

Milica VUČUROVIĆ

Prirodno-matematički fakultet

mvucurovic98@gmail.com

Mentor: prof. dr Slađana Krivokapić

PROCJENA UTICAJA TEŠKIH METALA NA BIOHEMIJSKE PARAMETRE KOD PLODA VRSTE *TRAPA NATANS L.*

UDK 633.88:546.3/.9(282.5)(497.16)(043.2)

Sažetak: U ovom istraživanju ispitivan je sadržaj esencijalnih elemenata (K, Ca, Mg, Cu, Fe, Ni, Zn, Mn, Mo) i teških metala (Cd, Cr, Pb, Co) u egzokarpu, endokarpu novog ploda i egzokarpu starog ploda vrste *Trapa natans L.* sa područja Skadarskog jezera (Crna Gora). Potom je u različitim ekstraktima datih uzoraka određen sadržaj bioaktivnih materija, te vrijednosti antioksidativnog potencijala primjenom DPPH i FRAP testa. Takođe je određena korelacija sadržaja ispitivanih metala sa koncentracijama bioaktivnih materija i vrijednostima antioksidativnog potencijala kako bi se procijenio njihov uticaj na ljekoviti potencijal ploda. Prema dobijenim rezultatima, može se vidjeti da je sadržaj gotovo svih ispitivanih metala u granicama maksimalno dozvoljenih koncentracija (MDK). Registrovane su nešto veće vrijednosti koncentracija analiziranih bioaktivnih materija (TPC, TFC, TTC), a primjetno je variranje njihove koncentracije u zavisnosti od vrste rastvarača i vrste ispitivanog uzorka. Maksimalna koncentracija fenola zabilježena je u etanolnom ekstraktu (387 mgGAE/g suve materije), a flavonoida u metanolnom ekstraktu egzokarpa starog ploda (34,48 µgQuE/g suve materije). Najveći sadržaj tanina je registrovan u metanolnom ekstraktu egzokarpa novog ploda (829,44 µgTAE/g suve materije). Uzorci koji su imali visok sadržaj ovih metabolita pokazali su i jaku antioksidativnu aktivnost. Visoke vrijednosti antioksidativnog potencijala zabilježene su kod metanolnog i etanolnog ekstrakta egzokarpa novog ploda, kao i etanolnog ekstrakta starog ploda, pa shodno tome ovi ekstrakti predstavljaju dobar izvor antioksidativnih jedinjenja.

Ključne riječi: *Trapa natans L.*, teški metali, fenoli, flavonoidi, tanini, antioksidativna aktivnost

UVOD

Priroda je sama po sebi „prodavnica“ lijekova za prevenciju i liječenje gotovo svih ljudskih bolesti (Shalabh i sar., 2012). Prema Međunarodnom sistemu lijekova, određene biljne vrste ili neki njihovi dijelovi se tradicionalno koriste u različite ljekovite svrhe (Chandana i sar., 2013).

Vrsta *Trapa natans L.* se smatra jednom od najznačajnijih ljekovitih biljaka indijske ajurvede (alternativne medicine) (Adkar i sar., 2014). Pored toga što se u ljekovite svrhe koristi kao cijela biljka, nesporne su i ljekovite vrijednosti njenog ploda (Rahman i sar., 2001).

Plod se koristi u mnogim ajurvedskim preparatima kao hranljiva materija, adstringent, diuretik, afrodisijak i tonik protiv dijareje. Koristi se i kod anemije, žučnih infekcija, zapaljenja, upale grla, bronhitisa, lepre, lumbaga, preloma i umora (Nadkarni, 1994, Rahman i sar., 2001; Kirtikar i Basu, 2006; Shalabh i sar., 2012; Aidew i Buragohain, 2014). Poznato je da se plodovi upotrebljavaju u pripremi linimenata za liječenje reumatizma, čireva i opekotina od sunca (Aidew i Buragohain, 2014). Štaviše, prijavljeno je da posjeduje svojstva za prevenciju raka (*Council of Scientific and Industrial Research*). Sok od ploda se koristi kod dijareje i dizenterije (Vuorela i Alto, 1982).

Zahvaljujući prisustvu bioaktivnih jedinjenja, poput fenola, flavonoida i tannina, plodu se pripisuje i farmakološki značaj (Ćorović i sar., 2021). Međutim, treba imati u vidu da je životna sredina sve više zagađena teškim metalima, te da se njihovo prisustvo može odraziti na sadržaj bioaktivnih materija i antioksidativnu aktivnost kod ploda ove vrste.

Teški metali su prirodni sastojci Zemljine kore, ali su nekontrolisane ljudske aktivnosti drastično izmijenile njihove geohemijske cikluse i biohemijsku ravnotežu. To dovodi do akumulacije metala u dijelovima biljaka koji sadrže sekundarne metabolite, odgovorne za određenu farmakološku aktivnost (Singh i sar., 2011).

Aerobni organizmi su izloženi formiranju reaktivnih vrsta kiseonika (ROS). Ove nepotpune redukovane vrste kiseonika su toksični nusprodukti koji se neprekidno stvaraju na niskom nivou tokom normalnih metaboličkih procesa (Arora i dr., 2002; Michalak, 2006). Ali u biološkim sistemima, povećanje sinteze ROS-a je jedan od početnih odgovora na različite faktore stresa (Singh i Sinha, 2005). Dodatne količine ROS-a se javljaju pod stresnim uslovima kao što su napadi patogena, ranjavanja, UV-svjetlost, teški metali itd. (Wojtaszek, 1997; Michalak, 2006).

Ljekovite biljke su glavni izvor antioksidativnih supstanci koje sprečavaju oksidativni stres izazvan reaktivnim vrstama kiseonika. Opšte je prihvaćeno da ROS izaziva oksidativni stres prouzrokujući uništavanje ćelija što dovodi do pojave različitih bolesti kod ljudi kao što su: poremećaji centralnog nervnog sistema, metastatski karcinom, problemi sa artritisom, kao i starenje. Biljna antioksidativna jedinjenja su efikasna protiv štetnog dejstva ROS-a. Uslijed prisustva aktivnih metabolita, terapijske biljke imaju veliki značaj u liječenju raznih bolesti (Riaz i sar., 2016; Selle i sar., 2012).

Ekstrakt voća/plodova vrste *Trapa natans L.*, zahvaljujući svojoj sposobnosti uklanjanja radikala, može da obezbijedi zaštitu od oksidativnog oštećenja (Malviya, i sar., 2010).

Prema istraživanju Aidewa i Buragohainaa, kora i plod vrste *Trapa natans* posjeduju snažno antimikobakterijsko i antioksidativno djelovanje. Plod se od davnina koristi u medicini, ali se kora smatrala otpadnim materijalom. Sa visokim sadržajem fenola i flavonoida, kora bi mogla biti potencijalni izvor antimikobakterijskih i antioksidativnih jedinjenja (Aidew i Buragohain, 2014).

Ciljevi ovog istraživanja obuhvataju određivanje sadržaja esencijalnih elemenata (K, Ca, Mg, Cu, Fe, Ni, Zn, Mn, Mo) i teških metala (Cd, Cr, Pb, Co) u egzokarpu i endokarpu novog ploda i egzokarpu starog ploda vrste *Trapa natans L.* sa područja Skadarskog jezera, određivanje sadržaja bioaktivnih materija (fenola, flavonoida i tanina) u metanolnom, etanolnom i vodenom ekstraktu datih uzoraka ploda ispitivane vrste, određivanje antioksidativne aktivnosti pomenutih ekstrakata primjenom različitih testova (DPPH i FRAP test), utvrđivanje najefikasnijeg rastvarača za ekstrakciju uzoraka ploda analizirane vrste, procjenu dobijenih vrijednosti koncentracija ispitivanih esencijalnih i teških metala radi mogućnosti primjene ploda u ishrani i u ljekovite svrhe, procjenu dobijenih vrijednosti antioksidativnog potencijala i koncentracija bioaktivnih materija radi farmakološke primjene ploda i određivanje korelacije sadržaja analiziranih metala sa koncentracijama bioaktivnih materija i vrijednostima antioksidativnog potencijala radi utvrđivanja njihovog uticaja na ljekoviti potencijal ploda vrste *Trapa natans L.*

METODE

Postupak sakupljanja plodova vrste *Trapa natans L.*

Plodovi vrste *Trapa natans L.* su sakupljeni početkom jeseni 2021. godine sa područja Skadarskog jezera u Crnoj Gori. Prikupljeni uzorci su u polietilenskim vrećama preneseni do laboratorije za fiziologiju biljaka na Prirodno-matematičkom fakultetu u Podgorici, gdje su odrađene potrebne analize.

Priprema uzoraka za analizu

U laboratoriji uzorci su detaljno isprani vodom sa česme, a potom su ostavljeni da se malo osuše na sobnoj temperaturi. Izvršeno je razvrstavanje uzoraka na nove i stare (šuplje) plodove. Kod novih plodova ručno je izdvojen unutrašnji sloj, endokarp. Nakon sušenja na sobnoj temperaturi, sva tri uzorka (ezgokarp i endokarp novih plodova i egzokarp starih plodova) su pojedinačno usitnjena u avanu sa tučkom, a potom u električnom blenderu.

Ekstrakcija uzoraka

Uzorci u prahu od po 30 g su estrahovani sa 150 ml metanola/etanola/destilovane vode u trajanju od 72 h. U tom vremenskom periodu uzorci su macerirani na sva-

ka 24 h, nakon čega su ostavljeni da odstoje u avanima prekrivenim providnom folijom radi sprečavanja procesa isparavanja.

Poslije 72 h, uzorci su procijeđeni pomoću filter papira. Filtrati su uparavani u vodenom kupatilu na temperaturi od 80 °C. Dobijeni ekstrakti su iz staklenih čaša prebačeni u plastične čaše i ependorf tube koje su ostavljene u frižideru za pripremu štok uzoraka.

Priprema štok uzoraka

Za pripremu jednog štok uzorka izmjereno je 0,01 g određenog ekstrakta koji je u toj količini rastvoren u 10 ml metanola. Ukupno je napravljeno devet štok uzoraka koncentracije 1 mg/ml. Svi štok uzorci su u malim staklenim bočicama (10 ml) čuvani u frižideru do pripreme uzoraka (reakcionih smješa) u svrhu određivanja sadržaja fenola, flavonoida, tanina i antioksidativne aktivnosti.

Određivanje ukupnog sadržaja fenola

Ukupan sadržaj fenola u ekstraktima plodova vrste *Trapa natans L.* određen je *Folin-Ciocalteu* kolorimetrijskom metodom prema: Singleton i Rossi (1965). Za pripremu uzorka u staklenu epruvetu dodato je 1 ml određenog štok uzorka, zatim 0,5 ml *Folin Ciocalteu* reagensa i 2,5 ml 7,5% rastvora natrijum-karbonata. Ukupno je pripremljeno dvadeset sedam staklenih epruveta, odnosno, devet uzoraka u tri ponavljanja. Uzorci su ostavljeni da odstoje na tamnom mjestu u vremenskom periodu od 120 minuta. Po isteku tog vremena, odrađeno je očitavanje apsorbanci pomoću spektrofotometra na talasnoj dužini od 740 nm. Koncentracija ukupnih fenola izražena je prema kalibracionoj krivoj standarda galne kiseline kao mg ekvivalenata galne kiseline po g suve materije (mg GA/ g suve materije).

Određivanje ukupnog sadržaja flavonoida

Sadržaj ukupnih flavonoida u ekstraktima plodova ispitivane vrste određen je aluminijum-hlorid kolorimetrijskom metodom prema Shams Ardekani i sar. (2011) uz određene modifikacije. Za određivanje sadržaja ukupnih flavonoida svi uzorci su napravljeni i analizirani u tri ponavljanja tako što je dodato 1,2 ml određenog štok uzorka i 1,2 ml 2% rastvora aluminijum-hlorida. Pripremljeni uzorci su inkubirani 60 minuta na sobnoj temperaturi, nakon čega je očitana apsorbancia pomoću spektrofotometra pri talasnoj dužini od 420 nm. Sadržaj ukupnih flavonoida izražen je kao mikrogram po gramu ekvivalenta kvercetina ($\mu\text{g/gQuE}$).

Određivanje ukupnog sadržaja tanina

Ukupan sadržaj tanina u ekstraktima plodova vrste *Trapa natans L.* određen je primjenom modifikovane metode prema Price i Butleru (1977). Sadržaj ukupnih tanina ispitan je u uzorcima koji su pripremljeni miješanjem 500 μl određenog štok uzorka, 8 ml destilovane vode, 0,5 ml 0,1M gvožđe (III)-hlorida i 0,5 ml 0,008 kalijum-fericijanida.

Slijepa proba je pripremljena na isti način ali bez dodavanja štok uzorka. Nakon pripreme, uzorci su ostavljeni 10 minuta na sobnoj temperaturi, a potom je uz slijepu probu očitana njihova apsorbancija pomoću spektrofotometra na talasnoj dužini od 720 nm. Svi uzorci su odrađeni u tri ponavljanja. Sadržaj ukupnih tanina izražen je kao mikrogram po gramu ekvivalenta taninske kiseline ($\mu\text{g/gTAE}$).

Antioksidativna aktivnost – DPPH test

Određivanje antioksidativnog potencijala primjenom DPPH testa vršeno je prema Shimada i sar. (1992). Po principu serijskog razblaživanja od uzorka koncentracije 1000 $\mu\text{g/ml}$ pripremljene su ostale koncentracije uzorka od 500 $\mu\text{g/ml}$, 250 $\mu\text{g/ml}$, 125 $\mu\text{g/ml}$, 62,5 $\mu\text{g/ml}$, 31,25 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$ i 7,5 $\mu\text{g/ml}$. Reakciona smješa je pripremljena miješanjem 3 ml rastvora određene koncentracije i 1 ml metanolnog rastvora DPPH. Dobijeni rastvori uzorka su ostavljeni na tamnom mjestu 30 minuta na sobnoj temperaturi. Kontrola je napravljena miješanjem 1 ml metanolnog rastvora DPPH i 3 ml metanola. Na spektrofotometru je očitana apsorbancija slijepa probe (3 ml metanola), kontrole i pripremljenih rastvora različitih koncentracija na talasnoj dužini od 517 nm. Mjerenje je vršeno u tri ponavljanja, a potom je prema formuli izračunat procenat antioksidativne aktivnosti (%AA) svih uzoraka u koncentracijama od 1000 $\mu\text{g/ml}$ do 7,5 $\mu\text{g/ml}$. Rezultati su prikazani kao vrijednosti IC_{50} .

$$\text{Procenat antioksidativne aktivnosti, \%AA} = \frac{(A_o - A_1)}{A_o} \times 100$$

A_o – apsorbancija kontrole
 A_1 – apsorbancija uzorka (standarda) određene koncentracije

Antioksidativna aktivnost – FRAP test

Antioksidativna aktivnost određena je primjenom FRAP testa prema Benzie i Strain (1996). Uzorci su pripremljeni miješanjem 3000 μl (3 ml) FRAP reagensa, 1000 μl (1 ml) destilovane vode i 100 μl određenog štok uzorka. Za pripremu slijepa probe umjesto 100 μl štok uzorka dodata je destilovana voda u istoj količini. Pripremljeni uzorci i slijepa proba su stavljeni u termostat na 37 °C u vremenskom period od 15 minuta. Po isteku tog vremena, sve epruvete su izvađene iz termostata i ostavljene još 5 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon toga očitana je apsorbancija pomoću spektrofotometra pri talasnoj dužini od 595 nm. Svi uzorci su pripremljeni i mjereni u tri ponavljanja.

Konačna apsorbancija za sve uzorke je izračunata oduzimanjem apsorbance slijepa probe od njihovih dobijenih apsorbanci. Dobijene vrijednosti su izražene kao $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ u 1 ml uzorka.

$$\text{Apsorbancija uzorka} = \text{apsorbancija uzorka} - \text{apsorbancija slijepa probe}$$

Određivanje koncentracije ispitivanih metala primjenom tehnike induktivno spregnute plazme u uzorcima ploda vrste *Trapa natans L.*

U Institutu za javno zdravlje je u pripremljenim uzorcima u prahu (5 g) određen sadržaj ispitivanih makroelemenata (K, Ca, Mg), mikroelemenata (Cu, Fe, Ni, Zn, Mn, Mo) i teških metala (Cd, Cr, Pb, Co) primjenom tehnike indukovanu kopulovane plazme (ICP-OES) na aparatu proizvođača *Spectro Arcos*.

REZULTATI

Sadržaj esencijalnih elemenata u plodu vrste *Trapa natans L.*

Rezultati određivanja sadržaja makroelemenata: K, Ca, Mg i mikroelemenata: Cu, Fe, Ni, Zn, Mn, Mo u egzokarpu i endokarpu novog ploda, kao i egzokarpu starog ploda vrste *Trapa natans L.* sa područja Skadarskog jezera (Crna Gora) predstavljeni su u Tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj ispitivanih esencijalnih elemenata u plodu (*Trapa natans L.*)

Koncentracije ispitivanih makroelemenata i mikroelemenata u mg/kg									
Uzorci	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Ni	Zn	Mn	Mo
Egzokarp - novi	1039,62	4362,88	392,92	1,97	5607,45	2,05	4,98	76,80	2,36
Endokarp - novi	3453,07	853,23	1138,13	3,55	65,25	1,39	18,73	6,91	1,56
Egzokarp - stari	202,50	6220,00	611,84	2,21	8944,80	5,22	7,03	99,53	<0.005

U egzokarpu novog ploda, koncentracije makroelemenata opadaju prema prikazanom nizu: Ca>K>Mg. U endokarpu novog ploda opadajući niz je sljedeći: K>Mg>Ca. Kod egzokarpa starog ploda, koncentracija makroelemenata se smanjuje sledećim redosljedom: Ca>Mg>K.

Sadržaj mikroelemenata u ispitivanim uzorcima ima sledeći opadajući trend: egzokarp novog ploda: Fe>Mn>Zn>Mo>Ni>Cu; endokarp novog ploda: Fe>Zn>Mn>Cu>Mo>Ni; egzokarp starog ploda: Fe>Mn>Zn>Ni>Cu>Mo.

Sadržaj teških metala u plodu vrste *Trapa natans L.*

Rezultati određivanja sadržaja teških metala: Cd, Cr, Pb, Co u egzokarpu i endokarpu novog ploda i egzokarpu starog ploda ispitivane vrste prikazani su u Tabeli 2.

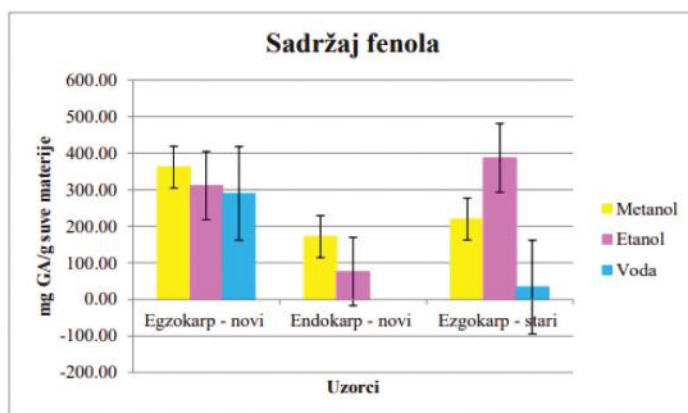
Tabela 2. Sadržaj ispitivanih teških metala u plodu (*Trapa natans L.*)

Koncentracije ispitivanih teških metala u mg/kg				
Uzorci	Cd	Cr	Pb	Co
Egzokarp - novi	<0.005	1,97	<0.01	0,75
Endokarp - novi	<0.005	0,34	<0.01	0,29
Egzokarp -stari	<0.005	6,88	<0.01	1,14

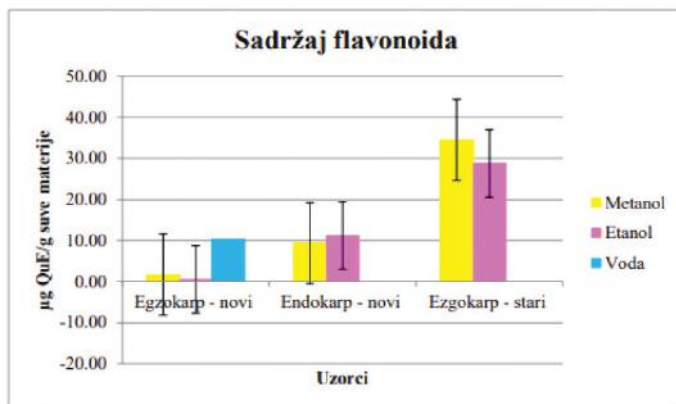
Minimalne vrijednosti koncentracije teških metala u svim analiziranim uzorcima registrovane su za Cd (<0,005 mg/kg) i Pb (<0,01 mg/kg). Maksimalne koncentracije Cr i Co zabilježene su u egzokarpu starog ploda (6,88 mg/kg; 1,14 mg/kg), a minimalne u endokarpu novog ploda (0,34 mg/kg; 0,29 mg/kg). Sadržaj analiziranih teških metala u svim ispitivanim uzorcima ploda kasaronje opada sledećim redosljedom: Cr>Co>Pb>Cd.

Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i tanina u plodu vrste *Trapa natans L.*

Ukupan sadržaj fenola, flavonoida i tanina određen je u različitim ekstraktima egzokarpa novog ploda, endokarpa novog ploda i egzokarpa starog ploda ispitivane vrste. Dobijeni rezultati su predstavljeni na Graficima 1, 2. i 3. Koncentracija analiziranih bioaktivnih jedinjenja u svim ispitivanim ekstraktima prikazana je kao srednja vrijednost izračunata za tri ponavljanja.

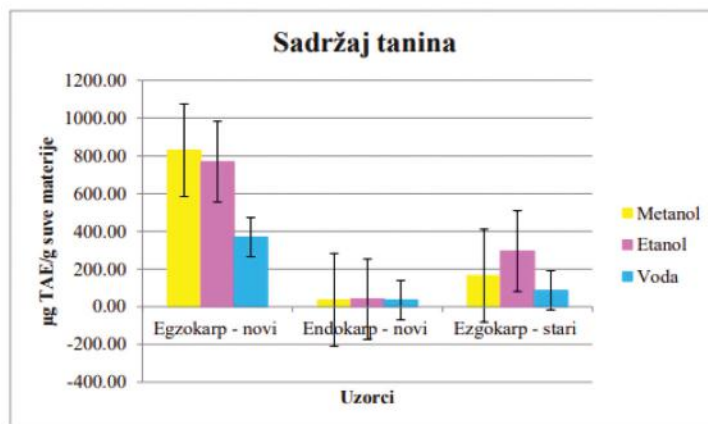
**Grafik 1.** Koncentracija ukupnih fenola u različitim ekstraktima ispitivanih uzoraka ploda vrste *Trapa natans L.*

Dobijene vrijednosti ukazuju da je najveća koncentracija fenola zastupljena u etanolnom ekstraktu egzokarpa starog ploda (387 mgGAE/g suve materije), a najmanja u vodenom ekstraktu istog uzorka (33,44 mgGAE/g suve materije). Koncentraciju fenola u vodenom ekstraktu endokarpa novog ploda nije bilo moguće odrediti zbog niske vrijednosti apsorbance ovog ekstrakata.



Grafik 2. Koncentracija ukupnih flavonoida u različitim ekstraktima analiziranih uzoraka ploda vrste *Trapa natans L.*

Pregledom dobijenih rezultata može se zapaziti da je najveća koncentracija flavonoida registrovana u metanolnom ekstraktu egzokarapa starog ploda (34,48 µgQuE/g suve materije), a najmanja u etanolnom ekstraktu egzokarapa novog ploda (0,56 µgQuE/g suve materije). Koncentracije flavonoida u vodenim ekstraktima endokarapa novog ploda i egzokarapa starog ploda nije bilo moguće odrediti jer su pomenuti ekstrakti pokazivali niske vrijednosti apsorbance.



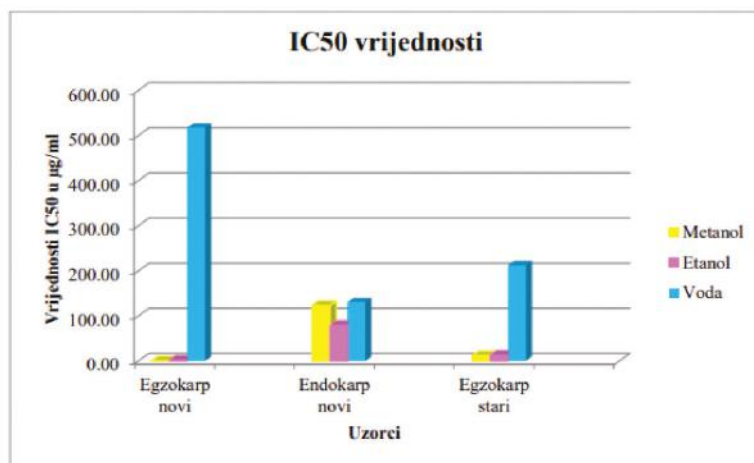
Grafik 3. Koncentracija ukupnih tanina u različitim ekstraktima analiziranih uzoraka ploda vrste *Trapa natans L.*

Dobijene vrijednosti sa grafika ukazuju da je najveća koncentracija tanina zastupljena u metanolnom ekstraktu egzokarapa novog ploda (829,44 µgTAE/g suve materije), a najmanja u vodenom ekstraktu endokarapa (34,77 µgTAE/g suve materije). Određivanjem sadržaja tanina u različitim ekstraktima ispitivanih uzoraka, ustanovljeno je da je da su visoke koncentracije ovih jedinjenja prisutne u metanolnom (829,44 mgGAE/g suve materije) i etanolnom ekstraktu (768,89

$\mu\text{gTAE/g}$ suve materije) egzokarpa novog ploda. Kod sva tri analizirana ekstrakta endokarpa registrovane su niže koncentracije tanina u odnosu na iste ekstrakte egzokarpa novog i starog ploda.

Antioksidativna aktivnost – DPPH i FRAP

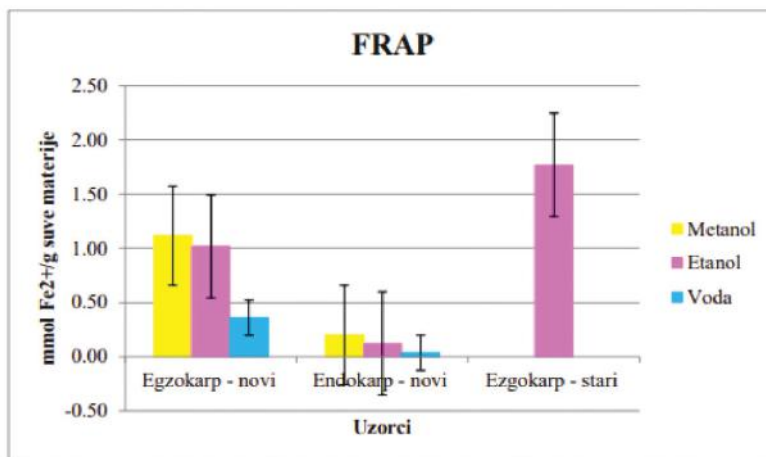
Antioksidativna aktivnost analiziranih ekstrakta ispitivane vrste je određena pri-mjenom DPPH i FRAP testa. Dobijeni rezultati prikazani su na Graficima 4 i 5.



Grafik 4. Dobijene IC_{50} vrijednosti za različite ekstrakte ispitivanih uzoraka vrste *Trapa natans L.*

Na osnovu dobijenih rezultata, može se vidjeti da su najveću antioksidativnu aktivnost pokazali metanolni i etanolni ekstrakt egzokarpa novog ploda. Nešto slabiju antioksidativnu aktivnost imali su isti ekstrakti egzokarpa starog ploda. Zabilježene IC_{50} vrijednosti za metanolni (0,10 $\mu\text{g/ml}$) i etanolni ekstrakt (1,77 $\mu\text{g/ml}$) egzokarpa novog ploda, ali i egzokarpa starog ploda (11,73 $\mu\text{g/ml}$, 12,61 $\mu\text{g/ml}$) bile su približnih vrijednosti, te samim tim ovi ekstrakti kod oba egzokarpa ne pokazuju značajniju razliku u jačini antioksidativnog potencijala.

Kod endokarpa novog ploda, zapaža se nešto izraženija razlika u IC_{50} vrijednostima između metanolnog (122,82 $\mu\text{g/ml}$) i etanolnog (79,23 $\mu\text{g/ml}$) ekstrakta. Manja IC_{50} vrijednost etanolnog ekstrakta ukazuje da je ovaj ekstrakt ispoljio jači antioksidativni potencijal u odnosu na metanolni ekstrakt. Ustanovljeno je da je vodeni ekstrakt kod sva tri uzorka imao najveću IC_{50} vrijednost, odnosno, najmanju antioksidativnu aktivnost.



Grafik 5. Prikaz FRAP vrijednosti ekstrakata analiziranih uzoraka ploda vrste *Trapa natans L.*

Prikazani rezultati na grafiku ukazuju da je najveća vrijednost antioksidativnog potencijala registrovana kod etanolnog ekstrakta egzokarpa starog ploda (1,77 mmol), a najmanja kod vodenog ekstrakta endokarpa novog ploda (0,04 mmol).

Korelacija sadržaja metala sa ispitivanim parametrima ploda vrste *Trapa natans L.*

Korelacija između sadržaja metala i ispitivanih parametara u egzokarpu novog ploda

Određene su korelacije sadržaja metala sa ispitivanim parametrima u egzokarpu novog ploda vrste *Trapa natans L.* Dobijeni rezultati prikazani su u Tabelama 3 i 4, pri čemu su sve statistički značajne korelacije označene crnom bojom.

Tabela 3. Pirsonov koeficijent korelacije ($p < 0,05$) za sadržaj metala i bioaktivnih materija u egzokarpu novog ploda vrste *Trapa natans L.*

	TPC(M)	TPC(E)	TPC(V)	TFC(M)	TFC(E)	TFC(V)	TTC(M)	TTC(E)	TTC(V)
K	0.348	0.839	-0.914	-0.078	0.105	0.975	0.710	0.716	0.978
Ca	-0.947	-0.569	-0.378	0.999*	0.991	-0.252	-0.725	-0.720	-0.239
Mg	0.970	0.924	-0.184	-0.866	-0.759	0.737	0.983	0.981	0.727
Cu	-0.789	-0.267	-0.661	0.927	0.980	0.080	-0.458	-0.451	0.094
Fe	-0.064	-0.647	0.992	-0.212	-0.387	-0.869	-0.478	-0.485	-0.876
Ni	-0.970	-0.924	0.185	0.865	0.759	-0.737	-0.983	-0.981	-0.728
Zn	-0.271	0.357	-0.977	0.524	0.671	0.656	0.159	0.167	0.666
Mn	-0.631	-0.044	-0.813	0.820	0.911	0.302	-0.247	-0.239	0.315
Mo	-0.887	-0.987	0.406	0.727	0.589	-0.873	-0.999*	-0.999*	-0.866
Cd	-0.676	-0.982	0.694	0.447	0.277	-0.987	-0.923	-0.926	-0.985
Cr	-0.596	0.000	-0.838	0.794	0.891	0.344	-0.203	-0.196	0.357
Pb	-0.095	-0.670	0.988	-0.181	-0.358	-0.884	-0.505	-0.512	-0.891
Co	0.993	0.866	-0.054	-0.924	-0.838	0.641	0.950	0.947	0.631

*. Korelacija je značajna na nivou od 0,05

Tabela 4. Pirsonov koeficijent korelacije ($p < 0,05$) za sadržaj metala i ispitivanih parametara (DPPH i FRAP) u egzokarpu novog ploda vrste *Trapa natans L.*

	DPPH(M)	DPPH(E)	DPPH(V)	FRAP(M)	FRAP(E)	FRAP(V)
K	0.683	0.991	0.999*	.901	.609	.866
Ca	-0.750	0.108	-0.082	-0.460	-0.811	-0.526
Mg	0.989	0.448	0.609	0.868	0.999*	0.903
Cu	-0.491	0.429	0.250	-0.143	-0.574	-0.217
Fe	-0.445	-0.988	-0.941	-0.738	-0.355	-0.686
Ni	-0.989	-0.449	-0.610	-0.868	-0.999*	-0.903
Zn	0.122	0.881	0.776	0.473	0.024	0.405
Mn	-0.283	0.620	0.461	0.083	-0.375	0.008
Mo	-0.997	-0.642	-0.776	-0.959	-0.984	-0.978
Cd	-0.908	-0.866	-0.945	-0.998*	-0.862	-0.991
Cr	-0.240	0.655	0.500	0.127	-0.334	0.052
Pb	-0.472	-0.992	-0.951	-0.759	-0.384	-0.708
Co	0.961	0.327	0.500	0.795	0.983	0.839

* Korelacija je značajna na nivou od 0,05

Korelacija između sadržaja metala i ispitivanih parametara u endokarpu novog ploda

U Tabelama 5 i 6 su prikazani rezultati korelacione analize između sadržaja metala i ispitivanih parametara u endokarpu novog ploda.

Tabela 5. Pirsonov koeficijent korelacije ($p < 0,05$) za sadržaj metala i bioaktivnih materija u endokarpu novog ploda vrste *Trapa natans L.*

	TPC(M)	TPC(E)	TFC(M)	TFC(E)	TTC(M)	TTC(E)	TTC(V)
K	0.996	0.579	0.110	-0.824	-0.844	-0.265	0.223
Ca	-0.996	-0.579	-0.110	0.824	0.844	0.265	-0.223
Mg	-0.420	-0.996	0.806	-0.079	-0.042	-0.703	0.733
Cu	-0.420	-0.996	0.806	-0.079	-0.042	-0.703	0.733
Fe	0.720	-0.237	0.823	-0.968	-0.958	-0.902	0.883
Ni	-1.000*	-0.482	-0.223	0.884	0.900	0.374	-0.333
Zn	-0.576	0.417	-0.916	0.903	0.886	0.968	-0.956
Mn	-0.996	-0.579	-0.110	0.824	0.844	0.265	-0.223
Mo	0.420	0.996	-0.806	0.079	0.042	0.703	-0.733
Cd	0.970	0.280	0.429	-0.964	-0.973	-0.566	0.530
Cr	0.576	-0.417	0.916	-0.903	-0.886	-0.968	0.956
Pb	0.576	-0.417	0.916	-0.903	-0.886	-0.968	0.956
Co	-0.950	-0.207	-0.496	0.981	0.988	0.626	-0.592

** Korelacija je značajna na nivou od 0,01

Tabela 6. Pirsonov koeficijent korelacije ($p < 0,05$) za sadržaj metala i ispitivanih parametara (DPPH i FRAP) u endokarpu novog ploda vrste *Trapa natans L.*

	DPPH(M)	DPPH(E)	DPPH(V)	FRAP(M)	FRAP(E)	FRAP(V)
K	-0.721	-0.500	-0.961	-0.721	-0.397	-0.982
Ca	0.721	0.500	0.961	0.721	0.397	0.982
Mg	-0.240	-0.500	0.240	-0.240	-0.596	0.655
Cu	-0.240	-0.500	0.240	-0.240	-0.596	0.655
Fe	-0.996	-0.982	-0.839	-0.996	-0.954	-0.500
Ni	0.795	0.596	0.986	0.795	0.500	0.954
Zn	0.961	1.000**	0.721	0.961	0.993	0.327
Mn	0.721	0.500	0.961	0.721	0.397	0.982
Mo	0.240	0.500	-0.240	0.240	0.596	-0.655
Cd	-0.908	-0.756	-0.999*	-0.908	-0.676	-0.866
Cr	-0.961	-1.000**	-0.721	-0.961	-0.993	-0.327
Pb	-0.961	-1.000**	-0.721	-0.961	-0.993	-0.327
Co	0.937	0.803	0.992	0.937	0.729	0.826

*. Korelacija je značajna na nivou od 0,05

** .Korelacija je značajna na nivou od 0,01

Korelacija između sadržaja metala i ispitivanih parametara u egzokarpu starog ploda

Utvrđene su korelacije između sadržaja metala i ispitivanih parametara u egzokarpu starog ploda vrste *Trapa natans L.* Dobijene vrijednosti se mogu vidjeti u Tabelama 7 i 8.

Tabela 7. Pirsonov koeficijent korelacije ($p < 0,05$) za sadržaj metala i bioaktivnih materija u egzokarpu starog ploda vrste *Trapa natans L.*

K	-0.695	0.264	-0.926	-0.940	0.896	0.957	0.610	-0.454
Ca	-0.547	0.077	-0.838	-0.988	0.797	0.885	0.449	-0.277
Mg	-0.695	0.264	-0.926	-0.940	0.896	0.957	0.610	-0.454
Cu	-0.695	0.264	-0.926	-0.940	0.896	0.957	0.610	-0.454
Fe	-0.695	0.264	-0.926	-0.940	0.896	0.957	0.610	-0.454
Ni	-0.695	0.264	-0.926	-0.940	0.896	0.957	0.610	-0.454
Zn	-0.695	0.264	-0.926	-0.940	0.896	0.957	0.610	-0.454
Mn	0.275	-0.703	-0.137	-0.765	0.064	0.227	-0.381	0.545
Mo	0.970	-0.967	0.790	0.175	-0.832	-0.730	-0.991	0.999*
Cd	0.992	-0.932	0.855	0.287	-0.890	-0.803	-1.000*	0.986
Cr	-0.695	0.264	-0.926	-0.940	0.896	0.957	0.610	-0.454
Pb	0.837	-0.997*	0.545	-0.157	-0.605	-0.466	-0.893	0.961
Co	-0.695	0.264	-0.926	-0.940	0.896	0.957	0.610	-0.454

*. Korelacija je značajna na nivou od 0,05

** .Korelacija je značajna na nivou od 0,01

Tabela 8. Pirsonov koeficijent korelacije ($p < 0,05$) za sadržaj metala i ispitivanih parametara (DPPH i FRAP) u egzokarpu starog ploda vrste *Trapa natans L.*

	DPPH(M)	DPPH(E)	DPPH(V)	FRAP(E)
K	0.945	1.000**	0.961	0.662
Ca	0.866	0.982	0.996	0.508
Mg	0.945	1.000**	0.961	0.662
Cu	0.945	1.000**	0.961	0.662
Fe	0.945	1.000**	0.961	0.662
Ni	0.945	1.000**	0.961	0.662
Zn	0.945	1.000**	0.961	0.662
Mn	0.189	0.500	0.721	-0.319
Mo	-0.756	-0.500	-0.240	-0.980
Cd	-0.826	-0.596	-0.350	-0.996
Cr	0.945	1.000**	0.961	0.662
Pb	-0.500	-0.189	0.091	-0.861
Co	0.945	1.000**	0.961	0.662

** . Korelacija je značajna na nivou od 0,01

DISKUSIJA

Analiza sadržaja esencijalnih elemenata pokazala je da postoje variranja u koncentraciji ispitivanih elemenata u zavisnosti od vrste analiziranog uzorka. Ispitivani mikroelementi su biljkama važni i neophodni u malim koncentracijama. Prekomjernim unosom počinju da ispoljavaju svoje toksično dejstvo. Na osnovu dobijenih rezultata, može se zapaziti da su koncentracije gvožđa povišene u egzokarpima (5607,45 mg/kg; 8944,80 mg/kg). Ostali mikroelementi su prisutni u manjim koncentracijama, odnosno, ne prelaze FAO/WHO maksimalno dozvoljenu granicu.

Dobijeni rezultati ukazuju na malu zastupljenost teških metala u egzokarpu novog ploda, endokarpu novog ploda i egzokarpu starog ploda. U naučnoj studiji Krivokapić (2021) ispitan je sadržaj (teških) metala u cijelom plodu vrste *Trapa natans L.* sa Skadarskog jezera (Crna Gora). Rezultati su pokazali da se sadržaj metala u plodu smanjivao prema sledećem nizu: Al>Zn >Cu>Cr>Pb=Cd=Hg=As. Koncentracija hroma bila je veća od koncentracije Pb i Cd, što je u skladu sa rezultatima ovog istraživanja. Međutim, interesantno je napomenuti da je u navedenoj studiji Krivokapić, (2021) koncentracija hroma u cijelom plodu kasaronje (0,30 mg/kg) bila niža od koncentracije ovog metala u pojedinačnim djelovima ploda koji su analizirani u okviru ovog rada (egzokarp novog ploda: 1,97 mg/kg, endokarp novog ploda: 0,34 mg/kg i egzokarp starog ploda: 6,88 mg/kg). Takođe, prema rezultatima naučne studije autora Krivokapić (2021) vrijednosti koncentracija Pb i Cd bile su niže od 0,01 mg/kg. Poređenjem tih vrijednosti sa novim vrijednostima koncentracija Pb i Cd, registrovanih u ovom istraživanju, može se primjetiti da se koncentracija kadmijuma smanjila (<0,005 mg/kg), dok je koncentracija olova ostala ista (<0,01 mg/kg).

Sadržaj ukupnih fenola u egzokarpu novog i starog ploda i endokarpu novog ploda vrste *Trapa natans* L. je varirao u odnosu na tip rastvarača koji je upotrebljen za proces ekstrakcije. Poređenjem analiziranih ekstrakata svakog uzorka pojedinačno, utvrđena je najveća koncentracija fenola u metanolnom ekstraktu egzokarpa novog ploda, metanolnom ekstraktu endokarpa (novi plod) i etanolnom ekstraktu egzokarpa starog ploda. Na osnovu dobijenih vrijednosti fenola, ustanovljeno je da se metanol pokazao kao najbolji rastvarač za ekstrakciju egzokarpa i endokarpa novog ploda, a etanol za ekstrakciju egzokarpa starog ploda. Kod sva tri uzorka voda se pokazala kao najgori rastvarač koji je ekstrahovao najmanju količinu fenola. Koncentracije fenola koje su zabilježene u ekstraktima egzokarpa novog ploda bile su približnih vrijednosti, što bi značilo da ne postoji ogromna razlika u nivou efikasnosti metanola kao najboljeg i vode kao najgoreg rastvarača. Razlike u količini ispitivanih metabolita bile su izraženije kod ekstrakata egzokarpa starog ploda, naročito između etanolnog i vodenog ekstrakta. U ovom slučaju je zapažena značajno velika razlika u stepenu efikasnosti najboljeg i najgoreg rastvarača.

U naučnoj studiji Aidew i Buragohain (2014) ispitan je sadržaj ukupnih fenola u metanolnom (37,45 mg/gGAE) i etanolnom ekstraktu (112,81 mg/gGAE) egzokarpa ploda vrste *Trapa natans* L. sa područja Indije. Pregledom rezultata ove naučne studije može se vidjeti da je veća koncentracija fenola zabilježena u etanolnom ekstraktu, što se pokazalo i prilikom ispitivanja istih ekstrakata egzokarpa starog ploda u ovom radu (metanol: 219,67 mgGAE/g suve materije; etanol: 387,00 mgGAE/g suve materije). Dobijeni rezultati koji pokazuju da je sadržaj fenola veći u metanolnom (362,00 mgGAE/g suve materije) nego u etanolnom (311,44 mgGAE/g suve materije) ekstraktu egzokarpa novog ploda, nisu u skladu sa rezultatima pomenute naučne studije. Takođe, može se vidjeti da su oba ekstrakta egzokarpa novog i starog ploda imali veću količinu fenola nego ekstrakti egzokarpa u istraživanju autora Aidew i Buragohain (2014). Ova naučna studija bavila se i određivanjem sadržaja ukupnih fenola u cijelom plodu (58,78 mg/gGAE) pri čemu je etanol upotrebljen u procesu ekstrakcije. Može se zapaziti da je u etanolnom ekstraktu cijelog ploda zabilježena manja koncentracija fenola u odnosu na etanolne ekstrakte njegovih pojedinačnih dijelova, egzokarpa i endokarpa novog ploda (311,44 mgGAE/g suve materije; 76,11 mgGAE/g suve materije) i egzokarpa starog ploda (387,00 mgGAE/g suve materije), analiziranih u ovom radu.

Sadržaj ukupnih flavonoida se takođe razlikovao u zavisnosti od ispitivanog ekstrakta. S obzirom da se koncentracije flavonoida nisu mogle odrediti u vodenim ekstraktima endokarpa (novi plod) i egzokarpa starog ploda, jasno je da se voda pokazala kao najgori rastvarač za ekstrakciju ovih uzoraka. Međutim, voda je ekstrahovala najveći sadržaj flavonoida kod egzokarpa novog ploda, što je čini najboljim rastvaračem za ekstrakciju pomenutog uzorka. U procesu ekstrakcije endokarpa najbolje se pokazao etanol, dok je kod egzokarpa starog ploda to bio metanol. Ono što je zajedničko za sve ispitivane uzorke jesu veoma približne vrijednosti flavonoida u metanolnim i etanolnim ekstraktima, te je razlika u nivou efikasnosti ova dva rastvarača veoma mala.

Poređenjem svih ispitanih ekstrakata u okviru pojedinačnih uzoraka, utvrđena je najveća koncentracija tanina u metanolnom ekstraktu egzokarpa novog ploda, etanolnom ekstraktu endokarpa (novi plod) i etanolnom ekstraktu egzokarpa starog ploda. Može se zapaziti da se metanol pokazao kao najbolji rastvarač za ekstrakciju egzokarpa novog ploda, dok se etanol pokazao kao najbolji rastvarač za ekstrakciju endokarpa (novi plod) i egzokarpa starog ploda. Kao najgori rastvarač za ekstrakciju sva tri uzorka pokazala se voda s obzirom da su u vodenim ekstraktima registrovane najmanje količine tanina. Dobijene vrijednosti ovih jedinjenja u vodenim ekstraktima egzokarpa novog i starog ploda bile su dosta niže od njihovih maksimalnih vrijednosti, što bi ukazivalo na postojanje veće razlike u stepenu efikasnosti najboljeg i najgoreg rastvarača. Izuzetak je endokarp u čijim su ekstraktima zabilježene veoma približne vrijednosti tanina.

Na osnovu dobijenih DPPH i FRAP vrijednosti analiziranih ekstrakata, ustanovljeno je da su metanolni i etanolni ekstrakt egzokarpa novog ploda i starog ploda pokazali jaku antioksidativnu aktivnost. Ovi rezultati su u skladu sa dobijenim vrijednostima koncentracija fenola i tanina, što znači da je registrovan visok sadržaj ovih metabolita u pomenutim ekstraktima. Određivanjem antioksidativne aktivnosti primjenom ova dva testa, uočene su razlike u dobijenim rezultatima za endokarp. Prema DPPH testu, najveću vrijednost antioksidativnog potencijala imao je etanolni ekstrakt, dok je prema FRAP testu najjaču antioksidativnu aktivnost pokazao metanolni ekstrakt. Analizom ekstrakata endokarpa primjećene su i razlike u koncentracijama biokativnih jedinjenja, fenola i tanina. Najviše fenola zabilježeno je u metanolnom ekstraktu, dok je najviše tanina bilo u etanolnom ekstraktu endokarpa.

S obzirom da je odabir rastvarača imao presudan značaj na dobijene vrijednosti koncentracija bioaktivnih jedinjenja u analiziranim uzorcima, u cilju što detaljnije karakterizacije ploda i njegovog antioksidativnog potencijala, naredna istraživanja bi trebalo usmjeriti u pravcu ispitivanja sadržaja ovih jedinjenja primjenom različitih metoda ekstrakcije. Buduća istraživanja se takođe mogu odnositi na ispitivanje uticaja teških metala na nutritivne vrijednosti ploda vrste *Trapa natans L.*, s obzirom da je poznata njegova upotreba u ishrani na području Crne Gore, a kako terapijski potencijal u tradicionalnoj medicini do sada nije razjašnjen, predlaže se i istraživanje hemijskog profila ploda, kao i niz bioloških testova (citotoksični, antiinflamatorni, antimikrobni, ...).

ZAKLJUČAK

Sadržaj bioaktivnih materija je varirao u zavisnosti od ispitivanog uzorka i rastvarača koji se koristio za proces ekstrakcije. Voda se pokazala kao najgori rastvarač za ekstrakciju uzoraka. Izuzetak je vodeni ekstrakt egzokarpa novog ploda u kojem je registrovana najveća količina flavonoida. Efikasnost metanola i etanola se razlikovala u odnosu na ispitivani uzorak i vrstu metabolita koji su kvantitativno određivani.

Uzorci sa visokim koncentracijama ovih metabolita pokazali su i visoke vrijednosti antioksidativnog potencijala. Najjaču antioksidativnu aktivnost pokazuju metanolni i etanolni ekstrakt egzokarpa novog ploda, kao i etanolni ekstrakt egzokarpa starog ploda, pa shodno tome predstavljaju dobar izvor antioksidativnih jedinjenja koja su poznata po adekvatnom pružanju zaštite od negativnog uticaja slobodnih radikala.

Koncentracije gotovo svih ispitivanih metala su u skladu sa MDK što je od izuzetnog značaja s obzirom na izražene ljekovite vrijednosti ploda i njegovu potencijalnu upotrebu u medicinske i farmaceutske svrhe.

LITERATURA

- Adkar, P., Dongare, A., Ambavade, S., & Bhaskar, V. H. (2014). *Trapa bispinosa Roxb.: a review on nutritional and pharmacological aspects. Advances in pharmacological sciences*, 2014.
- Aidew, L., & Buragohain, A. K. (2014). *Antimycobacterial and antioxidant activities of the fruit of Trapa natans L. var. Bispinosa reveal its therapeutic potential. Am J Phytomed Clin Ther*, 2(10), 1234-1245.
- Ardekani, M. R. S., Hajimahmoodi, M., Oveisi, M. R., Sadeghi, N., Jannat, B., Ranjbar, A. M., ... & Moridi, T. (2011). „Comparative antioxidant activity and total flavonoid content of Persian pomegranate (*Punica granatum L.*) cultivars“. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(3), 519.
- Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, G.C. (2002). *Oxidative stress and antioxidative system in plants. Curr Sci* 82: 1227-1238.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Chandana, M., Mazumder, R., & Chakraborty, G. S. (2013). „A review on potential of plants under Trapa species“. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 3(2), 502-508.
- Corovic, R. C., Bradic, J., Tomovic, M., Dabanovic, V., Jakovljevic, V., Zarkovic, G., & Rogac, Z. (2021). „Chemical Composition and Biological Activity of Trapa Natans L.“ *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*.
- Council of Scientific and Industrial Research (2003). *The Wealth of India, A dictionary of Indian Raw Material and Industrial products*. New Delhi, India: National Institute of Science Communication and Information Resources (CSIR); Vol.X, pp. 275-276
- Kirtikar, K. R., & Basu, B. D. (2006). *Indian Medicinal Plants*, Vol. II. Uttaranchal. India: International Book Distributors.
- Krivokapić, M. (2021). *Study on the evaluation of (Heavy) metals in water and sediment of skadar lake (montenegro), with bcf assessment and translocation ability (ta) by trapa natans and a review of sdgs. Water*, 13(6), 876.
- Malviya, N., Jain, S., Jain, A., Jain, S., & Gurjar, R. (2010). *Evaluation of in vitro antioxidant potential of aqueous extract of Trapa natans L. fruits. Acta Poloniae Pharmaceutica*, 67(4), 391-396.
- Michalak, A. (2006). *Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. Pol J Environ Stud* 15:523–530.
- Nadkarni, K.M. *Indian Materia Medica* (1994). Vol I. Mumbai: Bombay popular prakashan Pvt. Ltd.
- Price, M. L., & Butler, L. G. (1977). „Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain“. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 25(6), 1268-1273.
- Rahman, M. M., Wahed, M. I. I., Biswas, M. H. U., Sadik, G. M. G., & Haque, M. E. (2001). *In vitro antibacterial activity of the compounds of Trapa bispinosa Roxb.*

- Riaz, M., Mahmood, Z., Shahid, M., Saeed, M. U. Q., Tahir, I. M., Shah, S. A., ... & ElGhorab, A. (2016). „Impact of reactive oxygen species on antioxidant capacity of male reproductive system“. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 29(3), 421-425.
- Selle, P. H., Cowieson, A. J., Cowieson, N. P., & Ravindran, V. (2012). „Protein–phytate interactions in pig and poultry nutrition: a reappraisal“. *Nutrition research reviews*, 25(1), 1-17.
- Singh S, Sinha S (2005). *Accumulation of metals and its effects in Brassica juncea (L.) Czern (cv. Rohini) grown on various amendments of tannery waste*. *Ecotoxicol Environ Saf* 62: 118-127.
- Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., & Gupta, R. (2011). „Heavy metals and living systems: An overview“. *Indian journal of pharmacology*, 43(3), 246–253.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). „Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents“. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Shalabh, B., Akash, J., & Jasmine, C. (2012). *Trapa natans (Water Chestnut): an overview*.
- Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. (1992). „Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion“. *Journal of agricultural and food chemistry*, 40(6), 945-948.
- Vuorela, I., & Aalto, M. (1982, January). „Palaeobotanical investigations at a Neolithic dwelling site in southern Finland, with special reference to *Trapa natans*“. In *Annales Botanici Fennici* (pp. 81-92). Finnish Botanical Publishing Board.
- Wojtaszek, P. (1997). „Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection“. *Biochemical Journal*, 322(3), 681-692.

Milica VUČUROVIĆ**ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF HEAVY METALS ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *TRAPA NATANS L.* FRUITS**

Summary: In this research, the content of essential elements (K, Ca, Mg, Cu, Fe, Ni, Zn, Mn, Mo) and heavy metals (Cd, Cr, Pb, Co) in exocarp, endocarp of new fruit and exocarp of old fruit of the species *Trapa natans L.* from the Skadar lake area (Montenegro) was examined. Afterwards, the content of bioactive substances and antioxidant potential values were determined in the various extracts of the given samples using the DPPH and FRAP tests. The correlation of the content of the examined metals with the concentrations of bioactive substances and the values of the antioxidant potential was also determined, in order to assess their influence on the medicinal potential of the fruit. According to the obtained results, it can be seen that the content of almost all tested metals is within the limits of maximum allowed concentrations (MDK). Somewhat higher concentration values of tested bioactive substances (TPC, TFC, TTC) were registered, and their concentration varies depending on the type of solvent and the type of sample tested. The maximum concentration of phenols was recorded in the ethanolic extract (387 mgGAE/g of dry matter), and of flavonoids in the methanolic extract of the exocarp of the old fruit (34,48 µgQuE/g of dry matter). The highest tannin content was registered in the methanolic extract of the exocarp of the new fruit (829,44 µgTAE/g of dry matter). The samples that had a high content of these metabolites also showed strong antioxidant activity. High values of antioxidant potential were recorded in the methanol and ethanol extracts of the exocarp of the new fruit, as well as the ethanol extract of the old fruit. Accordingly, these extracts represent a good source of antioxidant compounds.

Keywords: *Trapa natans L.*, heavy metals, phenols, flavonoids, tannins, antioxidant activity



Prirodno-matematiki fakultet

MILICA VUČUROVIĆ je rođena 24. 5. 1998. godine u Kotoru. OŠ „Dašo Pavičić“ i Gimnaziju „Ivan Goran Kovačić“ završila je u Herceg Novom 2017. godine kao nosilac diplome „Luča“. Iste godine je upisala osnovne studije na Prirodno-matematičkom fakultetu, Odsjek za biologiju u Podgorici. Dvogodišnje master studije upisala je po

završetku osnovnih studija 2020. godine. Master rad pod nazivom *Procjena uticaja teških metala na biohemijske parametre kod ploda vrste 'Trapa nantans L.'* odbranila je 28. 12. 2022. godine na Prirodno-matematičkom fakultetu, Univerziteta Crne Gore pod mentorstvom prof. dr Slađane Krivokapić.