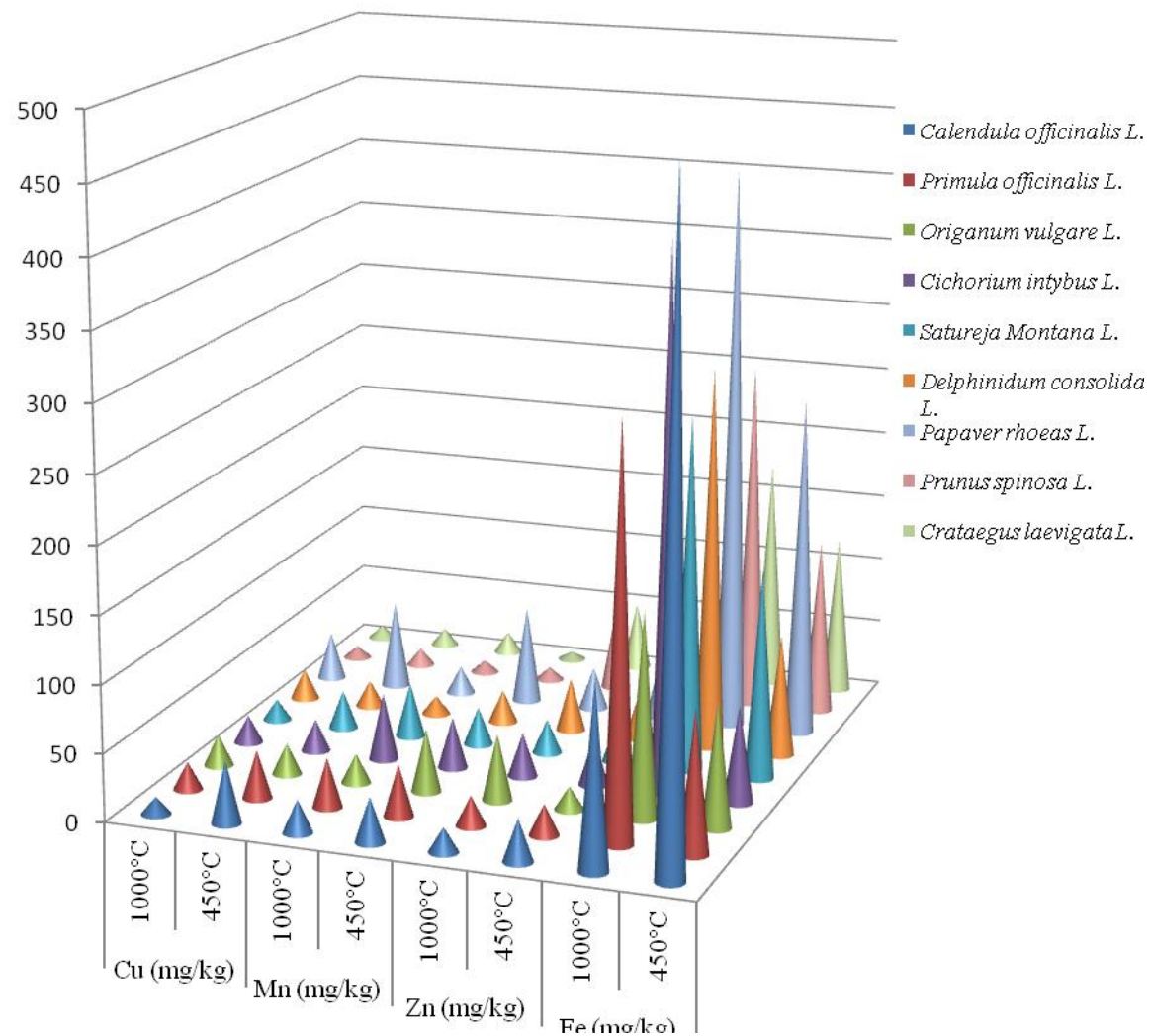
U SAD-u agencija za zaštitu životne sredine (EPA) je propisala da dozvoljena granica za sadržaj nikla u lekovitom bilju iznosi 1,5 mg/kg (*Niaz i sar., 2013*), dok je dozvoljeni nivo za jestive biljne vrste po FAO/WHO 1,63 ppm. (*Jabeen i sar., 2010*).

Nikl je dijetetski vrlo bitan za mnoge organizme, ali u velikim količinama može biti toksičan. (*Lenntech, 2012*). Može dovesti do pojave depresije, srčanog udara, krvarenja, deficijencije bubrega, niskog krvnog pritiska, problema sa kožom, mučnine (*Lokeshappa, 2012*), iako je u minornim količinama potreban pankreasu za proizvodnju insulina. (*Khan i sar., 2008*)

Sve ispitivane vrste lekovitog bilja uzimane su sa ruralnih lokacija. Tako da koncentracije detektovanih metala u biljakama ne potiču od industrijskog zagađenja, ili zagađenja sa deponija. Takođe, obzirom da su se uzimale samo samonikle biljne vrste i agrotehničke mere kao izvor zagađenja su isključene. Sve ovo nam ukazuje da su koncentracije detektovanih teških metala uglavnom rezultat antropogenog dejstva.

Poređenjem dobijenih rezultata prilikom mineralizacije na 1000°C i 450°C može se jasno uočiti uticaj temperature prilikom pripremanja uzoraka. Pre svega prilikom mineralizacije na 1000°C detektovani su samo Fe, Zn, Cu i Mn, ostale ispitivane metale je bilo nemoguće detektovani. Analizom istih tih uzoraka na 450°C detektovani su i sledeći metali: Ni, Pb i Cd.

Na sledećem histogramu prikazan je njihov odnos.



Histogram 6. Odnos prosečnih vrednosti sadržaja teških metala (mg/kg) u uzorcima lekovitog bilja prilikom mineralizacije na 1000°C i 450°

Tabela 73. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u uzorcima lekovitog bilja izražen u mg/kg

Poreklo	Mikroelementi								Lit.
	Fe	Zn	Cu	Ni	Mn	Cr	Cd	Pb	
Srbija		31-34	19-22	27-58	106-111	11,5-16,5	0,5-0,75	4,5-5,5	<i>Radanović i sar., 2007</i>
Srbija		3,0-3,8	1,2-2,7	0,9-1,1	48,5-63,9				
		6,9-10,7	9,2-11,3	1,4-1,7	178-197,3			5,1-9,4	
Srbija		9,9-13,2	0,0-3,9	1,1-1,3	9,1-17				<i>Peric-Grujic i sar., 2009</i>
		16,3-25	12,9-13,9	3,8-4,4	47,9-69,9			13,5-13,7	
Srbija		3,1-3,3	0,0-1,1	1,7-2,5	1,6-2,2				
		15,4-17,5	10,8-14,1	2,2-3,4	26,0-43,8			5,1-6,5	
Egipat (crni čaj)	77,48-302	60,7-90,65	11,78-32,42					0,03-0,76	<i>Lasheen i sar., 2008</i>
Egipat (zeleni čaj)	156,8	70,94	15,56					0,15	
Pakistan		17,3-135,3	3,4-416,9	0,5-46,6		2,1-184,3		1,0-43,0	<i>Riffat i sar., 2010</i>
Norveška	20-400	14,5-864	2,06-10,0	0,2-10,3	20-5591	0,7-1,5	0,02-1,47	0,02-7,2	<i>Reimann i sar., 2007</i>
Jugoistočna Koreja, rudarski kraj		22,5-256	8,95-26,4				0,24-1,88	0,41-4,23	<i>Jung, 2008</i>
Jugoistočna Koreja, kontrolni kraj		18-54,9	1,6-21,6				0,77-0,15	0,10-3,02	
Nigerija		27,78-185,19	1,67-3,89		20,0-110,0		4,88-14,93	0,00-32,37	<i>Okunola i sar., 2007</i>
Nigerija	39,8-78,3	27,19-39,6	6,33-9,6						<i>Olatunji, 2008</i>
Pakistan, zagađeno područje	11,75-67,3		1,15-2,19	0,20-0,35	1,38-3,68	0,08-0,21	Nd	2,86-8,05	<i>Hussain i Khan, 2010</i>
Pakistan, nezagađeno područje	11,01-27,9		0,87-1,34	0,04-0,26	0,55-2,80	0,05-0,1,	Nd	1,95-2,52	
Pakistan	5,64-19,74		0,24-0,40	0,00-0,17	1,46-6,27	0,01-0,10	0,00-0,06	0,04-0,46	<i>Khan i sar., 2007</i>
Jugozapadna Rumunija			2,64-19,55				0,09-4,21	0,26-3,24	<i>Miclean i sar., 2000</i>
Južna Indija			12,1-44,1	0,4-9,2		1,1-21,2	0,01-0,69	0,04-1,36	<i>Seenivasan i sar., 1998</i>
Rumunija, zagađeno područje					189-791	69-453			<i>Dobra, 2010</i>
Rumunija, zagađeno područje					19-395	98-111			
Pakistan	8,95-24,7	1,39-3,47	0,31-1,30	0,06-0,60	2,54-14,0	0,08-0,45	Nd	0,08-0,42	<i>Hussain i Khan, 2010</i>
Tunis		0,00-567 ppm	0,00-51,73	0,00-6,9			0,11-82		<i>Galfati i sar., 2011</i>
Indija	150,22-521,98	6,94-49,76	11,51-94,05		0,00-101,5		0,68-2,75	0,00-9,89	<i>Subramanian i sar., 2012</i>
Gana							0,00-2,075	0,00-12,96	<i>Sarpong i sar, 2012</i>
Rumunija		12,18-48,976	0,976-14,13	0,173-1,105		0,00-0,97	0,005-0,783	2,18-25,632	<i>Radulescu i sar., 2013</i>
Italija		14-289ppm	10-121		19-182	0,00-12		0,00-155	<i>Malizia, 2012</i>
Indija		0,05-0,34 ppm	22-172	10-29	0,051-0,12		0,2-8,7	0,00-207	<i>Inam i sar., 2012</i>
Poljska	6,0-20,0	15,0-50,0	5,0-15,0		5,0-320				<i>Sembratowicz i sar., 2009</i>
Poljska		10,34-285,2		0,74-4,63			0,05-1,42	4,12-73,56	<i>Baranowska i sar., 2002</i>

Tabela 73. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u uzorcima lekovitog bilja izražen u mg/kg - nastavak

Poreklo	Mikroelementi								Lit.
	Fe	Zn	Cu	Ni	Mn	Cr	Cd	Pb	
Portugal		0-473 µg/l	0,00-29				0,00-1,9	0,16	<i>Pinto i sar., 2011</i>
Rumunija	34,2- 333,22	63,84- 244,9	6,75- 90,96		15,34- 166,0	2,19- 29,84	0,00-1,98	0,00-17,3	<i>Diaconu i sar, 2012</i>
Indija	1072- 5689	32-190	10-61		11-1100	21-85		3-49	<i>Jena i sar, 2013</i>
Poljska		2,76- 48,77	0,38- 23,52				0,01-0,3	0,07-5,43	<i>Krejpcio i sar, 2007</i>
Mumbai	33,549- 194,658	0,99- 3,523	0,395- 1,423	0,107- 0,318	1,435- 3,607	0,178- 0,526	0,011- 0,017	0,00- 0,342	<i>Sarafi Samant, 2013</i>
Rumunija							0,0012- 0,0107	0,00255- 0,01294	<i>Diac i sar, 2011</i>
Zimbabve	1,41- 30,84	0,25-1,30	0,12- 0,39	0,01-0,14				0,23- 19,01	<i>Dzomba i sar, 2012</i>
Turska		5,97 - 23,88	2,12 -8,26	0,3-2,02	74,1 - 354,4	0,09 -0,61	0,01-0,06	0,28-1,28	<i>Pehlwan i sar, 2012</i>
Malezija		22,33- 810,12	18,91- 689,34					0,00- 745,13	<i>Ashraf i sar, 2011</i>
Nigerija	35,5- 208,1	2,25-47,5	0,15- 24,40		12,3-80,9			0,2-0,36	<i>Lasisi. i sar, 2005</i>
Južna Afrika	0,0001- 1,12 ppm	0,00- 0,325	0,124- 1,36	0,117- 0,454	0,536- 5,74			0,00- 0,153	<i>Mtunzi. i sar, 2012</i>
Irska		10,69- 1904,0	0,00-89,0					5,524- 830,28	<i>Steinborn i Breen, 1999</i>
Indija	11,03- 17,44	2,10-4,80		0,19-0,59	0,34-3,16	8,53- 13,19	0,00-0,21	0,21-0,81	<i>Kulhari i sar, 2013</i>
Pakistan	40,47- 101,87	10,11- 55,98	15,06- 34,52	1,02-10	29,11- 105,46	0,01-0,76	0,10-1,41	0,99- 15,46	<i>Rehman i sar, 2013</i>
Etiopija			4,54- 20,46	1,25- 11,25		0,11- 13,24			<i>Baye i Hymete, 2013</i>
Srbija			7,4-29,2	2,5-19,6	22,4-277	7,8-25,3		6,4-19,5	<i>Dreshaja i sar, 2013</i>
Pakistan	12,42- 30,1	13,70- 53,08	1,01-3,01	2,98-5,93		3,83-6,01	0,13-0,51	0,00- 18,01	<i>Iqbal i sar, 2013</i>
Pakistan	30,98- 48,76	8,55- 31,38	4,10- 15,55	0,81-9,15	5,78- 21,03	1,27-6,58	0,00-1,55	1,51-8,79	<i>Niaz i sar, 2013</i>
Kenija	0,97-6,07	0,74-1,83	0,31-1,44	0,59-1,16	3,25-17,3	0,567- 2,035	0,035- 0,21	0,15-0,41	<i>Moses i sar, 2012</i>
Pakistan	33,21- 206,69	17,34- 47,18	2,39-9,65	0,94-4,35	1,39- 52,94	0,27-5,89	Nd	Nd	<i>Khan i sar, 2008</i>
Indija		7,6-34,2	7,4-29,2	2,4-18,6	21,4-267			5,3-18,5	<i>Jena i Gupta, 2012</i>
Pakistan	12,01- 96,02	7,33- 32,14		0,45-5,32	13,1- 58,08	0,01-4,04	0,03-1,23	1,98- 17,47	<i>Rehman i sar, 2013</i>
Pakistan	129- 16373	0,00-502	0,00-293		4,3-2840				<i>Khatak i Khattak, 2011</i>
Pakistan				3,180- 3,641		3,4-4,651	0,025- 0,086	5,761- 6,696	<i>Khan i sar, 2013</i>
Indija	9,013- 9,54	4,27-7,13	2,17-3,69	0,37-1,36	64,48- 103,35	-	0,199- 0,29	Nd	<i>Chand i sar, 2011</i>
Tajland	20,91- 2321	10,13- 61,95	3,075- 22,42	0,368- 9,194	43,42- 1512	0,205- 12,42	0,001- 4,772	0,060- 64,4	<i>Nookabkaew i sar, 2006</i>
Nigerija	160,99- 269,07	0,41- 14,63					0,25-2,84	Nd-102,2	<i>Vaikosen i Alade, 2011</i>
Crna Gora		13,13- 66,62	9,25- 13,89				<0,001- 0,068	2,16- 10,42	<i>Blagojević i sar, 2009</i>

Tabela 73. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u uzorcima lekovitog bilja izražen u mg/kg - nastavak

Poreklo	Mikroelementi								Lit.
	Fe	Zn	Cu	Ni	Mn	Cr	Cd	Pb	
Nigerija	18,4-331	32,2-38,0	28,1-27,8		645-2300				<i>Ipeaiyeda i Dawodub, 2011</i>
Etiopija	319-467	20,2-21,6	9,1-11,5		1241-1297		Nd	Nd	<i>Gebretsadik i Chandravansh i, 2010</i>
Indija	124,7-139	9,1-15,06	7,2-10,47	0,87-2,36	111,4-143,8	0,18-0,59	0,3-0,52		<i>Marbaniang i sar, 2011</i>
Češka	103,0-523,0	30,0-82,8	9,0-65,1		511,0-2220				<i>Street i sar, 2006</i>
Saudiska Arabija	123,90-1755,6	26,69-56,78	9,04-40,66	2,46-8,90	60-900		0,01-0,37	0,03-14,84	<i>Al-Oud, 2003</i>
Indija				0,10-0,96		Nd-0,84	0,15-0,30	0,17-1,34	<i>Naithani i sar, 2010</i>
Srbija	25,92-1454,07	1,81-10,64	5,26-14,07		89,29-278,25				<i>Arsenijević i sar, 2011</i>
Turska	0,532-9,396	0,241-0,834		0,011-0,882	0,076-3,439			0,263-0,889	<i>Kula i sar, 2010</i>
Poljska	96,27-405,43	28,18-110,21	6,56-32,71		85,48-616,1			0,25-1,07	<i>Sembratowicz and Rusinek-Prystupa, 2014</i>



#### 4.6. Sadržaj metala u vodenim ekstraktima različitih vrsta lekovitog bilja

Lekovito bilje i njihovi napici i ekstrakti zaslužuju posebnu pažnju zbog značajnog uticaja na ljudsko zdravlje. Za većinu svetske populacije, lekovito bilje predstavlja primarni izvor zdravstvene zaštite. Prema podacima Svetske zdravstvene organizacije skoro 80% ljudi u marginalnim zajednicama koristi lekovito bilje i njihove napitke i ekstrakte za lečenje različitih bolesti. (*Pirzada i sar., 2009; Sahito i sar, 2003*).

Iako je delotvornost lekovitog bilja uglavnom povezana sa sastojcima kao što su eterična ulja, vitamini, glikozidi itd., utvrđeno je da produžen unos može da izazove zdravstvene probleme zbog mogućeg prisustva teških metala.

Pića i ekstrakti pripremljeni od lekovitog bilja u svetu se konzumiraju zbog njihovog prijatnog ukusa, mirisa i pretpostavljene fiziološke funkcije. Povećano interesovanje za konzumaciju biljnih pića može se povezati sa njihovom polifenolnom antioksidativnom aktivnošću u borbi protiv štetnog uticaja slobodnih radikala. (*Gebretsadik i Chandravanshi, 2012*)

Takođe, u njima se mogu naći i esencijalni i neesencijalni elementi koji su od suštinskog značaja, obzirom da su ljudskom telu u određenim koncentracijama i oni veoma bitni (Tabela 74). (*Lenntech, 2012*) Mnogi elementi igraju vitalnu ulogu u metaboličkim procesima, a u opštoj dobrobiti ljudi neki mogu biti i toksični. Bakar je od suštinskog značaja za održavanje metabolizma ljudskog tela, ali više koncentracije ovog metala mogu dovesti do trovanja i oštećenja bubrega i jetre. Takođe, u malim koncentracijama za proizvodnju crvenih krvnih zrnaca izuzetno je bitan nikel, ali u višim koncentracijama postaje blago otrovan i oštećuje srce i jetru. Kadmijum je povezan sa bubrežnom disfunkcijom, a može proizvesti i defekt kostiju (npr. osteoporoza). Pored bakra, hrom se isto može akumulirati u bubrezima i jetri i može proizvesti ozbiljna oštećenja nervnog tkiva. Visok nivo olova dovodi do biohemijskih promena kod čoveka, što zauzvrat izaziva probleme u sintezi hemoglobina, rada bubrega, gastrointestinalnog trakta, zglobova, reproduktivnih organa ili hroničnog oštećenja nervnog sistema.

Zahvaljujući važnosti metala prisutnim u biljkama, izvedene su mnoge studije kako bi se utvrdili dozvoljeni nivoi u biljkama i njihovim ekstraktima.

Najveći pregled sadržaja teških metala u čajevima dat je u pregledu Karaka. Prisustvo elemenata u tragovima u analiziranim uzorcima čajeva u ovom pregledu bio je ispod sigurnosne granice, ali je i dalje predstavljao značajan izvor mikroelemenata. (*Karak i Bhagat, 2010*)

Zbog svega prethodno pomenutog određivanje mikroelemenata u biljnim napicima je izuzetno bitno, kao što smo rekli zbog nutritivnih vrednosti i da bi se sprečili eventualni štetni efekti usled unosa teških metala. Sadržaj teških metala je jedan od vrlo bitnih kriterijuma da li će se od neke biljne vrste spravljati napitak ili neki drugi tradicionalni lek. Dakle, kontrola sadržaja teških metala u biljkama i biljnim napicima je neophodna. (*Basgel i sar.,2006; Nookabkaew, 2006*).

Tabela 74. Preporučene dnevne doze različitih minerala

<b>Mineral</b>	<b>Preporučeni dnevni unos</b>	<b>Prekoračena doza</b>
Bor	<20 mg	Nema informacija
Kalcijum	1000 mg	Doze veće od 1500 mg mogu dovesti do stomačnih problema kod osetljivih osoba
Hlor	3400 mg (u formi hlorida)	Nema informacija
Hrom	120 µg	Doze veće od 200 µg su toksične
Bakar	2 mg	Čak i male doze od 10 mg mogu imati toksičan efekat
Gvožđe	15 mg	Doze veće od 20 mg mogu izazvati stomačne tegobe, konstipaciju, tamnu stolicu
Magnezijum	350 mg	Doze veće od 400 mg mogu izazvati stomačne probleme i dijareju
Mangan	5 mg	Veće doze mangana mogu dovesti do poremećaja u apsorpciji gvožđa
Molibden	75 µg	Doze veće od 200 µg mogu izazvati probleme sa jetrom i nedostatkom bakra
Nikl	<1 mg	Produkti koji sadrže nikl mogu dovesti do pojave osipa i mogu uzrokovati alergije
Kalijum	3500 mg	Veće doze mogu dovesti do stomačnih problema, intestinalnih problema i promene srčanog ritma
Selen	35 µg	Doze veće od 200 µg mogu biti toksične
Natrijum	2400 mg	Nema informacija
Cink	15 mg	Doze veće od 25 mg mogu da prouzrokuju anemiju i nedostatak bakra

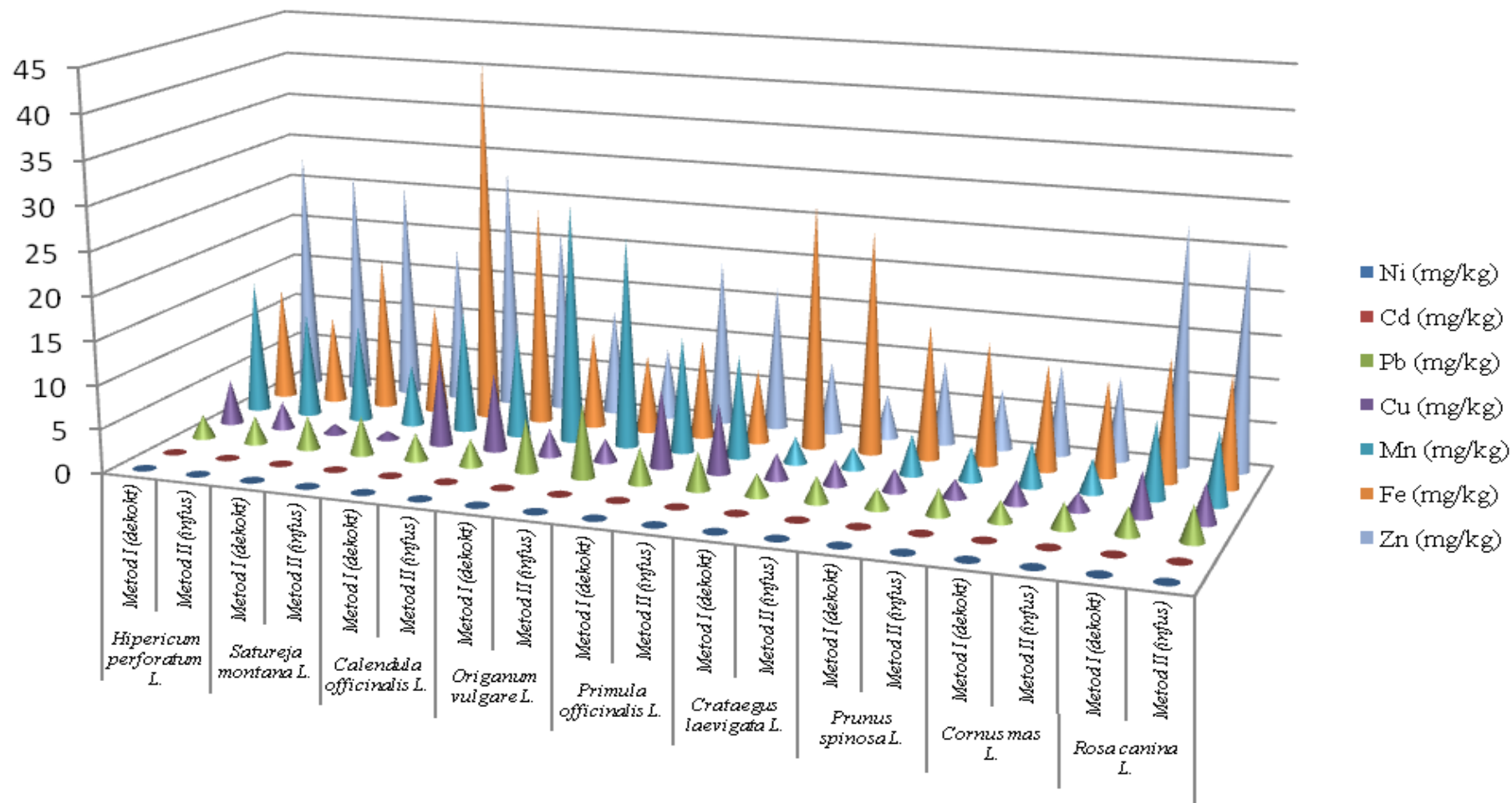
U tabeli 75. prezentovane su koncentracije metala u vodenim rastvorima (čajevima) odabranog lekovitog bilja, dobijene Metodom I (dekot) i Metodom II (infus).

Tabela 75. Koncentracija metala u vodenim rastvorima (čajevima) odabranog lekovitog bilja

Biljka	Tradicionalni naziv	Engleski naziv	Metod	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)
<i>Hipericum perforatum</i> L.	Kantarion	St John's wort	Metoda I *	13,00±0,4	28,00±0,6	5,10±0,1	15,20±0,5	-	2,60±0,2	-
			Metoda II **	10,10±0,3	26,20±0,5	3,10±0,1	12,00±0,4	-	3,10±0,1	-
<i>Satureja montana</i> L.	Rtanjski čaj	Winter savory	Metoda I	17,60±0,5	25,20±0,5	1,10±0,1	11,20±0,3	-	3,80±0,1	-
			Metoda II	12,40±0,4	18,10±0,4	0,90±0,1	7,10±0,2	-	4,40±0,1	-
<i>Calendula officinalis</i> L.	Neven	Marigold	Metoda I	42,00±1,3	28,00±0,6	10,10±0,2	14,00±0,4	-	3,10±0,1	-
			Metoda II	25,20±0,6	21,10±0,4	9,00±0,2	12,40±0,4	-	3,10±0,1	-
<i>Origanum vulgare</i> L.	Vranilovka	Wild marjoram	Metoda I	11,10±0,3	12,10±0,2	3,10±0,1	27,50±0,8	-	6,10±0,1	-
			Metoda II	8,90±0,3	8,00±0,12	2,60±0,1	24,10±0,7	-	8,40±0,2	-
<i>Primula officinalis</i> L.	Jagorčevina	Herb Peter	Metoda I	11,30±0,3	19,00±0,4	8,90±0,2	13,20±0,4	-	4,10±0,1	-
			Metoda II	8,40±0,3	16,60±0,4	8,00±0,2	11,70±0,3	-	4,30±0,1	-
<i>Crataegus laevigata</i> L.	Glog	Hawthorn	Metoda I	28,10±0,8	8,20±0,2	3,00±0,1	3,00±0,1	-	2,50±0,1	-
			Metoda II	25,60±0,8	5,04±0,1	2,90±0,1	2,50±0,1	-	3,00±0,1	-
<i>Prunus spinosa</i> L.	Trnjina	Blackthorn	Metoda I	15,40±0,5	9,50±0,2	2,60±0,1	4,60±0,1	-	2,30±0,1	-
			Metoda II	14,00±0,4	6,90±0,1	2,10±0,1	3,90±0,1	-	3,00±0,1	-
<i>Cornus mas</i> L.	Drenjina	Cornelian cherry	Metoda I	12,10±0,3	10,20±0,3	2,70±0,1	5,00±0,1	-	2,40±0,1	-
			Metoda II	10,90±0,3	9,60±0,3	2,00±0,1	3,90±0,1	-	2,90±0,1	-
<i>Rosa canina</i> L.	Šipak	Dog rose	Metoda I	14,10±0,4	27,60±0,8	5,10±0,2	8,80±0,2	-	3,20±0,1	-
			Metoda II	12,80±0,3	25,30±0,8	4,50±0,2	8,30±0,2	-	4,10±0,1	-

\*Metoda I (dekot)

\*\*Metoda II (infus)



Histogram 7. Prosečne vrednosti sadržaja teških metala (mg/kg) u uzorcima vodenih rastvora (čajevima) odabranog lekovitog bilja

Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih u Tabeli 75. može se primetiti da kadmijum i nikel nije bilo moguće detektovati, jer su koncentracije isuviše niske da bi bile detektovane AAS-om. Koncentracija olova je izuzetno niska i kreće se u granicama od 2,3 mg/kg do 8,4 mg/kg. Sa druge strane sadržaj esencijalnih elemenata (Fe, Zn, Mn i Cu) je relativno visok.

Koncentracija Fe u napitku pripremljenom po metodi I kreće se od 11,1 do 42,1 mg/kg, dok se po metodi II kreće od 8,95 do 25,6 mg/kg. Sadržaj cinka varira od 8,15 do 28,02 mg/kg kod metoda I, tj. od 5,05 do 26,15 kod metoda II. Mangan varira u opsegu od 3,0 do 27,5 mg/kg (metod I), tj. od 2,5 do 24,1 mg/kg.

Od detektovanih esencijalnih elemenata bakar je pronađen u najmanjoj koncentraciji. Pripremom napitka po metodi I bakar je detektovan u opsegu od 2,6 do 10,1 mg/kg. Dok je u uzorcima pripremljenim po metodi II u granicama od 2,0 do 9,0 mg/l.

Sadržaj metala u vodenim rastvorima pripremljenih po metodi I i II opada u sledećem nizu: Fe > Zn > Mn > Cu > Pb. Koncentracije metala u napicima pripremljenim po metodi I su neznatno veće. Jedino se olovo detektuje u većoj koncentraciji kod napitaka pripremljenim po metodi II.

Biljka *Cichorium intybus* L. je poznata u narodnoj medicini kao antidijabetik, jer sve biljke iz porodice Compositae imaju insulin kao rezervu hrane. Takođe, koristi se i za lečenje poremećaja kože, kao što je giht, zbog svoje antihepatoksične aktivnosti. (Ahmed i sar., 2003; Zafar i sar., 1998) *Calendula officinalis* L. ima antibakterijsko i baktericidno dejstvo, stoga se koristi za lečenje rana, psorijaze itd. (Slavkowska i sar., 2001) Cvet nevena je poznat po svojim anti-inflamatornim i anti-kancerogenim svojstvima. (Bilia i sar., 2002) *Origanum vulgare* L. ima antispasmodno, bronhodilatatorno i diuretičko dejstvo. (Ietswaart, 1980) *Delphinium consolida* L. se koristi za lečenje crevnih parazita, zadržavanje tečnosti, insomnije i kao sedativ. (Olsen i sar., 1990) *Crataegus leavigata* L. se koristi kod lečenja ateroskleroze, ublažava simptome angine pektoris i srčane aritmije, problema u menopauzi. (WHO, 2002) *Prunus spinosa* L. se primenjuje za lečenje kožnih problema, smiruje grčeve u stomaku itd. (Browics, 1972)

Ekstrakti jednogodišnje biljke *Papaver rhoeas* L. autohtone u mnogim regionima sveta, koriste se za lečenje širokog spektra bolesti, dijareje, poremećaje spavanja, kašalja itd. (Zargari, 1994)

### **Hemometrijska analiza biljnih uzoraka**

U prvom koraku statističke evaluacije, Kolmogorov-Smirnov test (nivo značajnosti  $\alpha$  je bio 0,05) preliminarno je bio korišćen za testiranje normalnosti distribucije koncentracije

svakog metala. Ovaj test je pokazao da originalni set podataka nije normalno raspodeljen za sve selektovane metale. Nasuprot tome, ln-transformisani podaci su bili normalno raspodeljeni za sve metale (uzorci sa koncentracijama jednakim nuli su izbačeni iz svih proučavanja-ln funkcija nije definisana za nulu). Stoga, sve analize podataka su izvedene koriscenjem ln-transformisanih podataka.

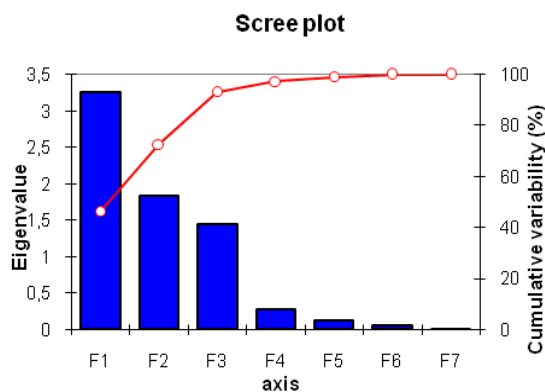
Da bi se uočile relacije između izabranih metala, dobijeni podaci iz eksperimenata su podvrgnuti PCA/FA. PCA redukuje matricu podataka transformišući podatke u ortogonalne komponente koje su linearna kombinacija originalnih promenljivih. Pre izvođenja PCA modelovanja, treba testirati matricu da bi se odredili podaci koji odstupaju dosta od ostalih vrednosti. Primena Grubb-ovog testa dalo je kao rezultat nepostojanje takvih podataka, osim u slučaju gvožđa. (*Grubbs, 1969*)

Vrednost koja odstupa je uklonjena iz PCA modelovanja. Kritična vrednost za  $\alpha=0.05$  i  $n=8$  je bila 2,127.

Pozitivna visoka korelacija je primećena između ln-transformisanih podataka Mn i Cu (0,860), i jaka negativna korelacija između ln-transformisanih podataka Pb i Ni (-0.743). (*Varol i sar., 2012; Shrestha i Kazama, 2007*)

Pre nastavka sa PCA, ispitana je pogodnost podataka za faktorsku analizu i pravednost njene implementacije. Kaiser-Meyer-Olkin mera adekvatnosti uzorkovanja, (KMO) vrednost indikatora je bila 0,200, što je ispod dozvoljene vrednosti od 0,6. (*Kaiser, 1960*)

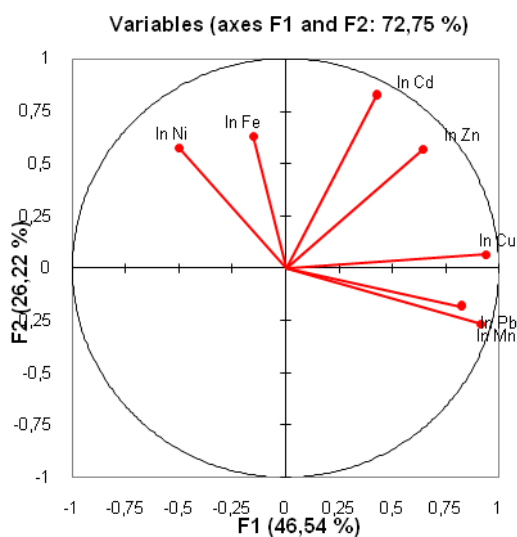
Bartlett-ov test sferičnosti dao je statističku značajnost  $p=0,002$  (trebalo bi  $p<0,50$ ), što označava pogodnost korelacione matrice za faktorsku analizu. Iz oblika scree grafika, prikazanog na Slici 37, može se uočiti broj važnih komponenti koje se mogu koristiti u daljim izračunavanjima. (*Bartlett, 1954*)



Slika 37. Scree grafik sopstvenih vrednosti glavnih komponenti.

PCA je otkrila prisustvo tri komponente sa karakterističnim vrednostima koje prelaze 1: F1 (3,258), F2 (1,835) i F3 (1,443), objašnjavajući 46,538 %, 26,216 % i 20,618 % varijabilnosti, redom. Bazirano na Catel-ovom kriterijumu, dve komponente će biti korišćene u daljem objašnjavanju varijanci. (Manly, 2005) Ovo dvokomponentno rešenje objašnjava ukupno 72,754% varijance, sa doprinosom prve komponente 46,538 i doprinosom druge komponente 26,216 %. Pošto dvokomponentno rešenje bazirano na Catel-ovom kriterijumu objašnjava 72,754% ukupne varijabilnosti, ovaj kriterijum je odbijen. Kaiser-ov kriterijum je prihvaćen, prema kome postoje tri glavne komponente koje objašnjavaju 93,372% ukupne varijabilnosti, zato što sve druge komponente imaju sopstvene vrednosti manje od 1. (Kaiser, 1960)

Korelacije i sličnosti između promenljivih mogu se videti na Slici 38, koja pokazuje grafik učitavanja prve dve komponente. Promenljive sa niskim učitavanjima nemaju značajan uticaj na strukturu podataka, dok elementi sa visokim učitavanjima imaju najveći uticaj na grupisanje i razdvajanje uzoraka iz biljaka. Visoka korelacija je primećena između ln-transformisanih podataka Pb i Mn.



Slika 38. Grafici učitavanja podataka u uzorcima biljaka

Jedan od glavnih ciljeva PCA je otkrivanje faktora koji su značajno povezani. Da bi se dobio bolji uvid u latentnu strukturu podataka, glavna ekstrahovana komponenta korelacione matrice je podvrgnuta rotaciji. Varimaks ortogonalna rotacija je primenjena, i rezultati posle rotacije su prikazani u Tabeli 76. Kao što se može videti, dva značajna faktora su ekstrahovana.

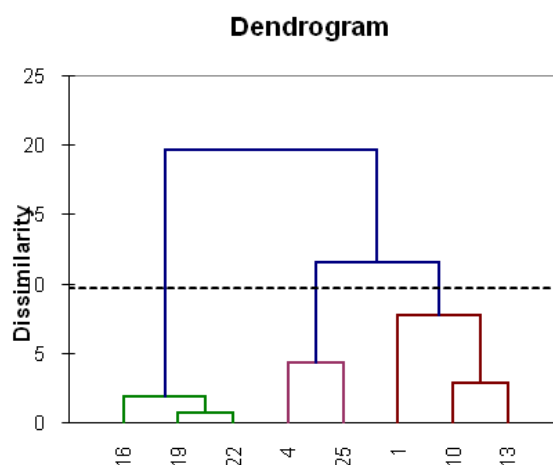
Tabela 76. Varimax rotirajući faktor učitavanja podataka za metale u uzorcima biljaka.

	D1	D2
ln Fe	-0,147	-0,978
ln Zn	0,179	0,676
ln Cu	0,796	0,581
ln Mn	0,735	0,677
ln Ni	-0,967	-0,035
ln Pb	0,984	0,099
ln Cd	0,221	-0,459

Prvi faktor objašnjava najveću proporciju varijabilnosti (46,538 %). Predstavnicima ovog faktora su olovo, mangan i bakar sa visokim vrednostima učitavanja, cink i kadmijum sa niskim vrednostima učitavanja. Izuzev nikla i gvožđa, svi metali imaju pozitivne vrednosti učitavanja u ovom faktoru. Ključne promenljive za drugi faktor su cink, bakar, i mangan. Ovaj faktor je odgovoran za 26,216 % ukupne varijance.

Očigledno je da neki metali, kao mangan i bakar imaju visoko prisustvo u više od jednog faktora, označavajući postojanje više od jednog značajnog izvora.

HCA standardizovanih promenljivih koja koristi Ward-ovu metodu kao pravilo amalgamisanja i kvadratno Euklidovo rastojanje kao meru bliskosti između uzoraka je izvršena. Dobijeni dendrogram koji predstavlja klastiranje analiziranih biljnih uzoraka je prikazan na Slici 39.



Slika 39. Dendrogram biljnih uzoraka klasterskom analizom baziran na Wardovoj povezanosti i Euklidovom rastojanju.

Dendrogram pokazuje da se ispitani uzorci mogu grupisati u tri glavna klastera. Klaster I je formiran od ispitivanih uzoraka: 1, 10 and 13; klaster II je formiran od uzoraka: 4, 25; klaster III je formiran od uzoraka: 16, 19, 22.



Na koncentraciju teških metala u vodenim rastvorima lekovitog bilja utiču mnogi faktori, kao što su npr.: organske materije koje sa teškim metalima grade helate, rastvorljivost mineralnih i organskih materija u vodi, sadržaj minerala, pH vrednost vode koja se koristi za pripremu rastvora itd. Kako bi se izbegao uticaj kvaliteta vode na koncentraciju teških metala u vodenim rastvorima korišćena je demineralizovana voda za njihovu pripremu.

Na osnovu svih ovih podataka izračunat je i koeficijent ekstrakcije (odnos između koncentracije metala u biljnom napitku i u samoj biljci). Kao što se može videti u narednoj tabeli koeficijenti ekstrakcije dosta variraju, od 3,27 do 88,86%.

Tabela 77. Koeficijenti ekstrakcije primenom metoda I i metoda II

Biljka	Tradicionalni naziv	Engleski naziv	Metod	Fe (%)	Zn (%)	Cu (%)	Mn (%)	Pb (%)
<i>Hipericum perforatum</i> L.	Kantarion	St John's wort	Metoda I	19,98	86,90	23,22	47,74	33,55
			Metoda II	15,51	81,05	14,34	36,12	40,13
<i>Satureja montana</i> L.	Rtanjski čaj	Winter savory	Metoda I	11,25	81,31	3,83	39,40	2302
			Metoda II	7,90 8,57	58,42	3,27	24,98	26,59
<i>Calendula officinalis</i> L.	Neven	Marigold	Metoda I	8,57	88,86	21,63	42,19	31,69
			Metoda II	5,14	66,86	19,39	37,29	31,79
<i>Origanum vulgare</i> L.	Vranilovka	Wild marjoram	Metoda I	11,43	70,70	13,43	59,00	30,54
			Metoda II	9,26	46,78	11,09	51,73	56,90
<i>Primula officinalis</i> L.	Jagorčevina	Herb Peter	Metoda I	10,73	82,97	24,93	34,56	30,35
			Metoda II	7,98	72,49	22,41	30,63	31,83
<i>Crataegus laevigata</i> L.	Glog	Hawthorn	Metoda I	23,53	69,36	22,64	50,17	33,94
			Metoda II	21,44	42,89	21,58	41,67	36,36
<i>Prunus spinosa</i> L.	Trnjina	Blackthorn	Metoda I	11,81	61,95	19,85	48,32	25,83
			Metoda II	10,68	47,38	15,69	40,97	34,17
<i>Cornus mas</i> L.	Drenjina	Cornelian cherry	Metoda I	10,06	81,21	20,85	59,38	28,04
			Metoda II	9,06	76,43	15,44	46,32	33,88
<i>Rosa canina</i> L.	Šipak	Dog rose	Metoda I	9,83	81,65	26,29	80,73	33,58
			Metoda II	8,91	74,85	23,19	76,16	43,02

Na osnovu dobijenih rezultata koeficijenta ekstrakcije, analizirani elementi se mogu vrstati u tri grupe:

- Elemente sa niskom koeficijentom ekstrakcije < 20% - Fe i Cu;

- Elemente sa srednjim koeficijentom ekstrakcije od 20 do 60% - Pb i Mn;
- Elemente sa visokim ekstrakcionim koeficijentom >60% - Zn.

Prezentovani podaci nam ukazuju na veliki prenos metala, i to više u biljnim napicima pripremljenim metodom I (olovo je jedini izuzetak u ovom slučaju). Dobijeni rezultati su u skladu sa onim dobijenim u radu Abou-Arab i saradnika. (*Abou-Arab, 2000*)

Potvrdu naših rezultata u pogledu procenta transfera metala u biljni napitak dobijamo i poređenjem sa rezultatima *Sembratowicz-a i Rusinek-Prystupa*. Procenat transfera Cu se kreće u opsegu od 9,69-24%, Zn 22,78-54,19%, Fe 4,7-11,20%, Mn 12,61-40, 51% i Pb 35,69-67,30%. (*Sembratowicz i Rusinek-Prystupa, 2014*)

Na veliki transfer Zn ukazuju nam i podaci prezentovani u radu Ipeaiyedaa i kreću se oko 78%. Slaganje se zapaža i kod transfera mangana (54%), dok vrednosti za gvožđe i bakar (57% i 67%) ukazuju na veći transfer u odnosu na naše rezultate.

Korelacionom analizom pomoću ANOVA dodatka izračunati su i korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u biljnom napitku i u samoj biljci (Tabele 78. i 79.), pri čemu su i oni dali potvrdu da postoji jača veza između metala u biljci i biljnom napitku dobijenom po metodi II. Mada su uopšteno koeficijenti korelacije (nezavisno od metode) izuzetno veliki što ukazuje na vezu između metala u biljci i biljnim napicima. Koeficijente korelacije za nikel i kadmijum nije bilo moguće odrediti obzirom da isti nisu detektovani u uzorcima biljnim napicima.

Tabela 78. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u biljci i biljnom napitku (dekot)

	Fe biljka	Fe dekokt	Zn biljka	Zn dekokt	Cu biljka	Cu dekokt	Mn biljka	Mn dekokt	Ni biljka	Ni dekokt	Pb biljka	Pb dekokt	Cd biljka	Cd dekokt
Fe biljka	1,0000													
Fe dekokt	0,8746	1,0000												
Zn biljka	0,3450	0,1625	1,0000											
Zn dekokt	0,3922	0,2105	0,9925	1,0000										
Cu biljka	0,7123	0,5083	0,5825	0,6215	1,0000									
Cu dekokt	0,5929	0,4411	0,4102	0,4731	0,7737	1,0000								
Mn biljka	0,1211	-0,0620	0,3658	0,3714	0,6728	0,4015	1,0000							
Mn dekokt	0,0224	-0,1601	0,2742	0,2583	0,4417	0,2110	0,9129	1,0000						
Ni biljka	0,7198	0,5529	0,4344	0,4813	0,3753	0,5573	-0,2008	-0,2950	1,0000					
Ni dekokt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
Pb biljka	-0,1260	-0,2743	0,0295	-0,0247	0,2899	-0,1711	0,6874	0,7377	-0,6279	-	1,0000			
Pb dekokt	-0,1063	-0,2612	0,0563	0,0121	0,3276	0,0329	0,7664	0,8669	-0,5732	-	0,9366	1,0000		
Cd biljka	0,0366	0,0217	0,5393	0,4779	0,1500	-0,3394	-0,0112	-0,0852	-0,0875	-	0,3003	0,0568	1,0000	
Cd dekokt	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000

Tabela 79. Korelacioni koeficijenti između koncentracije metala u biljci i biljnom napitku (infus)

	Fe biljka	Fe infus	Zn biljka	Zn infus	Cu biljka	Cu infus	Mn biljka	Mn infus	Ni biljka	Ni infus	Pb biljka	Pb infus	Cd biljka	Cd infus
Fe biljka	1,0000													
Fe infus	0,6561	1,0000												
Zn biljka	0,3450	-0,0705	1,0000											
Zn infus	0,2437	-0,1533	0,9543	1,0000										
Cu biljka	0,7123	0,1788	0,5825	0,4862	1,0000									
Cu infus	0,6295	0,2880	0,3497	0,3846	0,7821	1,0000								
Mn biljka	0,1211	-0,3484	0,3658	0,2885	0,6728	0,3577	1,0000							
Mn infus	0,0491	-0,3520	0,2331	0,1689	0,4359	0,2501	0,8817	1,0000						
Ni biljka	0,7198	0,4000	0,4344	0,4844	0,3753	0,5160	-0,2008	-0,2565	1,0000					
Ni infus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000				
Pb biljka	-0,1260	-0,4121	0,0295	-0,1545	0,2899	-0,1173	0,6874	0,6951	-0,6279	-	1,0000			
Pb infus	-0,2297	-0,4321	-0,0501	-0,1740	0,1041	-0,1181	0,6451	0,8383	-0,6291	-	0,8955	1,0000		
Cd biljka	0,0366	-0,0261	0,5393	0,3514	0,1500	-0,3025	-0,0112	-0,1873	-0,0875	-	0,3003	0,0101	1,0000	
Cd infus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0000

Sledeće tabele prikazuju približan dnevni unos metala iz čajeva analiziranih vrsta lekovitog bilja, kao i indeks zdravstvenog rizika (THQ). Vrednosti su izračunate na osnovu iz srednje vrednosti metala u čajevima, uz pretpostavku da je dnevna potrošnja čaja 500 ml (dve šolje), telesna težina 70 kg, prosečan životni vek 70 godina, učestalost ekspozicije 365 dana, a trajanje ekspozicije ne kancerogena 30 godina.

Tabela 80. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Hipericum perforatum* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Hipericum perforatum</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Hipericum perforatum</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>D</sub> (mg/day)	THQ ( <i>Hipericum perforatum</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	28,00	14,00	6,8-9,4	0,0181	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	26,20	13,1		0,0169	
<b>Mn</b>	Metoda I	15,20	7,60	0,5-5,0	0,0185	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	12,00	6,00		0,0146	
<b>Fe</b>	Metoda I	13,00	6,50	6,0-8,1	0,0098	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	10,10	5,05		0,0076	
<b>Pb</b>	Metoda I	2,60	1,30	0,25	0,0633	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	3,10	1,55		0,0754	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	5,10	2,55	0,7	0,0443	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	3,10	1,55		0,0269	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Tabela 81. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Satureja montana* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Hipericum perforatum</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Hipericum perforatum</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>D</sub> (mg/day)	THQ ( <i>Hipericum perforatum</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	25,20	12,60	6,8-9,4	0,0161	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	18,10	9,05		0,0117	
<b>Mn</b>	Metoda I	11,20	5,60	0,5-5,0	0,0136	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	7,10	3,55		0,0086	
<b>Fe</b>	Metoda I	17,60	8,80	6,0-8,1	0,0132	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	12,40	6,20		0,0093	
<b>Pb</b>	Metoda I	3,80	1,90	0,25	0,0925	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	4,40	2,20		0,1071	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	1,10	0,55	0,7	0,0096	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	0,90	0,45		0,0078	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Tabela 82. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Calendula officinalis* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Calendula officinalis</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Calendula officinalis</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>1</sub> D (mg/day)	THQ ( <i>Calendula officinalis</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	28,00	14,00	6,8-9,4	0,0181	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	21,10	10,55		0,0136	
<b>Mn</b>	Metoda I	14,00	7,00	0,5-5,0	0,0170	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	12,40	6,20		0,0151	
<b>Fe</b>	Metoda I	42,00	21,00	6,0-8,1	0,0315	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	25,20	12,60		0,0169	
<b>Pb</b>	Metoda I	3,10	1,55	0,25	0,0754	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	3,10	1,55		0,0754	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	10,1	5,05	0,7	0,0878	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	9,00	4,50		0,0782	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Tabela 83. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Origanum vulgare* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Origanum vulgare</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Origanum vulgare</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>1</sub> D (mg/day)	THQ ( <i>Origanum vulgare</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	12,10	6,05	6,8-9,4	0,0078	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	8,00	4,00		0,0052	
<b>Mn</b>	Metoda I	27,50	13,75	0,5-5,0	0,0335	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	24,10	12,05		0,0293	
<b>Fe</b>	Metoda I	11,10	5,55	6,0-8,1	0,0083	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	8,90	4,445		0,0067	
<b>Pb</b>	Metoda I	6,10	3,05	0,25	0,1484	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	8,40	4,20		0,2044	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	3,10	1,55	0,7	0,0269	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	2,60	1,30		0,0226	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Tabela 84. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Primula officinalis* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Primula officinalis</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Primula officinalis</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>FD</sub> (mg/day)	THQ ( <i>Primula officinalis</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	19,00	9,50	6,8-9,4	0,0123	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	16,60	8,30		0,0107	
<b>Mn</b>	Metoda I	13,20	6,60	0,5-5,0	0,0161	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	11,70	5,85		0,0142	
<b>Fe</b>	Metoda I	11,30	5,65	6,0-8,1	0,0085	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	8,40	4,20		0,0063	
<b>Pb</b>	Metoda I	4,10	2,05	0,25	0,0998	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	4,30	2,15		0,1046	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	8,90	4,45	0,7	0,0773	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	8,00	4,00		0,0695	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Tabela 85. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Crataegus laevigata* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Crataegus laevigata</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Crataegus laevigata</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>FD</sub> (mg/day)	THQ ( <i>Crataegus laevigata</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	8,20	4,10	6,8-9,4	0,0053	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	5,04	2,52		0,0033	
<b>Mn</b>	Metoda I	3,00	1,50	0,5-5,0	0,0036	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	2,50	1,25		0,0030	
<b>Fe</b>	Metoda I	28,10	14,05	6,0-8,1	0,0211	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	25,60	12,80		0,0192	
<b>Pb</b>	Metoda I	2,50	1,25	0,25	0,0608	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	3,00	1,50		0,0730	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	3,00	1,50	0,7	0,0261	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	2,90	1,45		0,0252	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Tabela 86. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Prunus spinosa* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Prunus spinosa</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Prunus spinosa</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>FD</sub> (mg/day)	THQ ( <i>Prunus spinosa</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	9,50	4,75	6,8-9,4	0,0062	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	6,90	3,45		0,0045	
<b>Mn</b>	Metoda I	4,60	2,30	0,5-5,0	0,0056	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	3,90	1,95		0,0047	
<b>Fe</b>	Metoda I	15,40	7,70	6,0-8,1	0,0116	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	14,00	7,00		0,0105	
<b>Pb</b>	Metoda I	2,30	1,15	0,25	0,0560	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	3,00	1,50		0,0730	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	2,60	1,30	0,7	0,0226	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	2,10	1,05		0,0182	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Tabela 87. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Cornus mas* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Cornus mas</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Cornus mas</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>FD</sub> (mg/day)	THQ ( <i>Cornus mas</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	10,20	5,10	6,8-9,4	0,0066	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	9,60	4,80		0,0062	
<b>Mn</b>	Metoda I	5,00	2,50	0,5-5,0	0,0061	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	3,90	1,95		0,0047	
<b>Fe</b>	Metoda I	12,10	6,05	6,0-8,1	0,0091	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	10,90	5,45		0,0082	
<b>Pb</b>	Metoda I	2,40	1,20	0,25	0,0584	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	2,90	1,45		0,0706	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	2,70	1,35	0,7	0,0235	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	2,00	1,00		0,0174	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Tabela 88. Procenjen dnevni unos metala (DIM) i indeks zdravstvenog rizika (THQ) u vodenim rastvorima (čajevima) biljke *Rosa canina* L.

Metal		Srednja vrednost koncentracije <i>Rosa canina</i> L. (mg/kg)	Dnevni unos iz <i>Rosa canina</i> L. (mg/l)	Referentna oralna doza R <sub>1</sub> D (mg/day)	THQ ( <i>Rosa canina</i> L.)	Lit.
<b>Zn</b>	Metoda I	27,60	13,80	6,8-9,4	0,0179	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	25,30	12,65		0,0164	
<b>Mn</b>	Metoda I	8,80	4,40	0,5-5,0	0,0107	<i>Jolly i sar., 2013</i>
	Metoda II	8,30	4,15		0,0101	
<b>Fe</b>	Metoda I	14,10	7,05	6,0-8,1	0,0106	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	12,80	6,40		0,0096	
<b>Pb</b>	Metoda I	3,20	1,60	0,25	0,0779	<i>WHO, 1993</i>
	Metoda II	4,10	2,05		0,0998	
<b>Ni</b>	Metoda I	0,00	-	1,40	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	
<b>Cu</b>	Metoda I	5,10	2,55	0,7	0,0443	<i>National Academy of Sciences, 2002</i>
	Metoda II	4,50	2,25		0,0391	
<b>Cd</b>	Metoda I	0,00	-	0,07	-	<i>U. S. EPA, 2010</i>
	Metoda II	0,00	-		-	

Interpretacijom indeksa zdravstvenog rizika (THQ) može se primetiti da THQ opada uglavnom u nizu Pb>Cu>Fe>Zn≥Mn, sa izuzetkom *Calnedule officinalis* L. gde THQ opada u nizu Cu>Pb>Fe>Zn≥Mn. Obzirom da su vrednosti THQ manje od 1, može se zaključiti da su ispitivani čajevi bezbedni za svakodnevnu konzumaciju u količini od dve šolje čaja, nezavisno od načina pripreme tokom trideset godina.

Na osnovu svih ovih podataka, može se izvući zaključak da postoje razlike u sadržaju teških metala u ispitivanim lekovitim biljkama i njihovim napicima, koje mogu biti posledica različitog kvaliteta zemljišta na kome biljke rastu imajući u vidu geografske udaljenosti između regiona, s jedne strane, i sa druge strane, sposobnost biljnih vrsti da same akumuliraju teške metale. Poznato je da neke biljke imaju izuzetnu sposobnost da akumuliraju teške metale i koriste se za bioremediaciona zemljišta.

Kada se uporede dobijene vrednosti sa vrednostima drugih autora sa aspekta metala u lekovitoj biljci zapažaju se manja slaganja, dok se veće slaganja zapažaju poređenjem ekstrakcionih koeficijenata.

Takođe, ukoliko se uporede dobijene vrednosti sa preporučenim dnevnim dozama (Tabela 7.) može se zaključiti da biljni čajevi nezavisno od načina pripreme predstavljaju dobar izvor esencijalnih elemenata. Međutim, njihova upotreba treba biti pod strogom kontrolom zbog mogućeg prisustva toksičnih elemenata, kao što su Pb i Cd.

Obzirom da se lekovito bilje pakuje u vrećice i sadrži 2g biljnog materijala, može se konstatovati da ne postoji opasnost od toksičnih elemenata koji potiču iz biljnog čaja.

Veliki broj autora iz različitih zemalja određuje sadržaj teških metala u različitim biljkama i njihovim ekstraktima. U sledećoj tabeli dat je literaturni pregled tih podataka.

Tabela 90. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u uzorcima vodenih rastvora (čajevima) odabranog lekovitog bilja izražen u mg/kg

Poreklo	Mikroelementi					Lit.
	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	
Tajland	2,22-29,77	1,37-29,77	12,2-14,3	4,79-370,85	-	<i>Nookabkaew i sar, 2006</i>
Turska	2,45-107,4	3,9-18,0	2,45-8,10	-	-	<i>Basgel i sar, 2006</i>
Egipat, infus	30,56-122,45	30,0-43,5	3,34-20,12	130,77-220,0	Nd-0,25	<i>Lasheen, i sar, 2008</i>
Egipat, dekoka	15,0-90,7	20,5-32,0	0,99-5,5	52,6-180,5	Nd-0,23	
Egipat	-	5,5-48,25	1,05-9,15	-	0,37-4,65	<i>Abou-Arab i sar, 2000</i>
Iran			1,15-1,65			<i>Karimi i sar, 2008</i>
Iran					Nd-0,11	<i>Zazouli i sar, 2010</i>
Indija infus	0,275-0,403	0,08-0,10	0,092-0,579	1,40-2,05	Nd	<i>Chand i sar, 2011</i>
Indija dekoka	0,068-0,085	0,098-0,523	0,007-0,04	0,106-0,424	Nd	
Iran	-	-	-	-	0,00-3,28	<i>Shekoohiyani i sar, 2012</i>
Nigerija	15,55-17,75	Nd			Nd- 24,75	<i>Vaikosen i Alade, 2011</i>
Crna Gora, infus	-	2,23-16,10	7,14-12,22	-	<0,06	<i>Memon, 2010</i>
Crna Gora, dekoka	-	1,58-11,56	6,57-9,25	-	<0,06	
Nigerija	0,02-9,4 mg/l	0,09-1,48	0,05-0,63	0,29-61 mg/l		<i>Ipeaiyedaa i Dawodub, 2011</i>
Etiopija	49-78	4,89-5,0	1,92-3,17	423-672	Nd	<i>Gebretsadik i Chandravanshi, 2010</i>
Indija	43,1-117,7	13,5-20,0	9,0-15,5	315-380		<i>Marbaniang i sar, 2011</i>
Kanada	0,019-62,5	0,0446-0,187	0,026-0,106	0,534-6,351	0,00078-0,00305	<i>Schwalfenberg i sar, 2013</i>
Češka	0,037-0,142	0,088-0,588	0,033-0,441	0,70-7,59		<i>Street i sar, 2006</i>
Saudijska Arabija, infus	19,0-185,0	1,95-30,35	0,33-18,98	3,40-339,60		<i>Al-Oud, 2003</i>
Saudijska Arabija, dekoka	13,2-103,0	5,47-25,22	Nd-6,95	2,81-361,8		
Iran			0,02-40 mg/l	0,1-250		<i>Karak i Bhagat, 2010</i>
Poljska	0,09-0,34	0,087-0,317	0,012-0,083	0,17-2,28	1,47-4,84	<i>Sembratowicz i Rusinek-Prystupa, 2014</i>
Rumunija	10,23-64,60	12,78-49,31	2,11-16,99	11,24-55,66		<i>Diaconu i sar, 2012</i>



#### 4.7. Sadržaj metala u lekovitim biljkama i njenim ekstraktima

Biljka *Malva silvestris* L. koja pronalazi svoje stanište u Evropi, severnoj Africi i južnoj Aziji preferira vlažna područja. (Davis, 1966) U Iranu je nazivaju "Panirak" i koristi se kao povrće i lekovita biljka. Koristi se kao lek za rane, kod ekcema, kožnih problema, bronhitisa, problema sa varenjem zapaljena. (Pirbalouti i sar., 2009) Rezultati Gurbuz-a ukazuju da antocijani iz *Malva silvestris* L. dovode do smanjenja ukupnog holesterola i triglicerida. Takođe, dokazano je da ekstrakti nekih Malva vrsta štite pacove od lezija izazvanih etanolom. Ova antiulcerogena (antičirna) aktivnost može biti povezana sa visokim sadržajem sluzi iz ove biljne vrste. (Gurbuz i sar., 2005)

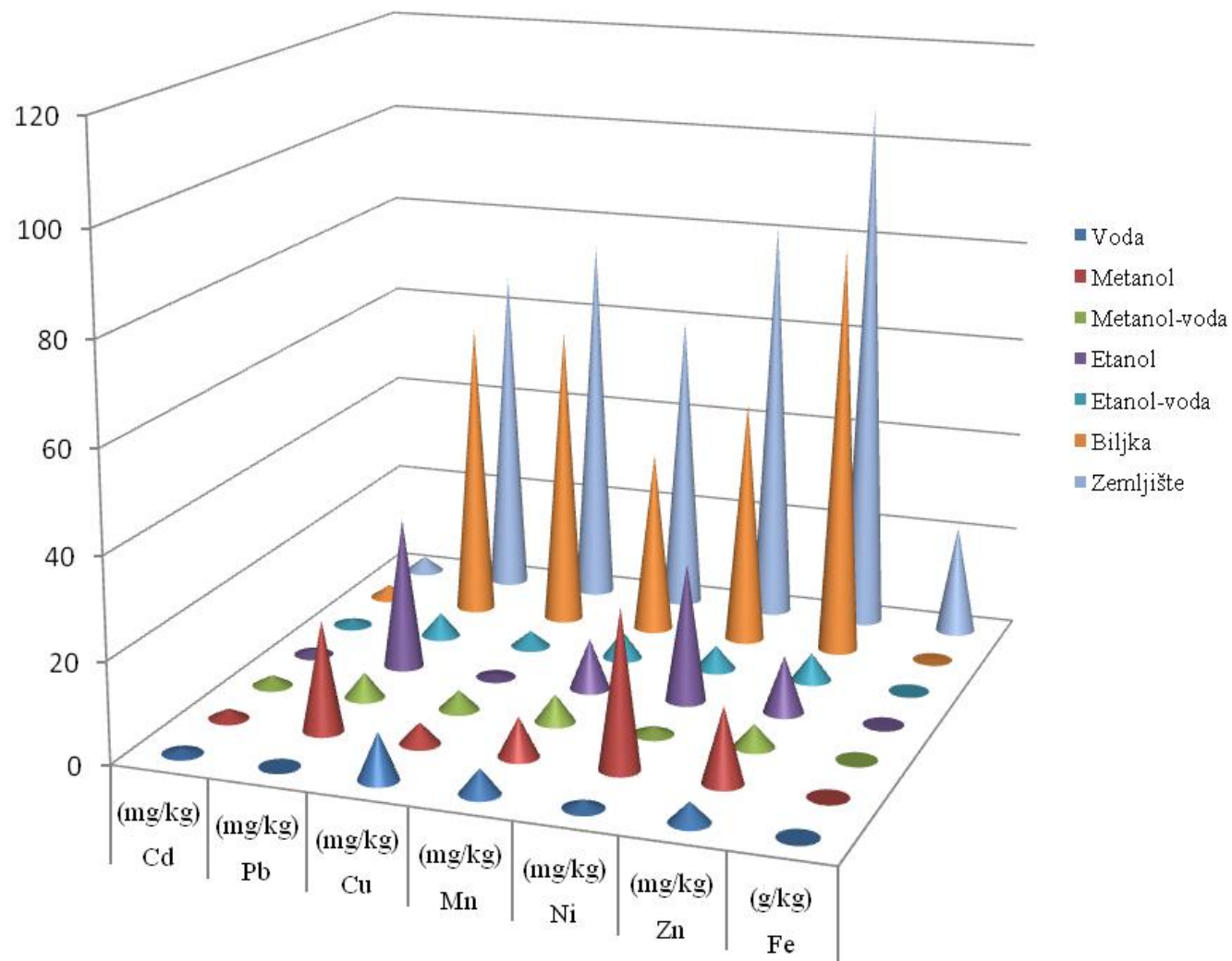
Rezultati Razavi-a pokazuju da metanolni ekstrakti cvetova i listova *Malva silvestris* L. vrste, imaju visoku baktericidnu aktivnost, jaka antibakterijska dejstva protiv *Erwinia carotovora*, zatim protiv ljudskih patogenih bakterija kao što su *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis*. S druge strane, antifungalni test je pokazao da metanolni ekstrakti imaju i antigljivičnu aktivnost, inhibiraju rast patogenih gljiva kao što su *Sclerotinia sclerotiorum*, *Candida kefyr* i *Candida Albicans*. (Razavi i sar., 2011)

Obzirom da *Malva silvestris* L. poseduje izuzetno važna svojstva za lečenje različitih infekcija, vrlo je bitna i njena ispravnost u pogledu sadržaja teških metala. Poznato je da teški metali negativno utiču na antibakterijsku aktivnost biljke. (Diaz-Ravina i Baath, 1996)

Zbog toga je vrlo bitno pratiti sadržaj metala u lekovitom bilju i njihovim proizvodima. U narednim tabelama predstavljeni su rezultati teških metala u zemljištu, biljci *Malva silvestris* L. i njenim vodenim, etanolnim i metanolnim ekstraktima kao i njihov odnos i stepen transfera. Odnosi među dobijenim podacima obrađeni su PCA analizom.

Tabela 91. Koncentracija metala u zemljištu, biljci (*Malva silvestris L.*) i njenim ekstraktima

Biljka	Tradicionalni naziv	Engleski naziv	Ekstrakt	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Ni (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)
Zemljište	/	Soil	/	21987,06±439	106,84±2,14	74,964±1,50	60,056±1,20	81,542±1,63	66,520±1,33	2,986±0,06
<i>Malva silvestris L.</i>	Crni slez	Common mallow	Biljka	194,20±3,88	82,628±1,64	60,85±1,22	36,974±0,74	49,225±0,98	59,896±1,20	2,5621±0,05
			Voda	10,661±0,21	3,943±0,08	9,368±0,19	4,917±0,10	1,575±0,03	/	1,075±0,02
			Metanol	27,762±0,56	14,847±0,29	4,20±0,08	7,762±0,16	31,132±0,62	21,828±0,44	1,9651±0,03
			Metanol-voda	8,98±0,18	4,547±0,09	3,822±0,07	5,437±0,11	1,575±0,03	5,001±0,10	2,081±0,04
			Etanol	35,637±0,71	11,332±0,23	0,753±0,02	10,066±0,20	27,600±1,55	30,289±0,61	1,089±0,06
			Etanol-voda	11,504±0,23	5,419±0,11	3,189±0,06	5,437±0,11	4,622±0,09	4,722±0,09	1,326±0,03



Histogram 8. Koncentracija metala u zemljištu, biljci (*Malva silvestris L.*) i njenim ekstraktima

Sadržaji određivanih teških metala u uzorcima crnog sleza i zemljišta na kome je ispitivana biljka rasla se, na osnovu dobijenih rezultata, mogu rasporediti u sledeći opadajući niz Fe>Zn>Cu>Pb>Ni>Mn>Cd. Poređenjem dobijenih vrednosti sa literaturnim pre svega se zapaža da se gvožđe javlja u najvećoj koncentraciji u odnosu na druge metale. Vrednosti variraju u zavisnosti od lokaliteta i u zavisnosti od toga da li je zagađeno ili nezagađeno područje. Rezultati prikazani u radu Belabeda, ukazuju na značajno veće koncentracije metala od naših iz razloga što su ispitivani uzorci uzimani sa lokaliteta pored divlje deponije u Alžiru. (*Belabed i sar., 2014*)

Kao što je već pomenuto kadmijum i olovo su toksični metali. Kadmijum izaziva štetne posledice po zdravlje ljudi, a njegovo prisustvo u ljudskom okruženju se pripisuje antropogenim aktivnostima. U svim ispitivanim uzorcima olovo i kadmijum se nalaze u najmanjim koncentracijama, što je i izuzetno dobro imajući u vidu njihovu toksičnost. Kadmijum je detektovan u svim uzorcima, a vrednosti su dosta ujednačene i kreću se u koncentraciji od 1,075 do 2,5621 mg/kg. Rezultati Khana i saradnika u uzorcima u severnom Pakistanu pokazuju veliki stepen slaganja sa našim rezultatima. (*Khan i sar., 2010*)

Olovo se akumulira u skeletu, to je aneurotoksin i uzrokuje anomalije u ponašanju i utiče na mentalni razvoj. (*Salman i sar., 2011*) Dozvoljena granica za olovo u lekovitom bilju po WHO je ispod 10 mg/kg. (*Kulharil i sar., 2013*) Ovaj toksični metal je detektovan u svim ispitivanim uzorcima u opsegu od 4,722 do 59,896 mg/kg. Belabeda sa saradnicima (*Belabed i sar., 2014*), kao i Khan sa saradnicima (*Khan i sar., 2010*) su u uzorcima crnog sleza detekovali rezultate slične našim. Međutim, poređenjem ovih vrednosti sa dozvoljenim vrednostima propisanim od strane WHO, možemo zaključiti da ovo lekovito bilje nije bezbedno za upotrebu.

Jedan od razloga visoke koncentracije olova u našim uzorcima može biti sagorevanje goriva, kontinuirana potrošnja đubriva ili kanalizacioni mulj. (*Kulhari i sar., 2013*)

Radanović je na području planine Suvobor detektovao slične rezultate u pogledu sadržaja kadmijuma, dok su koncentracije ostalih metala znatno ispod naših. (*Radanović i sar., 2007*) U uzorcima lekovitog bilja sa područja Beograda (*Peric-Grujic i sar., 2009*) koncentracije ispitivanih metala su manje od naših vrednosti.

Vrednosti veće od naših, detektovane su na području Bielsko Biata u Poljskoj. (*Baranowska i sar., 2002*)

Metali kao što su Mn i Fe smatraju se esencijalnim elementima za normalne životne procese. (Salman i sar., 2011). Dnevni unos u količini od 2,5 do 5 mg mangana doprinosi dobrobiti ćelija. (Dara,2006) Poređenjem dobijenih vrednosti (4,917-36,974 mg/kg) sa dozvoljenim vrednostima koje su date u Tabelama 7,8,9,10 i 11 može se primetiti sa su one znatno iznad dozvoljenih. Visoke koncentracije mangana detektovali su i Arsenijević i saradnici na području Srbije (Arsenijević i sar., 2011), ali i Sembratowicz na području Poljske. (Sembratowicz i Rusinek-Prystupa, 2014)

Konzumacija crnog sleza u vidu čaja ili ekstrakata u ovom slučaju nije bezbedna i može dovesti do letargije, promena u tonusu i stavu mišića i sl., a u težim slučajevima i do kome. Preporučena dnevna doza u pogledu sadržaja gvožđa data od strane relevantnih svetskih organizacija: EVM (eng. *Expert Group on Vitamins and Minerals – EVM*, England) , FNB (*Food and Nutrition Board: Institute of Medicine – FNB*, USA), FAO(eng. *Food and Agriculture Organization*), WHO (*World Health Organization*) tabela 7., iznosi 10-15 mg. Obzirom da je u ispitivanim uzorcima čak i koncentracija ovog esencijalnog elementa u biljci iznad propisanih, korišćenje ovih uzoraka se ne može preporučiti. Vrednosti ispod 10 mg su detektovane u ekstraktima crnog sleza, pa se oni mogu smatrati bezbednim.

Agencija za zaštitu životne sredine (EPA) je propisala da dozvoljena granica za sadržaj nikla u lekovitom bilju iznosi 1,5 mg/kg. (Niaz i sar., 2013) Registrovane vrednosti nikla u uzorcima crnog sleza su znatno više, pa konzumacija istih može imati toksično dejstvo na čoveka. Belabed i saradnici su u uzorcima crnog sleza na području zapadnog Alžira takođe detektovali povišenu koncentraciju nikla, u količini od 41,6 mg/kg. (Belabed i sar., 2014)

Sve vrednosti cinka ispod 50 mg/kg su po WHO su u dozvoljenim granicama za lekovito bilje. (Niaz i sar., 2013), što je znatno ispod detektovane vrednosti od 82,628 mg/kg. Cink je isto kao i bakar esencijalni element za normalno funkcionisanje organizma, ali u većim količinama može dovesti do dehidracije organizma, letargije, anemije i nesvestice. Višak cinka u organizmu može uzrokovati nedostatak bakra. Ovo se može javiti ukoliko se dnevno unosi preko 25 mg cinka. Dugotrajno unošenje cinka u količinama od preko 150 mg dnevno dovodi do smanjene funkcije imunog sistema i smanjenog nivoa HDL holesterola koje dovodi do bolesti srca. Dijetetski unos bakra od 2-3 mg se preporučuje za odrasle ljude. (Salman i sar., 2011)

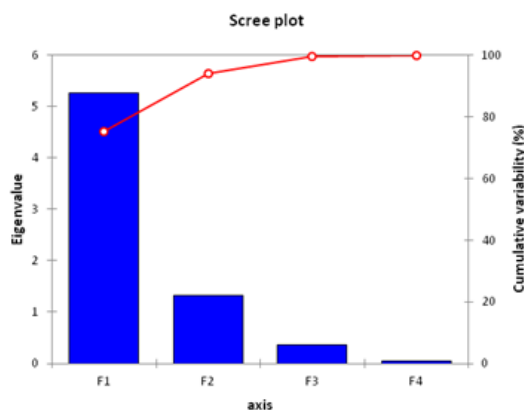
## Hemometrijska analiza

U prvom koraku statističke evaluacije, Kolmogorov-Smirnov test (nivo značajnosti  $\alpha$  je bio 0,05) je preliminarno korišćen za testiranje normalnosti raspodele koncentracije svakog metala. Ovaj test je pokazao da originalni set podataka nije normalno raspodeljen za sve izabrane metale. Nasuprot tome, ln-transformisani podaci su bili normalno raspodeljeni za sve metale (uzorci sa koncentracijama jednakim nuli su bili izbačeni iz svih istraživanja-ln funkcija nije definisana za nulu). Stoga, sve analize podataka su izvedene korišćenjem ln-transformisanih podataka.

Da bi se odredile relacije između izabranih metala, dobijeni podaci su podvrgnuti PCA/FA. PCA redukuje matricu podataka transformišući podatke u ortogonalne komponente koje su linearna kombinacija originalnih promenljivih. Pre PCA modelovanja, trebalo bi testirati matricu podataka da bi se otkrile vrednosti koje odstupaju. Primena Grubb-ovog testa dala je kao rezultat postojanje vrednosti koja odstupa kod gvožđa. (*Grubbs, 1969*) Kritična vrednost za  $\alpha=0,05$  i  $n=5$  je bila 1,715.

Pozitivne visoke korelacije su primećene između ln-transformisanih podataka Fe i Zn (0,986), Fe i Mn (0,982), Fe i Pb (0,935), Zn i Mn (0,972), Zn i Pb (0,900), kao i Ni i Pb (0,919). (*Varol, 2012; Shrestha i Kazama, 2007*)

Iz izgleda grafika, prikazanog na Slici 40, broj važnih komponenti koje će biti korišćene u daljim kalkulacijama se mogu uočiti.

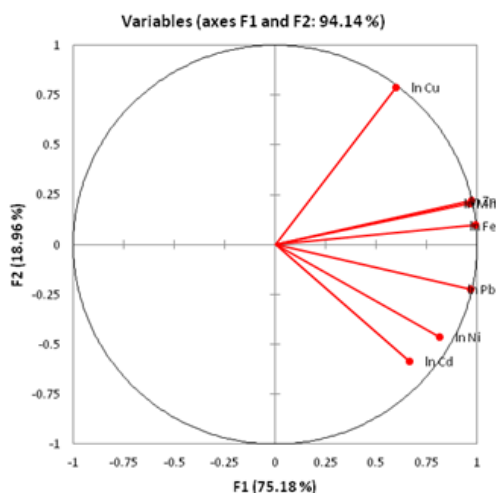


Slika 40. Grafik sopstvenih vrednosti glavnih komponenti.

PCA je pokazala prisustvo dve komponente sa karakterističnim vrednostima (5,262 i 1,327) koje prelaze 1, objašnjavajući 75,176 % i 18,961 % varijabilnosti. Bazirano na Catelovom kriterijumu, dve komponente ce biti korišćene za dalje objašnjavanje varijanci. (*Manly, 2005*) Ovo dvokomponentno rešenje objašnjava ukupno 94,137 % varijance, sa doprinosom prve komponente od 75,176% i doprinosom druge komponente od 18,961%. Pošto

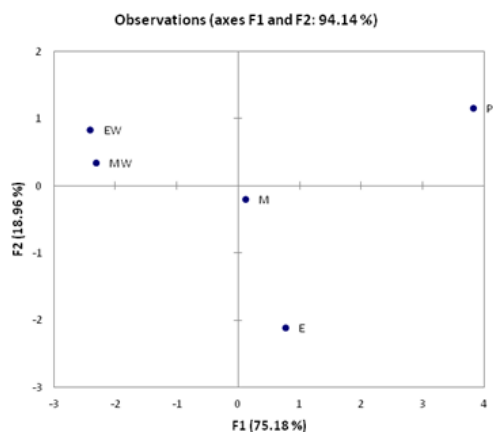
dvokomponentno rešenje bazirano na Catel-ovom kriterijumu objašnjava 94,137% ukupne varijabilnosti, ovaj kriterijum je prihvaćen.

Korelacije i sličnosti između varijabli se mogu videti na Slici 41, koja pokazuje grafik za prve dve komponente. Promenljive sa niskim učitavanjima nemaju značajniji uticaj na strukturu podataka, dok elementi sa visokim učitavanjima imaju najviše uticaja na grupisanje i odvajanje uzoraka iz biljaka. Visoke korelacije su uočene između ln-transformisanih podataka Zn i Mn, Zn i Fe, Fe i Pb, Mn i Fe, Zn i Pb, kao i Ni i Pb.



Slika 41. Grafik za prve dve komponente u uzorcima crnog sleza

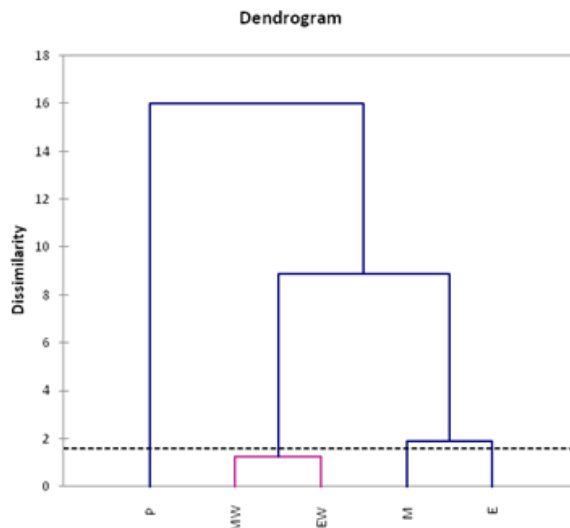
Obzervacioni grafici bazirani na sadržaju metala su predstavljeni na Slici 42.



Slika 42. Rezultantni grafik glavnih komponenti (F1 and F2) proučavanih biljnih uzoraka baziran na sadržaju izabranih metala (da bi se razumelo obeležavanje, možemo ga ilustrovati uzorkom **E**, koji je etanolni ekstrakt crnog sleza)

Sa Slike 42, uočava se visoki sadržaj gvožđa prisutan u uzorcima na desnoj strani grafika, i nizak na levoj strani grafika. Takođe, može se zaključiti da je visok sadržaj cinka prisutan u uzorcima u gornjem delu grafika i nizak na suprotnom kraju grafika.

HCA standardizovanih varijabli korišćenjem Ward-ove metode kao amalgamacionog pravila i kvadratnog Euklidovog rastojanja kao mere bliskosti između uzoraka je izvršeno. Dobijeni dendrogram koji predstavlja klasterovanje analiziranih biljnih uzoraka je prikazano na Slici 43.



Slika 43. Dendrogram biljnih uzoraka dobijen klusterskom analizom baziranom na Ward-ovoj povezanosti i Euklidovom rastojanju

Dendrogram pokazuje da svi ispitivani uzorci se mogu grupisati u četiri glavna klastera. Klaster I je formiran od ispitivanog uzorka P (biljka), klaster II je formiran od uzorka M (metanolni ekstrakt), klaster III je formiran od uzoraka MW (ekstrakt metanol-voda) i EW (ekstrakt etanol-voda), i klaster IV od uzorka E (etanolni ekstrakt).

Na osnovu dobijenih rezultata, izračunati su i koeficijenti ekstrakcije metala u analiziranim biljnim vrstama u zavisnosti od rastvarača. Ekstrakcioni koeficijenti su izračunati pomoću jednačine:

$$EC = 100 \frac{C_M(\text{extract})}{C_M(\text{plant})}$$

Rezultati su prikazani u tabeli 92.



Tabela 92. Ekstrakcioni koeficijenti, EC, teških metala u zavisnosti od vrste rastvarača

Biljka	Tradicionalni naziv	Engleski naziv	Ekstrakt	Koeficijent ekstrakcije teških metala (%)						
				Fe	Zn	Cu	Mn	Ni	Pb	Cd
<i>Malva silvestris</i> L.	Crni slez	Common mallow	Voda	5,49	4,77	15,41	13,3	3,20	/	41,96
			Metanol	14,29	17,97	6,90	20,99	63,24	36,45	76,76
			Metanol-voda	4,62	5,50	6,29	14,70	3,20	8,35	81,23
			Etanol	18,35	13,72	1,24	27,21	56,07	50,57	42,50
			Etanol-voda	5,92	6,58	5,24	14,70	9,39	7,88	51,75

Ekstrakcioni koeficijenti dobijeni ovim istraživanjem znatno variraju od 1,24-81,23%. Na osnovu ovog ispitivanja analizirani elementi se mogu svrstati u tri grupe: elementi sa niskim ekstrakcionim koeficijentom (manje od 10%); elemente sa srednjim ekstrakcionim koeficijentom (10-30%) i elemente sa visokim ekstrakcionim koeficijentom (više od 30%). Koeficijent ekstrakcije zavisi uglavnom od ekstrakcionog medijuma. Najniži prinos teških metala je kod vodenog ekstrakta, a najviši kod etanolnog i metanolnog. U vodenim ekstraktima nekih biljaka, neki metali su detektovani, a neki su ispod granice detekcije instrumenta. Na osnovu ovoga nameće se zaključak da koeficijent ekstrakcije takođe zavisi i od metala koji se ekstrahuje iz biljke.

Vodeni, voda/etanol, voda/metanol ekstrakti imaju nizak koeficijent ekstrakcije gvožđa i cinka. Srednji koeficijent ekstrakcije gvožđa i cinka imaju etanolni i metanolni ekstrakti. Bakar u svim ekstraktima osim vodenog ima nizak koeficijent ekstrakcije. Visoke koeficijente ekstrakcije imaju olovo i kadmijum u metanolnim i etanolnim ekstraktima.

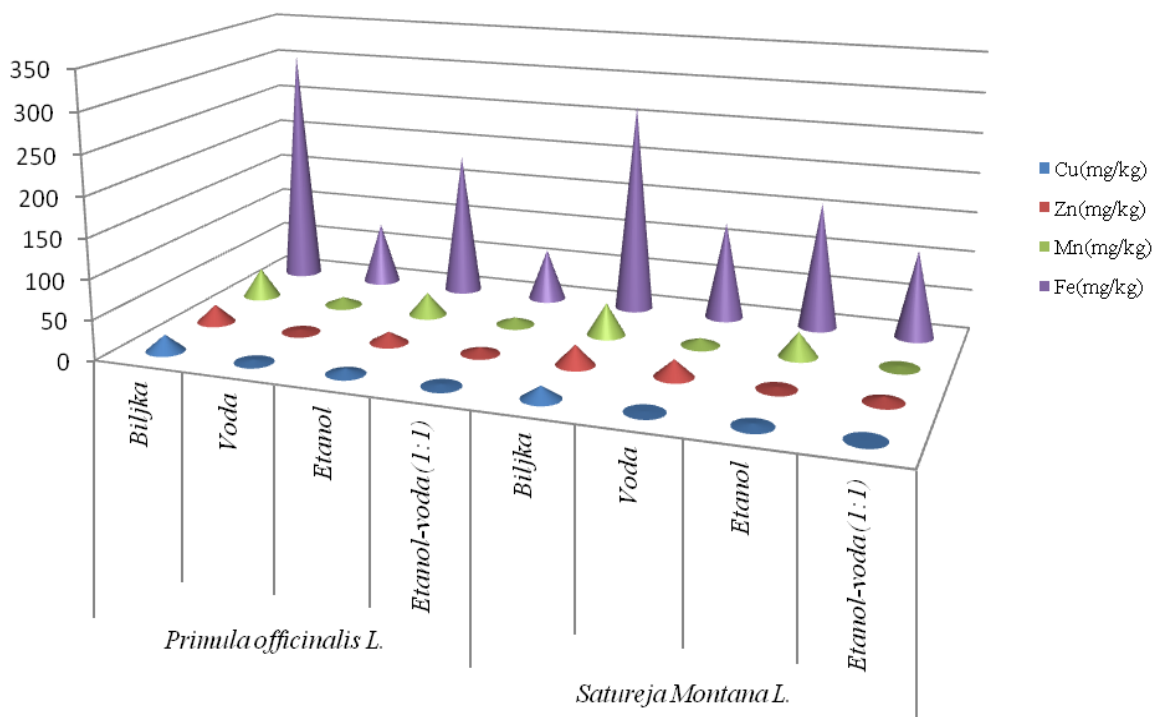
Tabela 93. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u uzorcima zemljišta, biljci *Malva sylvestris* L. izražen u mg/kg

Poreklo	Mikroelementi							Lit.
	Fe	Zn	Cu	Ni	Mn	Cd	Pb	
Alžir, zemljište	7519-8539	1002-1085	445-502	28-33		95-105	100-105	<i>Belabed i sar., 2014</i>
Alžir, biljka	340	795	429	41,6		10,9	16,2	
Pakistan zemljište		172-113	55-147	24-57		0,3-2,3	29-138	<i>Khan i sar., 2010</i>
Pakistan biljka		247	20	10		0,24	20	
Prezentovani rezultati, zemljište	21987,06	106,84	74,964	81,542	60,056	2,986	66,520	
Prezentovani rezultati, biljka	194,20	82,628	60,85	49,225	36,974	2,5621	59,896	

Pored analize uzoraka biljke *Malva sylvestris* L. i njenih ekstrakata, urađena je analiza biljaka *Primula officinalis* L. i *Satureja montana* L., a rezultati su prezentovani u sledećoj tabeli.

Tabela 94. Koncentracija metala biljkama *Primula vulgaris* L. i *Satureja montana* L. i njihovim ekstraktima

Biljka	Tradicionalni naziv	Engleski naziv	Ekstrakt	Fe(mg/kg)	Zn(mg/kg)	Cu(mg/kg)	Mn(mg/kg)
<i>Primula vulgaris</i> L.	Jagorčevina	Herb Peter	Biljka	303,61	22,36	20,35	36,6
			Voda	78,22±2,23	3,50±0,07	3,22±0,87	10,23±0,78
			Etanol	182,00±3,64	13,90±0,28	6,90±0,14	28,70±0,57
			Etanol-voda	65,33±1,98	7,70±0,15	2,70±0,05	8,78±0,84
<i>Satureja Montana</i> L.	Rtanjski čaj	Winter savory	Biljka	265,24	25,12	15,77	40,65
			Voda	123,45±2,34	21,50±0,43	0,97±0,07	9,10±0,18
			Etanol	160,00±3,20	3,10±0,06	3,17±0,06	30,80±0,62
			Etanol-voda	110,28±2,10	6,90±0,14	0,22±0,01	2,60±0,05



Histogram 9. Koncentracija metala biljkama *Primula vulgaris L.* i *Satureja montana L.* i njihovim ekstraktima

Tokom poslednjih decenija nekoliko grupa naučnika je tražilo primenu ekstrakata biljke *Primula vulgaris L.* za borbu protiv različitih sojeva bakterija, zahvaljujući njenoj dobro poznatoj antibakterijskoj aktivnosti. U radu Majid-a istraživana su antibakterijska dejstva protiv gram pozitivnih i gram negativnih bakterija. Oni su u radu ukazali na to da veliki spektar antimikrobne aktivnosti imaju listovi i koren ove biljke. Antimikrobna aktivnost leži u prisustvu alkaloida i flavonoida. Vodeni i metanolni ekstrakti ove biljke su odlični za inhibiciju *E. coli* i *P. aeruginosa*. (Majid i sar., 2014)

Antioksidativnu aktivnost pokazuje i *Satureja montana L.*, što je i potvrđeno brojnim studijama. Takođe, antimikrobna i antibakterijska aktivnost ove biljke je na visokom nivou. U zavisnosti od vrste i količine prisutnih mikroorganizama ima i različit uticaj na njih. (Momtaz i Abdollahi, 2010) Zbog toga je od izuzetne važnosti da i se vrši kontrola metala, a naročito toksičnih.

Na osnovu dobijenih rezultata, izračunati su i koeficijenti ekstrakcije metala u analiziranim biljnim vrstama u zavisnosti od rastvarača. Ekstrakcioni koeficijenti su izračunati pomoću jednačine:

$$EC = 100 \frac{C_M (\text{extract})}{C_M (\text{plant})}$$

Rezultati su prikazani u sledećoj tabeli:

Tabela 95. Ekstrakcioni koeficijenti, EC, teških metala u zavisnosti od vrste rastvarača

Biljka	Tradicionalni naziv	Engleski naziv	Ekstrakt	Koeficijent ekstrakcije teških metala (%)			
				Fe	Zn	Cu	Mn
<i>Primula officinalis</i> L.	Jagorčevina	Herb Peter	Voda	25,76	15,65	15,82	27,95
			Etanol	59,94	62,16	33,90	78,41
			Etanol-voda	21,52	34,43	13,27	23,99
<i>Satureja Montana</i> L.	Rtanjski čaj	Winter savory	Voda	46,54	83,99	6,15	22,39
			Etanol	60,32	60,32	20,10	75,77
			Etanol-voda	41,58	27,47	1,39	6,39

Ekstrakcioni koeficijenti dobijeni ovim istraživanjem znatno variraju od 1,39-83,99%. Na osnovu ovog ispitivanja analizirani elementi se mogu svrstati u tri grupe: elementi sa niskim ekstrakcionim koeficijentom (manje od 10%); elemente sa srednjim ekstrakcionim koeficijentom (10-30%) i elemente sa visokim ekstrakcionim koeficijentom (više od 30%). Koeficijent ekstrakcije zavisi uglavnom od ekstrakcionog medijuma. Najniži prinos teških metala je kod vodenog ekstrakta (sa izuzetkom kod cinka u biljci *Satureja Montana* L.), a najviši kod etanolnog.

Vodeni, voda/etanol ekstrakti, ali i etanolni ekstrakti imaju nizak koeficijent ekstrakcije bakra. Srednji koeficijent ekstrakcije imaju mangan i bakar (izuzetak etanolni ekstrakti koji imaju visoku vrednost), a visoki koeficijent ekstrakcije cink u ovim ekstraktima. Etanolni ekstrakti svih biljaka su imali srednje i visoke koeficijente ekstrakcije. Na osnovu ovoga nameće se zaključak da koeficijent ekstrakcije zavisi od rastvarača i od biljke iz koje je ekstrahovan.

Tabela 96. Literaturni pregled sadržaja ispitivanih metala u ekstraktima lekovitog bilja izražen u mg/kg

Poreklo	Mikroelementi						Lit.
	Fe	Zn	Cu	Mn	Cd	Pb	
Indija					0,0004	0,002	<i>Lakshmi i sar, 2013</i>
Indija	4,507	0,668	0,158	0,048	0,013	0,025	<i>Lalitha i sar, 2013</i>
Indija					0,007	1,765	<i>Singh i sar, 2013</i>
Srbija	0,15-12,62	0,08-1,63	0,01-0,28	0,08-0,59	0,18-0,85		<i>Micic i sar, 2013</i>
Gana	30,12-32,56	Nd-0,24	0,67-1,28	0,45-1,00	Nd	Nd	<i>Adukpo i sar, 2012</i>

## **5. IZVOD**

U okviru doktorske disertacije izvršena je evaluaciju postojećih i validacija novih metoda za određivanje metala (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd i Pb) metodom atomske absorpcione spektrometrije u odabranom samoniklom voću, grožđu, vinu i lekovitom bilju, kao i u njihovim vodenim, etanolnim i metanolnim ekstraktima, određivanje metala i njihov transfer iz zemljišta u listove i plodove, kroz sledeće aktivnosti:

➤ konstruisanje kalibracione prave u različitim opsezima pri odabranim parametrima instrumenta korišćenjem standardnih rastvora ispitivanih elemenata;

➤ validacija metode kroz sledeće parametre: linearnost kalibracione prave, limit detekcije (LOD), limit kvantifikacije (LOQ), koeficijent linearne korelacije, koeficijent determinacije, korigovani koeficijent determinacije, standardna greška, relativna standardna devijacija (RSD);

➤ ispitivanje tačnosti i preciznosti metode korišćenjem standardnih rastvora određene koncentracije i poređenjem sa deklarisanim koncentracijama; kao i korišćenjem realnih spajkovanih uzoraka;

➤ primena razvijenih metoda na ispitivanim realnim uzorcima, odnosno određivanje sadržaja metala u uzorcima zemljišta, lisća i plodovima samoniklog voća (*Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Rosa canina* L., *Morus nigra* L., i *Morus alba* L.). U pomenutim uzorcima je detektovano prisustvo Fe, Zn, Cu, Mn, Ni, Cd i Pb. Koncentracija cinka se kreće od 19,54-68,89 ppm u zemljištu, 9,43-28,63 ppm u listovima i 2,82-18,48 ppm u plodu. Mangan u zemljištu varira u opsegu od 114,71 do 410,52 ppm, u listovima od 10,96 do 107,89 ppm, a u voću od 2,22 ppm (*Cornus mas* L., Soko Banja) do 25,21 ppm (*Crataegus laevigata* L., Svrlijig). Sadržaj bakra u zemljištu kreće se od 9,48-24,46 ppm u zemljištu, 3,49-16,27 ppm u listovima, a u voću od 2,57-10,38 ppm. Kadmijum je u koncentraciji od 0,40 do 0,96 ppm pronađen u zemljištu, 0,13-0,54 u listovima i 0,08-0,38 ppm u plodu. Nikl je detektovan samo u zemljištu i to u niskim koncentracijama, od 8,25 do 25,22 ppm. Takođe, niske koncentracije olova detektovane su u uzorcima zemljišta "Svrlijig" i "Soko Banja". Nijedan od ovih metala nije detektovan u listovima i plodu.

Analizom sadržaja metala u zavisnosti od lokacije može se primetiti da se veće koncentracije metala javljaju u uzorcima sa lokaliteta u Soko banji, Svrlijigu i Aleksincu. Jedino odstupanje je kod sadržaja bakra, gde se najveće koncentracije detektuju na lokalitetu u Mokri. Kadmijum se u svim uzorcima na svim lokalitetima kreće u sličnim granicama.

Sadržaj koncentracije metala u ispitivani uzorcima *Morus alba* L. i *Morus nigra* L. u zemljištu, lišću i plodu opada u nizu: Fe>Mn>Zn>Cu>Cd>Ni>Pb. Olovo i nikl su

detektovani samo u uzorcima zemljišta, dok u Sadržaj gvožđa je i u ovom slučaju u najvećoj koncentraciji prisutan u zemljištu u rasponu od 18569,7 do 26895,6 ppm (mg/kg). Gvožđe je detektovano u većoj koncentraciji u odnosu na druge metale i kod uzoraka lišća i ploda; 115,09-206,63 ppm u lišću; 9,57– 26,89 ppm u plodu. U ispitivanim uzorcima zemljišta, lišća i duda koncentracija cinka je: 40,02-125,77 ppm, 18,65-55,37 ppm i 1,37-7,18 ppm; mangana 108,923-162,04 ppm (zemljište), 37,03-93,52 ppm (lišće), 3,03 ppm - 8,96 ppm (plod). Sadržaj bakra se kreće u opsegu od 20,3655 (*Morus alba* L., Aleksinac)-40,0569 (*Morus alba* L., Mokra) ppm, lišća od 4,3254 (*Morus nigra* L., Svrlijig) -16,5204 (*Morus alba* L., Aleksinac) i ploda 1,0563 (*Morus alba* L., Pukovac) -2,5861 (*Morus alba* L., Aleksinac) ppm, Pb i Cd u lišću i plodu njihovu koncentraciju nije bilo moguće odrediti.

➤ Određen je sadržaj metala u zemljištu i groždju vrste plovina sa pet različitih lokacija na području jugoistočne Srbije u zavisnosti od udaljenosti od puta. Kao što se može zaključiti na osnovu dobijenih vrednosti ispitivanih metala, koncentracije su veće u uzorcima zemljišta koji su uzeti pored puta, nego li na rastojanju od 50 metara. Koncentracije gvožđa, cinka i olova neposredno uz put su u opsegu od 9,6 – 156,3 mg/g, 2,5 – 7,8 µg/g i 10,9 – 27,3 µg/g, respektivno. Koncentracije istih metala na udaljenosti od 50 metara od puta se kreću u granicama od 8,7 – 97,4 mg/g, 2,0 – 6,8 µg/g i 5,3 – 10,3 µg/g. Analizom grožđa dokazano je prisustvo i određena je koncentracija gvožđa, cinka i bakra u opsegu od 3,3-19,8; 0,31-0,63 i 3,4-13,6 µg/g, respektivno. Obzirom da bakar nije detektovan u uzorcima zemljišta, može se zaključiti da je prisustvo bakra u grožđu posledica upotrebe "Bordovske čorbe" (bakar sulfat, kalcijum hidroksid i voda) kao fungicida za zaštitu vinograda. Odsustvo olova u grožđu može se objasniti i sporom mobilnošću soli olova, i akumulacijom u površinskom sloju zemlje.

Ispitan je uticaj različitih metoda za pripremu uzoraka na sadržaj metala u uzorcima različitih vrsta grožđa i utvrđeno je da *metoda* I i *metoda* III daju približne koncentracije u pogledu sadržaja gvožđa, dok *metoda* II daje nešto niže vrednosti. Dobijeni rezultati sadržaja cinka ukazuju da sve tri metode daju približne rezultate. Sagledavanjem dobijenih rezultata za bakar zaključuje se da *metoda* II nije pogodan za određivanje koncentracije ovog metala.

U uzorcima različitih komercijalnih vrsta vina različitih proizvođača ispitano je prisustvo i utvrđena koncentracija Fe, Zn i Cu. U najvećoj koncentraciji detektovano je gvožđe (2,93 mg/l do 36,2 mg/l), a količine ostalih metala su u sledećem opadajućem nizu Zn (0,21-0,67 mg/l)>Cu (0,07-0,57mg/l).

➤ Ispitivan je sadržaj metala u uzorcima biljaka (*Calendula officinalis* L., *Primula officinalis* L., *Origanum vulgare* L., *Cichorium intybus* L., *Satureja Montana* L., *Delphinidium consolida* L., *Papaver rhoeas* L., *Hypericum perforatum* L., *Prunus spinosa*

L., *Crataegus laevigata* L. *Malva silvestris* L.) koji su mineralizovani na dve temperature 450 i 1000 °C. Rezultati su pokazali da temperatura prilikom pripreme uzoraka ima veliki uticaj na koncentraciju ispitivanih metala. Obzirom da su prilikom mineralizacije na 1000°C detektovani samo Fe, Zn, Cu i Mn. Dok su analizom istih tih uzoraka na 450°C detektovani i Ni, Pb i Cd.

U biljkama (*Hypericum perforatum* L., *Satureja Montana* L., *Calendula officinalis* L., *Origanum vulgare* L., *Primula officinalis* L., *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Rosa canina* L.) i čajevima koji su pripremljeni na dva načina (dekoka i infus) utvrđena je koncentracija Fe, Zn, Cu, Mn i Pb. Nikl i kadmijum nisu detektovani. Sadržaj metala u vodenim rastvorima pripremljenih po metodi I (dekoka) i II (infus) opada u sledećem nizu: Fe > Zn > Mn > Cu > Pb. Koncentracije metala u napicima pripremljenim po metodi I su neznatno veće. Jedino se olovo detektuje u većoj koncentraciji kod napitaka pripremljenim po metodi II.

➤ Ispitan je sadržaj metala u biljkama *Malva silvestris* L., *Primula vulgaris* L., *Satureja Montana* L. i njihovim vodenim, vodeno-metanolnim, metanolnim, vodeno-etanolnim i etanolnim rastvorima. Sadržaji određivanih teških metala u uzorcima crnog sleza i zemljišta na kome je ispitivana biljka rasla se, na osnovu dobijenih rezultata, mogu rasporediti u sledeći opadajući niz Fe>Zn>Cu>Pb>Ni>Mn>Cd. U uzorcima biljaka *Primula vulgaris* L., *Satureja Montana* L. i njihovim ekstraktima dokazano je prisustvo i utvrđena koncentracija Fe, Zn, Mn i Cu. Prisustvo i sadržaj olova, nikla i kadmijuma nije dokazano, što najverovatnije ima veze sa lokalitetom gde su biljke uzorkovane. *Primula vulgaris* L. i *Satureja Montana* L. su uzorkovane na nezađenom ruralnom području, a *Malva silvestris* L. na području grada Niša gde postoji mogućnost kontaminacije

➤ statistička obrada dobijenih rezultata u cilju dobijanja optimalnog opsega kalibracione prave, izabira najoptimalnije metode, izvođenja korelacija između sadržaja i vrste uzorka. Na osnovu svih izračunatih koeficijenata korelacije može se zaključiti da se metali akumuliraju u plodu što preko zemljišta, što preko lišća. Ali takođe nam se nameće i činjenica da akumulacija metala zavisi i od biljne vrste i njene sposobnosti da akumulira određeni metal.

Dobijeni rezultati su obrađivani primenom statističkih testova ANOVA i PCA analiza. Primenjeni statistički testovi su imali za cilj da utvrde postojanje statistički značajne razlike ili ne u sadržaju detektovanih elemenata kako po vrsti uzorka u svakoj od grupa ispitivanih biljaka, tako i u okviru svakog tipa uzorka, a koji se razlikuju po pripremi uzoraka ili ekstrakcije;



Određen je stepena transfera teških metala iz zemljišta u odabrano voće, grožđe i lekovito bilje, koeficijent usvajanja metala, izvršena je procena dnevnog unosa metala i indeksa zdravstvenog rizika. Dobijeni sadržaji su diskutovani u kontekstu poređenja sa literaturnim podacima dobijenih od strane drugih istraživača na istim tipovima uzoraka; prema dnevnim potrebama organizma ka istim odnosno preporučenim dozama od strane evropskih i svetskih organizacija; sa aspekta toksičnosti pojedinih metala.

Rezultati i diskusija potvrđuju literaturne navode da na sadržaj metala utiče više faktora kao što su: geografsko poreklo odnosno sastav zemljišta, klimatski uslovi, stanje životne sredine, odnosno uslovi u kojima su ispitivani uzorci gajeni. Međutim, isto tako metali koji se javljaju u zemljištu mogu biti rezultat različitih ljudskih aktivnosti (industrija, sagorevanjem fosilnih goriva, primenom agrotehničkih mera, atmosferskim taloženjem). Urbana područja su u odnosu na ruralna više izložena antropogenom uticaju. Obzirom da u jugoistočnoj Srbija industrija je slabo razvijena taj uticaj kod analiziranih uzoraka je sveden na minimum.

Na osnovu svih podataka koji su prezentovani u ovom radu, kao i njihovim poređenjem sa dovoljenim vrednostima datim od strane Svetske zdravstvene organizacije (WHO) može se zaključiti da su ispitivano samoniklo voće, grožđe, vino, lekovito bilje, kao i njihovi ekstrakti bezbedni za upotrebu. Osim, biljke *Malva silvestris* L. i njenih ekstrakata, obzirom da je u istim detektovana visoka koncentracija ispitivanih metala.

## **6. SUMMARY**

In this dissertation was performed evaluation of existing and validation of new methods for the determination of metals (Fe, Zn, Cu, Mn, Cd and Pb) by atomic absorption spectrometry in selected wild fruits, grapes, wine and herbs, water, ethanol and methanol extracts. The determination of metals and their transfer from the soil to the leaves and fruits, through the following activities:

- construction of calibration curve in different range with selected parameters of the instrument, using a standard solution;

- validation of methods through the following parameters: linearity of the calibration curves, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), the linear correlation coefficient, coefficient of determination, adjusted coefficient of determination, standard error, relative standard deviation (RSD)

- examination of the accuracy and precision of the method, using standard solutions and comparing with the CRM;

- application of the developed methods on real samples, determination of metals in soil, leaves and fruits of wild fruits (*Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Rosa canina* L., *Morus nigra* L. and *Morus alba* L.). In these samples were detected, Zn, Cu, Mn, Ni, Cd i Pb. Concentration of the Zn was 19,54-68,89 ppm in soil, 9,43-28,63 ppm in leaves and 2,82-18,48 ppm in fruits. Manganese in soil varied in the range of 114,71 do 410,52 ppm, 10,96 to 107,89 ppm in leaves and 2,22 ppm (*Cornus mas* L., Soko Banja) to 25,21 ppm (*Crataegus laevigata* L., Svrlijig) in fruits. The Cu concentration varied from 48-24,46 ppm in soil, 3,49-16,27 ppm in leaves and from 2,57-10,38 ppm in fruits. The Cd concentration was 0,40 do 0,96 ppm (soil), 0,13-0,54(leaves) i 0,08-0,38 ppm (fruits). Nickel was detected in low concentration, only in the samples of soil (8,25 to 25,22 ppm). Also, low concentrations of Pb were detected in soil samples "Svrlijig" and "Soko Banja". These metals were not detected in the samples of leaves and fruit. The higher concentrations of metals occur in samples from sites in "Soko Banja", "Svrlijig" and "Aleksinac". The only exception is the Cu content; the highest concentration was detected in "Mokra". Cadmium is present in all samples, within the same limits.

- The metal contents in *Morus alba* L. and *Morus nigra* L. was found in decreasing order Fe>Mn>Zn>Cu>Cd>Ni>Pb. Pb and Ni were detected only in samples of soil, while in the Fe content is in this case to the greatest concentration present in the soil ranged from 18569,7 to 26895,6 ppm (mg/kg). Fe is detected in a higher concentration as compared to other metals and in the samples of leaves and fruit; 115,09 to 206,63 ppm in the leaves; 9,57- 26,89 ppm in the fruit. The Zn concentration in soil samples, leaves and fruits is

40,02 to 125,77 ppm, 18,65 to 55,37 ppm and 1,37 to 7,18 ppm; 108,923 to 162,04 ppm; manganese (soil), from 37,03 to 93,52 ppm (leaves), 3,03 ppm – 8,96 ppm (the fruit). The content of Cu is in the range of 20,3655 (*Morus alba* L., "Aleksinac") -40,0569 (*Morus alba* L., "Mokra") ppm, in the leaves 4,3254 (*Morus nigra* L., "Svrlijig") -16,5204 (*Morus alba* L., Nis) and in the fruits 1,0563 (*Morus alba* L., "Pukovac") -2,5861 (*Morus alba* L., "Aleksinac") ppm. Concentration of Pb and Cd in the leaves and fruit could not be determined.

➤ The content of metals in soil and grape (Plovdina) from five different locations in the Southeast Serbia depending on the distance from the road. As can be inferred on the basis of the obtained values of the examined metal concentrations were higher in samples of soil that were taken by the road, rather than at a distance of 50 meters. The concentrations of Fe, Zn and Pb directly along the way are in the range of 9,6 to 156,3 mg/g, 2,5 to 7,8 mg/g and 10,9 to 27,3 mg/g, respectively. Concentrations of these metals at a distance of 50 meters from the road are in the range of 8,7 to 97,4 mg/g, 2,0 to 6,8 mg/g and 5,3 to 10,3 mg/g. The concentration of Fe, Zn and Cu were in the range of 3,3 to 19,8; 0,31 to 0,63 and 3,4 to 13,6 mg/g, respectively. Given that Cu was not detected in soil samples, it can be concluded that the presence of Cu in the grapes is consequence of using "Bordeaux mixture" (copper sulfate, calcium hydroxide and water). "Bordeaux mixture" is a fungicide which is used for protection of the vineyards. The absence of Pb in grapes can be explained by the slow mobility of lead salts, and their accumulation in the surface layer of the soil. Analysis of methods I,II and III we came to the conclusion that: the method I and method III give approximate concentration in terms of Fe, whereas method II gives slightly lower values. The results indicate that all three methods give approximate results for Zn content. By reviewing the results obtained for Cu is concluded that method II is not suitable for determining the concentration of this metal.

➤ Samples of various types of commercial wines from different manufacturers were tested for the presence of Fe, Zn and Cu. The highest concentration was detected in the Fe (2,93 mg/l to 36,2 mg/l). The Zn and Cu concentration was found in decreasing order 0,21-0,67 mg/l > 0,07 -0,57mg/l.

➤ Content of metals in plant samples (*Calendula officinalis* L., *Primula officinalis* L., *Origanum vulgare* L., *Cichorium intybus* L., *Saturea Montana* L., *Delphinidium consolida* L., *Papaver rhoeas* L., *Hypericum perforatum* L., *Prunus spinosa* L., *Crataegus laevigata* L. *Malva silvestris* L.) was determined by mineralization at two temperatures 450°C and 1000°C. The results showed that the temperature during sample preparation have

a great influence on the concentration of the investigated metals. Considering that during the mineralization at 1000°C detected presence of Fe, Zn, Cu and Mn. While the analysis of the same samples at 450°C was detected presence of Fe, Zn, Cu, Mn Ni, Pb and Cd.

➤ In plants *Hypericum perforatum* L., *Satureja Montana* L., *Calendula officinalis* L., *Origanum vulgare* L., *Primula officinalis* L., *Crataegus laevigata* L., *Prunus spinosa* L., *Cornus mas* L., *Rosa canina* L.) and teas which were prepared in two different ways (brew and infusion) was determined content of Fe, Zn, Cu, Mn and Pb. Nickel and cadmium were not detected. The content of metals in aqueous solutions prepared by method I (brew) and method II (infusion) decreases in the following order: Fe > Zn > Mn > Cu > Pb. Concentrations of metals in beverages prepared according to the Method I are slightly higher. Only the Pb is detected in a higher concentration in beverages prepared by Method II.

➤ In plants *Malva silvestris* L., *Primula vulgaris* L., *Satureja Montana* L. and its water, a water-methanol, methanol, ethanol and water-ethanol solutions was determined the metal content. Content of heavy metals in samples of *Malva silvestris* L. and the soil on which the plant grew, decreases in the following order: Fe > Zn > Cu > Pb > Ni > Mn > Cd. In samples of plants *Primula vulgaris* L., *Satureja Montana* L. and their extracts was determined concentration of Fe, Zn, Mn and Cu. The presence and content of Pb, Ni and Cd has not been proven, it probably has to do with the site where the plants are sampled. *Primula vulgaris* L., *Satureja Montana* L. sampled at unpolluted rural area, and *Malva silvestris* L. in the city of Nis, where possibility of contamination is high

➤ The correlation coefficients are calculated, on the basis of which it can be concluded that the metals accumulate in the fruit through the soil and through the leaves. It can also be concluded that the accumulation of metals depends on the plant, i.e. its ability to accumulate a certain metal.

➤ The results were analyzed by statistical tests ANOVA and PCA analysis. The applied statistical tests were intended to determine statistically significant differences in the content of detected elements based on type of sample in each group of tested plants, and within each type of sample, which differ in the sample preparation and extraction;

Transfer of heavy metals from the soil to selected fruits, grapes and herbs, coefficient of metal assimilation, estimation of the daily intake of metals and hazard quotient, were been determined.

The comparison of the results with literature data obtained by other researchers on the same types of samples; according to the daily needs of the organism to the same or

recommended doses by European and international organizations; in terms of the toxicity of certain metals.

Results and discussion confirms literature data that the contents of metals depends on several factors such as geographic origin or composition of the soil, climatic conditions, the state of the environment or conditions in which the test samples grown. Also, metals that occur in the soil may be the result of various human activities (industry, combustion of fossil fuels, agricultural practices and atmospheric deposition). Urban areas compared to rural are more exposed to anthropogenic impacts. Since, in southeastern Serbia industry is poorly developed, that influence in the analyzed samples is reduced to a minimum.

Based on all the data that are presented in this paper, as well as their comparison with the permissible values given by the World Health Organization (WHO) it can be concluded that the investigated wild fruits, grapes, wine, herbs and their extracts are safe for use. Except plant *Malva silvestris* L. and her extracts, considering that the samples of this plant are contaminated with high concentrations of metals.

## **7. LITERATURA**

Abdullahi M. S., Toxic effects of lead in humans: an overview, *Global Advanced Research Journal of Environmental Science and Toxicology (GARJEST)* 2 (6), 157-162, 2013

Abou-Arab A.K., Abou Donia M.A., Heavy metals in Egyptian spices and medicinal plants and the effect of processing on their levels, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2300–2304, 2000

Acetoy M., Abollinoz O., Bruzzonitiz M.C., Mentastiz E., Sarzaniniz C. and Malandrino M., Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (Flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); A review, *Food Additives and Contaminants* 19 (2), 126-133, 2002

Ajtony Z., Szoboszlai N., Susko E.K., Mezei P., Gyorgy K. And Bencs L. Direct sample introduction of wines graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of arsenic, cadmium, copper and lead content, *Talanta* 76, 627-634, 2008

Ajtony Z., Szoboszlai N., Suskó E. K., Mezei P., György K., Bencs L., Direct sample introduction of wines in graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of arsenic, cadmium, copper and lead content, *Talanta* 76 (3), 627-634, 2008

Al-Oud S.S., Heavy metal contents in tea and herb leaves, *Pakistan Journal of Biological Science* 6 (3), 208-212, 2003

Al Nasir F., Jiries A.G., Batarseh M.I. and Beese F. Pesticides and trace metals residue in grape and home made wine in Jordan. *Environmental Monitoring and Assessment* 66, 253-263, 2001

Alirzayeva E. G., Shirvani T. S., Yazici M. A., Alverdiyeva S. M., Shukurov E. S., Ozturk L., Ali-Zade V. M., Cakmak I., Heavy metal accumulation in *Artemisia* and *Foliaceous lichen* species from the Azerbaijan flora, *Forest and Landscape Research* 80 (3), 339-348, 2006

Arsenijević J., Ražić S., Maksimović Z. and Đogo S., Trce elements in aerial parts and rhizosphere of *Thymus pannonicus* All., *Central European Journal of Biology* 6 (4), 616-623, 2011

Armitage P., Berry P., *Statistical Methods in Medical Research*, Oxford: Blackwell Science Ltd, 1994

Arora M., Kiran B., Rani S., Rani A., Kaur B., Mittal N., Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources, *Food Chemistry* 111 (2008) 811 - 815



Ashish B., Neeti K. and Himanshu K., Copper Toxicity: A Comprehensive Study, *Research Journal of Recent Sciences* 2, 58-67, 2013

Ashraf M. A., Maah M.J. and Yusoff I., Heavy metals accumulation in plants growing in ex tin mining catchment. *International Journal of Environmental Science and Technology* 8 (2), 401-416, 2011

Astel A., Biziuk M., Przyjazny A. and Namiesnik J., Chemometrics in monitoring spatial and temporal variations in drinking water quality, *Water Research* 40 (8), 1706–1716, 2006

Baranowska I., Srogi K., Włochowicz A. and Szczepanik K., Determination of heavy metal contents in samples of medicinal herbs, *Polish Journal of Environmental Studies* 11 (5), 467-471, 2002

Baye H. and Hymete A., Levels of heavy metals in common medicinal plants collected from environmentally different sites, *Middle-East Journal of Scientific Research* 13 (7), 938-943, 2013

Basbulbul G., Ozmen A., Biyik H. H. and Ozge S, Antimitotic and antibacterial effects of the *Primula veris* L. flower extracts, *Caryologia* 61 (1), 88-91, 2008

Basgel S. and Erdemoglu S.B., Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infuss consumed in Turkey, *Science of the Total Environment* 359, 82–89, 2006

Baldo M.A., Bragato C. and Daniele S., Determination of lead and cooper in wine by anodic stripping voltammetry with mercury microelectrodes: Assessment of the influence of sample pretreatment procedures, *Analyst* 122, 1-5, 1997

Bakirdere S., Yaman M., 2008, Determination of lead, cadmium and copper in roadside soil and plants in Elazig, Turkey, *Environmental Monitoring Assessment* 136, 401-410.

Belabed S., Lotmani B., Romane A., Assessment of metal pollution in soil and in vegetation near the wild garbage dumps at Mostaganem region, *Journal of Materials and enviromental Science* 5 (5), 1551-1556, 2014

Beard J.L., *Iron Biology in Immune Function, Muscle Metabolism and Neuronal Functioning*, American Society for Nutritional Sciences, 2001

Bezić N., Skočibušić M., Dunkić V., Phytochemical composition and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. and *Satureja cuneifolia* Ten. essential oils, *Acta Botanica Croatica* 64 (2), 313–322, 2005

Bell R. M., Higher plant accumulation of organic pollutants from soils, EPA/600/R-92/138. Cincinnati, United States Environmental Protection Agency, 1992

Bin D., Feng-Mei Z. and Feng-Ying L., Measurement and Analysis of Mineral Components in Grape Wine by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer, *Advance Journal of Food Science and Technology* 4 (5), 277-280, 2012

Blasa M., Gennari L., Angelino D., Ninfali P., Fruit and vegetables antioxidants in health, U: Bioactive foods in promoting health (fruits and vegetables), 2010

Blamey M. and Grey-Wilson C., *Flora of Britain and Northern Europe*, 1989

Blamey M., Fitter R., Fitter A., *Wild flowers of Britain and Ireland: The Complete Guide to the British and Irish Flora*. London: A & C Black 32, 2003

Blagojević N., Damjanović-Vratnica B., Vukašinović-Pešić V., Đurović D., Heavy metals content in leaves and extracts of wild-growing *Salvia officinalis* from Montenegro, *Polish Journal of Environmental Studies* 18 (2), 167-173, 2009

Borigato E.V., Martinez F.E., Iron nutritional status is improved in Brazilian preterm infants fed food cooked in iron pots, *The Journal of nutrition* 128 (5), 85-859, 1998

Brainina K.Z., Stozhko N.Y., Belysheva G.M., Inzhevatova O.V., Kolyadina L.I., Cremisini C. And Galletti M, Determination of heavy metals in wines by anodic stripping voltammetry with thick-film modified electrode, *Analytica Chimica Acta* 514, 227-234, 2004

Buldini P. L., Cavalli S., Sharma J. L., Determination of transition metals in wine by IC, DPASV-DPCSV, and ZGFAAS coupled with UV photolysis, *Journal of agricultural and food chemistry* 47 (5), 1993-1998, 1999

Cataldo D.A. and Wildung R.E., Soil and plant factors influencing the accumulation of heavy metals by plants, *Environmental Health Perspectives* 27, 149-159, 1978

Cempel M., Nikel G., Nickel: A Review of Its Sources and Environmental Toxicology, *Polish Journal of Environmental Studies* 15 (3), 375-382, 2006

Chandran P. and Kuttan R., Effect of *Calendula officinalis* flower extract on acute phase proteins, antioxidant defense mechanism and granuloma formation during thermal burns, *Journal of Clinical Biochemistry Nutrition* 43 (2), 58-64, 2008

Chang Q., Zuo Z., Harrison F., Chow M.S., Hawthorn, *The Journal of Clinical Pharmacology* 42, 605-612, 2002

Chrubasik C., Roufogalis B.D., Müller-Ladner U. and Chrubasik S., A systematic review on the *Rosa canina* effect and efficacy profiles, *Phytotherapy Research* 22, 725-733, 2008

Chand P., Sharma R., Prasad R., Sud R.K., Pakade Y.B., Determination of essential and toxic metals and its transversal pattern from soil to tea dekokt, Food and Nutrition Sciences 2, 1160-1165, 2011

Clarkson T.W., Biological Monitoring of Toxic Metals; Plenum Press: New York, 265-282, 1988

Council Directive 86/278/EEC of 12 June 1986 on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. Official Journal L 181, 0006–0012, 1986, Finnish special edition, Chapter 15 (7), 0127

Cotzias G.C., Importance of trace substances in environmental health, as exemplified by manganese. In: Trace Substances in Environmental Health. Hemphil DH, University of Missouri Pres, Columbia, 1967

Curtis L. R., Smith B. W., Heavy metals in fertilizers: Considerations for setting regulations in Oregon, Department of Environmental and Molecular Toxicology, Oregon State University, Corvallis, Oregon, 2002

Da Silva J.F., Williams R.J.P., The biological chemistry of the elements: the inorganic chemistry of life, Oxford University Press, USA, 2001.

Das K.K., Das S.N. and Dhundasi S.A., Nickel, its adverse health effects & oxidative stress, Indian Journal of Medicinal Research 128, 412-425, 2008

Damjanović-Vratnica B., Perović A., Šuković D. and Perović S., Effect of vegetation cycle on chemical content and antibacterial activity of *Satureja montana* L., Archives of Biological Sciences 63 (4), 1173-1179, 2011

Davis P.H., Flora of Turkey and East Aegean Islands 2. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1966

Davis C.S., Statistical methods for the analysis of repeated measurements: Springer; 2002

Davila O.G., Gomez-Bernal J.M. and Ruiz-Huerta E.A., Plants and soil contamination with heavy metals in agricultural areas of Guadalupe, Zacatecas, Mexico, Environmental Contamination, 37-50, 2012

Diaz-Ravina M. and Baath E., Thymidine and leucine incorporation into bacteria from soils experimentally contaminated with heavy metals. Applied Soil Ecology 3, 225-234, 1996

Diaconu D., Diaconu R. and Navrotescu T., Estimation of heavy metals in medicinal plants and their infuss. Ovidius University Annals of Chemistry 23 (1), 115-120, 2012

Diac E., Pavel B.P., Ivanov A.A. and Bogdan D., Heavy metal content analysis in *Salvia Officinalis* plants by graphite furnace atomic absorption spectrometry, UPB Scientific Bulletin, B73 (3), 2011

Djarmati D., Značaj, određivanje i sadržaj metala u namirnicama u svetlu propisa Srbije i Evropske Unije, Viša medicinska škola, Beograd

Dobra M., Viman V., Vatca G., Heavy metals soil and plants contamination, The international conference of the carpathian euro-region specialists in industrial system, 7th edition

Dreshaja A., Nikqia H., Muzlijajb H., Fekajb F. and Beqiraj I., Negative effects of heavy metals in medicinal plants, International Journal of Thermal Technologies 3 (3), 60-62, 2013

Dzomba P., Chayamiti T. and Togarepi E., Heavy metal content of selected raw medicinal plant materials: implication for patient health. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences 1 (10), 28 – 33, 2012

EA-4/02 – Expression of the uncertainty of measurement in calibration

EA-2/05 – The scope of accreditation and consideration of methods and criteria for assessment of the scope in testing

EA-4/16 – EA guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing

Eck, P. and Wilson, L., Toxic metals in human health and disease, Eck Institute of Applied Nutrition and Bioenergetics, Ltd., Phoenix, AZ, 1989

Elaborat o zaštiti zemljišta, Neorganski i organski polutanti, Federacija Bosne i Hercegovine, 4-8, 2010

Ercisli S., Yilmaz S.O., Gadze J., Dzubur A., Hadziabulic S., Aliman J., Some fruit characteristics of Cornelian Cherries (*Cornus mas* L.), Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 39 (1), 255-259, 2011

Ercisli, S., Orhan, E., Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus rubra*) and black (*Morus nigra*) mulberry fruits. Food Chemistry 103, 1380-1384, 2007

Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. In: Forty-First Report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Series, 837 (World Health Organization, Geneva, Switzerland, 1993)

FAO/WHO, Contaminants. In Codex Alimentarius, vol. XVII, Edition 1.

FAO/WHO, Codex Alimentarius Commission, Rome, 1984

Farmakološke osobine roda *Crataegus*, Popović M., Racionalna terapija II 1, 9-15, 2010

Faleiro L., Miguel G., Gomes S., Costa L., Venancio F., Teixeira A., Figueiredo A.C., Barroso J.G. and Pedro L.G., Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L., *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (21), 8162–8168, 2005

Florea A. M. and Buselberg D., Occurrence, use and potential toxic effects of metals and metal compounds, *BioMetals Springer* 19, 419–427, 2006

Food and Nutritional Board, Recommended Intake for Individuals, Dietary Reference Intakes [DRIs]. National Academy of Sciences, Washington, DC: USA, 2004

Francis R., *The Wild Flower Key*, Frederick Warne and Co., 390–391, 1981

Friberg L., Nordberg, G. F., Vpuk, B., *Handbook on the Toxicity of Metals*, Elsevier, North Holland, Bio Medical Press, Amsterdam, 1984

Fritioff A., Greger M., Fate of cadmium in *Elodea Canadensis*, *Chemosphere* 67 (2), 365-375, 2007

Gad, S.C., *Drug discovery handbook*. Jonh Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2005

Galfati I., Bilal E., Sassi A.B., Abdallah H. and Zaier A., Accumulation of heavy metals in native plants growing near the phosphate treatment industry, Tunisia, *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences* 6 (2) 85 – 100, 2011

Galani-Nikolakaki S., Kallithrakas-Kontos N., Katsanos A., Trace element analysis of Cretan wines and wine products, *Science of the total environment* 285 (1), 155-163, 2002

Gardiner W.P., *Statistical analysis methods for chemists: a software-based approach* (Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1997

Gebretsadik D. W. and Chandravanshi B.S., Levels of metals in commercially available ethiopian black teas and their infuss, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* 24 (3), 339-349, 2010

Gostuški R., *Lečenje lekovitim biljem*, Narodna knjiga, Beograd, 1979

Greeson J.M., Sanford B. and Monti D. A., St. John's wort (*Hypericum perforatum*): A review of the current pharmacological, toxicological and clinical literature, *Psychopharmacology* 153, 402–414, 2001

Grubbs F., Procedures for Detecting Outlying Observations in Samples, *Technometrics* 11 (1), 1. 1969

Gunduz K., Saracoglu O., Özgen M., Serce S., Antioxidant, physical and chemical characteristics of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) at different stages of ripeness, *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* 12 (4), 59-66, 2013

Guenther P. M., Dodd K. W., Reedy J., Krebs-Smith S. M., Most Americans eat much less than recommended amounts of fruits and vegetables, *Journal of the American Dietetic Association* 106 (9), 1371-1379, 2006

Gurzau E.S., Neagu C. and Gurzau A.E., Essential metals—case study on iron, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 190–200, 2003

Gurbuz I., Ozkan A.M., Yesiada E., Kutselm O., Anti-ulcerogenic activity of some plants used in folk medicine of pinnarbasi, *Journal of Ethnopharmacology* 101, 313-318, 2005

Gurley, B.J., Swain, A, Williams D.K., Barone G., Battu S.K., Gauging the clinical significance of P-glycoprotein-mediated herb-drug interactions: Comparative effects of St. John's wort, echinacea, clarithromycin, and rifampin on digoxin pharmacokinetics, *Molecular Nutrition and Food Research* 52 (7), 772–779, 2008

Guenther P.M., Dodd K.W., Reedy J., Krebs-Smith S.M., Most Americans eat much less than recommended amounts of fruits and vegetables, *Journal of American Diet Association* 106 (9), 1371, 2006

Hartmann, T., From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism, *Phytochemistry* 68, 2831-2846, 2007

Hague T., Petroczi A., Anderews P.L.R., Barker J. and Naughton D.P., Determination of metal ion content of beverages and estimation of target hazard quotients: a comparative study, *Chemistry Central Journal* 2 (13), 1-9, 2008

Habib R. H., Salih M. A. and Muhanad Z. M., Toxic heavy metals in soil and some plants in Baghdad, Iraq, *Journal of Al-Nahrain University* 15 (2), 1-16, 2012

Heckendorn F., Häring D.A., Maurer V., Senn M., Hertzberg H., Individual administration of three tanniferous forage plants to lambs artificially infected with *Haemonchus contortus* and *Cooperia curticei*, *Veterinar Parasitology* 146 (1–2), 123–134, 2007

Hoseini H.F., Saeidnia S., Gohari A.R., Yazdanpanah M., Hadjiakhoondi A., Investigation of antihyperglycemic effect of *Morus nigra* on blood glucose level in Streptozotocin diabetic rats, *Pharmacologyonline* 3, 732-736, 2009

Hodgson E., Levi P.E. A textbook of modern toxicology: Wiley Online Library; 2004

<http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>;

<http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>

<http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>

<http://www.mags-team.net/mineravita/index.html>

<http://en.wikipedia.org/wiki/zink>

<http://en.wikipedia.org/wiki/zink>

<http://www.lef.org/protocols/prtcl-156.shtml>

<http://www.osha.gov/SLTC/metalsheavy/index.html>

<http://en.wikipedia.org/wiki/manganese>

<http://en.wikipedia.org/wiki/Nickel>

<http://www.lef.org/protocols/prtcl-156.shtml>

<http://www.lenntech.com/heavy-metals.htm>

<http://en.wikipedia.org/wiki/cadmium>

[http://en.wikipedia.org/wiki/Reference\\_Daily\\_Intake](http://en.wikipedia.org/wiki/Reference_Daily_Intake)

[http://en.wikipedia.org/wiki/Recommended\\_daily\\_allowance](http://en.wikipedia.org/wiki/Recommended_daily_allowance)

<http://www.who.int/classifications/icd/en/>

<http://www.narodnilijek.com/web/glog/>

Hussain I., Khan L., Comparative study on heavy metal contenta in *Taraxacum officinale*, International Journal of Parmacognosy and Phytochemical Research 2 (1) 15-18, 2010

Hussain I. and Khan H., Investigation of heavy metals content in medicinal plant, *Eclipta alba L.*, Journal of chemical society Pakistan 1 (32), 2010

Ibanez J.G., Alvarez A.C., Soto M.B. and Casillas N., Metals in alcoholic beverages: A review of sources, effects, concentrations, removal, speciation and analysis, Journal of food composition and analysis 21, 672-683, 2008

Imran, M., Khan, H., Shah, M., Khan, R., Khan, F., Chemical composition and antioxidant activity of certain *Morus* species, Journal Zhejiang University Science B (Biomed & Biotechnol), 11, 973-980, 2010

International labour office, Encyclopaedia of occupational health and safety, Geneve, 1971

Inam F., Deo S.S., Kadam N.S., Mahashabde R.P., Comparative account of heavy metal analysis of selected plant species by ICP-AES, Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 3 (2), 57, 2012

Integrated Risk Information System (U. S. Environmental Protection Agency [US EPA], 2010

Ipeaiyeda A.R. and Dawodub M.O., Leaching of manganese, iron, copper and zinc from tea (*camellia sinensis*) in tea mugs, Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry 10 (5), 2240-2247, 2011

- ISO 8402:1994, Quality management and quality assurance – Vocabulary
- ISO 3534-1:2006. Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1: General statistical terms and terms used in probability
- ISO 3534-1:2006. Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1: General statistical terms and terms used in probability
- ISO 8466-1:1994, Kalibracija i ocenjivanje analitičkih metoda i ispitivanje karakteristika izvođenja metode, Deo 1: Statističko određivanje linearne kalibracione funkcije
- ISO 5725-1-6/1994 - Preciznost metoda ispitivanja i utvrđivanje ponovljivosti i reproduktivnosti za standardne metode ispitivanja pomoću međulaboratorijskih ispitivanja
- Iqbal H., Khattak B., Ayaz S., Rehman A., Ishfaq M., Abbas M.N., Malik M.S., Wahab A., and Mehsud S., Pollution based study of heavy metals in medicinal plants Aloe vera and Tamarix aphylla, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3 (04) 054-058, 2013
- Iyaka Y.A. Concentration of Cu and Zn in some fruits and vegetables commonly available in north-central zone of Nigeria, *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and food chemistry* 6 (6), 2150-2154, 2007
- Jena V.K., Gupta S., Patel K.S. and Patel S.C., Evaluating heavy metals contents in medicinal plant *Mentha longifolia*, *Journal of Materials and Environmental Science* 4 (3) 384-389, 2013
- Jena V. and Gupta S., Study of heavy metal distribution in medicinal plant basil, *Journal of Environmental and Analytical Toxicology* 2 (8), 2012
- Jolly Y. N., Islam A., Akbar S., Transfer of metals from soil to vegetables and possible health risk assessment, *SpringerPlus* 2, 385, 2013
- Judžentienė A. and Būdienė J., Volatile constituents from aerial parts and roots of *Cichorium intybus* L. (chicory) grown in Lithuania, *Chemija* 19 (2), 25–28, 2008
- Jurikova T., Rop O., Mlcek J., Sochor J., Balla S., Szekeres L., Hegedusova A., Hubalek J., Adam V. and Kizek R., Phenolic profile of edible honeysuckle berries (Genus *Lonicera*) and their biological effects, *Molecules* 17, 61-79, 2012
- Jung M.C., Heavy metal concentrations in soils and factors affecting metal uptake by plants in the vicinity of a Korean Cu-W Mine, *Sensors* 8, 2413-2423, 2008
- Kasprzak K.S., Sunderman F.W., Salnikow K., Nickel carcinogenesis, *Mutation Research* 533 (1-2), 67, 2003
- Kabata-Pendias A., Pendias H., Trace Elements in Soils and Plants, 3rd edition (CRC Press, Boca Raton, FL, 2001



Karak T. And Bhagat R.M., Trace elements in tea leaves, made tea and tea infus, *Food Research Internacional* 43 (9), 2234-2252, 2010

Karakaševa E., Jovanova S., Boev B., Accumulation and distribution of heavy metal in perennials parts of vine in five local varieties (Rizling, Smederevka, Hamburg, Kratošia and Afus ali ) from Ovče pole (r. Macedonia), *Geologica Macedonica* 26 (2), 1–11, 2012

Karimi G., Hasanzadeh M.K., Nili A., Khashayarmanesh Z., Samiei Z., Nazari F., Teimuri M., Concentrations and health risk of heavy metals in tea samples marketed in Iran, *Pharmacology* 3, 164–174, 2008

Kannel P. R., Lee S., Kanel R. S., Khan S. P., Chemometric application in classification and assessment of monitoring locations of an urban river system, *Analytica Chimica Acta* 582 (2), 390-399, 2007

Ketney O., Lengyel E., Tita O. and Tifrea A., Content variation of iron and copper in wine obtained from wine vineyards Recas, *Acta Universitatis Cibiniensis Series E, Food Technology* XVII, 1, 2013

Khan S. A., Khan, L. Hussain, I., Marwat, K.B., Akhtar, N., Profile of heavy metals in selected medicinal plants, *Pakistan Journal of weed Science Research* 14 (1-2), 101 – 110, 2008

Khan S., Rehman S., Zeb Khan A., Khan M.A., Shah M.T., Soil and vegetables enrichment with heavy metals from geological sources in Gilgit, northern Pakistan, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73, 1820–1827, 2010

Khan M.A., Ahmad I. and Rahman I., Effect of environmental pollution on heavy metals content of *Withania somnifera*, *Journal of the Chinese Society* 54, 339-343, 2007

Khan Z.I., Ahmad K., Rasheed M.J.Z., Nawaz R., Ayub M., Zahoor A.F., Anjum A., Yousaf M., Hassan Z., Dogar, Rahman K., Rauf A. et al., Toxic and some essential metals in medicinal plants used in herbal medicines: A case study in Pakistan. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 7 (21), 1389-1395, 2013

Khattak M.I. and Khattak M.I., Study of heavy trace metals in some medicinal–herbal plants of Pakistan, *Pakistan Journal of Botany* 43 (4), 2003-2009, 2011

Kokoska L., Urbanova K., Kloucek P., Nedorostova L., Polesna L., Malik J., Jiros P., Havlik J., Vadlejch J. and Valterova I., Essential oils in the ranunculaceae family: Chemical composition of hydrodistilled oils from *Consolida regalis*, *Delphinium elatum*, *Nigellahispanica*, and *N. Nigellastrum* Seeds, *Chemistry & biodiversity* 9, 151-161, 2012

Kowalkowski T., Zbytniewski R., Szpejna J., Buszewski B., Application of chemometrics in river water classification, *Water Research* 40, 744-752, 2006

Kristl J., Veber M. And Slekovec M. The contents of Cu, Mn, Zn, Cd, Cr and Pb at different stages of winemaking process, *Acta Chimica Slovenica* 50, 123-136, 2003

Krebs N., Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract, *The Journal of Nutrition*, 1374S-1377S, 2000

Krejpcio Z., Król E. and Sionkowski S., Evaluation of heavy metals contents in spices and herbs available on the Polish market, *Polish Journal of Environment Stud.* 16 (1), 97-100, 2007

Kulhari, A., Sheorayan, A., Bajar, S. Sarkar S., Chaudhury, A. and Kalia, R. K., Investigation of heavy metals in frequently utilized medicinal plants collected from environmentally diverse locations of North western India, *Springer plus* 2, 676, 2013

Kulhari A., Sheorayan A., Bajar S., Sarkar S., Chaudhury A. and Kalia R.K. Investigation of heavy metals in frequently utilized medicinal plants collected from environmentally diverse locations of north western India, *SpringerPlus* 2676, 2013

Kula I., Yildiz D., Dogan Y., Ay G., Baslar S., Trace element contents in plants growing at Mt. Akdag, Denizli, *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 24 (1), 2010

Lasheen Y.F., Awwad N.S., El-khalafawy A. and Abdel-Rassoul A., Annual effective dose and concentration levels of heavy metals in different types of tea in Egypt. *International Journal of Physical Science* 3 (5), 112-119, 2008

Lasisi A.A., Yusuff A.A., Ejelolu B.C., Nwosu E.O. and Olayiwola M.A., Heavy metals and macronutrients content in selected herbal plants of Nigeria, *International Journal of the Chemical Society* 15 (3), 147-154, 2005

Laurie V.F., Villagra E., Tapia J., Sarkis J.E.S., and Hortellani M.A., Analysis of major metallic elements in Chilean wines by atomic absorption spectroscopy, *Ciencia e Investigacion Agraria* 37 (2), 77-85, 2010

Lieu P.T., Heiskala M., Peterson P.A. and Yang Y., The rules of iron in health and disease, *Molecular Aspects of Medicine* 22, 50-52, 2001

Liang J., Chen C., Song X., Han Y. And Liang Z., Assessment of heavy metal pollution in soil and plants from Duhnuu sewage irrigation area, *International Journal of Electrochemical science* 6, 5314-5324, 2011

Lenntech B.V., Heavy metals., 2012 Available, <http://www.Lenntech.com.pt/processes/pesadol-heavy-metals.htm>

Lokeshappa, B., Shivpuri, K., Tripathi, V., Dikshit, A.K., Assessment of toxic metals in agricultural produce, *Food and public Health* 2(1), 24-29, 2012

Maobe, M.A.G., Gatebe, E., Gitu, L. and Rotich, H., Profile of heavy metals in selected medicinal plants used for the treatment of diabetes, malaria and pneumonia in Kisii Region, South west Kenya, *Global Journal of pharmacology*, 6(3), 245-251, 2012

Malizia D., Giuliano A., Ortaggi G. and Masotti A., Common plants as alternative analytical tools to monitor heavy metals in soil. *Chemistry Central Journal* 6(2), S6, 2012

Majid A., Hassan S., Hussain W., Khan A., Hassan A., Khan A., Khan T., Ahmad T. and Rehman M.U., In vitro Approaches of *Primula vulgaris* Leaves and Roots Extraction against Human Pathogenic Bacterial Strains, *World Applied Sciences Journal* 30 (5), 575-580, 2014

Manly B. F. J., *Multivariate Statistical Methods: A Primer*, 3rd edition (Chapman and Hall/CRC), New York, 75-90, 2005

Manganese, U.S. EPA, Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health, TEACH Chemical Summary

Marbaniang D.G., Baruah P., Decruse R., Dkhar E.R., Diengdoh D.F. and Nongpiur C. L., Study of trace metal (Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn And Cd) composition in tea available at shillong, Meghalaya, India, *International Journal of Environmental Protection* 1 (1), 13-21, 2011

Markuš N., *Analiza glavnih komponenti*, 2011

Marengo E., Gennaro M. C., Robotti E., Maiocchi A., Pavese G., Indaco A., Rainero A., Statistical analysis of ground water distribution in Alessandria Province (Piedmont Italy), *Microchemical Journal* 88, 167-177, 2008

McBride M.B., *Environmental chemistry of soils*: Oxford university press; 1994

Mertz W., The essential trace elements, *Science* 213,132-138, 1981

Mehta S., "Pharmacognosy of St. John's Wort". *Pharmaxchange*, 2012

Memon A.A., Memon N., Luthria D.L., Bhangar M.I., Pitafi A.A., Phenolic acids profiling and antioxidant potential of mulberry (*Morus laevigata* W., *Morus nigra* L., *Morus alba* L.) leaves and fruits grown in Pakistan, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 60 (1), 25-32, 2010

Mehes-Smith M., Nkongolo K.K., Narendrula R. And Cholewa E., Mobility of heavy metals in plants and soil: A case study from a mining region in Canada, *American Journal of Environmental Science* 9 (6), 483-493, 2013

Mert Alkis I., Oz S., Atakol A., Yilmaz N., Ertan Anli R. And Atakol O., Investigation of heavy metal concentration in some Turkish wines, *Journal of Food Composition and Analysis* 33, 105-110, 2014

Miclean M., C. Roman, E. Levei, M. Senila, B. Abraham, E. Cordos, Heavy metals availability for plants in a mining area from North-Western Romania, Research Report, INCDO-INOE 2000, Research Institute for Analytical Instrumentation, Romania, 2000

Millaleo R., Reyes-Díaz M., Ivanov A.G., Mora M.L. and Alberdi M., Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 10 (4), 476 – 494, 2010

Micic R.J., Dimitrijevic D.S., Kostic D.A., Stojanovic G.S., Mitic S.S., Mitic M.N., Pavlovic A.N. and Randjelovic S.S., Content of heavy metal in mulberry fruits and their extracts – Correlation analysis, *American Journal of Analytical Chemistry* 4, 674-682, 2013

Momtaz S. and Abdollahi M., An update on pharmacology of Satureja Species: From antioxidant, antimicrobial, antidiabetes and anti-hyperlipidemic to reproductive stimulation, *International Journal of Pharmacology* 6 (4), 454-461, 2010

Moses A.G.M., Erastus G., Gitu L. and Rotich H., Profile of heavy metals in selected medicinal plants used for the treatment of diabetes, malaria and pneumonia in Kisii Region, Southwest Kenya, *Global Journal of Pharmacology* 6 (3), 245-251, 2012

Mtunzi F., Muleya1 E., Modise J., Sipamla A. and Dikio E., Heavy metals content of some medicinal plants from Kwazulu-Natal, South Africa, *Pakistan Journal of Nutrition* 11 (9), 757-761, 2012

National Academy of Sciences: Dietary Reference Intakes (1998, 2000, 2001, and 2002)

Natural Resources Conservation Service (NRCS), United States Department of Agriculture, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CAOF>

Natural History Museum: *Primula vulgaris*

Naughton D.P. and Petroczi A., Heavy metal ions in wines: meta-analysis of target hazard quotients reveal health risks, *Chemistry Central Journal* 2, 22, 2008

Naithani V., Pathak N. and Chaudhary M., Evaluation of heavy metals in two major ingredients of Ampucare, *International Journal of Pharmaceutical Science and Drug Research* 2 (2), 137-141, 2010

NCRS, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CRLA80>

NCSR, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=COMA21>

NCRS, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PRSP>

NCSR, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ROCA3>

NCSR, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MONI>

Nicholas D.J.D., Minor mineral nutrients, *Annual Review of Plant Physiology* 12, 63-89, 1961

Nielsen G.D., Soderberg U., Jorgensen P.J., Templeton D.M., Rasmussen S.N., Andersen K.E., Grandjean P., Absorption and retention of nickel from drinking water in relation to food intake and nickel sensitivity, *Toxicology and Applied Pharmacology* 154, 67, 1999

Nikkhah E., Khayami M. and Heidari R., In vitro screening for antioxidant activity and cancer suppressive effect of Blackberry (*Morus nigra*), *International Journal of Clinical Practice*, 2012

Niaz, A., Ullah, N., Rehman, A., Ahmed, I., Ikhlag, M. and Rehman, H.U., Pollution based study of heavy metals in some selected medicinal plants by dry digestion method, *International Journal of Pharma Sciences and Research* 4 (2), 17-24, 2013

Novacek G., Plummer-Vinson syndrome, *Orphanet Journal of rare diseases* 1, 36, 2006

Nookabkaew S., Rangkadilok N., Satayavivad J., Determination of Trace Elements in Herbal Tea Products and Their Infuss Consumed in Thailand, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 6939–6944, 2006

Nriagu J., *Zinc Toxicity in Humans*, Elsevier, 2007

Oberg K, Rolling L, Oberg C., Selection of essential oil components to inhibit *Candida* without affecting normal microbiota. *The Journal of the Utah Academy of Sciences, Arts and Letters*, 82, 60-72, 2005

Ognjanov V., *Biodiverzitet i genetička dobit od selekcije duda (Morus sp.)*, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad 2013

Okoh O.O., Sadimenko A.P., Asekun O.T and Afolayan A.J, The effects of drying on the chemical components of essential oils of *Calendula officinalis* L., *African Journal of Biotechnology* 7 (10), 1500-1502, 2008

Okunola O.J., Uzairu A. and Ndukwe G., Levels of trace metals in soil and vegetation along major and minor roads in metropolitan city of kaduna, Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 6 (14), 1703-1709, 2007

Olatunji K.J., Heavy metal contamination of plants and soil in itakpe iron ore deposit area of Kogi state, Nigeria, *Environmental Research Journal* 2 (3), 122-124, 2008

Olalla M., Fernaández J., Cabrera C., Navarro M., Gimeanez R., and Loa Pez M.C., Nutritional study of copper and zinc in grapes and commercial grape juices from Spain, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 2715–2720, 2004

Opaluwa O.D., Aremu M.O., Ogbo L.O., Abiola K.A., Odbila I.E., Abubakar M.M. and Nweze N.O., Heavy metal concentration in soils, plant leaves and crops grown around dump sites in Lafia Metropolis, Nasarawa State, Nigeria, *Advances in Applied Science Research* 3 (2), 780-784, 2012

Orhan D. D., Ozcelik B., Hosbas S. and Vural M., Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi, *Turkish Journal of Biology* 36, 672-686, 2012

Ouyang Y., Evaluation of river water quality monitoring stations by principal component analysis, *Water Research* 39 (12), 2621–2635, 2005

Pehluvan M., Karlidag H. and Turan M. Heavy metal levels of mulberry (*morus alba* L.) grown at different distances from the roadsides, *The Journal of Animal & Plant Sciences* 22 (3), 665-670, 2012

Pepeljnjak S., Stanic G. and Potocki P., Antimicrobial activity of ethanolic extracts of *Satureja montana*, *Acta Pharmaceutica* 49, 65–69, 1999

Peter, K.V., Growth habit of wild oregano populations, *Handbook of herbs and spices*, Volume 2, Abington Hall, Abington: Woodhead Publishing Limited, 219, 2004

Peric-Grujic A., Ristic M., Određivanje sadržaja teških metala u čajevima sa tržišta u Beogradu, Srbija. *Hemijska Industrija* 63 (5), 433-436, 2009

Pehluvan M., Karlidag H. and Turan M., Heavy metal levels of mulberry (*morus alba* L.) grown at different distances from the roadsides, *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 22 (3), 665-670, 2012

Pirbalouti A.G., Yousefi M., Heshmetollah N., Karimi I., Koochpayeh A., Evaluation of burn healing properties of *Arnebia euchroma* and *Malva sylvestris*, *Electron Journal of Biology* 5, 62-66, 2009

Pinto D., Fernandes A., Fernandes R., Mendes I., Pereira S., Vinha A., Herdeiro T., Santos E. and Machado M., Determination of heavy metals and other indicators in waters, soils and medicinal plants from Ave valley, in Portugal, and its correlation to urban and industrial pollution, *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 303-309, 2011

Pirzada J., Shaikh W., Ghani K.U., Laghari K.A., Study of anti fungal activity and some basic elements of medicinal plant *Cressa Cretica* linn against fungi causing skin diseases, *Sindh University. Research. Journal. (Sci. Ser.)* 41, 15–20, 2009

Riffat N.M., Syed Z.H. and Ishafaq N., Heavy metal contamination and accumulation in soil and wild plant species from industrial area of Islamabad, Pakistan, *Pakistan Journal of Botanic* 42 (1), 291-301, 2010

Plum L.M., Rink L. And Haase H., The essential toxin: Impact of zinc on human health, *International Journal of Environmental research and Public Health* 7 (4), 1342-1365, 2010

Pravilnik o deklarisanju i označavanju upakovanih namirnica, Sl. list SCG (br. 4/204, 2/204 i 48/204)

Pravilnik o uslovima u pogledu zdravstvene ispravnosti dijetetskih namirnica koje se mogu stavljati u promet, "Sl. list SFRJ", br. 4/85, 70/86 i 69/91, "Sl. list SCG", br. 56/203 - dr. pravilnik i "Sl. glasnik RS", br. 35/208

Prasad A.S., Clinical manifestations of zinc deficiency, *Annual Reviews Nutrition* 5, 341-363, 1985

Przybylowicz A., Chesy P., Herman M., Parczewski A., Walas S., Piekoszewski W., Examination of distribution of trace elements in hair, fingernails and toenails as alternative biological materials. Application of chemometric methods, *Central European Journal of Chemistry* 10 (5), 1590-1599, 2012

Radojković M., Ekstrakti duda (*Morus spp.*, *Morasceae*), sastav, delovanje i primena, Doktorska disertacija, Tehnološki fakultet Univerzitet u Novom Sadu, 8, 2012

Radulescu C., Stih C., Popescu I., Ionita I., Dulama I.D., Chilian A., Bancuta O.R., Chelarescu E.D. and Let D., Assessment of heavy metals level in some perennial medicinal plants by flame atomic absorption spectrometry, *Romanian Reports in Physics* 65 (1), 246-260, 2013

Radivojevic R., Bashkin V. N., *Practical Environmental Analysis*, The Royal of Chemistry, Cambridge United Kingdom, 1999

Razavi S.M., Zarrini G., Molavi G., Ghasemi G., Bioactivity of *Malva Sylvestris* L., a Medicinal Plant from Iran, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 14, 6, 574-579, 2011

Radanović D., Antić-Mladenović S., Jakovljević M. and Kresovic M., Content of heavy metals in *Gentiana lutea* L. roots and galenic forms, *Journal of Serbian Chemical Society* 72 (2), 133-138, 2007

Razic S., Onjia A., Dogo S., Slavkovic L., Popovic A., Determination of metal content in some herbal drugs - Empirical and chemometric approach, *Talanta* 67, 233-239, 2005

Reimann C., Arnoldussen A., Boyd R., Finne T.E., Koller F., Englmaier P., Element contents in leaves of four plants species (birch, mountain ash, fern and spruce) along anthropogenic and geogenic concentration gradients. *Science of the Total Environment* 377, 426-433, 2007

Rehman A., Iqbal H., Rehman H., Iqbal T., Ullah W., Rauf M.K., Jabbar A., Shagufta B.I., Ullah S. and Ahmad I., Study of heavy metals in medicinal plant *Solanum xanthocarpum*, *International Journal of Science Innovations and Discoveries* 3 (2), 254-260, 2013

Rehman A., Farhan, Iqbal T., Ayaz S. and Rehman H., Investigations of heavy metals in different medicinal plants, *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3 (08), 072-074, 2013

Robert E. Fleming, M.D., and Prem Ponka, Iron overload in human disease, *New England Journal of Medicine* 366, 348-359, 2012

Ruiz-Rodríguez B. M., De Ancos B., Sánchez-Moreno C., Fernández-Ruiz V., De Cortes Sánchez-Mata M., Cámara M., Tardío J., Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants, *Fruits* 69 (1), 61-73, 2014

Ruiz-Rodríguez B. M., De Ancos B., Sánchez-Moreno C., Fernández-Ruiz V., De Cortes Sánchez-Mata M., Cámara M., Tardío J., Wild blackthorn (*Prunus spinosa* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) fruits as valuable sources of antioxidants, *Fruits* 69 (1), 61-73, 2014

Ruggieri N., Castellano M., Capello M., Maggi S., Povero P., Seasonal and spatial variability of water quality parameters in the Port of Genoa, Italy, from 2000 to 2007, *Marine Pollution Bulletin* 62 (2), 340-349, 2011

Rushforth K., *Trees of Britain and Europe*, Collins, 1999

Sakolnik M. Y., *Trace Elements in Plants*, Elsevier, Amsterdam, 1984

Santamaria A.B., Manganese exposure, essentiality & toxicity, *Indian Journal of Medicinal Resource* 128, 484-500, 2008

Sarpong K., Dartey E. and Dapaah H., Assessing concentrations of hazardous metals in medicinal plants from four selected districts in Ashanti region of Ghana, *International Journal of Medicinal Plant Research* 1 (3), 012-019, 2012

Saraf A. and Samant A., Evaluation of some minerals and trace elements in *Achyranthes aspera* Linn., *International Journal of Pharma Sciences* 3 (3), 229-233, 2013



Sahito S.R., Memon M.A., Kazi T.G., Kazi G.H., Evaluation of mineral contents in medicinal plant *Azadirachta indica* (Neem), *Journal of the Chemical Society of Pakistan* 25, 139–143 2003

Salman J.D., Sulaiman I.D., Abd Al-Raziq S.S., Assessment of the Level of Trace Metals in Commonly Edible Vegetables and Fruits of Baghdad City (Iraq), *Ibn Al-Haitham Journal For Pure And Applied Science*, 24 (2), 2011

Schumann K. and Elsenhans B., Iron, In: *Elements and their Compounds in the Environment*, 2nd Ed., Edited by Merian E., Anke M., Ihnat M., Stoepler M., Wiley-VCH, Weinheim, 811-823, 2004

Schiavo D., Neira J. Y., Nóbrega J. A., Direct determination of Cd, Cu and Pb in wines and grape juices by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta* 76 (5), 1113-1118, 2008

Schwalfenberg G., Genuis S.J. and Rodushkin I., The benefits and risks of consuming dekokted tea: Beware of toxic element contamination, *Journal of Toxicology*, 2013

Sembratowicz I., Rusinek E., Ognik K. and Truchliński J., Concentrations of trace elements and heavy metals at selected medicinal plants harvested in two vegetation periods, *Herba Polonica* 55 (1), 2009

Seenivasan S., Manikandan N., Muraleedharan N.N. and Selvasundaram R., Heavy metal content of black teas from south India, *Food Control* 19, 746-749, 1998

Sembratowicz I. and Rusinek-Prystupa E., Effects of dekokting time on the content of minerals in infuss of medicinal herbs, *Polish Journal of Environmental Studies* 23 (1), 177-186, 2014

Shekoohiyan S., Ghoochani M., Mohagheghian A., Mahvi A.H., Yunesian M. and Nazmara S., Determination of lead, cadmium and arsenic in infus tea cultivated in north of Iran, *Iranian Journal of Environmental Health Sciences and Engineering* 9, 37, 2012

Shrestha S., Kazama F., Assessment of surface water quality using multivariate statistical techniques: A case study of the Fuji river basin, Japan, *Environmental Modelling and Software* 22, 464-475, 2007

Shah A., Niaz A., Ullah N., Rehman A., Akhlaq M., Zakir M. and Khan M.S., Comparative study of heavy metals in soil and selected medicinal plants, Hindawi Publishing Corporation, *Journal of Chemistry*, 1-5, 2013

Simeonov V., Stratis J. A., Samara C., Zachariadis G., Voutsas D., Anthemidis A., et al., Assessment of the surface water quality in Northern Greece, *Water Research* 37 (17), 4119-4124, 2003

Singh R., Sing, D.P., Kumar N., Bhargava S.K., Barman S.C., Accumulation and translocation of heavy metals in soil and plants from fly ash contaminated area, *Journal of Environmental Biology* 31, 421–430, 2010

Smirjtkova, S., Ondrasovicova, O., Kaskova, A., Laktiovd, K., The effect of cadmium and lead pollution on human and animal health, *Folia Veterinaria* 49 (3) 531-532, 2005

Smart G, Sherlock J., Chromium in foods and the diet, *Food Additives & Contaminants* 2 (2), 139-147, 1985

Solioz R., Krewski M., Aggett P. i sar., Copper and human health: biochemistry, genetics, and strategies for modeling dose-response relationships, *Journal of Toxicology and Environmental Health B* 10, 157–222, 2007

Sparks D.L., *Environmental soil chemistry*: Academic Press; 2003

SRPS ISO 5725-1:2007, Tačnost (istinitost i preciznost) metoda i rezultata merenja – Deo 1: Opšti principi i definicije

SRPS ISO 5725-2:2007, Tačnost (istinitost i preciznost) metoda i rezultata merenja – Deo 2: Osnovna metoda za određivanje ponovljivosti i reproducibilnosti standardne metode merenja

SRPS ISO 5725-3:2007, Tačnost (istinitost i preciznost) metoda i rezultata merenja – Deo 3: Srednje mere preciznosti standardne metode merenja

SRPS ISO 5725-4:2007, Tačnost (istinitost i preciznost) metoda i rezultata merenja – Deo 4: Osnovne metode merenja

Stern B., *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 10:157–222, 2007

Steinborn M. and Breen J., Heavy metals in soil and vegetation at shallee mine, Silvermines, Co. Tipperary., *Biology and environment: Proceedings of The Royal Irish academy* 99 (1) 37–42, 1999

Street R., Száková J., Drábek O. and Mládková L., The status of micronutrients (Cu, Fe, Mn, Zn) in tea and tea infusions in selected samples imported to the Czech Republic, *Czech Journal of Food Sciences* 24 (2), 62–71, 2006

Stafilov T., Cvetkovic J., Arpadjan S. And Karadjova I., ETAAS determination of some trace elements in wine, *Bau Fen Bil. Enst. Dergisi, Talanta* 58, 935-942. 2002

Stef D.S., Gergen I., Harmanescu M., Stef L., Druga M., Biron R. and Heghedus M.G., Determination of the microelements content of some medicinal herbs, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 15 (1), 163-167, 2009

Stojčevski K., Priručnik za gajenje lekovitog i aromatičnog bilja, Udruženje dr. Jovan Tucakov, Sokobanja, 2011

Stanimirova I., Polowniak M., Skorek R., Kita A., John E., Buhl F., Walczak B., Chemometric analysis of the water purification process data, *Talanta* 74, 153-162, 2007

Stace C., Van der Meijden R. and Kort I., *Malva sylvestris* (Mallow, Common), Interactive Flora of NW Europe, Netherland Biodiversity Information Facility, 2008

Subramanian R., Gayathri S., Rathnavel C. and Raj V., Analysis of mineral and heavy metals in some medicinal plants collected from local market, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, S74-S78, 2012

Svedström U, Vuorela H, Kostianen R, Huovinen K, Laakso I, Hiltunen R., High-performance liquid chromatographic determination of oligomeric procyanidins from dimers up to the hexamer in hawthorn, *Journal of Chromatography A* 968, 53-60, 2002

Szefer P., Nriagu J.O., *Mineral components in foods*: CRC; 206.

Tabaraki R., Z. Yosefi, H. Ali Asadi Gharneh, Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L., *Journal of Research in Agricultural Science* 8 (1), 59 – 68, 2012

Taner M, Kantarjian A, Bhave S, Pandit A., Early introduction of copper-contaminated animal milk feeds as a possible cause of Indian childhood cirrhosis, *Lancet* 2 (8357), 92, 1983

Tannenbaum L.V., Johnson M.S., Bazar M., Application of the Hazard Quotient Method in Remedial Decisions: A Comparison of Human and Ecological Risk Assessments, *Hum Ecol Risk Assess* 9, 387-401, 2003

Tahar K. And Keltoum B., Effects of heavy metals pollution in soil and plant in the industrial area, West Algeria, *Journal of the Korean Chemical Society* 55 (6), 1018-1023, 2011

Teixeira B., Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93 (11), 2707–2714, 2013

Thomson, H.J., Vegetable and fruit intake and the development of cancer: A brief review and analysis, u bioactive foods in promoting health (fruits and vegetables), Elsevier, 37-58, 2010

This P., Lacombe T. and Thomash M., Historical Origins and Genetic Diversity of Wine Grapes, *Trends in Genetics* 22 (9), 511–519, 2006

Tucakov J., Lečenje biljem – Fitoterapija, Izdavačka radna organizacija RAD, Beograd, 1984.

Turker G., Kizilkaya B., N. Cevik and A. Gonuz, Free radical scavenging activity and phenolic content of edible wild fruits from Kazdagi (Ida Mountains), Turkey, *Journal of Medicinal Plants Research* 6 (36), 4989-4994, 2012

Tural S., Koca I., Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey, *Scientia Horticulturae* 116, 362–366, 2008

Tzamaloukas O., Athanasiadou S., Kyriazakis I., Huntley J.F. and Jackson F., The effect of chicory (*Cichorium intybus*) and sulla (*Hedysarum coronarium*) on larval development and mucosal cell responses of growing lambs challenged with *Teladorsagia circumcincta*", *Parasitology* 132 (3), 419–26, 2006

United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ciin>

United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PARH2>

United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, NRCS, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=HYPE>

United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=SAMO6>

United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CORE2>

United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service, <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ORVUG>

Validacija osnovnih načela analitičkih metoda – Katica Lazarević 61-64

Vaikosen E.N. and Alade G.O., Evaluation of pharmacognostical parameters and heavy metals in some locally manufactured herbal drugs, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 3 (2), 88-97, 2011

Varol M., Gokot B., Bekleyen A. and Sen B., Spatial and Temporal Variations in Surface Water Quality of the Dam Reservoirs in the Tigris River Basin, Turkey, *Catena* 92, 11-21, 2012

Wang K, Zhou B, Kuo YM, Zemansky J, Gitschier J., A novel member of a zinc transporter family is defective in acrodermatitis enteropathica, *The American Journal of Human Genetic* 71, 66–73, 2002

WCRF/AICR (World Cancer Research Fund), Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: A global perspective, American Institute for Cancer Research, Washington, 2008.

Wenk M., Todesco L. and Krähenbühl S., Effect of St John's Wort on the activities of CYP1A2, CYP3A4, CYP2D6, N-acetyltransferase 2, and xanthine oxidase in healthy males and females, *British Journal of Clinical Pharmacology* 57 (4), 495-499, 2004

Wink, M., Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective, *Phytochemistry* 64, 3-19, 2003

World Health Organization, International statistical Classification of Diseases and Related health Problems, Volume 1, Geneva, 1992

World Health Organization, Guidelines for Drinking, Water Quality, Second Edition, Health criteria and other Supporting Information, 1998

World Health Organization, Guidelines for Drinking, Water Quality, Second Edition, Health criteria and other Supporting Information, 1998

World Health Organisation, Preventing disease through healthy environments, Exposure To Cadmium: A Major Public Health Concern, 2010, <http://www.who.int/ipcs/features/cadmium.pdf>

World Health Organisation, Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, 30th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Cambridge, U.K.1986; 70

World Health Organisation, Toxicological Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, 3rd Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives: Cambridge, U.K.1989

World Health Organisation, Quality Control methods for medicinal plant materials revised, Geneva, 2005

World Health Organisation, Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. In: Forty-First Report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO, Geneva, Switzerland, Technical Series, 837, 1993

World Health Organisation, Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. In: Sixty-First Report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Geneva, Switzerland, Technical Series, 922, 2004

Woldemariam D.M. and Chandravanshi B.S., Concentration levels of essential and non-essential elements in selected Ethiopian wines, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* 25 (2), 169-180, 2011

Zargari A., *Medicinal Plants*. 6th ed. Tehran University Press, 145-150, 1995

Zazouli M.A., Bandpei A.V.M., Maleki A., Saberian M. and Izanloo H., Determination of cadmium and lead contents in black tea and tea liquor from Iran, *Asian Journal of Chemistry* 22 (2), 1387-1393, 2010

Zogović M. K. i Matović V., Validacija metoda ispitivanja, Festival kvaliteta 2006., Nacionalna konvencija o kvalitetu, Kragujevac, 2006

Yakupoglu D., Güray T., Yurtsever D., Kaya Z., Determination of airborne lead contamination in *Cichorium intybus* L. in an urban environment, *Turkish Journal of Botany* 32, 319-324, 2008

Yaman M., Akdeniz I., Bakidere S., Atici D., Comparison of trace metal concentrations in malign and benign human prostate, *Journal of Medicinal Chemistry* 48, 630-634, 2005

*Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials* (World Health Organization, Geneva, 1998

*Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials* World Health Organization Geneva, 2005

## **8. BIOGRAFIJA SA BIBLIOGRAFIJOM**

Saša S. Randelović je rođena u Nišu, 18.12.1981. godine.

Završila je Osnovnu školu "Ljupče Španac" i gimnaziju "11. Oktobar" sa odličnim uspehom u Beloj Palanci. Školske 2000/2001. godine upisala je studije hemije na Prirodno-matematičkom fakultetu u Nišu. 2005. godine odbranila je diplomski rad, a 10.03.2009. godine odbranila je specijalisički rad.

Školske 2008/2009. godine upisala je doktorske studije na Odseku za hemiju, prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu. Položila je sve planom i programom predviđene ispite. U toku 2005. godine bila je angažovana kao istraživač – saradnik u Laboratoriji za geohemiju, kosmohemiju i astrohemiju kod profesora Pavla Premovića, na Prirodno - matematičkom fakultetu u Nišu.

U periodu od 01.11.2007. god. do 15.08.2011 god. radila je u Institutu za kvalitet radne i životne sredine "1. Maj", kao zamenik odgovornog lica za hemijska ispitivanja i stručni saradnik. Radila je na akreditaciji laboratorije za merenje emisije zagađujućih materija u vazduh, ispitivanje kvaliteta površinskih, podzemnih i otpadnih voda, kao i ispitivanje uslova radne okoline.

Trenutno je zaposlena u Institutu za bezbednost, kvalitet i zaštitu životne sredine i zdravlja "27. Januar" kao Rukovodilac Laboratorije i Odgovorno lice za hemijska ispitivanja.

Posедуje znanje Sistema menadžmenta kvaliteta (QMS) prema seriji standarda SRPS ISO 9000:2001, kao i opštih zahteva za kompetentnost laboratorija za ispitivanje i laboratorija za etaloniranje standard SRPS ISO/IEC 17025:2006. Aktivno učestvuje u organizovanju međulaboratorijskih poređenja, u skladu sa standardima: SRPS ISO/IEC 17043; ISO 13528; SRPS ISO 5725–1 i SRPS ISO 5725 – 2.

Član je komisije za donošenje standarda iz oblasti karakterizacije otpada, Instituta za standardizaciju Srbije.

Udata, majka šestogodišnjeg sina.

Objavljeni radovi u časopisima kategorije M23

1. **Sasa S. Randelovic, Danijela A. Kostic, Biljana B. Arsic, Snezana S. Mitic, Ivana D. Rasic, Milan N. Mitic, Danica S. Dimitrijevic, Gordana S. Stojanovic, Chemometric Analysis of Grapes, Open Chemistry, 2015; 13: 675–682, IF 1,329**
2. **Sasa S Randjelovic, Danijela A Kostic, Gordana S Stojanovic, Snezana S Mitic, Milan N Mitic, Biljana B Arsic, Aleksandra N Pavlovic, Correlation of selected metals content in soil, leaves and edible wild fruits**



from South East Serbia, Central european journal of chemistry, Cent. Eur. J. Chem. (2014) ,12(11) ,1144-1151, IF 1,329

3. Danijela Kostić, Snežana Mitić, Gordana Miletić, Saša Despotović, Aleksandra Zarubica, *Concentrations of Fe, Cu and Zn in Selected Wines from South-East Serbia*, J.Serb.Chem.Soc., (2010) 75 (12) 1701–1709, IF 0,786
4. S. Randjelovic, D Kostic, S. Mitic, A. Zarubica, M. Mitic, **The correlation of metal content in medicinal plants and water their extract**, **Hemijska industrija (2013) 67 (4) 585–591, IF 0,437**
5. D Kostic, S. Mitic, A. Zarubica, M.Mitic, J. Velickovic, S. Randjelovic, *Content of trace metals in medicinal plants and their extracts*, Hemijska industrija (2011) 65 (2) 165–170
6. D. A. Kostic, J.M. Velickovic, S.S. Mitic, M.N. Mitic, S.S. Randjelovic, B.B. Arsic and A.N. Pavlovic, *Correlation among phenolic, toxic metals and antioxidant activity of the extracts of plant species from Southeast Serbia*, Bull. Chem. Soc. Ethiop. (2013), 27(2), 1-10
7. Danijela A Kostic, Jasmina M Velickovic, Snezana S Mitic, Milan N Mitic and Sasa S Randelovic, *Phenolic Content, and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Crateagus Oxyacantha L (Rosaceae) Fruit Extract from Southeast Serbia*, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, (2012) 11 (1): 117-124
8. Danijela A. Kostic, Snezana S. Mitic, Milan N. Mitic, Aleksandra R. Zarubica, Jasmina M. Velickovic, Aleksandra S. Dordevic and Sasa S. Randelovic , *Phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activity of Papaver rhoeas L. extracts from Southeast Serbia*, Journal of Medicinal Plants Research, (2010) ,4(17), 1727-1732
9. Veličković Jasmina M., Kostić Danijela A., Stojanović Gordana S., Mitić Snežana S., Mitić Milan N., Randelović Saša S., Đorđević Aleksandra S., *Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activity of the extracts from Prunus spinosa L. Fruit*, Hemijska industrija, 2013
10. Ružica J. Micić, Danica S. Dimitrijević, Danijela A. Kostić, Gordana S. Stojanović, Snežana S. Mitić, Milan N. Mitić, Aleksandra N. Pavlović, Saša S. Randelović, *Content of heavy metals in mulberry fruits and their extracts, correlation analysis*, American Journal of Analytical chemistry, (2013), 4, 674-682, časopis je na SCI listi ali nema IF

Rad u časopisu Univerziteta u Nišu

- 11. Saša S. Randjelović, Danijela A. Kostić, Biljana B. Arsić, Gordana Stojanović, Bioaccumulation of metals in different species of mulberry, *Advanced technologies* 3(2) (2014) 105-110**

Delovi ove doktorske disertacije objavljeni su u radovima pod rednim brojevima 1- 4 i 11.

Saopštenja:

1. D. A. Kostic, S. S. Mitic, B. C. Radovanovic, S. B. Tomic, A. Petrovic, S.S. Despotovic, I.D. Rasic, Determination of metals in grapes from South-eastern Serbian region by ICP-OES technique, 5<sup>th</sup> Symposium Chemistry and Environmental Protection with International participation, Book of Abstract, 74, Tara, Srbija, 2008
2. D. A. Kostic, S. S. Mitic, S. S. Despotovic, Determination of metals in wine from from South-eastern Serbian region by AAS method, 8<sup>th</sup> Symposium "Novel Technologies and economic development", Book of Abstract, 57, Leskovac, Serbia, 2009
3. D. A. Kostic, S. S. Mitic, S. S. Randjelovic, J. M. Velickovic, Sadržaj fenolnih jedinjenja i antioksidativna aktivnost ekstrakata biljke *Origanum vulgare* L. sa prostora Jugoistočne Srbije, SHD XLVIII savetovanje srpskog hemijskog društva, Kratki izvodi radova, 122, Novi Sad, 2010
4. D. A. Kostic, J. M. Velickovic, S. S. Mitic, M.M. Mitić, S. S. Randjelovic, The content of phenolic compounds, antioxidant and antimicrobial activity of the extracts from *Prunus spinosa* L. fruit from Southeast Serbia habitat, 9<sup>th</sup> Symposium "Novel Technologies and economic development", Book of Abstract, 55, Leskovac, Serbia, 2011



Прилог 1.

### ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

Биоакумулација метала у одабраним врстама воћа и лековитих биљака

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација, ни у целини, ни у деловима, није била предложена за добијање било које дипломе, према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

у Нишу, 10.03.2015. год.

Аутор дисертације: Саша С. Ранђеловић

Потпис докторанда:



Прилог 2.

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ ДОКТОРСКЕ  
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Име и презиме аутора: Саша С. Ранђеловић

Студијски програм: Хемија

Наслов рада: Биоакумулација метала у одабраним врстама воћа и лековитих биљака

Ментор: Данијела А. Костић и Снежана С. Митић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, 10.03.2015. год

Аутор дисертације: Саша С. Ранђеловић

Потпис докторанда:



Прилог 3.

### ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да, у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, унесе моју докторску дисертацију, под насловом: Биоаккумуляција метала у одабраним врстама воћа и пековитих биљака

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да подвучете само једну од шест понуђених лиценци; кратак опис лиценци је у наставку текста).

У Нишу, 10.03.2015. год.

Аутор дисертације: Саша С. Ранђеловић

Потпис докторанда: