



UNIVERZITET U NIŠU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
DEPARTMAN ZA HEMIJU



Jovana D. Ickovski

**Hemijski sastav, antioksidativna i toksična
aktivnost odabranih biljnih vrsta roda
Artemisia L.**

-DOKTORSKA DISERTACIJA-

Niš, 2022.



UNIVERSITY OF NIŠ
FACULTY OF SCIENCES AND MATHEMATICS
DEPARTMENT OF CHEMISTRY



Jovana D. Ickovski

**Chemical composition, antioxidant and
toxic activity of selected plant species of the
genus *Artemisia* L.**

-DOCTORAL DISSERTATION-

Niš, 2022.

MENTOR:

dr Gordana Stojanović, redovni profesor

Univerzitet u Nišu

Prirodno-matematički fakultet

ČLANOVI KOMISIJE:

dr Niko Radulović, redovni profesor

Univerzitet u Nišu

Prirodno-matematički fakultet

dr Bojan Zlatković, redovni profesor

Univerzitet u Nišu

Prirodno-matematički fakultet

dr Jelena Lazarević, vanredni profesor

Univerzitet u Nišu

Medicinski fakultet

Подаци о докторској дисертацији

Ментор:	др Гордана Стојановић, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Нишу
Наслов:	Хемијски састав, антиоксидативна и токсична активност одабраних биљних врста рода <i>Artemisia</i> L.
Резиме:	<p>Предмет истраживања је анализа етарских уља помоћу GC-MS технике, метанолних екстраката применом HPLC методе, као и мултиелементног састава коришћењем ICP OES технике пет врста рода <i>Artemisia</i>, а све са циљем проналажења могуће корелације између појединачних компонената, како испарљивих, тако и фенолних и флавоноидних једињења и мултиелементног састава, као и класа једињења са типом тла одређеним по WRB класификацији применом хеометријских тестова. Додатно, одређиване су и биолошке активности одабраних врста рода <i>Artemisia</i>. У ту сврху рађени су тестови акутне токсичности на водене рачиће <i>Artemia salina</i>, тестови инсектицидне активности на воћну мушицу <i>Drosophila melanogaster</i>, микронуклеус тест, као и мерења антиоксидативне активности помоћу седам метода (TP, TF, DPPH, ABTS, FRAP, TRP и CUPRAC). Такође, приказани су и резултати хеометријске анализе ових података, које за циљ имају проналажење везе између антиоксидативних тестова и типова земљишта одређених по WRB класификацији. Статистичке технике, анализа главних компоненти и кластер анализа, омогућиле су груписање узорака на основу испарљивих компоненти етарског уља, фенолних и флавоноидних једињења, садржаја микро и макроелемената и антиоксидативне активности, а у вези са типом земљишта, док су анализом варијанси и мултиваријантном анализом варијанси утврђене статистичке значајности анализираних компоненти за тип тла. На крају, дискриминантна анализа пружила је знање о томе са коликом статистичком сигурношћу се непознати узорак може доделити одређеном типу земљишта.</p>
Научна област:	Хемија
Научна дисциплина:	Органска хемија и биохемија
Кључне речи:	<i>Artemisia</i> , GC-MS, HPLC, ICP OES, UV-VIS, етарска уља, метанолни екстракти, фенолне киселине, флавоноиди, микроелементи, макроелементи, антиоксидативне активности, микронуклеус тест, <i>Artemia salina</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> , хеометрија, PCA, АНС, ANOVA, MANOVA, DA
УДК:	581.192 : 582.998.16 542.943'78 : 582.998.16 615.918 : 582.998.16
CERIF класификација:	P 390 и P 004 Органска хемија и биохемија
Тип лиценце Креативне заједнице:	CC BY-NC-ND

Data on Doctoral Dissertation

Doctoral Supervisor:	Gordana Stojanović, Ph.D., full professor, Faculty of Science and Mathematics, University of Nis
Title:	Chemical composition, antioxidant and toxic activity of selected plant species of the genus <i>Artemisia</i> L.
Abstract:	<p>The subject of this research is the analysis of essential oils using GC-MS technique, methanol extracts using HPLC method, as well as multielement composition using ICP OES technique of five species of the genus <i>Artemisia</i>, all with the aim of finding possible correlations between individual components, both volatile and phenolic and flavonoid compounds and multielement composition, as well as a class of compounds with soil type determined by WRB classification using chemometric tests. In addition, the biological activities of selected species of the genus <i>Artemisia</i> were determined. For this purpose, acute toxicity tests on brine shrimp <i>Artemia salina</i>, insecticidal activity tests on <i>Drosophila melanogaster</i> fruit fly, micronucleus test, as well as measurements of antioxidant activity using seven methods (TP, TF, DPPH, ABTS, FRAP, TRP and CUPRAC) were performed. Also, the results of chemometric analysis of these data are presented, which aim to find a correlation between antioxidant tests and soil types determined by the WRB classification. Statistical techniques, Principal component analysis and Cluster analysis, enabled grouping of samples based on volatile components of essential oil, phenolic and flavonoid compounds, content of micro and macroelements and antioxidant activities related to soil type, while Analysis of variance and Multivariate analysis of variance gave the information of statistical significance of analyzed components for soil type. Finally, Discriminant analysis provided insight into statistical certainty with which an unknown sample could be assigned to a particular soil type.</p>
Scientific Field:	Chemistry
Scientific Discipline:	Organic Chemistry and Biochemistry
Key Words:	<i>Artemisia</i> , GC-MS, HPLC, ICP OES, UV-VIS, essential oils, methanolic extracts, phenolic acids, flavonoids, microelements, macroelements, antioxidant activity, micronucleus test, <i>Artemia salina</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> , chemometry, PCA, AHC, ANOVA, MANOVA, DA
UDC:	581.192 : 582.998.16 542.943'78 : 582.998.16 615.918 : 582.998.16
CERIF Classification:	P 390 and P 004 Organic Chemistry and Biochemistry
Creative Commons License Type:	CC BY-NC-ND



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број, РБР:		
Идентификациони број, ИБР:		
Тип документације, ТД:	монографска	
Тип записа, ТЗ:	текстуални / графички	
Врста рада, ВР:	докторска дисертација	
Аутор, АУ:	Јована Д. Ицковски	
Ментор, МН:	Гордана Стојановић	
Наслов рада, НР:	Хемијски састав, антиоксидативна и токсична активност одабраних биљних врста рода <i>Artemisia</i> L.	
Језик публикације, ЈП:	српски	
Језик извода, ЈИ:	енглески	
Земља публикавања, ЗП:	Србија	
Уже географско подручје, УГП:	Србија	
Година, ГО:	2022.	
Издавач, ИЗ:	ауторски репринт	
Место и адреса, МА:	Ниш, Вишеградска 33.	
Физички опис рада, ФО: (поглавља/страница/цитата/табела/слика/графика/прилога)	7 поглавља, 266 страна, 315 цитата, 69 табела, 82 слика	
Научна област, НО:	Хемија	
Научна дисциплина, НД:	Органска хемија и биохемија	
Предметна одредница/Кључне речи, ПО:	<i>Artemisia</i> , GC-MS, HPLC, ISP OES, UV-VIS, етарска уља, метанолни екстракти, фенолне киселине, флавоноиди, микроелементи, макроелементи, антиоксидативне активности, микронуклеус тест, <i>Artemia salina</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> , хемометрија, PCA, ANCOVA, ANOVA, MANOVA, DA	
УДК	581.192 : 582.998.16 542.943'78 : 582.998.16 615.918 : 582.998.16	
Чува се, ЧУ:	библиотека	
Важна напомена ВН:	Експериментални део докторске дисертације је финансиран од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, у оквиру пројеката ОИ број 172047 „Природни производи биљака и лишајева: изоловање, идентификација, биолошка активност и примена”, а завршена на основу уговора о реализацији и финансирању научноистраживачког рада НИО, број 451-03-9/2021-14/200124.	
Извод, ИЗ:	Предмет истраживања је анализа етарских уља помоћу GC-MS технике, метанолних екстраката применом HPLC методе, као и мултиелементног састава коришћењем ICP OES технике пет врста рода <i>Artemisia</i> , а све са циљем проналажења могуће корелације између појединачних компонената, како испарљивих, тако и фенолних и флавоноидних једињења и мултиелементног састава, као и класа једињења са типом тла одређеним по WRB класификацији применом хемометријских тестова. Додатно, одређиване су и биолошке активности одабраних врста рода <i>Artemisia</i> . У ту сврху рађени су тестови акутне токсичности на водене рачиће <i>Artemia salina</i> , тестови инсектицидне активности на воћну мушицу <i>Drosophila melanogaster</i> , микронуклеус тест, као и мерења антиоксидативне активности помоћу седам метода (TP, TF, DPPH, ABTS, FRAP, TRP и CUPRAC). Такође, приказани су и резултати хемометријске анализе ових података, које за циљ имају проналажење везе између антиоксидативних тестова и типова земљишта одређених по WRB класификацији. Статистичке технике, анализа главних компоненти и кластер анализа, омогућиле су груписање узорака на основу испарљивих компоненти етарског уља, фенолних и флавоноидних једињења, садржаја микро и макроелемената и антиоксидативне активности, а у вези са типом земљишта, док су анализом варијанси и мултиваријантном анализом варијанси утврђене статистичке значајности анализираних компоненти за тип тла. На крају, дискриминантна анализа пружила је сазнање о томе са коликом статистичком сигурношћу се непознати узорак може доделити одређеном типу земљишта.	
Датум прихватања теме, ДП:	19. 4. 2021. године	
Датум одбране, ДО:		
Чланови комисије, КО:	Председник:	проф. др Гордана С. Стојановић
	Члан:	проф. др Нико С. Радуловић
	Члан:	проф. др Бојан К. Златковић
	Члан:	проф. др Јелена С. Лазаревић
	Члан, ментор:	проф. др Гордана С. Стојановић



ПРИРОДНО - МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ НИШ

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number, ANO :		
Identification number, INO :		
Document type, DT :	monograph	
Type of record, TR :	textual / graphic	
Contents code, CC :	doctoral dissertation	
Author, AU :	Jovana D. Ickovski	
Mentor, MN :	Gordana Stojanović	
Title, TI :	Chemical composition, antioxidant and toxic activity of selected plant species of the genus <i>Artemisia</i> L.	
Language of text, LT :	Serbian	
Language of abstract, LA :	English	
Country of publication, CP :	Serbia	
Locality of publication, LP :	Serbia	
Publication year, PY :	2021.	
Publisher, PB :	author's reprint	
Publication place, PP :	Niš, Višegradaska 33.	
Physical description, PD : (chapters/pages/ref./tables/pictures/graphs/appendixes)	7 chapters, 266 pages, 315 references, 69 tables, 82 figures	
Scientific field, SF :	Chemistry	
Scientific discipline, SD :	Organic Chemistry and Biochemistry	
Subject/Key words, S/KW :	<i>Artemisia</i> , GC-MS, HPLC, ISP OES, UV-VIS, essential oils, methanolic extracts, phenolic acids, flavonoids, microelements, macroelements, antioxidant activity, micronucleus test, <i>Artemia salina</i> , <i>Drosophila melanogaster</i> , chemometry, PCA, AHC, ANOVA, MANOVA, DA	
UDC	581.192 : 582.998.16 542.943'78 : 582.998.16 615.918 : 582.998.16	
Holding data, HD :	library	
Note, N :	PhD research was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, within the project „Natural products of plants and lichens: isolation, identification, biological activity and application” (No. 172047), and was completed on the basis of the working contract NIO, number 451-03-9/2021-14/200124.	
Abstract, AB :	The subject of this research is the analysis of essential oils using GC-MS technique, methanol extracts using HPLC method, as well as multielement composition using ICP OES technique of five species of the genus <i>Artemisia</i> , all with the aim of finding possible correlations between individual components, both volatile and phenolic and flavonoid compounds and multielement composition, as well as a class of compounds with soil type determined by WRB classification using chemometric tests. In addition, the biological activities of selected species of the genus <i>Artemisia</i> were determined. For this purpose, acute toxicity tests on brine shrimp <i>Artemia salina</i> , insecticidal activity tests on <i>Drosophila melanogaster</i> fruit fly, micronucleus test, as well as measurements of antioxidant activity using seven methods (TP, TF, DPPH, ABTS, FRAP, TRP and CUPRAC) were performed. Also, the results of chemometric analysis of these data are presented, which aim to find a correlation between antioxidant tests and soil types determined by the WRB classification.. Statistical techniques, Principal component analysis and Cluster analysis, enabled grouping of samples based on volatile components of essential oil, phenolic and flavonoid compounds, content of micro and macroelements and antioxidant activities related to soil type, while Analysis of variance and Multivariate analysis of variance gave the information of statistical significance of analyzed components for soil type. Finally, Discriminant analysis provided insight into statistical certainty with which an unknown sample could be assigned to a particular soil type.	
Accepted by the Scientific Board on, ASB :	19. 4. 2021. godine	
Defended on, DE :		
Defended Board, DB :	President:	prof. dr Gordana S. Stojanović
	Member:	prof. dr Niko S. Radulović
	Member:	prof. dr Bojan K. Zlatković
	Member:	prof. dr Jelena S. Lazarević
	Member, Mentor:	prof. dr Gordana S. Stojanović

Ova doktorska disertacija urađena je u okviru projekata Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije OI 172047 i 451-03-9/2021-14/200124.

*Prve redove najiskrenije zahvalnosti posvećujem svojoj mentorki **prof. dr Gordani Stojanović** na ukazanom poverenju, podršci i pomoći. **Hvala Vam, Mentorka!***

*Ogromnu zahvalnost dugujem i vanrednoj profesorki u penziji dr **Olgi Jovanović**, divnom profesoru i mudrom savetodavcu.*

*Zahvalnost dugujem profesorima dr **Bojanu Zlatkoviću** na identifikaciji biljaka i konsultacijama o njihovoj taksonomiji, dr **Niku Raduloviću** i dr **Jeleni Lazarević** na učešću u komisijama za ocenu naučne zasnovanosti i ocenu doktorske disertacije.*

*Ispitivanje uticaja na učestalost mikronukleusa sprovedeno je u laboratorijama Javnog preduzeća "Nuklearni objekti Srbije" i stoga veliku zahvalnost dugujem višem naučnom saradniku dr **Miroslavi Stanković**.*

*Zahvaljujem se i profesorima dr **Snežani Tošić**, dr **Aleksandri Pavlović**, dr **Milanu Mitiću**, dr **Milanu Stojkoviću**, dr **Jeleni Mrmošanin** na pomoći, uloženom trudu, i korisnim savetima tokom izrade mog rada.*

*Ogromno hvala i dragoj kolegini višem naučnom saradniku dr **Biljani Arsić** sa kojom sam divno radila, a istovremeno se i zabavljala i jako puno od nje naučila.*

*Veliko hvala i prof. dr **Milanu Đorđeviću** sa Departmana za geografiju na karakterizaciji tla i kreiranju mapa, koje su oplemenile moj doktorat. Hvala na svesrdnoj pomoći i strpljenju.*

*Zahvalnost dugujem i m. arh. **Nemanji Petroviću**, asistentu na Akademiji tehničko-vaspitačkih strukovnih studija - Odsek Niš. Hvala, Nemanja, za svaku ispravku i svaku sliku.*

*Posebnu zahvalnost dugujem svojim kolegama i prijateljima istraživaču pripravniku **Katarini Stepić** i naučnom saradniku **Radomiru Ljupkoviću** na podršci i dugogodišnjem prijateljstvu. Hvala vam za lepe trenutke, smeh, za sav trud, volju, strpljenje i vreme uloženo u mene. Vi ste učinili da rad u laboratoriji i van nje bude lepši i zanimljiviji.*

*Od srca hvala najboljoj porodici na svetu! Hvala vam za bezbrižno detinjstvo, za ljubav, pažnju, radost, smeh, razumevanje, podršku i još dosta toga. **Hvala ti, mama! Hvala, Dina!***

Hvala, Milane!** Vi ste mi svojom безусловnom ljubavlju, bezrezervnom podrškom, požrtvovanošću, dobrotom, velikim strpljenjem i razumevanjem uvek davali snagu i volju za sve. Hvala najviše mojim mališanima **Leni** i **Relji**, voli vas tetE. Hvala i mom psiću **Tesi!

E sad ono najvažnije! Najveće hvala mom ocu, jedinom uzoru, intelektualnom vođi, spiritualnom guruu, velikom gospodinu i pravom intelektualcu.

Hvala ti, tata!

**Ova doktorska disertacija je omaž
najboljem tati na svetu,
mom tati!**

Napomena: Sve slike u ovoj doktorskoj disertaciji su izrađene od strane autora disertacije, izuzev onih ispod kojih je navedeno drugačije

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Teorijski deo.....	3
2.1. ROD ARTEMISIA L.....	3
2.2. ODABRANE VRSTE RODA ARTEMISIA L.	5
2.2.1. <i>Artemisia alba</i> Turra.....	5
2.2.2. <i>Artemisia absinthium</i> L.....	7
2.2.3. <i>Artemisia annua</i> L.	9
2.2.4. <i>Artemisia vulgaris</i> L.	11
2.2.5. <i>Artemisia scoparia</i> Waldst. et Kit.....	13
2.3. HEMIJSKI SASTAV ETARSKIH ULJA ODABRANIH VRSTA RODA ARTEMISIA.....	15
2.4. REZULTATI PRETHODNIH ISPITIVANJA KOMPONENATA EKSTRAKATA ODABRANIH VRSTA RODA ARTEMISIA.....	25
2.5. ELEMENTNI SASTAV ODABRANIH VRSTA RODA ARTEMISIA	28
2.5.1. Pregled publikovanih podataka o elementnom sastavu odabranih vrsta roda <i>Artemisia</i> ..	28
2.5.2. Podela elemenata koji se mogu naći u biljnim vrstama	29
2.5.3. Zašto je važno znati količine pojedinih elemenata u odabranim biljnim vrstama roda <i>Artemisia</i> ?.....	29
2.5.4. Preporučeni dnevni unos određenih elemenata.....	30
2.5.5. Maksimalne dozvoljene količine Pb, Cd, Cr i Cu u biljnim proizvodima	31
2.6. BIOLOŠKA AKTIVNOST ETARSKIH ULJA ODABRANIH VRSTA RODA ARTEMISIA	32
2.6.1. Upotreba <i>Artemia salina</i> račića za određivanje akutne toksičnosti	42
2.6.2. Upotreba <i>Drosophila melanogaster</i> testa za određivanje insekticidne aktivnosti	43
2.7. BIOLOŠKA AKTIVNOST EKSTRAKATA ODABRANIH VRSTA RODA ARTEMISIA	45
2.7.1. Upotreba mikronukleus testa za određivanje genotoksičnosti	55
2.8. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST	57
2.8.1. Oksidativni stres i antioksidativna aktivnost	57
2.8.1.1. Šta su slobodni radikali?.....	57
2.8.1.2. Šta su antioksidansi?	57
2.8.1.3. Sekundarni metaboliti kao antioksidansi	57
2.8.2. Spektrofotometrijske metode za određivanja antioksidativne aktivnosti	58
2.8.2.1. Određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH testom	59
2.8.2.2. Određivanje antioksidativne aktivnosti ABTS testom	60
2.8.2.3. Određivanje redoks aktivnosti FRAP testom.....	61
2.8.2.4. Određivanje ukupne redukcionne sposobnosti TRP testom	62
2.8.2.5. Određivanje redox aktivnosti CUPRAC testom	63

2.8.3. Određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja i flavonoida	64
2.8.3.1. <i>Određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja</i>	64
2.8.3.2. <i>Određivanje ukupnog sadržaja flavonoida</i>	65
2.9. TEHNIKE ODREĐIVANJA	67
2.9.1. Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom	67
2.9.1.1. <i>Gasna hromatografija</i>	67
2.9.1.2. <i>Masena spektrometrija</i>	67
2.9.2. Tečna hromatografija visokih performansi	68
2.9.3. Optička emisiona spektrometrija sa induktivno spregnutom plazmom	68
2.9.4. UV/Vis spektrofotometrija	69
2.10. STATISTIČKA ANALIZA	70
2.10.1. Analiza glavnih komponentata - PCA	70
2.10.2. Klaster analiza - AHC	71
2.10.3. Analiza varijanse - ANOVA	71
2.10.4. Multivarijantna analiza varijanse - MANOVA	71
2.10.5. Diskriminanta analiza - DA	71
2.11. SVETSKA REFERENTNA BAZA ZA RESURSE ZEMLJIŠTA - WRB	72
3. <i>Eksperimentalni deo</i>	73
3.1. BILJNI MATERIJAL	73
3.2. REAGENSI	76
3.3. POSTUPAK PRIPREME UZORAKA	78
3.3.1. Postupak izolovanja etarskog ulja	78
3.3.1.1. <i>Priprema uzoraka etarskog ulja za određivanje insekticidne aktivnosti i akutne toksičnosti</i>	79
3.3.2. Postupak pripreme metanolnog ekstrakta	79
3.3.3. Postupak mineralizacije biljnog materijala	80
3.4. METODE	81
3.4.1. Analiza hemijskog sastava etarskog ulja	81
3.4.1.1. <i>Identifikacija komponentata etarskog ulja</i>	82
3.4.2. Analiza hemijskog sastava metanolnih ekstrakata	82
3.4.3. ICP OES analize	84
3.4.3.1. <i>Validacija metode</i>	86
3.4.4. Spektrofotometrijske metode za određivanje antioksidativne aktivnosti, ukupnog sadržaja fenolnih i flavonoidnih jedinjenja	88
3.4.4.1. <i>Određivanje antioksidativne aktivnosti primenom DPPH testa</i>	88
3.4.4.2. <i>Određivanje antioksidativne aktivnosti primenom ABTS testa</i>	89
3.4.4.3. <i>Određivanje antioksidativne aktivnosti merenjem redukcionne moći primenom FRAP testa</i>	89

3.4.4.4.	<i>Određivanje antioksidativne aktivnosti merenjem ukupne redukcione moći</i>	90
3.4.4.5.	<i>Određivanje antioksidativne aktivnosti merenjem redukcione moći primenom CUPRAC testa</i>	90
3.4.4.6.	<i>Određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja po Folin-Ciocalteu metodi</i>	91
3.4.4.7.	<i>Određivanje ukupnog sadržaja flavonoida</i>	91
3.4.5.	<i>Određivanje biološke aktivnosti etarskih ulja</i>	92
3.4.5.1.	<i>Ispitivanje akutne toksičnosti etarskih ulja Artemia salina testom</i>	92
3.4.5.2.	<i>Ispitivanje insekticidne aktivnosti etarskih ulja Drosophila melanogaster testom</i>	93
3.4.6.	<i>Određivanje biološke aktivnosti metanolnih ekstrakata</i>	94
3.4.6.1.	<i>Ispitivanje uticaja metanolnih ekstrakata na formiranje mikronukleusa u limfocitima humane krvne plazme</i>	94
3.5.	IZRADA PEDOLOŠKE KARTE	96
4.	Rezultati i diskusija	97
4.1.	REZULTATI ANALIZE HEMIJSKOG SASTAVA ETARSKIH ULJA ODABRANIH VRSTA ARTEMISIA	97
4.1.1.	Hemijski sastav etarskih ulja	97
4.1.1.1.	<i>Hemijski sastav etarskog ulja vrste A. alba</i>	97
4.1.1.2.	<i>Hemijski sastav etarskog ulja vrste A. absinthium</i>	102
4.1.1.3.	<i>Hemijski sastav etarskog ulja vrste A. annua</i>	110
4.1.1.4.	<i>Hemijski sastav etarskog ulja vrste A. vulgaris</i>	116
4.1.1.5.	<i>Hemijski sastav etarskog ulja vrste A. scoparia</i>	127
4.1.2.	Hemometrijska analiza sadržaja komponenata etarskih ulja	133
4.1.2.1.	Analiza glavnih komponenata	133
4.1.2.1.1.	<i>Analiza glavnih komponenata A. alba po komponentama</i>	134
4.1.2.1.2.	<i>Analiza glavnih komponenata A. absinthium po komponentama</i>	135
4.1.2.1.3.	<i>Analiza glavnih komponenata A. annua po komponentama</i>	137
4.1.2.1.4.	<i>Analiza glavnih komponenata A. vulgaris po komponentama</i>	139
4.1.2.1.5.	<i>Analiza glavnih komponenata A. scoparia po komponentama</i>	141
4.1.2.2.	Klaster analiza po komponentama	143
4.1.2.2.1.	<i>Klaster analiza A. alba po komponentama</i>	143
4.1.2.2.2.	<i>Klaster analiza A. absinthium po komponentama</i>	144
4.1.2.2.3.	<i>Klaster analiza A. annua po komponentama</i>	145
4.1.2.2.4.	<i>Klaster analiza A. vulgaris po komponentama</i>	145
4.1.2.2.5.	<i>Klaster analiza A. scoparia po komponentama</i>	146
4.1.2.3.	Analiza varijanse po komponentama	147
4.1.2.4.	Multivarijantna analiza varijanse po komponentama	147
4.1.2.5.	Diskriminantna analiza po komponentama	148
4.1.3.	Hemometrijska analiza klasa jedinjenja etarskih ulja	149

4.1.3.1. Analiza glavnih komponenata po klasama jedinjenja.....	149
4.1.3.1.1. Analiza glavnih komponenata A. alba po klasama jedinjenja.....	149
4.1.3.1.2. Analiza glavnih komponenata A. absinthium po klasama jedinjenja.....	151
4.1.3.1.3. Analiza glavnih komponenata A. annua po klasama jedinjenja.....	152
4.1.3.1.4. Analiza glavnih komponenata A. vulgaris po klasama jedinjenja	154
4.1.3.1.5. Analiza glavnih komponenata A. scoparia po klasama jedinjenja	155
4.1.3.2. Klaster analiza po klasama jedinjenja	156
4.1.3.2.1. Klaster analiza A. alba po klasama jedinjenja.....	157
4.1.3.2.2. Klaster analiza A. absinthium po klasama jedinjenja.....	157
4.1.3.2.3. Klaster analiza A. annua po klasama jedinjenja.....	158
4.1.3.2.4. Klaster analiza A. vulgaris po klasama jedinjenja.....	159
4.1.3.2.5. Klaster analiza A. scoparia po klasama jedinjenja	159
4.1.3.3. Analiza varijanse po klasama jedinjenja.....	160
4.1.3.4. Multivarijantna analiza varijanse po klasama jedinjenja.....	161
4.1.3.5. Diskriminantna analiza	161
4.2. REZULTATI ANALIZE HEMIJSKOG SASTAVA METANOLNIH EKSTRAKATA ODABRANIH VRSTA ARTEMISIA	163
4.2.1. Hemijska analiza sadržaja komponenata metanolnih ekstrakata	163
4.2.2. Hemometrijska analiza sadržaja komponenata metanolnih ekstrakata.....	166
4.2.2.1. Analiza glavnih komponenata po komponentama ekstrakata	166
4.2.2.1.1. Analiza glavnih komponenata HPLC profila A. absinthium.....	166
4.2.2.1.2. Analiza glavnih komponenata HPLC profila A. annua.....	167
4.2.2.1.3. Analiza glavnih komponenata HPLC profila A. vulgaris.....	169
4.2.2.1.4. Analiza glavnih komponenata HPLC profila A. scoparia	170
4.2.2.2. Klaster analiza po komponentama ekstrakata	171
4.2.2.3. Analiza varijanse po komponentama ekstrakata	174
4.2.2.4. Multivarijantna analiza varijanse po komponentama ekstrakata	175
4.2.2.5. Diskriminantna analiza po komponentama ekstrakata	175
4.3. REZULTATI ANALIZE SADRŽAJA UKUPNIH FENOLA, SADRŽAJA UKUPNIH FLAVONOIDA I ANTIOKSIDATIVNIH TESTOVA	178
4.3.1. Antioksidativni kompozitni indeks-ACI.....	180
4.3.2. Hemometrijska analiza ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata	181
4.3.2.1. Analiza glavnih komponenata po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata	181
4.3.2.1.1. Analiza glavnih komponenata po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata A. absinthium.....	182
4.3.2.1.2. Analiza glavnih komponenata po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata A. annua.....	183

4.3.2.1.3.	<i>Analiza glavnih komponenata po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata A. vulgaris</i>	185
4.3.2.1.4.	<i>Analiza glavnih komponenata po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata A. scoparia</i>	186
4.3.2.2.	<i>Klaster analiza po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata</i>	188
4.3.2.3.	<i>Analiza varijanse po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata</i>	190
4.3.2.4.	<i>Multivarijantna analiza varijanse po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata</i>	191
4.3.2.5.	<i>Diskriminantna analiza po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata</i>	191
4.4.	REZULTATI ANALIZE SADRŽAJA MAKRO I MIKRO ELEMENATA U ISPITIVANIM VRSTAMA RODA <i>ARTEMISIA</i>	193
4.4.1.	Rezultati kontrole kvaliteta.....	193
4.4.2.	Sadržaj makro i mikroelemenata	194
4.4.2.1.	<i>Preporučeni dnevni unos makroelemenata u odabranim vrstama roda Artemisia</i>	198
4.4.2.2.	<i>Maksimalne dozvoljene količine Pb, Cd, Cr i Cu u Artemisia biljnim proizvodima</i> . ..	198
4.4.3.	Hemometrijska analiza sadržaja makro i mikro elemenata u ispitivanim vrstama roda <i>Artemisia</i>	198
4.4.3.1.	<i>Analiza glavnih komponenata po sadržaju makro i mikro elemenata u vrstama roda Artemisia</i>	199
4.4.3.2.	<i>Klaster analiza po sadržaju makro i mikro elemenata u vrstama roda Artemisia</i>	201
4.5.	REZULTATI ANALIZE USREDNJENIH ETARSKIH ULJA I NJIHOVA BIOLOŠKA AKTIVNOST	203
4.5.1.	Sastav usrednjenih uzorka etarskih ulja analiziranih vrsta roda <i>Artemisia</i>	203
4.5.2.	<i>Artemia salina</i> test ispitivanih etarskih ulja.....	210
4.5.3.	Insekticidna aktivnost ispitivanih etarskih ulja na modelu <i>Drosophila melanogaster</i> ...	213
4.6.	BIOLOŠKA AKTIVNOST METANOLNIH EKSTRAKATA ISPITIVANIH VRSTA <i>ARTEMISIA</i>	216
4.6.1.	Mikronukleus test metanolnih ekstrakata	216
4.6.2.	Mikronukleus test čistih jedinjenja ekstrakata.....	219
5.	<i>Zaključak</i>	223
6.	<i>Literatura</i>	226
7.	<i>Biografija sa bibliografijom</i>	260
	IZJAVA O AUTORSTVU	264

IZJAVA O ISTOVETNOSTI ELEKSTRONSKOG I ŠTAMPANOG OBLIKA DOKTORSKE
DISERTACIJE265

IZJAVA O KORIŠĆENJU.....266

Skraćenice

+/-	Više ili manje
FC	Folin-Cioacaltea reagent (Folin–Sjoklto reagens)
TP	Total Phenolic content
TF	Total Flavonoid content
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)
FRAP	Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter (Redukcija feri jona kao parametra antioksidativne aktivnosti)
TRP	Total Reducing Power (Ukupna redukciona moć)
CUPRAC	Cupric Reducing Antioxidant Capacity (Redukcija kupri jona kao parametar antioksidativne aktivnosti)
TPTZ	2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazin
ICP	Inductively Coupled Plasma (Induktivno spregnuta plazma)
OES	Optička Emisiona Spektrometrija
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hromatografija visokih performansi)
UV/Vis	UltraViolet/Visible (Ultraljubičasta/vidljiva)
PCA	Principal Component Analysis (Analiza glavnih komponenata)
AHC	Agglomerative Hierarchical Clustering (Klaster analiza)
ANOVA	Analysis of Variance (Analiza varijanse)
MANOVA	Multivariate Analysis of Variance (Multivarijantna analiza varijanse)
DA	Discriminant Analysis
WRB	World Reference Base for Soil Resources 2014
PDU	Preporučeni Dnevni Unos
IC₅₀	Half Maximal Inhibitory Concentration (Polovina maksimalne inhibitorne koncentracije)
EC₅₀	Half Maximal Effective Concentration (Polovina maksimalne efektivne koncentracije)
LC₁₀	10% of Maximal Lethal Concentration (10% maksimalne letalne koncentracije)
LC₃₀	30% of Maximal Lethal Concentration (30% maksimalne letalne koncentracije)
LC₅₀	Half Maximal Lethal Concentration (Polovina maksimalne letalne koncentracije)

Skraćenice

LC₉₀	90% of Maximal L ethal C oncentration (90% maksimalne letalne koncentracije)
LC₉₅	95% of Maximal L ethal C oncentration (95% maksimalne letalne koncentracije)
ED₅₀	Half Maximal E ffective D ose (Polovina maksimalne efektovne doze)
DL₅₀	Half Maximal L ethal D ose (Polovina maksimalne letalne doze)
DL₉₀	90% of Maximal L ethal D ose (90% maksimalne efektovne doze)
LT₅₀	Half Maximal L ethal T ime (Polovina maksimalnog letalnog vremena)
SC₅₀	Half Maximal S timulation C oncentration (Polovina maksimalne stimulativne koncentracije)
RP₅₀	Half Maximal R educing P ower A bility (Polovina maksimalne redukcione moći)
HA₅₀	Half Maximal C helating A bility (Polovina maksimalne sposobnosti helatiranja)
SD	S tandard D eviation (Standardna devijacija)
MIC	M inimum I nhibitory C oncentration (Minimalna inhibitorna koncentracija)
MBC	M inimum B actericidal C oncentration (Minimalna baktericidna koncentracija)
EBHT	Equivalent of B utylated H ydroxy T oluene (Ekvivalent BHT-a)
WBT	W estern B lot T est
NBT	N orthern B lot T est
PPARγ	P eroxisome P roliferator- A ctivated R eceptor gamma (reverzni receptor insulinske rezistencije)
C/EBPα	C ATT/ E nhancer B inding P rotein alpha (vezujući protein)
ACC	A cetyl- C oA C arboxylase (Acetil-CoA karboksilaza)
FAS	F atty A cid S ynthase (Sintetaza masnih kiselina)
SREBP-1c	S terol R egulatory E lement- B inding P rotein
3T3-L1	Ćelijska linija miševa
Jurkat	Humane linije raka krvnih T-ćelija
K562	Humane linije raka krvnih B-ćelija
MCF-7	Humane ćelijske linije raka grudi
HepG2	Humane ćelijske linije raka jetra
PC-3	Humane ćelijske linije raka prostate

Skraćenice

HeLa	Humane cervikalne ćelijske linije raka
BJ	Nemaligne ćelije ljudske kože
HEK-293	Nemaligne ćelije ljudskog bubrega
V79-4	Nemaligne ćelije pluća kineskog hrčka
MCF-7	Humane ćelija raka dojke
SW-480	Celosaurus ćelijska linija
THP1	Leukemijske ćelijske linije
HCT 116	Humane ćelije raka debelog creva
SH-SY5Y	Ćelijska linija dobijena od čoveka
RAW 264.7	Ćelijska linija monocita/makrofaga
MCF7	Ćelijska linija raka dojke
HeLa	Besmrtna ćelijska linija
A549	Adenokarcinomske ljudske alveolarne bazalne epitelne ćelije
BALB-c	Albino laboratorijski uzgojen soj kućnog miša
DLD-1	Ćelijska linija kolorektalnog adenokarcinoma
ECC-1	Ćelijska linija endometrijuma
HEK-293	Human Embryonic Kidney 293 cells (Humane embrionalne ćelije bubrega)
MBE-SV	MBE (Murine Brain Microvascular Endothelial Cells) cells immortalized with SV40 large T antigen (Mišja ćelijska linija)
MTT	Microplate Titar Test
TA	Total Anthocyanin Content (Ukupni sadržaj antocijana)
TAC	Total Antioxdant Capacity (Ukupni antioksidativni potencijal)
RP	Reducing Power Assay (Test redukcione moći)
TAP	Assay of Total Antioxidant Power (Test ukupne antioksidativne moći)
TTG	Assay of Total Thiol Groups (Test ukupnih tiolnih grupa)
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity (Kapacitet radikalne apsorpcije kiseonika)
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Troloks ekvivalent antioksidativni kapacitet)
GAE	Gallic Acid Equivalent (Ekvivalent galne kiseline)
QE	Quercetin Equivalent (Ekvivalent kvercetina)
CAE	Caffeic Acid Equivalent (Ekvivalent kafene kiseline)

Skraćenice

TE	Trolox Equivalent (Troloks ekvivalent)
CE	Catechin Equivalent (Ekvivalent katehina)
ECG	Equivalent Cyanidin-3-Glucoside
SM	Suva Masa
BP	Blood Pressure (Krvni Pritisak)
HR	Heart Rate (Broj Otkucaja Srca)
MDA	MalonDiAldehyde (Malondialdehid)
A₄₈₅	Absorbance at 485 nm (Apsorbancija na 485 nm)
MRSA	Methicillin-Resistant <i>Staphylococcus Aureus</i> (<i>Staphylococcus Aureus</i> otporna na meticilin)
5-LOX	5-LipOXygenase (5-lipoksigenaza)
CBMN	Cytokinesis Block MicroNucleus (Citokineza blok mikronukleusa)
PBLs	Peripheral Blood Lymphocytes (Limfociti periferne krvi)
MN	MicroNucleus
BN	BiNucleated (Binuklearno)
PDLSCs	PerioDontal Ligament Stem Cells (Matične ćelije parodontalnog ligamenta)
iNOS	inducible Nitric Oxide Synthase (Azot-monoksid sintaza)
mRNA	messenger RiboNucleic Acid (Informaciona RNK)
TNFα	Tumor Necrosis Factor (Faktor nekroze tumora-alfa)
IL-1β	InterLeukin 1 beta (Interleukin 1 beta)
VCAM1	Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (Vaskularni ćelijski protein 1)
GOT	Glutamate Oxaloacetate Transaminase (Glutamat okaloacetat transaminaza)
GPT	Glutamate Pyruvate Transaminase (Glutamat piruvat transaminaza)
D-GalN/LPS	D-GalactosamINe/LipoPolySaccharide (D-galaktozamin/lipopolisaharid)
MDME	Microsomal Drug Metabolizing Enzymes (Mikrozomalni enzimi za metabolizam lekova)
ALT	ALanine AminoTransferase (Alanin aminotransferaza)
AST	ASpartate AminoTransferase (Aspartat aminotransferaza)
CI	Confidence Intervals (Intervali poverenja)
ATCC	American Type Culture Collection
HSV1	<i>Herpes Simplex Virus 1</i>

Skraćenice

i.p.	intraperitoneal (intraperitonealno)
FST	Forced Swimming Test (Test prisilnog plivanja)
TST	Tail Suspension Test
TTC	Total Thiophene Content (Ukupni sadržaj tiofena)
LPS	LipoPolySaccharide (Lipopolisaharid)
ACS	Artemisinin-Containing Solution (Rastvor koji sadrži artemisinin)
PGE2	ProstaGlandin E2 (Prostaglandin E2)
EtOH	Etanol
HMN	Herbarijum Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, Univerziteta u Nišu, u Srbiji
AA	<i>Artemisia alba</i> Turra
AB	<i>Artemisia absinthium</i> L.
AN	<i>Artemisia annua</i> L.
AV	<i>Artemisia vulgaris</i> L.
AS	<i>Artemisia scoparia</i> Waldst. et Kit.
EAB	Metanolni ekstrakt <i>Artemisia absinthium</i> L.
EAN	Metanolni ekstrakt <i>Artemisia annua</i> L.
EAV	Metanolni ekstrakt <i>Artemisia vulgaris</i> L.
EAS	Metanolni ekstrakt <i>Artemisia scoparia</i> Waldst. et Kit.
pv	Pellic Vertisol
rl	Rendzic Leptosol
cf	Calcaric Fluvisol
hl	Haplic Leptosol
dc	Dystric Cambisol
cp	Calcaric Phaeozem
ec	Eutric Cambisol
hl	Haplic Luvisol
cc	Chromic Cambisol
LOD	Limit detekcije
LOQ	Limit kvantifikacije
tse	masa suvog ekstrakta
ACI	Antioxidant Potency Composite Index (Antioksidativni kompozitni indeks)
CV	Coefficient of Variation (Koeficijent varijacije)

.....
*Artemisia, nazvana po boginji Artemidi, sestri Apolona, jedina je žena kojoj je Herodot
pripisivao vrlinu hrabrosti, ili „andrea“, gotovo nemogući kvalitet žene, jer to bukvalno
znači „muškost“.*

*Harrell, S. E. (2003). Marvelous Andrea: politics, geography, and ethnicity
in herodotus' histories. In Andrea (pp. 77-94). Brill.*



Uvod

Polazna tačka ovog istraživanja je činjenica da život bez biljaka na Zemlji ne bi bio moguć, te da bi ih trebalo što bolje upoznati sa različitih aspekata, radi bolje zaštite i što ekonomičnije i pametnije eksploatacije, bez ugrožavanja njihove egzistencije. Biljni svet je danas pod sve većim pritiskom zagađivača, kao i sve šire upotrebe od strane prehrambene, kozmetičke, farmaceutske i drugih industrija. U smeru pametnijeg korišćenja, važno je pronaći i faktore koji utiču na veći prinos željenih komponenata, poznatih kao sekundarni metaboliti. Sekundarni metaboliti su organska jedinjenja koja imaju posredni uticaj na rast, razvoj i propagaciju organizma i uglavnom su karakteristični za vrste unutar filogenetskog skupa. Sekundarne metabolite biljke koriste u odbrani od herbivora, kao i za regulisanje alelopatskih odnosa. Ljudi, sa druge strane, koriste sekundarne metabolite kao začine i hranu, ali prevashodno kao lekove.

Biljke se u tradicionalnoj medicini koriste od pamtiveka, a današnja istraživanja donose konkretne naučne dokaze za ono što su ljudi od davnina znali, ali nisu mogli da potkrepe naučnim činjenicama. Postoji veliki broj studija na temu bioloških aktivnosti pripravaka biljaka, etarskih ulja i drugih ekstrakata biljaka. Tema velikog broja savremenih studija je i identifikacija i izolovanje konkretnih jedinjenja, odgovornih za određeno korisno svojstvo biljaka.

Jedan od rodova biljaka, koji se izdvaja po značaju svojih sekundarnih metabolita je i rod *Artemisia*, u narodu poznat pod imenom „pelin“, koji pripada porodici Asteraceae, redu Asterales. Pelini se odlikuju gorkim, oporim ukusom, po čemu su i dobili ime, a sam ukus potiče od prisustva terpenoidnih komponenata i seskviterpenskih laktona.

Rod *Artemisia* je 1753. godine ustanovio švedski prirodnjak i naučnik Karl fon Line (Carolus Linnaeus), poznat i kao „otac taksonomije“. Ime *Artemisia* možda potiče od imena grčke boginje Artemide (Artemis), imenjakinje grčkih kraljica Artemizije I (*Artemisia I*) i Artemizije II (*Artemisia II*). Međutim, ipak je izglednije da ime roda potiče od kraljice i pomorskog komandanta Artemizije II od Karije (*Artemisia II of Caria*), koja se bavila i botanikom i istraživanjem medikamenata, a koja je živela u 4. veku pre nove ere (Britannica, 2020).

Ceo rod broji preko 500 vrsta (Bora i Sharma, 2011), koje su rasprostranjene širom planete. Pojedini predstavnici ovog roda ističu se izrazitim biološkim delovanjima, a vodeći među njima je slatki pelin *Artemisia annua*, za sada jedina poznata biljna vrsta koja sintetiše artemisinin i njegove derivate, a koji su zvanična antimalarijska terapija (Wright, 2001).

Na području Republike Srbije raste 9 predstavnika ovog roda: *Artemisia alba*, *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris*, *A. scoparia*, *A. petrosa*, *A. maritima*, *A. pontica* i *A.*

campestris (Gajić, 1975), od kojih je prvih pet vrsta izabrano za ovo istraživanje, između ostalog, i zbog značajne biološke aktivnosti.

Ciljevi ove doktorske disertacije koja obuhvata pet izabranih vrsta roda *Artemisia* (*A. alba*, *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris*, *A. scoparia*) su sledeći:

1. Određivanje sastava etarskih ulja, fenolnih i flavonoidnih jedinjenja kao i sadržaj mikro i makro elemenata
2. Određivanje antioksidativne aktivnosti
3. Hemometrijska analiza eksperimentalnih rezultata
4. Određivanje biološke aktivnosti

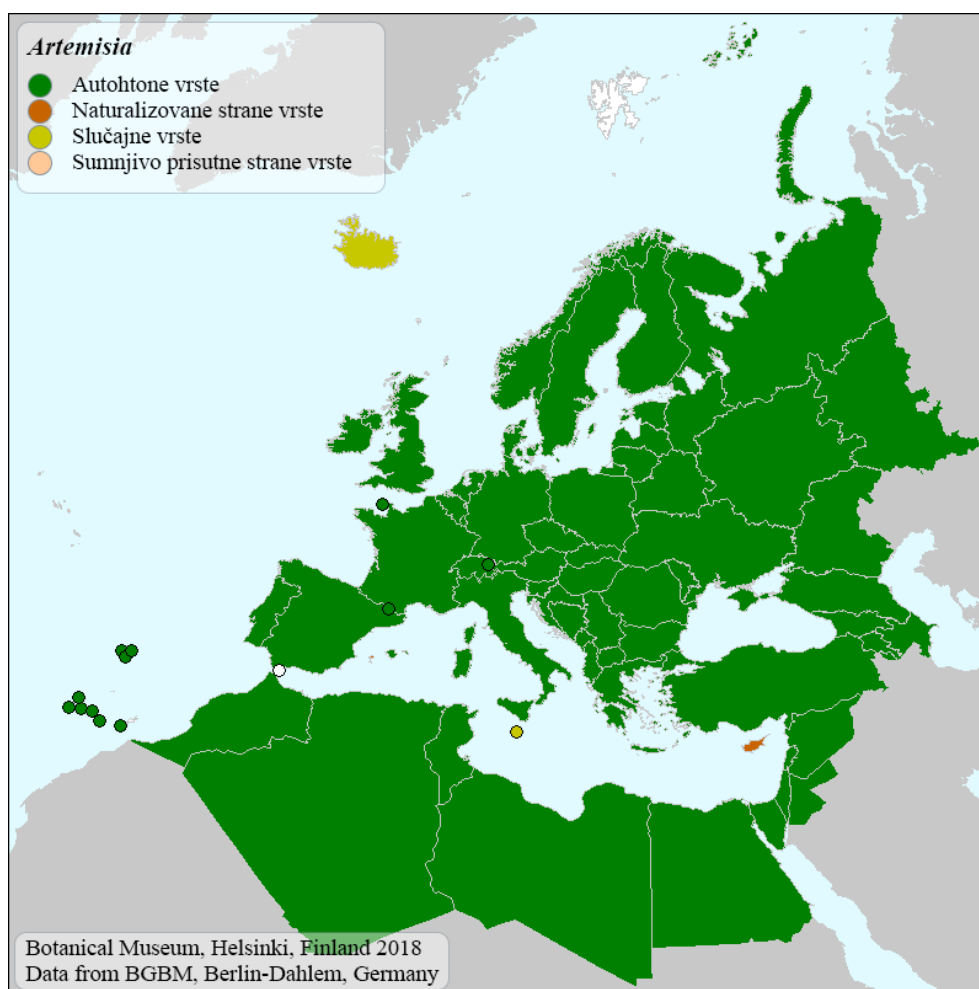
Za realizaciju postavljenih ciljeva predviđene su sledeće metode:

- Hidrodestilacija po Klevendžeru za dobijanje etarskih ulja
- Ekstrakcija metanolom za dobijanje ekstrakata
- Gasna hromatografija sa masenim detektorom (GC-MS) za analizu etarskih ulja
- Tečna hromatografija visokih performansi (HPLC) za analizu metanolnih ekstrakata
- Optička emisiona spektrometrija sa induktivno spregnutom plazmom za određivanje mikro i makro elementa
- Spektrofotometrijske metode za određivanje antioksidativne aktivnosti: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil test (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina test (ABTS), sposobnost redukcije kompleksa Fe^{3+} i 2,4,6-tripuridil-S-triazina (FRAP), sposobnost redukcije Fe^{3+} (TRP) i sposobnost redukcije Cu(II)-neokuproina (CUPRAC), kao i za određivanje sadržaja ukupnih fenola (TP) i sadržaja ukupnih flavonoida (TF).
- Određivanje akutne toksičnosti *Artemia salina* testom
- Određivanje insekticidne aktivnosti *Drosophila melanogaster* testom
- Određivanje genotoksičnosti mikronukleusnim testom
- Određivanje korelacije između hemijskog sastava i staništa korišćenjem statističkih metoda

Teorijski deo

2.1. ROD *ARTEMISIA* L.



Rod *Artemisia* u narodu je poznat pod imenom „pelin“. Pripadnici ovog roda su zeljaste ili polužbunaste +/- aromatične biljke. Listovi su naizmenično raspoređeni, jednostruko ili više puta perasto deljeni, retko celi. Glavice su male do velike, cilindrične ili loptaste, u grozdastim ili metličastim cvastima, često viseće. Listići involukruma poređani su kao crepovi na krovu, prilegli, sa suvokožičastim obodom. Cvetna loža je gola, glatka ili +/- sa dlakama. Svi cvetovi su dvopolni i cevasti ili središnji dvopolni, a obodni su ženski; krunica končasto cevasta sa dva do tri zupca. Papsus nedostaje. Ahenija je cilindrična ili spljoštena, bez jakih rebara. Rod obuhvata preko 500 vrsta od kojih se veliki broj javlja u stepskim oblastima Evrope i Azije, severne i srednje Amerike (Abad i sar., 2012), a rasprostranjenje roda *Artemisia* na teritoriji Evrope i Sredozemlja dato je na Slici 2.1 (Greuter, 2006).



Slika 2.1 Rasprostranjenje roda *Artemisia* na teritoriji Evrope i Sredozemlja (izvor: Greuter, 2006).

U Srbiji je do sada ustanovljeno 9 vrsta: *Artemisia alba* Turra, *Artemisia absinthium* L., *Artemisia annua* L., *Artemisia vulgaris* L., *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit., *Artemisia petrosa* (Baumg.) Fritsch, *Artemisia maritima* L., *Artemisia pontica* L. i *Artemisia campestris* L. (Gajić, 1975). Za predmet istraživanja ove doktorske disertacije izabrane su: *Artemisia alba* Turra, *Artemisia absinthium* L., *Artemisia annua* L., *Artemisia vulgaris* L. i *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.

2.2. ODABRANE VRSTE RODA *ARTEMISIA* L.2.2.1. *Artemisia alba* Turra

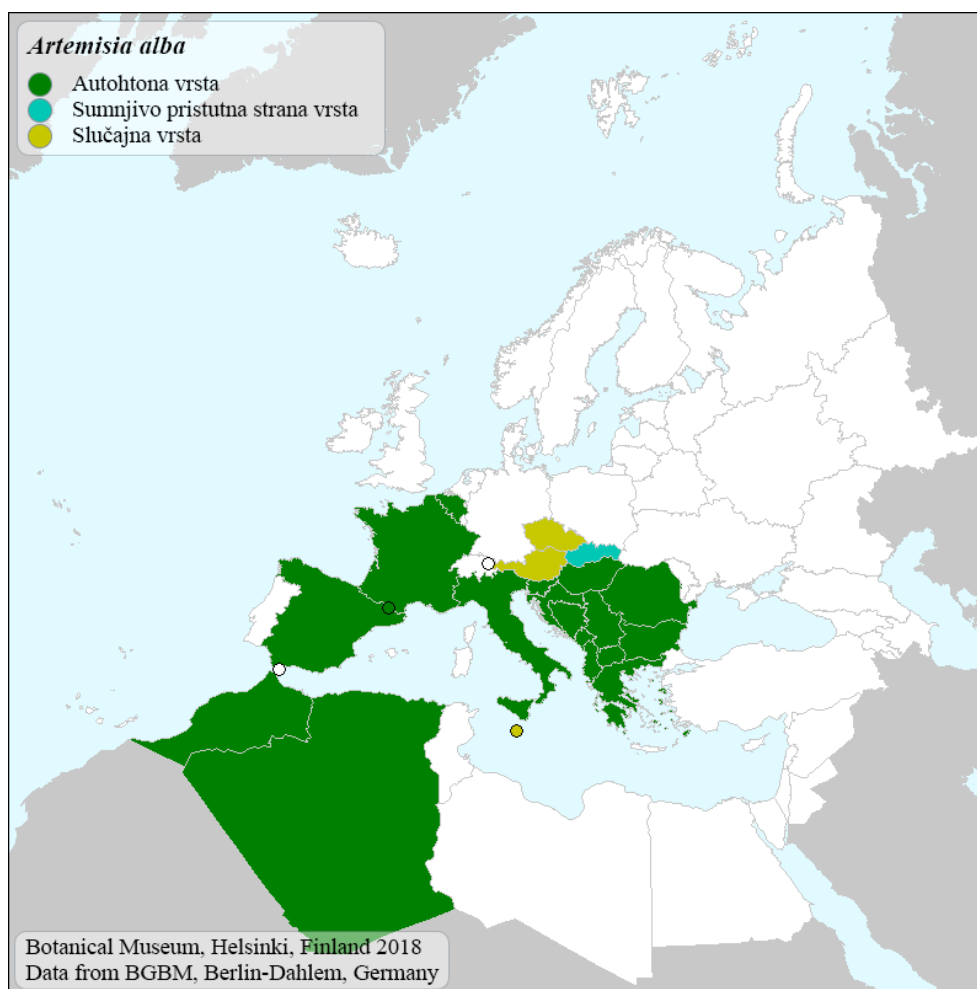
<p>Carstvo - Plantae Divizija - Tracheophyta Subdivizija - Spermatophytina Klasa - Magnoliopsida Superred - Asterales Red - Asterales Familija - Compositae Giseke Pleme - Anthemideae Cass. Rod - <i>Artemisia</i> L.</p>	
	<p>Narodno ime - sivkasti pelin Životni ciklus - višegodišnja Period cvetanja - VIII-IX Stabljika - 30-100 cm Glavice - 4-5 mm u prečniku Listovi - 2-4 cm dugački Cvetovi - žuti Ahenija - slabo spljoštena Florni element - submediteranski</p>

Slika 2.2 Taksonomska pripadnost i osnovne morfološke karakteristike vrste *A. alba*

Artemisia alba Turra (*Artemisia lobelii* All., *Artemisia camphorata* Vill., *Artemisia saxatilis* Willd.), u narodu poznata kao „sivkasti pelin“, je višegodišnja, polužbunasta biljka, 30-100 cm visoka. Slike biljke *A. alba*, kao i njena taksonomska pripadnost predstavljeni su na Slici 2.2. Stabljika joj je uspravna ili ustajuća, granata ili jednostavna, pri osnovi odrvenjena, +/- slabo dlakava. Listovi u donjem delu stabljike su 2-4 cm dugački, dvostruko perasto deljeni, sa drškom, pri osnovi sa 1-2 režnja; u gornjem delu stabljike perasto deljeni, režnjevi linearni 0,5-1 mm široki, po obodu celi, goli ili malo dlakavi. Glavice su 4-5 mm u prečniku, sa drškama, viseće, loptaste, u metličastim cvastima. Listići involukruma su u dva reda, najviši belo pustenasto dlakavi; spoljašnji listići lancetasti, zeljasti, unutrašnji široko eliptični, po obodu široko tanko kožičasti. Cvetovi su žuti. Središnji cvetovi su hermafroditni,



cevasti, obodni su ženski. Ahenija je 1 mm dugačka, slabo spljoštena. Biljka miriše na kamfor (Gajić, 1975).

Cvetanje - od avgusta do septembra. Stanište - stenovita mesta, zidine, travna mesta, kserofilne šume. Opšte rasprostranjenje - južna i centralna Evropa, Sredozemlje. *A. alba* je submediteranski florni element. Rasprostranjenje vrste *A. alba* na teritoriji Evrope i Sredozemlja dato je na Slici 2.3 (Greuter, 2006).



Slika 2.3 Rasprostranjenje vrste *Artemisia alba* na teritoriji Evrope i Sredozemlja (izvor: Greuter, 2006).

2.2.2. *Artemisia absinthium* L.

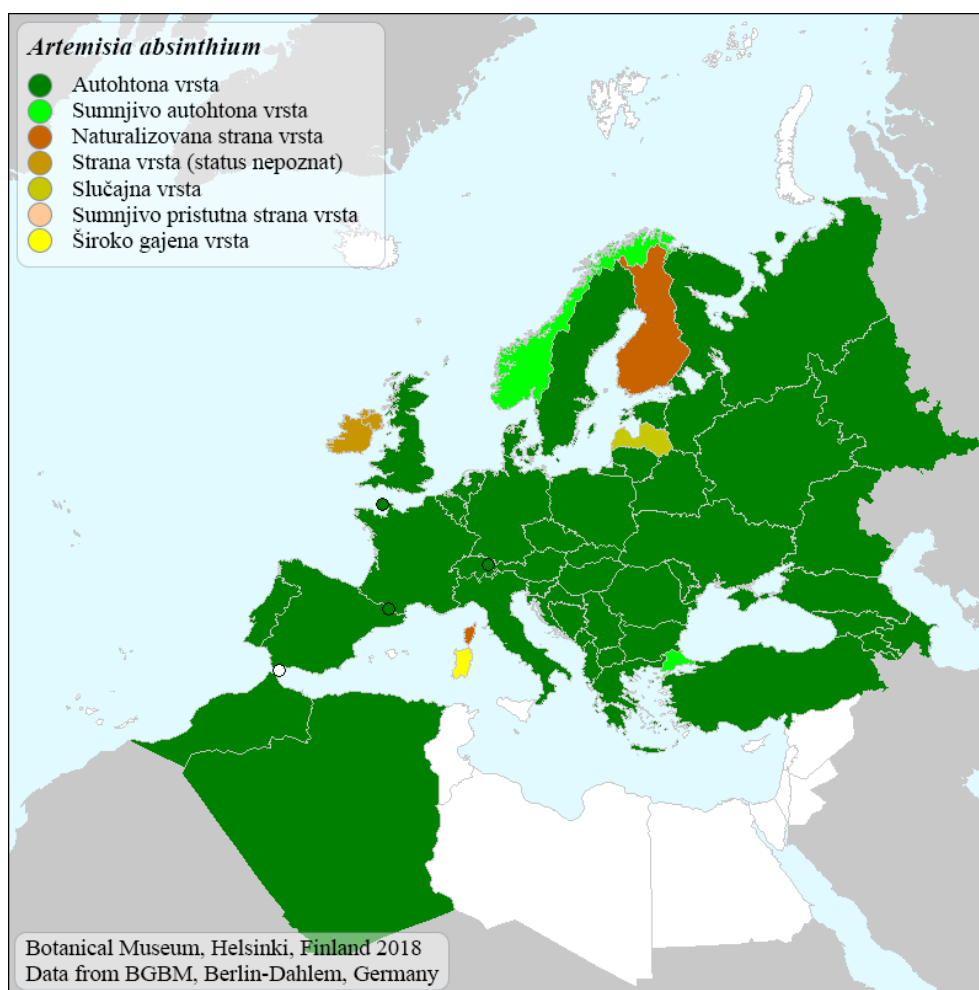
<p>Carstvo - Plantae Divizija - Tracheophyta Subdivizija - Spermatophytina Klasa - Magnoliopsida Superred - Asteranae Red - Asterales Familija - Compositae Giseke Pleme - Anthemideae Cass. Rod - <i>Artemisia</i> L.</p>	
	<p>Narodno ime - obični pelin Životni ciklus - višegodišnja Period cvetanja - VII-IX Stabljika - 60-120 cm Glavice - 3-4 mm u prečniku Listovi - rasperani Cvetovi - žuti Ahenija - slabo spljoštena Florni element - evroazijski</p>

Slika 2.4 Taksonomska pripadnost i osnovne morfološke karakteristike vrste *A. absinthium*

Artemisia absinthium L. (*Artemisia baldaccii* Degen), u narodu poznata kao „obični pelin“, je višegodišnja, polužbunasta biljka, 60-120 cm visoka, sa odrvenjenim jako granatim rizomom. Slike biljke *A. absinthium*, kao i taksonomska pripadnost predstavljeni su na Slici 2.4. Stabljika je uspravna, sa mnogo listova, belo prileglo dlakava, granata. Listovi sa obe strane su gusto belo svilasto prileglo dlakavi; prizemni listovi sa drškama, tri puta perasto deljeni; listovi stabljike su sa kratkom drškom ili sedeći, 1-2 puta perasto izdeljeni, režnjevi su duguljasto lancetasti, kratko ušiljeni. Glavice su 3-4 mm u prečniku, mnogobrojne, viseće, sa kratkim drškama, u jako granatoj metličastoj cvasti. Listići involukruma su u dva reda, sivo svilasto, prileglo dlakavi, na vrhu zaokruženi; spoljašnji listići su linearno duguljasti, spolja prileglo dlakavi, unutrašnji su široki, tupi, jajasti, sa tanko kožičastim obodom. Cvetna loža je sa dlakama. Cvetovi su žuti i svi su fertilni. Središnji cvetovi su dvopolni, obodni



ženski su sa žigovima znatno iznad krunice. Ahenija je 1,5 mm dugačka, slabo spljoštena (Gajić, 1975).

Cvetanje - od jula do septembra. Stanište - pored puteva, peskovita i stenovita mesta, oranice, bašte, parlozi, zidine, na ruderalnim mestima, na šumskim čistinama, u plavnoj zoni reka, po periferiji naselja. Opšte rasprostranjenje - Suve oblasti skoro cele umerene Evrope i Azije, severna Afrika. Unesena u Severnu Ameriku i na Novi Zeland. *A. absinthium* je evroazijski florni element. Rasprostranjenje vrste *A. absinthium* na teritoriji Evrope i Sredozemlja dato je na Slici 2.5 (Greuter, 2006).



Slika 2.5 Rasprostranjenje vrste *Artemisia absinthium* na teritoriji Evrope i Sredozemlja (izvor: Greuter, 2006).

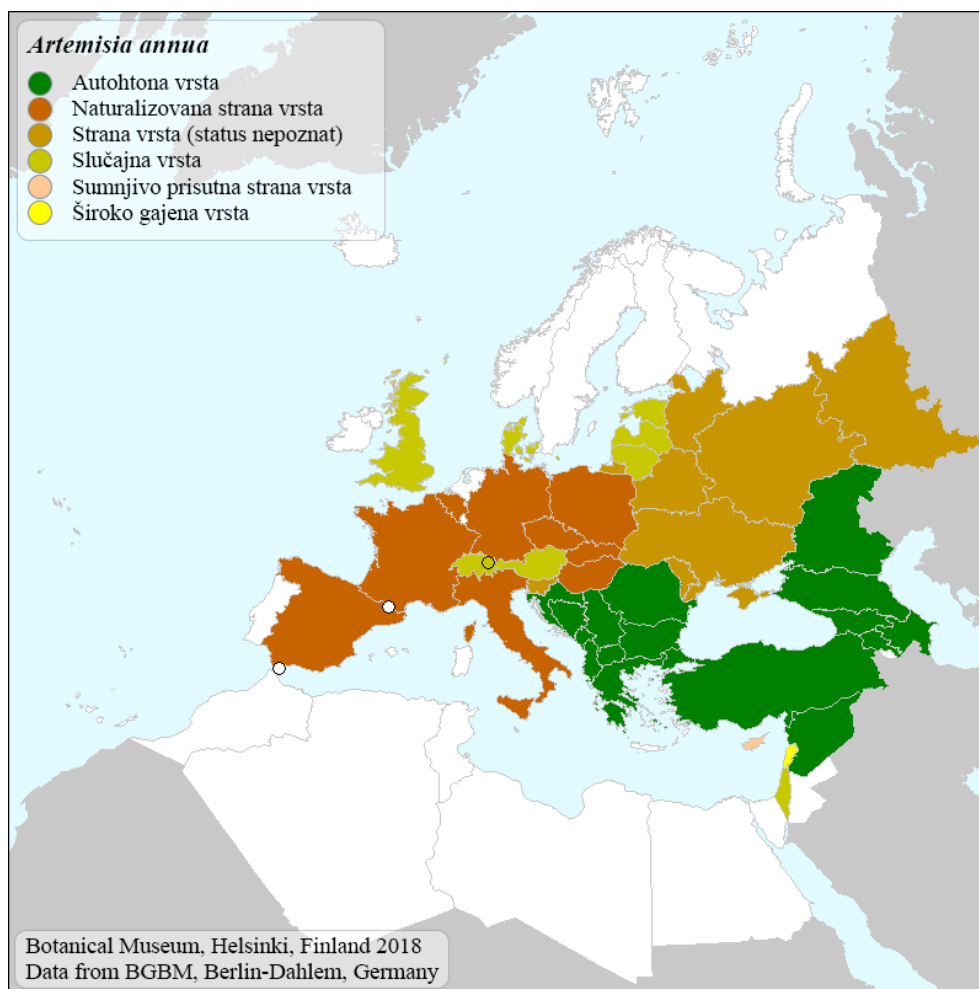
2.2.3. *Artemisia annua* L.

<p>Carstvo - Plantae Divizija - Tracheophyta Subdivizija - Spermatophytina Klasa - Magnoliopsida Superred - Asteranae Red - Asterales Familija - Compositae Giseke Pleme - Anthemideae Cass. Rod - <i>Artemisia</i> L.</p>	
	<p>Narodno ime - slatki pelin Životni ciklus - jednogodišnja Period cvetanja - VII-IX Stabljika - 50-150 cm Glavice - 2 mm dugačke Listovi - perasto deljeni Cvetovi - crveni ili žuti Ahenija - jajasta do cilindrična Florni element - evroazijski</p>

Slika 2.6 Taksonomska pripadnost i osnovne morfološke karakteristike vrste *A. annua*



Artemisia annua L., u narodu poznata kao „slatki pelin“ ili „jednogodišnji pelin“, je jednogodišnja biljka, 50-150 cm visoka, sa veoma jakim mirisom. Slike biljke *A. annua*, kao i taksonomska pripadnost predstavljene su na Slici 2.6. Stabljika je uspravna, gola, jako metličasto granata. Prizemni listovi su goli, trouglasto jajasti, tri puta perasto deljeni, režnjevi su češljasto testerasti i za vreme cvetanja nedostaju. Listovi stabljike su goli, 2-3 puta perasto deljeni, režnjevi su pravilno češljasto testerasti ili češljasto perasto deljeni. Glavice su mnogobrojne, 2 mm dugačke, viseće, sa kratkim drškama, u razrađenoj metličastoj cvasti. Listovi involukruma su goli; spoljni listići involukruma su zeljasti, lancetasti, tupi, a unutrašnji su široko objajasti ili široko rombičasti, tanko kožičasti. Cvetna loža je gola. Središnji cvetovi su hermafroditni, a obodni su ženski. Ahenije su jajaste do cilindrične. (Gajić, 1975).

Cvetanje - od jula do septembra. Stanište - pored puteva, pruga, padine nasipa, njive, bašte, oko kuća, zapušteni placevi, parlozi, ruderalna staništa (građevinski otpad), ulice, međe, šljunkare, peskove, useve i okopavine. Takođe, *A. annua* nastanjuje i industrijske oblasti poput aktivnih zona eksploatacije, kamenolome. Opšte rasprostranjenje - Jugoistočna Evropa, Kavkaz, srednja i jugozapadna Azija. Unesena u srednju i južnu Evropu i Severnu Ameriku. *A. annua* je evroazijski florni element. Rasprostranjenje vrste *A. annua* na teritoriji Evrope i Sredozemlja dato je na Slici 2.7 (Greuter, 2006).



Slika 2.7 Rasprostranjenje vrste *Artemisia annua* na teritoriji Evrope i Sredozemlja (izvor: Greuter, 2006).

2.2.4. *Artemisia vulgaris* L.

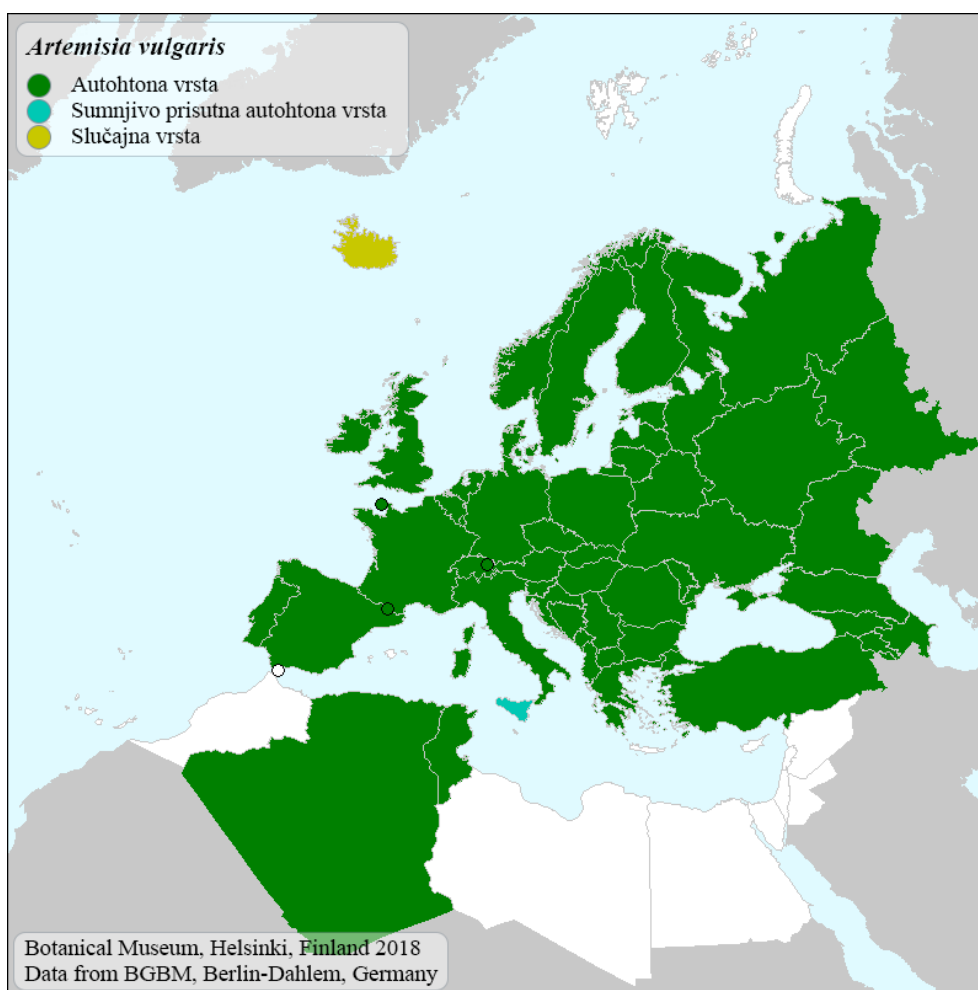
<p>Carstvo - Plantae Divizija - Tracheophyta Subdivizija - Spermatophytina Klasa - Magnoliopsida Superred - Asteranae Red - Asterales Familija - Compositae Giseke Pleme - Anthemideae Cass. Rod - <i>Artemisia</i> L.</p>	
	<p>Narodno ime - divlji pelin Životni ciklus - višegodišnja Period cvetanja - VII-IX Stabljika - 50-150 (200) cm Glavice - 3-4 mm dugačke Listovi - 5-10 cm dugački Cvetovi - žuti ili ružičastosmeđi Ahenija - cilindrična do jajasta Florni element - cirkumpolarni</p>

Slika 2.8 Taksonomska pripadnost i osnovne morfološke karakteristike vrste *A. vulgaris*

Artemisia vulgaris L., u narodu poznata kao „divlji pelin“ ili „crni pelin“, je višegodišnja biljka, 50-150 (200) cm visoka, sa granatim rizomom, bez izdanaka i bez rozete, koja prezimljava. Slike biljke *A. vulgaris*, kao i taksonomska pripadnost predstavljene su na Slici 2.8. Stabljika je uspravna ili ustajuća, uglasta, kruta, u gornjem delu je vunasto maljava. Listovi su 5-10 cm dugački, jedri, duboko perasto deljeni, režnjevi su udaljeno zupčasti, sa gornje strane su najčešće tamno zeleni, goli, ređe +/- sa dlakama, sa donje strane su pokriveni belim, prileglim dlakama. Listovi rozete su sa kratkim drškama, a ostali su sedeći ili skoro sedeći, sa uvastom osnovom. U donjem delu stabljike listovi su dvostruko perasto deljeni, u srednjem i gornjem delu su jednostruko perasto deljeni. Glavice su mnogobrojne, uspravne ili donekle viseće, jajaste, sa kratkim drškama, +/- 3-4 mm dugačke, 2-3 mm široke, u jako granatim metličastim cvastima. Listići involukruma su slabo vunasto dlakavi, sa zelenim srednjim nervom; spoljašnji listići involukruma su šiljati, lancetasti, dok su unutrašnji listići tupi, duguljasti, sa širokim kožastim obodom. Cvetna loža je gola. Središnji cvetovi su



hermafroditni, a obodni cvetovi su ženski. Svi cvetovi su žuti ili ružičastosmeđi, skoro goli. Ahenije su cilindrične do jajaste (Gajić, 1975).

Cvetanje - od jula do septembra. Stanište - Pored puteva, pruga, oko kuća, oranice, kukuružišta, krompirišta, livade, na požarištima, šumaskim progalama, uz međe i na zapuštenim mestima. Opšte rasprostranjenje - Evropa, Kavkaz, Sibir, srednja i jugozapadna Azija. Unesena u Severnu Ameriku. *A. vulgaris* je cirkumpolarni florni element. Rasprostranjenje vrste *A. vulgaris* na teritoriji Evrope i Sredozemlja dato je na Slici 2.9 (Greuter, 2006).



Slika 2.9 Rasprostranjenje vrste *Artemisia vulgaris* na teritoriji Evrope i Sredozemlja (izvor: Greuter, 2006).

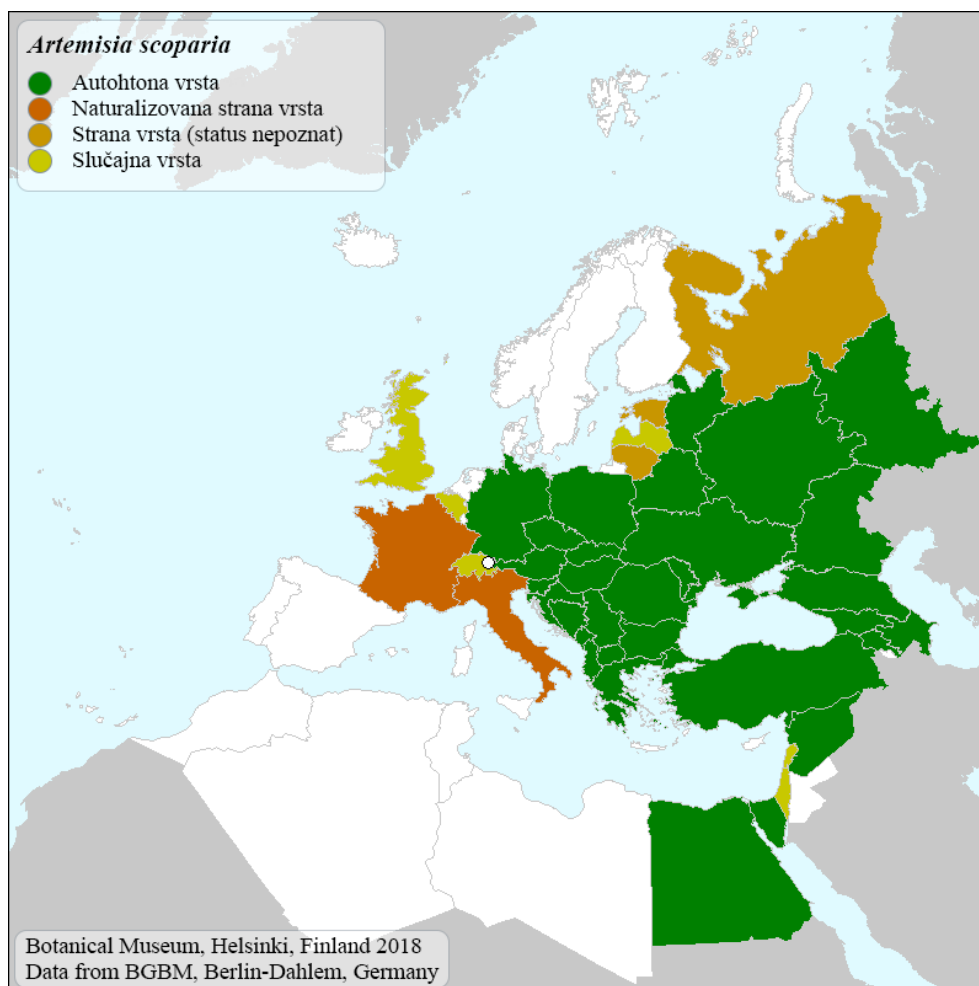
2.2.5. *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit.

<p>Carstvo - Plantae Divizija - Tracheophyta Subdivizija - Spermatophytina Klasa - Magnoliopsida Superred - Asteranae Red - Asterales Familija - Compositae Giseke Pleme - Anthemideae Cass. Rod - <i>Artemisia</i> L.</p>	
	<p>Narodno ime – žuta metla Životni ciklus - jedno-dvogodišnja Period cvetanja - VIII-IX Stabljika - 30-100 cm Glavice - 1,5-2 mm dugačke Listovi - sivkastozeleni Cvetovi - ružičasti Ahenija - jajasta Florni element - evroazijski</p>

Slika 2.10 Taksonomska pripadnost i osnovne morfološke karakteristike vrste *A. scoparia*

Artemisia scoparia Waldst. et Kit. (*Artemisia scoparioides* Grossh.), u narodu poznata kao „žuta metla“ ili „bezlisni pelin“, je jednogodišnja do dvogodišnja biljka, 30-100 cm visoka, sa vretenastim korenom. Slike biljke *A. scoparia*, kao i taksonomska pripadnost predstavljene su na Slici 2.10. Stabljika je gola ili ređe slabo svilasto dlakava, uspravna ili ustajuća, često već od osnove metličasto granata. Listovi su goli, ređe slabo svilasto dlakavi. Listovi rozete su dvostruko perasto deljeni, režnjevi su lancetasti i za vreme cvetanja nedostaju. Listovi stabljike su +/- goli, dvostruko perasto deljeni, režnjevi su linearni, 0,2-1 mm široki. Glavice su sa kratkim drškama, viseće, 1,5-2 mm dugačke, loptaste, u piramidalnim metličastim cvastima. Listići involukruma su poređani kao crepovi na krovu, goli, sjajni, zelenkasti ili ružičasti, tupi, sa kožastim obodom. Cvetna loža je gola. Cvetovi su ružičasti. Središnji cvetovi su dvopolni, a cevasti su neplodni. Obodni cvetovi su ženski, cevasto končasti i plodni. Ahenija je 0,8 mm dugačka, jajasta, blede smeđa (Gajić, 1975).

Cvetanje - od avgusta do septembra. Stanište - peskovita mesta, parlozi, ruderalna mesta, sporadično pored puteva, na strnjištima, od nizina sve do planinskih oblasti. Opšte rasprostranjenje - centralna i jugoistočna Evropa, Kavkaz, Sibir, srednja i jugozapadna Azija. *A. scoparia* je evroazijski florni element. Rasprostranjenje vrste *A. scoparia* na teritoriji Evrope i Sredozemlja dato je na Slici 2.11 (Greuter, 2006).



Slika 2.11 Rasprostranjenje vrste *Artemisia scoparia* na teritoriji Evrope i Sredozemlja (izvor: Greuter, 2006).

2.3. HEMIJSKI SASTAV ETARSKIH ULJA ODABRANIH VRSTA RODA *ARTEMISIA*

Biljne vrste roda *Artemisia* obuhvaćene su velikim brojem istraživanja hemijskog sastava etarskih ulja. *A. annua* je verovatno jedan od najanaliziranijih pripadnika roda *Artemisia*, zbog toga što je iz nje 1971. godine u Kini izolovan seskviterpenski lakton artemisinin, veoma efikasan antimalarijski lek (Woodrow i sar., 2005). Od ovog početnog otkrića, pa sve do danas, razvijen je niz polusintetičkih derivata artemisinina, a sve u svrhu lečenja malarije. Za *A. scoparia*, a u vezi sastava etarskog ulja, postoji ograničen broj podataka iz Evrope, te je ona, zapravo, najmanje analizirana biljna vrsta od svih pomenutih.

U ovoj doktorskoj disertaciji je ispitivan sastav etarskih ulja dobijenih iz nadzemnih delova odabranih biljaka u fazi cvetanja, pa je zato u Tabelama 2.1 do 2.5 dat pregled dostupnih rezultata dosadašnjih ispitivanja hemijskog sastava etarskih ulja nadzemnih delova biljnih vrsta: *A. alba* (Tabela 2.1), *A. absinthium* (Tabela 2.2), *A. annua* (Tabela 2.3), *A. vulgaris* (Tabela 2.4) i *A. scoparia* (Tabela 2.5).

Tabela 2.1 Sadržaj najzastupljenijih komponenata (%) etarskog ulja nadzemnih delova biljne vrste *A. alba* u fazi cvetanja

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Belgija	izopinokamfon (34,0) kamfor (21,0)	Ronse i De Pooter, 1990
Italija, Madonije	α -bisabolon-oksidi (16,4) davanon D (10,5) bisabolon-oksidi (9,0) santolina trien (7,3) γ -gurjunen (6,4)	
Italija, Marće	8-kedren-13-ol (10,3) borneol (9,3) α -selinen (7,6) artemizija alkohol (6,0) spatulenol (4,2)	Maggio i sar., 2012
Italija, Majela	α -eudezmol (42,2) <i>cis</i> -pinokamfon (14,9) piperiton (12,6)	
Italija, Velino	piperiton (32,8) germakren D (10,2) (<i>E</i>)-nerolidol (6,4)	
Italija	kamfor (39,3) kuminaldehid (13,5) izopinokamfon (10,2)	Mucciarelli i sar., 1995
Italija, Kolekio, rekaTaro	kamfor (29,6)	Perfumi i sar., 1999

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
	α -tujon (24,0) artemizija keton (14,0)	
Italija, Kolekio, reka Po	kamfor (15,8) α -bisabolol-oksidi B (10,7) hrizantenon (8,4) α -tujon (6,6)	
Italija, Ocano Taro	kamfor (29,2) α -tujon (18,1)	
Italija, Moro 1995	artemizija keton (31,0) hrizantenil-acetat (11,3) artemizija alkohol (9,6) kamfenilon (9,4)	
Italija, Moro 1996	artemizija alkohol (11,5) sabinen (8,0) kamfenilon (6,2)	
Srbija, serpentinit	germakren D (38,3) biciklogermakren (3,6) kamfor (3,5)	
Srbija, krečnjak	spatulenol (11,8) artemizija keton (10,1) kamfor (7,5) 1,8-cineol (7,4)	Radulović i Blagojević, 2010
Srbija	kamfor (23,7) artemizija keton (15,2) 1,8-cineol (14,1)	Đorđević i sar., 2013
Srbija	artemizija keton (45,3) 1,8-cineol (12,2) solavetivon (7,9)	Radulović i sar., 2021
Srbija	kamfor (36,6) 1,8-cineol (17,9)	Stojanović i sar., 2000
Srbija	kamfor (41,9) 1,8-cineol (13,8) <i>sin-anti-anti-helifolen-12-al A</i> (10,2) kamfen (8,9)	Janačković i sar., 2019

Tabela 2.2 Sadržaj najzastupljenijih komponenata (%) etarskog ulja nadzemnih delova biljne vrste *A. absinthium* u fazi cvetanja

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Alžir	kamfor (47,6) hamazulen (10,3) terpinen-4-ol (6,4)	Boudjelal i sar., 2020
Amerika	<i>trans</i> -tujon (33,1) <i>cis</i> -sabinil-acetat (32,8)	Tucker i sar., 1993
Belgija	sabinen (9,3) mircen (5,4) sabinil-acetat (18,6)	Orav i sar., 2006
Brazil	kamfor (19,0)	Vieira i sar., 2017

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
	(<i>E</i>)-kariofilen (9,3) α -kadinol (6,5)	
Egipat	α -felandren (50,5) terpinen-4-ol (12,0)	Aboutabl i sar., 1998
Etiopija	dehidrokostus lakton (41,8) kamfor (27,4)	Tariku i sar., 2011
Francuska	<i>cis</i> -krisantenol (69,0)	Carnat i sar., 1992
Francuska, cela biljka	(<i>Z</i>)-6,7-epoksiocimen (30,0) <i>cis</i> -hrizantenil-acetat (15,5)	Juteau i sar., 2003
Grčka	β -tujon (38,7) kariofilen-oksidi (23,3) 1,8-cineol (18,9) <i>p</i> -cimen (16,8)	Orav i sar., 2006
Hrvatska, cela biljka	β -tujon (26,0) (<i>Z</i>)-6,7-epoksiocimen (24,1)	Juteau i sar., 2003
Indija, listovi	bornil-acetat (26,5) terpinen-4-ol (18,2) <i>p</i> -cimen (14,1)	Mishra i sar., 2020
Indija	borneol (16,7) metil hinokiat (12,9) izobornil-acetat (4,7)	Joshi, 2013
Indija	hrizantenil-acetat (49,2) <i>L</i> - β -pinen (39,6)	Wani i sar., 2014
Iran	β -pinen (34,0) <i>p</i> -cimen (14,6) α -pinen (8,3) α -tujon (6,9)	Sefidkin i sar., 2003
Iran	β -pinen (23,8) <i>trans</i> -tujon (18,6)	Rezaeinodehi i Khangholi, 2008
Iran	nerolidol (49,9) santolina trien (15,9) α -pinen (7,0)	Hadi i sar., 2014
Iran	1,8-cineol (36,5) borneol (26,0) kamfor (10,2)	Taherkhani i sar., 2013
Kanada	<i>trans</i> -sabinil-acetat (26,4) mircen (10,8) <i>trans</i> -tujon (10,1)	Lopes-Lutz i sar., 2008
Kina	eukaliptol (25,6) linalol (12,0) β -mircen (10,1)	Jiang i sar., 2021
Kuba	bornil-acetat (23,0) terpinen-4-ol (8,2) 1,8-cineol (5,1)	Pino i sar., 1997
Kuba	<i>trans</i> -sabinil-acetat (36,7) <i>p</i> -cimen-7-ol (5,4) <i>trans</i> -sabinol (5,0)	Monzote i sar., 2014
Letonija	sabinil-acetat (23,6) <i>trans</i> -verbenol (9,2)	Orav i sar., 2006

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Litvanija	sabinil-acetat (13,7) <i>trans</i> -verbenol (11,7)	Orav i sar., 2006
Mađarska	sabinen (18,1) mircen (17,7)	Orav i sar., 2006
Maroko	α -tujon (39,7) sabinil-acetat (11,0)	Derwich i sar., 2009
Maroko	β -tujon (35,6) hamazulen (3,1)	Fouad i sar., 2015
Rusija	mircen (35,0) α -pinen (6,0) nerol (3,0)	Goraev i sar., 1962
Srbija, Mokra	β -tujon (19,8) <i>cis</i> - β -epoksiocimen (10,7) <i>trans</i> -sabinil-acetat (8,8) sabinen (8,1)	Blagojević i sar., 2006
Srbija, priobalje Nišave	β -tujon (63,4) sabinen (10,8)	
Srbija	sabinen (24,5) sabinil-acetat (13,6) α -felandren (10,3)	Mihajilov-Krstev i sar., 2014
Škotska	sabinen (30,1) mircen (18,0)	Orav i sar., 2006
Španija	<i>cis</i> -epoksiocimen (76,3-39,9) <i>cis</i> -krisantenil-acetat (33,4)	Ariño i sar., 1999
Španija	karvon (18,5) 1,8-cineol (18,0) timol (10,8) karvakrol (9,7)	Orav i sar., 2006
Tunis	β -tujon (22,7) kamfor (16,7) 1,8-cineol (5,5)	Bachrouch i sar., 2015
Turska	hamazulen (17,8) nuciferil-butirat (8,2) nuciferil-propionat (5,1)	Kordali i sar., 2005

Tabela 2.3 Sadržaj najzastupljenijih komponenata (%) etarskog ulja nadzemnih delova biljne vrste *A. annua* u fazi cvetanja

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Amerika	tujon (30,9) kamfor (30,3) 1,8-cineol (16,5) kamfen (13,2)	Desrosiers i sar., 2019
Bosna	artemizija keton (30,7) kamfor (15,8)	Ćavar i sar., 2012
Bosna	artemizija keton (28,3) 1,8-cineol (5,4) kamfor (16,9)	Vidić i sar., 2018

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Brazil	kamfor (22,7) 1,8-cineol (20,4) <i>p</i> -cimen (12,2)	Perazzo i sar., 2003
Bugarska	α -kariofilen (24,7) α -kubeben (13,5) artemizija keton (8,5) α -selinen (8,2) α -kopaen (7,4)	Tzenkova i sar., 2010
Etiopija	kamfor (43,8) spatulenol (8,5) kubenol (7,7) kariofilen-oksidi (7,6)	Muzemil i sar., 2008
Francuska	kamfor (43,5) germakren D (15,6) <i>trans</i> -pinokarveol (10,9) β -selinen (9,4) β -kariofilen (8,9)	Juteau i sar., 2002
Indija	kamfor (28,6) 1,8-cineol (12,9)	Rana i sar., 2013
Indija	kamfor (36,6) 1,8-cineol (11,1) germakren D (5,9) β -kariofilen (5,7)	Rajeswara Rao i sar., 2014
Indija, listovi	kamfen (10,7) kamfor (10,5) terpinen-4-ol (5,4)	Bagchi i sar., 2003
Indija, listovi	kamfor (52,1) β -kariofilen (11,0) 1,8-cineol (5,6) β -kariofilen-oksidi (4,2)	Islamuddin i sar., 2014
Iran	β -selinen (16,2) kamfor (12,1) β -kariofilen (7,4)	Emadi i Yassa, 2009
Iran	kamfor (43,5) 1,8-cineol (13,9)	Mohammadreza, 2008
Iran	artemizija keton (21,6) 1,8-cineol (14,7) pinokarvon (8,8)	Khangholi i Rezaeinodehi, 2008
Iran	1,8-cineol (11,4) linalol (8,0) spatulenol (5,0) pentakozan (4,9)	Massiha i sar., 2013
Iran	kamfor (48,0) 1,8-cineol (9,4) kamfen (7,0) spatulenol (4,9)	Verdian i sar., 2008
Iran	kamfor (16,3) β -selinen (10,4) artemizija keton (8,8) germakren D (7,1)	Nekoei i sar., 2012

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Iran	<i>β</i> -mircen (22,4) kamfor (20,4) 1,8-cineol (17,2) <i>α</i> -pinen (7,3)	Kazemi, 2015
Iran	artemizija keton (24,2) <i>α</i> -pinen (12,1) 1,8-cineol (9,8), kamfor (8,4) <i>α</i> -selinen (7,5) borneol (6,0)	Rasooli i sar., 2003
Italija	germakren D (21,2) kamfor (17,6) <i>β</i> -farnezen (10,2) <i>β</i> -kariofilen (9,0) biciklogermakren (4,2)	Bilia i sar., 2008
Italija	artemizija keton (24,0) kamfor (17,7) 1,8-cineol (16,1)	Donato i sar., 2015
Italija	kamfor (22,6) artemizija keton (17,3) 1,8-cineol (15,8)	Risaliti i sar., 2020
Južna Koreja	1,8-cineol (20,6) germakren D (19,3) kariofilen (11,4)	Hwang i sar., 2016
Kina	1,8-cineol (27,4) <i>α</i> -pinen (17,5) kamfor (14,1) felandren (8,5)	Desrosiers i sar., 2019
Kina	artemizija keton (70,6) <i>α</i> -kariofilen (5,1) germakren D (3,8)	Liu i sar., 2021
Rumunija	kamfor (17,7) <i>α</i> -pinen (9,7) germakren D (7,6) 1,8-cineol (7,2) <i>trans-β</i> -kariofilen (7,0) artemizija keton (6,3)	Marinas i sar., 2015
Srbija	artemizija keton (35,7) <i>α</i> -pinen (16,5) 1,8-cineol (5,5)	Radulović i sar., 2013
Turska	kamfor (31,7) artemizija keton (22,3) 1,8-cineol (10,1) kariofilen-oksidi (7,1)	Soylu i sar., 2005
Turska	artemizija keton (37,2) kamfor (23,8) 1,8-cineol (10,4)	Şenkal i sar., 2015
Ukrajina	artemizija keton (46,2) kamfor (16,4) 1,8-cineol (6,1)	Khodakov i Kotikov, 2009

Tabela 2.4 Sadržaj najzastupljenijih komponenata (%) etarskog ulja nadzemnih delova biljne vrste *A. vulgaris* u fazi cvetanja

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Amerika	germakren D (25,3) kariofilen (19,6) α -zingiberen (14,9) borneol (10,8)	Williams i sar., 2012
Brazil	α -tujon (48,5) β -tujon (8,0) kariofilen (6,3) kamfor (3,4)	Soares i sar., 2015
Brazil	kariofilen (37,5) germakren D (16,2) humulen (13,7)	Malik i sar., 2019
Francuska	α -tujon (35,5) kamfor (26,0) 1,8-cineol (8,2)	Milhau i sar., 1997
Francuska	kamfor (9,2) borneol (8,9) <i>cis</i> -hrizantenol (5,6) γ -kadinen (5,4) dibutil-ftalat (6,5)	Jerković i sar., 2003
Hrvatska	β -tujon (20,8) α -pinen (15,1) 1,8-cineol (11,7) kamfor (8,7) α -tujon (8,5)	
Indija	kamfor (10,8) β -eudezmol (9,0) bornil-acetat (6,3) <i>trans</i> -kariofilen (6,5)	Kunal, 2018
Indija	1,8-cineol (16,8) kamfor (11,9) izopulegol (9,4) borneol (8,1)	Munda i sar., 2019
Indija	kamfor (27,0) β -kariofilen-oksidi (15,9) borneol (10,8)	Balasubramani, i sar., 2018
Iran	izobornil-izobutirat (38,1) β -pinen (30,1) <i>dl</i> -limonen (6,2)	Tajadod i sar., 2012
Iran	α -pinen (23,6) mentol (9,7) β -eudezmol (8,3)	Saadatian i sar., 2011
Iran	<i>trans</i> -kariofilen (24,8) 1,8-cineol (18,6) <i>trans</i> -salven (14,9) β -kubeben (11,8)	Bamoniri i sar., 2010
Iran	α -pinen (23,6)	Sharifian i sar., 2013

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
	mentol (9,7) β -eudezmol (8,3) spatulenol (4,6)	
Iran	<i>cis</i> -tujon (20,7) <i>trans</i> -tujon (19,8) kamfor (15,8) <i>trans</i> -verbenol (7,1)	Pooladi i sar., 2021
Kanada	hrizantenil-acetat (39,6) <i>p</i> -cimen (17,2) β -felandren (11,4)	Williams i sar., 2013
Kuba	kariofilen-oksidi (31,1) heksadekanska kiselina (6,3)	Pino i sar., 1999
Mongolija	α -bisabolol (27,7) germakren D (12,0) kariofilen (5,6) 1,8-cineol (5,5)	Shatar i sar., 2006
Nepal	β -tujon (19,2) kamfor (11,89) sabinen (11,3) germakren D (8,42)	Pandey i sar., 2017
Rumunija, listovi	germakren D (6,4) eukaliptol (6,3) β -pinen (4,5)	Badea i sar., 2020
Sirija	kamfor (8,7) <i>trans</i> -pinokarvil-acetat (7,7)	Sadaka i sar., 2012
Srbija	1,8-cineol (28,9) sabinen (13,7) β -tujon (13,5)	Blagojević i sar., 2006
Turska	tujon (60,3) kariofilen-oksidi (11,5) α -tujon (9,5)	Yildirim i sar., 2016
Turska	α -tujon (56,1) β -tujon (12,0) kariofilen-oksidi (10,2) 1,8-cineol (8,5)	Erel i sar., 2012
Turska	β -tujen (36,0) α -tujen (13,6) hrizantenon (5,6)	Bagci i sar., 2010
Vijetnam	β -kariofilen (24,1) β -kurkumen (12,0) borneol (7,9)	Dũng i sar., 1992
Vijetnam	β -anol (21,7) kamfor (10,9) β -pinen (10,2) α -pinen (9,1)	Thao i sar., 2004

Tabela 2.5 Sadržaj najzastupljenijih komponenata (%) etarskog ulja nadzemnih delova biljne vrste *A. scoparia* u fazi cvetanja

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Indija	acenaften (36,9) <i>p</i> -cimen (20,5) β -mircen (14,0) (+)-limonen (12,5)	Kaur i sar., 2010
Indija	citronelal (15,2) acenaften (11,1) β -citronelol (11,0) kariofilen-oksidi (10,0)	Singh i sar., 2009a
Indija	<i>p</i> -cimen (27,1) acenaftalen (24,4) β -mircen (20,1) (+)-limonen (12,6)	Singh i sar., 2010
Indija	γ -terpinen (21,8) eugenol (20,4)	Ali i sar., 2000
Indija	β -mircen (24,4) γ -terpinen (18,3) <i>p</i> -cimen (17,4) neral (12,5)	Kapoor i sar., 2004
Indija	β -mircen (29,3) acenaften (17,8) (<i>Z</i>)- β -ocimen (13,4) (+)-limonen (13,3)	Singh i sar., 2009b
Iran	α -tujon (81,7) β -tujon (14,5) 1,8-cineol (1,9)	Farzaneh i sar., 2006
Iran	metil-eugenol (19,2) kariofilen-oksidi (7,6)	Khayyat, 2010
Iran	β -pinen (16,1) karvakrol (13,8) limonen (8,8) <i>cis</i> - β -ocimen (8,4) metil-eugenol (7,6)	Khayyat i Karimi, 2005
Iran	kamfor (37,9) 1,8-cineol (27,8) borneol (21,1)	Morteza-Semnani i Akbarzadeh, 2005
Iran	α -tujon (79,3) β -tujon (13,7)	Mirjalili i sar., 2007
Iran	β -pinen (19,0) kapilin (17,5) limonen (15,1) mircen (11,0)	Negahban i sar., 2006
Iran	kapilen (48,5) β -pinen (9,8) 1,8-cineol+limonene (9,2) kamfor (6,9) kapilin (5,6).	Sefidkin i sar., 2003

Zemlja porekla	Komponenta (%)	Referenca
Iran	1-fenil-penta-2,4-diin (30,9) β -pinen (23,3) limonen (10,2) (E)- β -ocimen (9,7)	Safaei-Ghomi i sar., 2005
Kina	n-heksadekanska kiselina (33,1) kariofilen-oksidi (19,1) spatuleniol (9,9)	Jiang i sar., 2012
Kina	acenaften (20,2) kariofilen-oksidi (10,1) kurkumen (9,8) kariofilen (9,4) (-)-spatuleniol (8,1) metil-eugenol (8,0)	Huang i sar., 2019
Kina, planina Riiue	2-etenil-naftalen (45,1) β -pinen (11,2) 3-karen (8,7) 3,7-dimetil-Z-1,3,6- oktatrien (7,2)	Yao i Bo, 2016
Kina, planina Điljen	tujon (21,4) 1,8-cineol (18,9) kamfor (9,1) 4-metil-1-(1-metiletil)-3-cikloheksen-1-ol (7,2)	
Koreja	1,8-cineol (21,5) kamfor (11,0) β -kariofilen (6,8)	Cha i sar., 2005
Saudijska Arabija	acenaften (83,2)	Guetat i sar., 2017
Tadžikistan	1-fenil-2,4-pentadiin (34,2) β -pinen (21,3)	Sharopov i Setzer, 2011
Ukrajina	kapilen (89,4)	Khodakov i Kotikov, 2009

2.4. REZULTATI PRETHODNIH ISPITIVANJA KOMPONENATA EKSTRAKATA ODABRANIH VRSTA RODA *ARTEMISIA*

U Tabelama 2.6 do 2.10 su prikazane publikacije koje su za temu imale ispitivanje hemijskog sastava različitih ekstrakata nadzemnih delova biljnih vrsta *A. alba* (Tabela 2.6), *A. absinthium* (Tabela 2.7), *A. annua* (Tabela 2.8), *A. vulgaris* (Tabela 2.9) i *A. scoparia* (Tabela 2.10), a navedene su i tehnike izolovanja i identifikacije pojedinih komponenata ekstrakata.

Tabela 2.6 Pregled dostupnih literaturnih podataka o fenolnim profilima vrste *A. alba*

Zemlja porekla	Ekstrakt	Tehnika	Referenca
Bugarska	metanolni	UHPLC-PDA-MS	Trendafilova i sar., 2018
Italija	etanolni	HPLC-MS	Peron i sar., 2017
Srbija	metanolni	HPLC-PDA	Jakovljević i sar., 2020
Srbija	etanolni	HPLC	Đorđević i sar., 2013

Tabela 2.7 Pregled dostupnih literaturnih podataka o fenolnim profilima vrste *A. absinthium*

Zemlja porekla	Ekstrakt	Tehnika	Referenca
Alžir	metanolni	UPLC-PDA-MS	Dane i sar., 2016
Alžir	metanolni	RP-LC-DAD-ESI-MS	Boudjelal i sar., 2020
Austrija, Nemačka	metanolni vodeni	HPLC-MS, HPLC-SPE-NMR	Aberham i sar., 2010
Indija	metanolni	UV, IC, NMR	Ahamad i sar., 2014
Iran, listovi	vodeni etanolni	HPLC	Haghi i sar., 2010
Koreja, listovi	metanolni	UHPLC	Lee i sar., 2013
Rumunija	metanolni	LC-MS, HPLC	Ivanescu i sar., 2016
Rumunija	metanolni	HPLC-DAD-MS	Ivanescu i sar., 2010
Rumunija	etanolni	LC-MS	Moacă i sar., 2019

Zemlja porekla	Ekstrakt	Tehnika	Referenca
Srbija	etanolni (apsolutni)	UHPLC-LTQ OrbiTrap MS	Ivanov i sar., 2021
Španija	acetonski	NMR, HPLC-DAD	Gonzalez-Coloma i sar., 2012
Tunis	metanolni	RP-HPLC	Msaada i sar., 2015

Tabela 2.8 Pregled dostupnih literaturnih podataka o fenolnim profilima vrste *A. annua*

Zemlja porekla	Ekstrakt	Tehnika	Referenca
Amerika	heksanski	IC, UV, MS, NMR	Zheng, 1994
Bugarska	acetonski	TLC	Nikolova i sar., 2005
Egipat	etanolni	HPLC/PDA/ESI/MS-MS	El-Askary i sar., 2019
Italija	vodeni	ESI-MS/MS	Carbonara i sar., 2012
Kina	metanolni	LC/DAD-APCI/MS	Lai i sar., 2007
Kina	etanolni	HPLC-DAD LC-ESI-QTOF-MS/MS	Fu i sar., 2020
Kina	metanolni	HPLC/UV, MS	Han i sar., 2008
Kina	etanolni	NMR, MS, IC, UV	Han i sar., 2007
Kina, Brazil	dihlorometanski heksanski	HPLC/DAD HPLC/MS	Bilia i sar., 2006
Koreja	metanolni	LC/MS/MS, HPLC	Song i sar., 2016
N/A (kapsule)	DMSO	HPLC-DAD UHPLC-MS/MS	Schmiech i sar., 2019
N/A (staklena bašta)	heksanski (listovi i cvetovi)	HPLC/DAD HPLC/MS	Baraldi i sar., 2008
N/A (staklena bašta)	metanolni (listovi)	HPLC	Carvalho i sar., 2011
Madagaskar	vodeni	HPLC/PDA	Suberu i sar., 2013
Rumunija	metanolni	HPLC-DAD-MS	Ivanescu i sar., 2010
Španija (staklena bašta)	etanolni	LC-MS	Skowrya i sar., 2014
Velika Britanija (staklena bašta)	etanolni	CC, HPLC	Brown, 1992

Tabela 2.9 Pregled dostupnih literaturnih podataka o fenolnim profilima vrste *A. vulgaris*

Zemlja porekla	Ekstrakt	Tehnika	Referenca
Brazil	hidroalkoholni	HPLC/UV/DAD	Pires i sar., 2009
Francuska, cvetovi	-	TLC, HPLC, UV, NMR	Carnat i sar., 2000
Koreja	etanolni	UV, MS, ¹ H NMR, EI-MS, TLC	Lee i sar., 1998
Koreja	etanolni	¹ H-NMR EI-MS	Lee i sar., 1999
Nemačka	metanolni	UV	Hoffmann i Herrmann 1982
Nepal	metanolni	HPLC	Pandey i sar., 2017
Srbija	acetonski	HPLC	Nikolova i sar., 2004
Srbija	acetonski	TLC	Nikolova i Veličković, 2007
Srbija	metanolni	HPLC-ESI-QTOF-MS	Melguizo-Melguizo i sar., 2014
Srbija	metanolni	HPLC-PDA	Jakovljević i sar., 2020

Tabela 2.10 Pregled dostupnih literaturnih podataka o fenolnim profilima vrste *A. scoparia*

Zemlja porekla	Ekstrakt	Tehnika	Referenca
Indija	hloroformski	KoTLC, UV, IC, NMR	Chandrasekharan i sar., 1981
Kina	hidrometanolni	HPLC	Tian i Row 2011
Mongolija	etanolni	HR-EI-MS, UV, IC, NMR, HPLC	Yahagi i sar., 2014
Pakistan	<i>n</i> -heksan hloroform aceton aceton+etilacetat etilacetat hloroform+etanol hloroform+metanol etanol+etilacetat metanol+etilacetat etanol destilovana voda+aceton metanol destilovana voda+metanol destilovana voda	HPLC-DAD	Khan i sar., 2015

2.5. ELEMENTNI SASTAV ODABRANIH VRSTA RODA *ARTEMISIA*

2.5.1. Pregled publikovanih podataka o elementnom sastavu odabranih vrsta roda *Artemisia*

Veoma malo podataka, koji se odnose na elementni sastav, je publikovano do sada. Većina dosadašnjih istraživanja zasnivala se na kvantifikaciji toksičnih elemenata, pa je Truong (2020) odredio koncentracije Pb, Cd, As ICP MS metodom kod *A. vulgaris*, takođe Wu i sar. (2011) detektovali su merljive količine Cu, Pb, As, Hg, Cd, Cr, Mn, Ni i Al u komercijalnoj, sušenoj biljci *A. annua* pomoću ICP OES, dok su Negi i sar. (2012) kvantifikovali šest teških i esencijalnih elemenata (As, Cd, Zn, Ni, Pb, Hg) u *A. annua* koristeći ICP MS. U dve odvojene studije, Brima (2017) je odredio četiri elementa (Al, Pb, As i Cd), a nakon toga još pet elemenata (Fe, Mn, Zn, Cu, Se) u *A. vulgaris* koristeći ICP MS (Brima, 2018). Rezultati prethodnih istraživanja *A. vulgaris* i *A. annua* korišćenjem ICP MS su prikazana u Tabeli 2.11. Branković (2014) je identifikovala i kvantifikovala Mg, Fe, Ca, Ni, Mn, Cr, Co, Zn, Pb, Cu, Cd u *A. alba*, *A. vulgaris* i *A. absinthium* koristeći ICP OES. Rezultati prethodne ICP OES višeelementatne studije o *A. absinthium*, *A. vulgaris* i *A. alba*, sprovedene od strane Branković (2014) prikazane su u Tabeli 2.12.

Tabela 2.11 ICP MS rezultati prethodnih studija *A. vulgaris* i *A. annua*

Biljna vrsta	Element (mg/kg)				Element (µg/g)				Referenca
	Pb	Cd	Al	Ni	Fe	Mn	Zn	Cu	
<i>A. vulgaris</i>	1,474	0,196							Truong, 2020
<i>A. vulgaris</i> *					193,4	33,0	32,7	18,0	Brima, 2018
<i>A. vulgaris</i> *	2,59	0,033	156,4						Brima, 2017
<i>A. annua</i> **	1,24	0,30		1,22			18,0***		Negi i sar., 2012

* neoprani biljni materijal; ** listovi; *** mg/kg

Tabela 2.12 Podaci o koncentracijama jedanaest makro i mikro elemenata koje je odredila Branković (2014)

Element/Uzorak	srAA*	AB*	AV*
Ca	4555	9368	8003
Mg	4471	3654	1369
Fe	424,5	1297	188,3
Mn	38,5	78,58	108,5
Cu	7,574	10,58	10,94
Zn	23,99	59,55	18,8

Element/Uzorak	srAA*	AB*	AV*
Ni	34,77	26,24	11,14
Pb	1,21	2,556	0,005
Cd	0,183	0,22	0,147
Co	1,317	2,222	0,395
Cr	5,649	14,48	10,08

AA - *A. alba*; AB - *A. absinthium* ; AV - *A. vulgaris*

* koncentracije (mg/kg) jedanaest makro i mikro elemenata prema Brankoviću, 2014

srAA – srednja vrednost koncentracija elemenata kvantifikovanih u tri uzorka *A. alba* sa različitih lokaliteta

2.5.2. Podela elemenata koji se mogu naći u biljnim vrstama

Elementi se mogu podeliti u dve grupe prema njihovom sadržaju u biljkama. Prvu grupu čine makroelementi (Ca, K, Mg, Na i P), a drugu mikroelementi, koji se prema Stručnom Komitetu Svetske Zdravstvene Organizacije za elemente u tragovima u ishrani ljudi dalje mogu podeliti u tri podgrupe prema značaju u ishrani ljudi (FAO/WHO, 1996). U prvoj podgrupi su esencijalni elementi (Cr, Cu, Fe i Zn), drugu podgrupu čine elementi koji su verovatno esencijalni (B, Co, Mn, Ni, Si i V), a treću podgrupu čine potencijalno toksični elementi, od kojih neki mogu imati potencijalno bitne funkcije pri niskim koncentracijama (Al, Ba, Be, Cd i Pb).

2.5.3. Zašto je važno znati količine pojedinih elemenata u odabranim biljnim vrstama roda *Artemisia*?

Važno je znati količine pojedinih elamanata u vrstama roda *Artemisia* zato što se vekovima koriste, između ostalog, i u ishrani ljudi. Na primer, *A. alba* se upotrebljava kao začim i aroma (Seidemann, 2005). *A. vulgaris* se primenjuje kao aroma masne hrane, aroma u pivu i likerima, aroma jela od pirinča, aroma čaja, kao i kulinarsko bilje (Koul i sar., 2018; Wright, 2003). *A. absinthium* se koristi kao začim i za aromatizovanje bezalkoholnih i alkoholnih pića kao što su biter, tonici, pivo, vino, vermut, likeri, aperitivi i absint (Szopa i sar., 2020; Chandler-Ezell, 2005). *A. annua* je našla svoju primenu kao aroma u žestokim alkoholnim pićima kao što je vermut, a ono što je manje poznato, *A. annua* se može koristiti i kao povrće (Amidon i sar., 2014). Sveži listovi *A. scoparia* se, takođe, konzumiraju kao povrće, dok se osušeni listovi mogu koristiti kao začim (Mirjalili i sar., 2007).

4.1.2.3. Preporučeni dnevni unos određenih elemenata

Ukoliko se razmatraju vrednosti za svaki element u nekom analiziranom uzorku, može se izračunati masa biljke koja je dovoljna da bi se obezbedio preporučeni dnevni unos razmatranih elemenata (Tabela 2.13).

Tabela 2.13 Preporučeni dnevni unos (PDU) makronutrijenata i mikronutrijenata putem ishrane (mg/dan)

Makroelementi	PDU*
Ca	950
Mg	350
P	550
K	3500
Na	1.5
Mikroelementi	PDU** muškarci/žene
Fe	8 / 18
Co	- / -
Mn	2,3 / 1,8
Cu	0,9 / 0,9
Zn	11 / 8
Ni	- / -
Cr	0,035 / 0,025

* ESFA, 2017

** U.S. National Academies, Institute of Medicine, 2001

2.5.5. Maksimalne dozvoljene količine Pb, Cd, Cr i Cu u biljnim proizvodima

Sa druge strane, ako se uračuna da maksimalna masa konzumirane biljke ne bi trebalo da sadrži više od predložene dnevne potrebe navedenih elemenata u gotovom dodatku ishrani (Tabela 2.14), može se preporučiti adekvatan unos mase određene biljke, a da se pritom ne prekorači preporučena količina za određeni element.

Tabela 2.14 Nacrt predloga Nacionalne sanitarne fondacije za maksimalne dozvoljene količine Pb, Cd, Cr i Cu u biljnim proizvodima

Za biljne proizvode	Jedinica	Pb	Cd	Cr	Cu
Nacrt predloga Nacionalne sanitarne fondacije (sirovi dodatak ishrani)*	ppm	10	0,3	2	-
Nacrt predloga Nacionalne sanitarne fondacije (obrađeni dodatak ishrani)*	mg/day	0,02	0,006	0,02	0,02

* Dodatak ishrani – NIS International Draft Standard (Draft Standard NSF 173-2001). Ann Arbor, Michigan, National Sanitation Foundation International, 2001.

2.6. BIOLOŠKA AKTIVNOST ETARSKIH ULJA ODABRANIH VRSTA RODA *ARTEMISIA*

Etarska ulja odabranih biljnih vrsta pokazuju različita lekovita i po zdravlje blagotvorna svojstva; poseduju širok spektar bioloških aktivnosti i predstavljaju izvor velikog broja aktivnih komponenata.

Nadzemni delovi *A. alba* su se tradicionalno koristili kao digestiv i tonik za stomak u obliku dekokta (Rigat i sar., 2007), pokazalo se da etarsko ulje ove biljke poseduje spazmolitička i antimikrobna svojstva (Ronse i De Pooter, 1990; Stojanović i sar., 2000; Đorđević i sar., 2013). Neki od rezultata istraživanja različitih bioloških aktivnosti etarskih ulja *A. alba* dati su u Tabeli 2.15.

Obični pelin ima dugu istoriju terapijske upotrebe, kako u narodnoj medicini, tako i u savremenoj farmakologiji. Etarsko ulje ove biljke korišćeno je u antihelmintičkim, antiinflamatornim i antimikrobnim preparatima, kao i preparatima protiv prehlade, a sve to zbog njegovog antiseptičkog, antidepresivnog, digestivnog, karminativnog, stimulativnog, holeretskog i toničnog dejstva (Goud i Swamy, 2015; Watson i Preedy, 2008). Dokazana je i akaricidna aktivnost etarskog ulja *A. absinthium* (Chiasson i sar., 2001). Neki od rezultata istraživanja različitih bioloških aktivnosti etarskih ulja *A. absinthium* dati su u Tabeli 2.16.

Preko 2000 godina kineski narod koristi *A. annua* kao prirodni lek za lečenje malarije (zu Biesen, 2010), za lečenje groznice i žutice (Sadiq i sar., 2014), kao i za zarastanje rana (Liu i sar., 2013). Efekat *A. annua* na hemostazu je dobro poznat u tradicionalnoj medicini (Wang i sar., 2011), kao i antipatogena aktivnost etarskog ulja *A. annua* (Bilia i sar., 2014). Neki od rezultata istraživanja različitih bioloških aktivnosti etarskih ulja *A. annua* dati su u Tabeli 2.17.

Divlji pelin se vekovima koristi kao sredstvo za ublažavanje bolova u stomaku, za lečenje čira na želucu, hepatitisa i neonatalne žutice (Abiri i sar., 2018). Biljka *A. vulgaris* je, takođe, poznata kao tonik, hipoglikemik, antiseptik, ekspektorans, diuretik, analgetik i antihelmintik, a smatra se i korisnim lekom u tretmanu reumatizma, astme, raka i epilepsije (Duke i Bogenschutz, 1994). Dokazana su i antifungalna i antibakterijska aktivnost etarskog ulja *A. vulgaris* (Malik i sar., 2019). Neki od rezultata istraživanja različitih bioloških aktivnosti etarskih ulja *A. vulgaris* dati su u Tabeli 2.18.

Bezlisni pelin ima lekovita svojstva kao što su antiholesterolemična, antipiretička, antiseptička, antibakterijska, a koristi se i kao holagog, diuretik i vazodilatator, zatim u lečenju hepatitisa, žutice i upale žučne kese (Ding i sar., 2021). Etarsko ulje ima jaku

insekticidnu aktivnost (Negahbani sar., 2006), dokazana je i pesticidna aktivnost etarskog ulja *A. scoparia* (Negahban i Moharamipour, 2007). Neki od rezultata istraživanja različitih bioloških aktivnosti etarskih ulja *A. scoparia* dati su u Tabeli 2.19.

Tabela 2.15 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti etarskih ulja vrste *A. alba*

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca	
spazmolitička		uzorak1 1995 IC ₅₀ 0,031 mg/ml	Perfumi i sar., 1999	
		uzorak2 1996 IC ₅₀ 0,071 mg/ml		
		uzorak3 IC ₅₀ 0,087 mg/ml		
antioksidativna, antimikrobna	FRAP	0,023±0 mmol Fe ²⁺ /g	Đorđević i sar., 2013	
	DPPH	EC ₅₀ 14,08±1,09 mg/ml		
	mikrodilucioni			<i>M. luteus</i> 3,1 µl/ml
				<i>M. flavus</i> 25,0 µl/ml
				<i>S. aureus</i> 12,5 µl/ml
				<i>S. epidermidis</i> 3,1 µl/ml
				<i>E. faecalis</i> 6,2 µl/ml
				<i>B. subtilis</i> 3,1 µl/ml
				<i>E. coli</i> 6,2 µl/ml
				<i>K. pneumoniae</i> 12,5 µl/ml
				<i>P. aeruginosa</i> 25,0 µl/ml
				<i>C. albicans</i> 25,0 µl/ml
				<i>C. albicans</i> 25,0 µl/ml
insekticidna	kontaktna toksičnost	<i>S. oryzae</i> 72 h tehnika rezidualnog filma	Tawfeek i sar., 2021	
		LC ₅₀ 16,12 mg/cm ²		
		LC ₉₀ 108,04 mg/cm ²		
insekticidna	test privlačenja	<u>broj adulta na biljci nakon 24 h</u>	Baldin i sar., 2013	
		netretirana 67,50±16,85		
	ovipozitorni test	tretirana 51,25±7,69		
		broj jaja na biljci nakon 24 h		
		netretirana 469,75±78,75		
		tretirana 315,25±134,31		

Tabela 2.16 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti etarskih ulja vrste *A. absinthium*

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
antimikrobna	disk difuzioni	zona inhibicije (mm±SD) <i>Candida albicans</i> 17,0±1,4	Obistioiu i sar., 2014
antimikrobna	dufizioni test	zona inhibicije (mm±SD) <i>S. aureus</i> 25±1,4 <i>S. epidermidis</i> 20±0,7 <i>E. coli</i> 5±0 <i>C. albicans</i> 13±0,7 <i>C. neoformans</i> 14±1,4 <i>F. pedrosoi</i> 16±0,7	Lopes-Lutz i sar., 2008

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
		<i>T. rubrum</i> 27±1,4 <i>M. Canis</i> 28±1,4 <i>M. gypseum</i> 17±0,7 <i>A. niger</i> 18±0,7	
fitotoksična	test potiskivanja izduživanja korena	<u>konc. ulja 0,25 (mg/ml)/% inhibicije</u> <i>A. retroflexus</i> 49,77% <i>M. sativa</i> 14,84% <i>P. annua</i> 43,10% <i>T. aestivum</i> 62,26%	Jiang i sar., 2021
	test blokiranja klijanja semena	<u>konc. ulja</u> <i>A. retroflexus</i> 1 mg/ml <i>M. sativa</i> 2 mg/ml <i>P. annua</i> 1 mg/ml <i>T. aestivum</i> 2 mg/ml	
antimikrobna	mikrodilucioni test	<u>MIC µg/ml</u> <i>S. aureus</i> 5±0,7 <i>B. licheniformis</i> 11±0, <i>M. luteus</i> 8±0,4 <i>E. xiangfangensis</i> >25 <i>E. fergusonii</i> >25 <i>P. aureginosa</i> 8 >25 <i>C. albicans</i> 4±0,1 <i>C. parapsilosis</i> 5±0,6 <i>A. parasiticus</i> 2,5±0,5	Aati i sar., 2020
insekticidna	test kontaktne toksičnosti	LD ₅₀ 5,20 µg/insekt LD ₉₀ 35,830 µg/insekt	Rizvi i sar., 2018
	test rezidualne kontaktne toksičnosti	LC ₅₀ 24,40 mg/ml LC ₉₀ 172,74 mg/ml	
antitermička aktivnost	repelentni test	<u><i>Microcerotermes beelsoni</i></u> list ED ₅₀ 2,44 mg/g grane ED ₅₀ 2,9 mg/g	Mishra i sar., 2020
	mortalitet	<u><i>Microcerotermes beelsoni</i></u> list ED ₅₀ 6,10 mg/g grane ED ₅₀ 6,7 mg/g	

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
antimikrobna	disk difuziona	<u>zona inhibicije (mm)</u> <u>razblaženje ulja 1:10</u> <i>E. coli</i> 29 <i>S. enteritidis</i> 28 <i>P. aeruginosa</i> 28 <i>K. pneumoniae</i> 36 <i>S. aureus</i> 29 <i>C. albicans</i> 30 <i>A. niger</i> 13	Blagojević i sar., 2006
		<u>razblaženje ulja 1:30</u> <i>E. coli</i> 18 <i>S. enteritidis</i> 19 <i>P. aeruginosa</i> 17 <i>K. pneumoniae</i> 21 <i>S. aureus</i> 19 <i>C. albicans</i> 16 <i>A. niger</i> 17	
toksičnost	<i>Artemia</i> test	<i>Artemia</i> sp. LC ₅₀ 15,7-31,9 µg/ml	Judzentiene i sar., 2012
insekticidna	klasični biološki test <i>in vitro</i>	<u><i>Acanthoscelides obtectus</i></u> DL ₅₀ (24 h) 18,5 mg/g DL ₅₀ (48 h) 8,4 mg/g DL ₉₀ (48 h) 45,5 mg/g DL ₉₀ (72 h) 53,7 mg/g	Derwich i sar., 2009
		DPPH ABTS TAC	
antioksidativna			Benkhaled i sar., 2020

Tabela 2.17 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti etarskih ulja vrste *A. annua*

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
antimikrobna i antioksidativna	DPPH	IC ₅₀ 27,07±0,18 mg/ml	Ćavar i sar., 2012
	ABTS	IC ₅₀ 5,97±0,51 mg/ml	
	TRP	RP ₅₀ 127,17±16,82 mg/ml	
	ORAC	5,09±0,45 mmolTE/g	
	sposobnost heliranja metala	HA ₅₀ 20,40±2,11 mg/ml	
		<u>zona inhibicije (mm)</u> <u>konc. ulja 10 mg/ml</u> <i>S. aureus</i> 20 <i>S. aureus</i> 28 <i>B. subtilis</i> 20 agar difuzioni test <i>E. faecalis</i> 27 <i>S. pneumoniae</i> 50 <i>M. luteus</i> / <i>E. Coli</i> 20 <i>P. aeruginosa</i> 15 <i>P. aeruginosa</i> /	

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
		<i>H. influenzae</i> >60 <i>C. krusei</i> 30	
insekticidna	procena repelentnog dejstva	III stadijum nimfe <i>P. viburni</i> konc. ulja /indeks odvracanja insekata (%) 0,4/28,58±5,06 0,8/38,11±4,81 1,6/54,21±8,73 3,2/60,41±6,89 6,5/86,26±5,65	Ramzi i sar., 2017
	test toksičnosti	III stadijum nimfe <i>P. viburni</i> LC ₅₀ (24 h) 0,693% LC ₅₀ (48 h) 0,419%	
insekticidna	toksičnost određena metodom zaprašivanja	<i>Glyphodes pyloalis</i> larve LC ₁₀ (24 h) 1,36 µl/l vazduha LC ₃₀ (24 h) 1,98 µl/l vazduha LC ₅₀ (24 h) 2,58 µl/l vazduha	Oftadeh i sar., 2020
	oralni test toksičnosti	LC ₁₀ 0,27% w/V LC ₃₀ 0,45% w/V LC ₅₀ 0,65% w/V	
insekticidna	larvicidni test	<i>Helicoverpa armigera</i> Hub. srednji "antifeedant" indeks 69,71% inhibicija rasta insekata 60% fertilnost i plodnost 70,45% izleglih jaja	Anshul i sar., 2014
antiadipocitna-citotoksična	WBT	na 3T3-L1 adipocite pri konc. ulja 1 µg/ml inhibicija (%) PPAR γ 4,80±2,87 C/EBP α 6,20±2,67 SREBP-1c 19,86±6,49 ACC 0,56±0,38 FAS 7,44±6,37	Hwang i sar., 2016
antiparazitska	aktivnost protiv promastigota	<i>Leishmania donovani</i> konc. ulja 100 µg/ml IC ₅₀ 14,63±1,49 µg/ml	
	aktivnost protiv amastigota	<i>Leishmania donovani</i> konc. ulja 100 µg/ml IC ₅₀ 7,3±1,85 µg/ml	Islamuddin i sar., 2014
	ex-vivo test toksičnosti	proizvodnja makrofaga indukovana NO 8,96±1,45 µM NO inficirani makrofag 16,43±1,68 µM NO	
insekticidna	test smrtnosti	konc. µl/ml /% smrtnosti (24 h) 5/0 10/0 20/33,2 40/40 60/86,6 80/100	Pirali-Kheirabadi i da Silva, 2011
	određivanje procenta neizleglih jaja (eng. "egg laying failure")	konc. (µl/ml)/% neizleglih jaja (24 h) 5/0 10/6,56	

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
	test ²⁾	20/70,50 40/73,78 60/96,23 80/100	
insekticidna	larvicidna	<i>T. castaneum</i> LC ₅₀ 34,07 µl/ml	Tripathi i sar., 2000
	ovicidalna	<i>T. castaneum</i> EC ₅₀ 4,11 µl/ml <i>C. maculatus</i> EC ₅₀ 2,64 µl/ml	
antimikrobna	disk difuzioni test	<u>zona inhibicije (mm±SD)</u> <i>S. aureus</i> ATCC6538 13±1,1 <i>S. aureus</i> MRSA1263 17±0,4 <i>B. subtilis</i> 12488 15±0,4 <i>B. subtilis</i> ATCC6683 15±0,4 <i>E. faecalis</i> ATCC29212 10±1,4 <i>P. aeruginosa</i> ATCC27853 8±0 <i>P. aeruginosa</i> 134202 4±0,71 <i>P. areuginosa</i> 326 7±0,35 <i>K. pneumoniae</i> ATCC134202 10±1,1 <i>K. pneumoniae</i> 11 9±1,41 <i>E. coli</i> ATCC13202 6±0,35 <i>E. coli</i> O ₁₂₆ B ₁₆ 10±0 <i>A. baumannii</i> 77sc 11±0,4 <i>C. famata</i> 945 8±1,77 <i>C. albicans</i> 393 10±0,4 <i>C. utilis</i> 15 10±0 <i>C. famata</i> CMGBy.14 11±1,1 <i>C. albicans</i> ATCC101103 10±0,7	Marinas i sar., 2015
	MTT	<u>MIC mg/ml</u> <i>S. aureus</i> ATCC6538 1,02 <i>S. aureus</i> MRSA1263 4,08 <i>B. subtilis</i> 12488 2,04 <i>B. subtilis</i> ATCC6683 2,04 <i>E. faecalis</i> ATCC29212 0,51 <i>P. aeruginosa</i> ATCC27853 8,17 <i>P. aeruginosa</i> 134202 8,17 <i>P. areuginosa</i> 326 8,17 <i>K. pneumoniae</i> ATCC134202 16,3 <i>K. pneumoniae</i> 11 2,04 <i>E. coli</i> ATCC13202 16,3 <i>E. coli</i> O ₁₂₆ B ₁₆ 16,3 <i>A. baumannii</i> 77sc 8,17 <i>C. famata</i> 945 2,04 <i>C. albicans</i> 393 2,04 <i>C. utilis</i> 15 4,08 <i>C. famata</i> CMGBy.14 2,04 <i>C. albicans</i> ATCC101103 2,04	
antioksidativna	TF	uzorak-1 63,74±1,01 mg QE/g uzorak-2 57,28±0,25 mg QE/g	Mazandarani i sar., 2012
	TP	uzorak-1 16,94±0,52 mg GAE/g	

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
		uzorak-2 15,58±0,89 mg GAE/g	
	TA	uzorak-1 3,59±0,4 mg ECG/g uzorak-2 3,34±0,36 mg ECG/g	
	TAC	uzorak-1 IC ₅₀ 7,07±0,86 µg/ml uzorak-2 IC ₅₀ 7,46±0,86 µg/ml	
	RP	uzorak-1 IC ₅₀ 7,56±0,88 µg/ml uzorak-2 IC ₅₀ 8,04±0,84 µg/ml	
	DPPH	uzorak-1 IC ₅₀ 2,4±0,32 µg/ml uzorak-2 IC ₅₀ 4,2±0,51 µg/ml	

Tabela 2.18 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti etarskih ulja vrste *A. vulgaris*

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
	repelentnost-filter papir test	100% za konc. 1 µl/ml	
insekticidna	fumigantna aktivnost	konc. (µl/ml)/% smrtnosti <i>Tribolium castaneum</i> larve 4/31±7 8/52±2 12/86±7 <i>Tribolium castaneum</i> adulti 4/74±4 8/100	Wang i sar., 2006
larvicidna	larvicidni test	<i>Aedes aegypti</i> konc. ulja ppm/% smrtnosti (24 h) 10/12,3 100/78,2 200/91,5 300/100	Govindaraj i RanjithaKumari, 2013
citotoksičnost	MTT	IC ₅₀ µg/ml Jurkat 0,50 K562 1,0 MCF-7 1,0 HepG2 0,72 PC-3 0,74 HeLa 2,50 BJ 17,75 HEK-293 13,24 V79-4 11,25	Saleh i sar., 2014
antioksidativna, antimikrobna	disk difuzioni test	zona inhibicije (mm±SD) za 1000 µg/ml <i>S. aureus</i> 18±0,009 <i>B. cereus</i> 24±0,07 <i>B. subtilis</i> 14±0,009 <i>S. typhimurim</i> 12±0,035	Munda i sar., 2019

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
		<i>E. coli</i> 19±0,65	
	DPPH	IC ₅₀ 2,745 µg/ml	
	FRAP	IC ₅₀ 2,845 µg/ml	
	TP	6,2 mg GAE/ml	
	TF	220 mg QE/ml	
		<i>A. aegypti</i>	
		III stadijum larve (12 h)	
		LC ₅₀ 38,31 ppm	
		LC ₉₀ 1270 ppm	
		III stadijum larve (24 h)	
		LC ₅₀ 6,87 ppm	
	larvicidna	LC ₉₀ 59,197 ppm	
		IV stadijum larve (12 h)	
		LC ₅₀ 135,238 ppm	
		LC ₉₀ 1,007 ppm	
insekticidna		IV stadijum larve (24 h)	Balasubramani i sar., 2018
		LC ₅₀ 4,269 ppm	
		LC ₉₀ 50,363 ppm	
		<i>A. aegypti</i>	
		% repelentnosti (60 min.)	
	repelentni test	2,5% ulja 49,00±1,7	
		5% ulja 39,66±2,5	
		15% ulja 30,66±2,5	
		25% ulja 15,66±4,0	
		50% ulja 6,66±1,5	
		<i>Tribolium castaneum</i>	
insekticidna	larvicidni test	LC ₅₀ (24 h) 7,37%	Gao i sar., 2020
		LC ₅₀ (48 h) 6,08%	
		LC ₅₀ (72 h) 5,61%	
		<i>Haemonchus contortus</i>	
	test izleganja jaja	7,4±6,5% inhibicije	
antiparazitska	test inhibicije izlučivanja larve	<i>Haemonchus contortus</i> 4,1±12,8% inhibicije	Malik i sar., 2019
	test inhibicije migracije larvi	<i>Haemonchus contortus</i> 1,9±4,1% inhibicije	
		<i>T. castaneum</i>	
		LC ₅₀ (24 h) 279,86 µl/l vazduha	
		LC ₉₅ (24 h) 922,54 µl/l vazduha	
		LC ₅₀ (48 h) 188,71 µl/l vazduha	
		LC ₉₅ (48 h) 898,94 µl/l vazduha	
		LC ₅₀ (72 h) 88,13 µl/l vazduha	
		LC ₉₅ (72 h) 227,85 µl/l vazduha	
insekticidna	fumigantni	<i>C. maculatus</i>	Sharifian i sar., 2013
		LC ₅₀ (24 h) 52,47 µl/l vazduha	
		LC ₉₅ (24 h) 232,26 µl/l vazduha	
		LC ₅₀ (48 h) 35,01 µl/l vazduha	
		LC ₉₅ (48 h) 88,80 µl/l vazduha	
		LC ₅₀ (72 h) 29,11 µl/l vazduha	
		LC ₉₅ (72 h) 41,68 µl/l vazduha	
		<i>R. dominica</i>	

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
		LC ₅₀ (24 h) 75,56 µl/l vazduha LC ₉₅ (24 h) 220,08 µl/l vazduha LC ₅₀ (48 h) 70,55 µl/l vazduha LC ₉₅ (48 h) 286,58 µl/l vazduha LC ₅₀ (72 h) 43,94 µl/l vazduha LC ₉₅ (72 h) 73,19 µl/l vazduha	
	DPPH	IC ₅₀ 63,82±0,06 µg/ml	
	FRAP	EC ₅₀ 380,43±0,46 µg/ml	
antioksidativna, antimikrobna	disk difuzioni	<u>zona inhibicije (mm±SD)</u> <i>S. aureus</i> 11,20±0,14 <i>B. subtilis</i> 11,35±0,08 <i>K. pneumoniae</i> 14,03±0,09 <i>Enterococcus sp.</i> 11,40±0,12	Pandey i sar., 2017
antimikrobna	disk difuzioni	<u>zona inhibicije (mm±SD)</u> <u>razblaženje ulja 1:10</u> <i>E. coli</i> 32 <i>S. enteritidis</i> 25 <i>P. aeruginosa</i> 31 <i>K. pneumoniae</i> 26 <i>S. aureus</i> 26 <i>C. albicans</i> 40 <u>razblaženje ulja 1:30</u> <i>E. coli</i> 95 22,5 <i>S. enteritidis</i> 17 <i>P. aeruginosa</i> 27,5 <i>K. pneumoniae</i> 22 <i>S. aureus</i> 17 <i>C. albicans</i> 20 <i>A. niger</i> 21	Blagojević i sar., 2006

Tabela 2.19 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti etarskih ulja vrste *A. scoparia*

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
	test akutne toksičnosti	<u>[µL ulja/L vazduha]/LT₅₀ (h)</u> <i>C. maculatus</i> 37/3,24; 185/2,38; 370/1,91 <i>S. oryzae</i> 37/6,61; 185/3,27; 370/2,43 <i>T. castaneum</i> 37/6,64; 185/3,55; 370/2,95	
insekticidna	fumigantna aktivnost	<i>C. maculatus</i> LC ₅₀ 1,46 µL/L; LC ₉₅ 7,83 µL/L <i>S. oryzae</i> LC ₅₀ 1,87 µL/L; LC ₉₅ 7,52 µL/L <i>T. castaneum</i> LC ₅₀ 2,05 µL/L; LC ₉₅ 11,12 µL/L	Negahban i sar., 2006
	repelentni test	<u>% repelencije za konc. 4 µL u hrani</u> <i>C. maculatus</i> 72,55±0.8 <i>S. oryzae</i> 79,14±0.34 <i>T. castaneum</i> 77,60±0.98	

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
fitotoksična	inhibicija klijanja	<u>konc ulja (mg/ml)/% prokljalih zrna</u> <u><i>A. sativa</i></u> 0,14/60,0±1,30 0,35/41,7±2,10 0,70/25±2,30	Singh i sar., 2008
		<u><i>T. aestivum</i></u> 0,14/84,7±1,73 0,35/63,2±2,12 0,70/41,7±2,90	
antifungalna	agar disk difuzioni	<u>konc ulja [mg/ml]/cm klice</u> <u><i>A. sativa</i></u> 0,14/10,0±0,38 0,35/7,6±0,21 0,70/2,6±0,10	Huang i sar., 2019
	test klijanja spora	<u><i>T. aestivum</i></u> 0,14/14,0±0,29 0,35/12,8±0,19 0,70/7,6±0,16	
antimikrobna	mikrodilucioni test	<u>MIC µg/ml</u> <i>S. aureus</i> 0,2±0,3 <i>B. licheniformis</i> 2±0,2 <i>M. luteus</i> 5 4±0,1 <i>E. xiangfangensis</i> 3±0,1 <i>E. fergusonii</i> >25 <i>P. aureginosa</i> >25 <i>C. albicans</i> 0,1±0,5 <i>C. parapsilosis</i> 2±0,3 <i>A. parasiticus</i> 4±0,1	Aati i sar., 2020
insekticidna	fumigantna aktivnost	<u><i>Tribolium castaneum</i></u> LC ₅₀ 0,200 µL/mL na 12 h LT ₅₀ 8,460 h na 0,3 µL/mL	Negahban i sar., 2004
antimikrobna	metoda razblaživanja bujona	<u>MIC (mg/ml)/MBC(mg/ml)</u> <i>E. coli</i> 3,2/6,4 <i>S. aureus</i> 1,6/1,6 <i>S. epidermidis</i> 6,4/12,8 <i>S. pyogenes</i> 0,8/1,6 <i>S. mutans</i> 1,6/3,2 <i>S. sanguinis</i> 0,8/1,6 <i>S. sobrinus</i> 0,8/1,6 <i>S. ratti</i> 3,2/6,4 <i>S. criceti</i> 3,2/3,2 <i>S. anginosus</i> 1,6/1,6 <i>S. gordonii</i> 0,2/0,4 <i>A. actinomycetemcomitans</i> 1,6/1,6 <i>F. nucleatum</i> 0,2/0,4 <i>P. intermedia</i> 0,025/0,1	Cha i sar., 2005

Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca	
		<i>P. ginigvalis</i> 0,2/0,4		
antioksidativna	DPPH	IC ₅₀ 146,3 µg/mL	Singh i sar., 2009a	
	OH radikal	IC ₅₀ 145,2 µg/mL		
	H ₂ O ₂	IC ₅₀ 270,1 µg/mL		
antimikrobna, antioksidativna, antiinflamatorna	mikrodilucioni test	MIC (mg/ml)/MBC(mg/ml) <i>E. coli</i> 2,5/5 MRSA 1,250/2,500	Sharopov i sar., 2015	
	DPPH	IC ₅₀ 2,55 mg/ml		
	ABTS	IC ₅₀ 0,28 mg/ml		
	FRAP	43,1 µM Fe(II)/ml		
	5-LOX inhibicija	IC ₅₀ 184,3 µg/ml		
fitotoksičnost	lipidna peroksidacija	<u>konc. ulja (mg/ml)/MDA (mmol/g)</u> 0,14/22,9±1,07 0,35/28,8±0,85 0,70/41,0±1,22	Kaur i sar., 2012	
		smrtnost ćelija		<u>konc. ulja (mg/ml)/% smrtnosti</u> 0,14/12,3±0,52 0,35/34,5±2,291 0,70/57,9±3,14
				oksidabilnost korena

2.6.1. Upotreba *Artemia salina* račića za određivanje akutne toksičnosti

Tendencija korišćenja *A. salina* (Artemiidae) račića (Slika 2.12) u ekotoksikološkim studijama, toksikološkim studijama i studijama koje se bave otkrivanjem potencijalnih lekova u medicinskim biljkama raste. To je zato što su *A. salina* testovi brzi i laki, a mogu da zamene druge, etički izazovnije, testove, koji zahtevaju upotrebu životinja, životinjski serum i dr. Ovaj test su predložili Michael i sar. (1956), a potom su ga prihvatile mnoge laboratorije kao metod za preliminarnu procenu toksičnosti. Otpornost račića čini ih idealnim test organizmima u eksperimentima.

Prilikom ovog testa trebalo bi preduzeti brojne mere predostrožnosti u pogledu ponovljivosti rezultata. Faktori koje treba držati pod kontrolom su temperatura tokom inkubacije i izleganja, morfološka faza razvoja (važno je da svi test organizmi budu u istoj fazi razvoja), temperatura i salinitet medijuma tokom testa.



Slika 2.12 Izgled račića *A. salina*

(<https://www.shutterstock.com/g/danolsen>)

2.6.2. Upotreba *Drosophila melanogaster* testa za određivanje insekticidne aktivnosti

Voćna mušica, *Drosophila melanogaster* (Drosophilidae) (Slika 2.13), koristi se kao model organizam za proučavanje u disciplinama od fundamentalne genetike do razvoja tkiva i organa. Genom voćne mušice je 60% homologan onom kod ljudi, manje je redundantan, a oko 75% gena odgovornih za ljudske bolesti ima homologe kod muva (Ugur i sar., 2016). Ove karakteristike, zajedno sa kratkim vremenom izleganja i razmnožavanja, kao i jednostavnom manipulacijom mušicama, omogućavaju da se voćna mušica koristi za proučavanje složenih procesa relevantnih u biomedicinskim istraživanjima.



Slika 2.13 Izgled voćne mušice *D. melanogaster*
(https://pixabay.com/users/sam_mino-107736/)

2.7. BIOLOŠKA AKTIVNOST EKSTRAKATA ODABRANIH VRSTA RODA *ARTEMISIA*

Većina vrsta roda *Artemisia* se koristi u narodnoj medicini za lečenje različitih bolesti kao što su malarija (Willcox 2009), groznica, helmintijaza, hepatitis, rak, srčani i digestivni problemi i neurodegenerativni poremećaji (Guarrera, 2005; Bora i Sharma, 2011). Takođe, neke od njih su pokazale antibakterijsko, antifungalno, kao i antivirusno delovanje (Vajs i sar., 2004; Abad i sar., 2012).

A. alba je u tradicionalnoj medicini vekovima korišćena kao digestiv, tonik, mineralizaciono sredstvo, a dekokt napravljen od njenih listova služio je za tretiranje opekotina i kontuzija (Peron i sar., 2017; Tuttolomondo i sar., 2014). Neki od rezultata istraživanja bioloških aktivnosti različitih ekstrakata *A. alba* dati su u Tabeli 2.20.

Jedan od dva verovatno najpoznatija predstavnika roda *Artemisia*, *A. absinthium*, se tradicionalno koristi u mnogim kulturama, te je tako ova biljna vrsta našla primenu protiv gastrointestinalnih bolesti i kao antihelmintik (Szopa i sar., 2020; Goud i Swamy, 2015). Neki od rezultata istraživanja bioloških aktivnosti različitih ekstrakata *A. absinthium* dati su u Tabeli 2.21.

Drugi, po mnogim shvatanjima najznačajniji i najpoznatiji predstavnik roda *Artemisia* je *A. annua*, iz koje je 1971. godine u Kini izolovan seskviterpenski laktan artemisinin, veoma efikasan antimalarijski lek (Woodrow i sar., 2005). Od ovog početnog otkrića, pa sve do danas, razvijen je niz polusintetičkih derivata artemisinina, a sve u svrhu lečenja malarije. Takođe je, kao i ostale četiri ispitivane vrste, vekovima veoma zastupljena u etnofarmakologiji mnogih kultura, sa dokazanom delotvornošću protiv groznice, tuberkuloze, dizenterije, a i pre otkrića artemisinina se koristila kao veoma učinkovit antimalarik (Feng i sar., 2020; Sadiq i sar., 2014). Neki od rezultata istraživanja bioloških aktivnosti različitih ekstrakata *A. annua* dati su u Tabeli 2.22.

U tradicionalnoj medicini mnogobrojnih zemalja *A. vulgaris* se primenjuje kod ginekoloških komplikacija, antibakterijskih i antifungalnih infekcija (Ekiert i sar., 2020). Neki od rezultata istraživanja bioloških aktivnosti različitih ekstrakata *A. vulgaris* dati su u Tabeli 2.23.

Farmakološke studije su otkrile da *A. scoparia* ispoljava aktivnost protiv zapaljenja, antitumorsko, analgetičko i zaštitno dejstvo na jetru (Ding i sar., 2021). Neki od rezultata istraživanja bioloških aktivnosti različitih ekstrakata *A. scoparia* dati su u Tabeli 2.24.

Tabela 2.20 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti ekstrakata vrste *A. alba*

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
metanolni	antioksidativna	TP	cvet 10,7±0,4 mg GAE/g SM list 5,4±0,3 GAE/g SM	Trendafilova i sar., 2018
		TF	cvet 2,9 ± 0,3 CE/g SM list 1,8±0,1 CE/g SM	
		DPPH	cvet 101,6±0,8 µM TE/g SM list 63,4 ± 0,9 µM TE/g SM	
		ABTS	cvet 102,2 ± 0,7 µM TE/g SM list 70,5 ± 0,8 V	
metanolni	genotoksična i citotoksična	CBMN na PBLs	<u>konc. ekstrakta 10 µg/ml</u> 9,50±1,91 MN/1000 BN <u>konc. ekstrakta 50 µg/ml</u> 12,25±2,18 MN/1000 BN <u>konc. ekstrakta 100 µg/ml</u> 13,50±1,73 MN/1000 BN <u>konc. ekstrakta 250 µg/ml</u> 16,50 ±2,38 MN/1000 BN	Jakovljević i sar., 2020
		MTT	<u>SW-480</u> IC50 (24 h) 57,11±2,35 µg/ml IC50 (72 h) 47,65±3,83 µg/ml <u>PDLSCs</u> IC50 (24 h) >500 µg/ml IC50 (72 h) 234,66±1,52 µg/ml	
etanolni	antiinflamatorno	NBT iNOS mRNA u MBE-SV ćelijama inkubiranih sa TNF α i IL-1 β	56% inhibicije	Strzelecka i sar., 2005
		Protočna citometrijska analiza VCAM1 nivoa na površini MBE-SV ćelija inkubiranih sa TNF α	21,8% VCAM1-pozitivnih ćelija	
metanolni	antioksidativna	DPPH	126 µg/ml	Nikolova i sar., 2010
metanolni	antioksidativna	NO radikal test	SC ₅₀ 2,93 mg/ml	Mehandzhiyski i sar., 2013
etanolni	antimikrobna	mikrodilucioni test	<u>MIC (mg/ml)</u> <i>M. luteus</i> 1,6 <i>M. flavus</i> 0,8 <i>S. aureus</i> 1,6 <i>S. epidermidis</i> 3,2 <i>E. faecalis</i> 7,5 <i>B. subtilis</i> 7,5 <i>E. coli</i> 7,5	Đorđević i sar., 2013

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
			<i>K. pneumoniae</i> 7,5 <i>P. aeruginosa</i> 7,5 <i>C. albicans</i> 7,5	

Tabela 2.21 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti ekstrakata vrste *A. absinthium*

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca				
etanolni	antioksidativna	TP	178,76±1,58 mg CAE/g	Craciunescu i sar., 2012				
		TF	52,43±2,22 QE/g SM					
		DPPH	690,62±13,79 µM TE/g SM IC ₅₀ 0,57±0,05 mg/ml					
etanolni	antioksidativna i antiparazitska	TP	cvet 105,42±2,51 mg GAE/g list 108,42±2,62 mg GAE/g stabljike 91,12±2,66 mg GAE/g	Liu i sar., 2019				
			TF		cvet 126,43±3,59 mg QE/g list 59,46±2,97 mg QE/g stabljike 92,39±1,01 mg QE/g			
					TTC	cvet 92,45±4,44 µg TE/g list 31,25±0,57 µg TE/g stabljike 53,56±2,94 µg TE/g		
		% letalnosti pri 500 mg/l						
		nematocidni test <i>M. Incognita</i>	cvet 54,35±1,14 list 38,52±1,22 stabljika 42,45±2,22					
		antifungalna <i>F. oxysporum</i>	% inhibicije rasta micelija pri 500 mg/l		cvet 65,69±5,45 list 62,69±1,67 stabljika 42,47±2,04			
			etanolni		antimikrobna	mikrodilucioni test	Valdés i sar., 2008	
								IC ₅₀ µg/ml
								<i>P. falciparum</i> 1,28 <i>T. cruzi</i> <1 <i>Tb. brucei</i> 2,87 <i>M. canis</i> >64 <i>C. albicans</i> >64 <i>E. coli</i> >64 <i>S. aureus</i> >64
		etanolni	antioksidativna i antikancerogena		TF	28,86±3,4 mg QE/g	Koyuncu, 2018	
TP	177,29±9,25 mg GAE/g							
MTT	IC ₅₀ µg/ml							
	DLD-1 3,92±0,1 ECC-1 480,25±18,3 HEK-293 652,7±13,4							
etanolni	hepatoprotektivna	efekat <i>A. scoparia</i> na smrtnost izazvanu acetaminofenom kod	Acetaminofen (1 g/kg) indukovao je 100% smrtnost kod miševa. Kod životinja tretiranih ekstraktom	Gilani i Janbaz, 1995				

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
		miševa	(500mg/kg), acetaminofen (1 g/kg) usmrtio je 2 od 10 životinja (80% zaštita od smrtonosnog dejstva acetaminofena).	
		efekat <i>A. scoparia</i> na hepatotoksičnost izazvanu acetaminofenom	Predtretman pacova ekstraktom (500 mg/kg, oralno 2x dnevno tokom 2 dana) sprečio je povećanje serumskih transaminaza izazvano acetaminofenom (640 mg/kg), kao i CCl ₄ (1,5 ml/kg) (GOT i GPT). Naknadni tretman sa 3 uzastopne doze ekstrakta (500 mg/kg, 6 h) ograničio je oštećenje jetre izazvano acetaminofenom, dok hepatotoksičnost izazvana CCl ₄ nije izmenjena. Ekstrakt (500 mg/kg) je izazvao značajno produženje spavanja indukovano pentobarbitalom (75 mg/kg), kao i povećanu smrtnost izazvanu strihninom kod miševa, što ukazuje na inhibitorni efekat na MDME.	
	hepatoprotektivna	biohemijska analiza seruma	<u>konc. ekstrakta 10 mg/kg</u> ALT 22,4±2,1 U/ml AST 37,1±8,8 U/ml <u>konc. ekstrakta 50 mg/kg</u> ALT 16,3±1,6 U/ml AST 19,2±2,3 U/ml <u>konc. ekstrakta 100 mg/kg</u> ALT 17,9± 2,3 U/ml AST 31,4±7,8 U/ml	
metanolni		TAP	<u>konc. ekstrakta 10 mg/kg</u> 2,4±0,3 umol/ml <u>konc. ekstrakta 50 mg/kg</u> 2,8±0,4 umol/ml <u>konc. ekstrakta 100 mg/kg</u> 2,6±0,7 umol/ml	Mohammad ian i sar., 2016
	antioksidativna	TTG	<u>konc. ekstrakta 10 mg/kg</u> 0,14±0,02 nmol/ml <u>konc. ekstrakta 50 mg/kg</u> 0,77±0,07 nmol/ml konc. ekstrakta 100 mg/kg 0,28±0,11 nmol/ml	

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
metanolni	antiparazitska	enzimski imunisorbentni test- komplet prethodno obložen ekskretornim/sekretor- nim antigenima <i>T.</i> <i>spiralis</i>	<u>zmanjenje stope larvi kod pacova</u> <u>konc. ekstrakta 300 mg/kg</u> 63,5% u jeziku 37,7% u dijafragmi 46,2% u kvadricepsima 60,5% u mišićima bicepsa-tricepsa <u>konc. ekstrakta 600 mg/kg</u> 59,9% na jeziku 50,0% u dijafragmi 43,7% u kvadricepsima 46,4% u mišićima bicepsa-tricepsa	Caner i sar., 2008
etanolni	akaricidna	akaricidna aktivnost na adulte <i>R.</i> <i>microplus</i> (eng. “Adult Immersion Test against <i>R.</i> <i>microplus</i> “)	LC ₅₀ (95% CI) 11,22% LC ₉₅ (95% CI) 61,77%	Parveen i sar., 2014
metanolni	antidepresivna	FST	<u>konc. ekstrakta/trajanje</u> <u>imobilisanosti (s)</u> 125 (mg/kg)/130,8±8,2 250 (mg/kg)/111,6±5,1 500 (mg/kg)/49,2±2,3 1000 (mg/kg)/21,0±0,9	Mahmoudi i sar., 2009
		TST	<u>konc. ekstrakta/trajanje</u> <u>imobilisanosti (s)</u> 125 (mg/kg)/93,4±1,2 250 (mg/kg)/83,2±1,4 500 (mg/kg)/71,2±2,4	
metanolni	antimikrobna	agar disk difuzioni	<u>zona inhibicije (mm±SD)</u> <i>S. aureus</i> = 15,83±0,8 <i>S. pyogenes</i> = 18,83±0,8 <i>B. subtilis</i> = 21,6±1,2 <i>E. coli</i> = 17,6±0,8 <i>K. pneumonia</i> = 16,5±0,8 <i>P. aeruginosa</i> = 16,1±1,1	Sultan i sar., 2020
	citotoksična	MTT	inhibira proliferaciju ćelija raka dojke MCF-7 IC ₅₀ = 80,96±3,94 µg/ml ne inhibira proliferaciju tretiranih ćelija raka debelog creva kod ljudi HCT 116 ćelija (> 200 µg/ml)	

Tabela 2.22 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti ekstrakata vrste *A. annua*

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca	
metanolni	antioksidativna	TP	134,50±4,37 mg/g	Iqbal i sar., 2012	
		TF	614.98±18.14 mg/100g		
		FRAP	11,82±1,12 mM/g		
		TEAC	17,59±0,71 mmol/mg		
etanolni	citotoksičnost	MTT (% održivih SH-SY5Y neuronskih ćelija)	EC ₅₀ (EtOH 25%) 36,5 µg/ml EC ₅₀ (EtOH 50%) 33,7 µg/ml EC ₅₀ (EtOH 90%) 10,5 µg/ml	Abate i sar., 2021	
		antiinflamatorna	LPS		zaštitni efekat 10 µg/ml - 100 ng/ml (EtOH 25%) zaštitni efekat 1 µg/ml - 500 ng/ml (EtOH 50%) zaštitni efekat 500 ng/ml - 100 ng/ml (EtOH 90%)
					inhibitorni efekat = 78,4% (ACS-a na PGE2 nastajanje u LPS-tretiranim RAW 264.7 ćelijama)
metanolni	antiinflamatorna	MTT	<u>zona inhibicije (mm±SD)</u> <i>F.nucleatum</i> subsp. <i>polymorphum</i> 13,3±0,6 mm <i>P.intermedia</i> 12,6±0,6 mm	Kim i sar., 2015	
metanolni	antimikrobna	disk difuziona	patogeni uticaj ameba na BALB-c bele miševe	IC ₅₀ (24 h) 15,0 mg/ml IC ₅₀ (48 h) 12,5 mg/ml IC ₅₀ (72 h) 8,1 mg/ml	Derda i sar., 2016
			antimikrobna	disk difuzioni	
metanolni	antiparazitska	patogeni uticaj ameba na BALB-c bele miševe	IC ₅₀ (24 h) 15,0 mg/ml IC ₅₀ (48 h) 12,5 mg/ml IC ₅₀ (72 h) 8,1 mg/ml	Derda i sar., 2016	
metanolni	antimikrobna	disk difuzioni	<u>zona inhibicije (mm±SD)</u> <i>S. aureus</i> 16,5±0,7 <i>E. coli</i> 11,5±0,7 <i>K. pneumoniae</i> 13,0±0,7 <i>S. enterica</i> 15,5±0,7 <i>Sh. dysenteriae</i> 12,5±0,7	Tajehmiri i sar., 2014	
metanolni	antivirusna	MTT na <i>Herpes Simplex</i> tip I (HSV1)	<u>najveći nivo zaštite</u> (12,5 µg/mL) 83% <u>najmanji nivo zaštite</u> (3,125 µg/mL) 69%	Karamoddini i sar., 2011	
metanolni	insekticidna	test toksičnosti na <i>Xanthogaleruca luteola</i> Mull. (Coleoptera: Chrysomellidae)	LC ₅₀ (24 h) (III instar larva) 48% LC ₅₀ (48 h) (III instar larva) 43,77% LC ₅₀ (24 h) (adult) 19,14% LC ₅₀ (48 h) (adult) 15,43%	Shekari i sar., 2008	
		test odvrćanja <i>Xanthogaleruca luteola</i> Mull. (Coleoptera: Chrysomellidae)	Prosečno odvrćanje III instar larvi posle 24 h bilo je najveće sa 5% (100±1,94) i 10% ekstrakta (100±1,94), a najniže sa 0,625% (59,34 ± 1,94). Posle 48 h odvrćanje se smanjilo, za 5% (92,59±2,4) i 10% ekstrakta (92,59±2,4), a kod 0,625% bilo je 45,33±2,4.		

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
metanolni	insekticidna	test smrtnosti – topikalna primena protiv <i>Eurygaster intefriceps</i>	LC ₁₀ (24 h) 11,91% LC ₃₀ (24 h) 20,04% LC ₅₀ (24 h) 32,24% LC ₉₀ (24 h) 83,4% LC ₁₀ (48 h) 6,27% LC ₃₀ (48 h) 11,42% LC ₅₀ (48 h) 17,73% LC ₉₀ (48 h) 47,73%	Zibae i Bandani, 2010
metanolni	larvicidna	test smrtnosti na larve <i>G. pyloalis</i> test odvracanja larvi <i>G. pyloalis</i>	EC ₅₀ 3,63%. indeks odvracanja 24 h pokazuje da povecanje koncentracije povecava % odvracanja, u vecim koncentracijama je oko 90%	Khosravi i sar., 2010
metanolni	insekticidna	test toksičnosti na <i>Pieris rapae</i> L. (Lepidoptera: Pieridae) test odvracanja <i>Pieris rapae</i> L. (Lepidoptera: Pieridae)	LC ₅₀ 9,387% LC ₂₅ 3,645% odvracanje 29,826±4,96%	Hasheminia i sar., 2011
metanolni	larvicidna	larvicidni test na <i>Culex autnauetesctetus</i> (Say)	LC ₅₀ (24 h) 360,1 ppm LC ₅₀ (48 h) 159,0 ppm	Sharma i sar., 2006

Tabela 2.23 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti ekstrakata vrste *A. vulgaris*

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
metanolni	antibakterijska	agar “well”	<u>konc (mg/ml)/prečnik (mm)</u> <u><i>S. aureus</i></u> 400/18 50/10 30/9 20/7 <u><i>B. cereus</i></u> 400/18 50/8 30/8 20/- <u><i>E. coli</i></u> 400/12 50/- 30/- 20/-	Ahmadizadeh i sar., 2018

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
			<i>P. aeruginosa</i> 400/- 50/- 30/- 20/-	
		mikrodilucioni	<u>MBC mg/ml</u> <i>S. aureus</i> 25 <i>B. cereus</i> 12,5 <i>E. coli</i> 200 <i>P. aeruginosa</i> - <u>MIC mg/ml</u> <i>S. aureus</i> 12,5 <i>B. cereus</i> 6,25 <i>E. coli</i> 100 <i>P. aeruginosa</i> -	
		TP	141,9±0,7 mg GAE/g	
		TF	110,9±2,2 mg RE/g	
metanolni	antioksidativna i antimikrobna	agar "well"	<u>konc. ekstrakta 20 mg/ml</u> <u>zona inhibicije (mm±SD)</u> <i>E. coli</i> 12,7±0,3 <i>P. aeruginosa</i> 12,5±0,1 <i>B. subtilis</i> 12,1±0,2 <i>S. aureus</i> 12,7±0,2 <i>C. albicans</i> 26,5±0,2 <i>S. cerevisiae</i> 30,6±0,2 <i>A. niger</i> -	Karabegović i sar., 2011
		ovicidni test	<u>konc. ppm/% neizleglih jajašca</u> 1000/82,67 750/79,33 500/44	
etanolni	insekticidna-ovicidna	repelentni test	<u>konc. ekstrakta (mg/ml)/%</u> <u>repelencije</u> <u>30 min:</u> 20/58±6 40/65,3±13,3 80/63,3±3,5 <u>60 min:</u> 20/27±23,5 40/35±11,1 80/39,7±32,7 <u>90 min:</u> 20/1,7±2,9 40/21,3±27,1 80/26±23,9	Ninditya i sar., 2020
		procenat inhibicije polaganja jaja (ovipozicioni test)	<u>konc. ppm/% inhibicije</u> 1000/96 500/82 100/75	

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
etanolni	antimalarijska - antiparazitska	<i>Plasmodium berghei</i> ANKA model smrtonosne mišje malarije	<u>(mg ekstrakta/kg telesne mase miša)/% inhibicije</u> 500/79,3 750/79,6 1000/87,3	Bamunuarachchi i sar., 2013
metanolni	antiimplantaciona		<u>(mg ekstrakta/ kg telesne mase miša)/% antifertilne aktivnosti</u> 300/50 600/100	Shaik i sar., 2014
metanolni	hepatoprotektivna	uticaj ekstrakta na oštećenje jetre kod miševa indukovano D- GalN/LPS	<u>(mg ekstrakta/kg telesne mase)/%</u> <u>smanjenja parametra</u> <u>AST</u> 150/18,66 300/24,68 600/49,55 <u>ALT</u> 150/26,66 300/31,45 600/41,46	Gilani i sar., 2005
metanolni	antioksidativna	DPPH ORAC TP	EC ₅₀ 16,0±0,6 µg/ml 5700±400 µmol TE/g 5300±400 µg GAE/g	Melguizo- Melguizo i sar., 2014
metanolni	analgetska	akutna toksičnost grčenje izazvano sirčetnom kiselinom	<u>(mg ekstrakta/kg telesne mase)/%</u> <u>smrtonsti</u> 500/0 1000/0 2000/0 <u>(mg ekstrakta/kg telesne mase)/%</u> <u>inhibicije</u> 200/8,60 400/32,03	Thangjam i sar., 2020
metanolni	citotoksična i genotoksična	CBMN test na PBLs MTT	<u>konc. ekstrakta 10 µg/ml</u> 7,75±0,96 MN/1000 BN <u>konc. ekstrakta 50 µg/ml</u> 9,50±1,29 MN/1000 BN <u>konc. ekstrakta 100 µg/ml</u> 11±2,16 MN/1000 BN <u>konc. ekstrakta 250 µg/ml</u> 12,75±1,71 MN/1000 BN <u>SW-480</u> IC ₅₀ (24 h) >500 µg/ml IC ₅₀ (72 h) >500 µg/ml <u>PDLSCs</u> IC ₅₀ (24 h) >500 µg/ml IC ₅₀ (72 h) >500 µg/ml	Jakovljević i sar., 2020

Tabela 2.24 Rezultati prethodnih ispitivanja bioloških aktivnosti ekstrakata vrste *A. scoparia*

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
metanolni	hipotenzivno i bradikardično dejstvo	<i>In vivo</i> eksperimenti - efekat <i>A. scoparia</i> na BP i HR kod pacova pod anestezijom	<u>3 mg/kg</u> BP 34,8±6,6% HR 6,2±1,8% <u>10 mg/kg</u> BP 52,1±4,5% HR 19,4±4,5% <u>30 mg/kg</u> BP 66,2±5,8% HR 22,4±6,2%	Gilani i sar., 1994
		<i>in vitro</i> test	<u>konc. ekstrakta/inhibicija K⁺ jona</u> 0,1 (mg/ml)/slaba 0,3 (mg/ml)/približno 50% 1 (mg/ml)/potpuna	
metanolni	hepatoprotektivna	efekat <i>A. scoparia</i> na smrtnost izazvanu acetaminofenom	acetaminofen (1 g/kg) dovodi do 100% mortaliteta kod miševa, predtretman ekstraktom (150 mg/kg) smanjuje stopu smrtnosti na 20%	Gilani i Janbaz, 1993
		efekat <i>A. scoparia</i> na hepatotoksičnost izazvanu acetaminofenom	acetaminofen (640 mg/kg) izaziva oštećenje jetre kod pacova, raste nivo GOT na 1528 ± 310 IU/l i GPT na 904 ± 261 IU/l u serumu, u poređenju sa odgovarajućim kontrolnim vrednostima GOT 80 ± 11 IU/l i GPT 38 ± 9 IU/l.	
metanolni	antinociceptivna	“hot plate”	jedna i.p. doza (400 mg/kg i 800 mg/kg) ekstrakta značajno smanjuje edem šape kod pacova izazvan karagenanom za 54% i 74% i povećava vreme termalne nocicepcije do 2 i 2,5 puta. Kofein (10 mg/kg), nalokson (2 mg/kg) i mononatrijum glutamat (1 g/kg) poništavaju antinociceptivni odgovor ekstrakta (400 mg/kg).	Habib i Waheed, 2013
		grčenje izazvano sirćetnom kiselinom	jedna i.p. doza (400 mg/kg i 800 mg/kg) ekstrakta inhibira grčenje kod miševa za 41,12% i 61,53%	
	antiinflamatorno i antipiretičko	test pireksije izazvane kvascem	jedna i.p. doza (400 mg/kg i 800 mg/kg) ekstrakta su smanjuje pireksiju kod miševa za oko 74% i 90%	

Ekstrakt	Aktivnost	Test	Vrednosti	Referenca
metanolni	antimikrobna	disk difuziona	<i>S. aureus</i> 7±1,65 mm	Khan i sar., 2015
		<i>Artemia</i> test	<u>konc.ekstrakta/% smrtnosti</u> 1000 (µg/ml)/60±1,02 LC ₅₀ 724,4 µg/ml	
	citotoksična	antikancerogena na THP1	<u>konc.ekstrakta/% smrtnosti</u> 10 (µg/ml)/54,7±0,41 LC ₅₀ 6,93 µg/ml	
		potencijal inhibicije formiranja <i>Streptomyces hiphae</i>	“čelava” zona (mm±SD) 12±0,77	
metanolni	antimikrobna	disk difuziona	<i>M. luteus</i> 7±0,77 mm	Erel i sar., 2011
		<i>Artemia</i> test	<u>konc.ekstrakta/% smrtnosti</u> 1000 (µg/ml)/ 60 ± 0,92 LC ₅₀ 608,2 µg/ml	
	citotoksična	antikancerogena na THP1	<u>konc.ekstrakta/% smrtnosti</u> 10 (µg/ml)/21,4 ± 0,39 LC ₅₀ >10 µg/ml	
		potencijal inhibicije formiranja <i>Streptomyces hiphae</i>	čista zona (mm±SD) 7±0,03	
metanolni	citotoksična	citotoksični	MCF7 IC ₅₀ 34	Misra i sar., 1991
			HeLa IC ₅₀ 90	
			A549 - umeren efekat	
			normalne ćelije - umeren efekat	
etanolni	antimalarijska	<i>in vivo</i> test na stanjima eritrocita <i>Plasmodium berghei</i>	inhibicija 70,28±0,71%	Ramezani i sar., 2004
		<i>in vitro</i> test na stanjima eritrocita <i>Plasmodium berghei</i>	inhibicija 62,38±0,41%	
metanolni	antimikrobna	“cup–plate” agar	zona inhibicije (mm±SD)	Ramezani i sar., 2004
			<i>S. aureus</i> 13,6±0,2	
			<i>B. subtilis</i> 14,2±0,2	

2.7.1. Upotreba mikronukleus testa za određivanje genotoksičnosti

Mikronukleus testovi se koriste u toksikološkim ispitivanjima potencijalnih genotoksičnih jedinjenja i smatraju se veoma uspešnim i pouzdanim testovima za genotoksične karcinogene. Mikronukleusi se formiraju tokom anafaze iz hromozomskih fragmenata ili celih hromozoma zaostalih nakon deobe jezgra, a sve vrste mikronukleus testova zasnovane su na analizi učestalosti mikronukleusa, iako se razlikuju u pogledu korišćenih ćelija i protokola.

Test koji je korišćen za potrebe ove disertacije je test blokiranja citokineze mikronukleusa *in vitro* (CBMN), koji uključuje predtretman Citohalasin-om B, sredstvom za blokiranje citokineze, koje zapravo inhibira deobu ćelija. Predtretman Citohalasin-om B daje ćelijama dvojedarni izgled i sposobnost da se mikronukleusi detektuju u ćelijama sa binukleusima (Emam i sar., 2014; Sommer i sar., 2020). Učestalost mikronukleusa se zatim može oceniti u dvonuklearnim ćelijama i može se izračunati indeks proliferacije bloka citokineze.

2.8. ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST

2.8.1. Oksidativni stres i antioksidativna aktivnost

2.8.1.1. Šta su slobodni radikali?

Slobodni radikali su atomi ili molekuli koji imaju najmanje jedan nespareni elektron (Cheeseman i Slater, 1993), zbog čega su nestabilni i veoma reaktivni, pa brzo reaguju sa drugim molekulima ili među sobom. Oni se zajedno sa vrstama koje nisu slobodni radikali, ali dovode do slobodnoradikalskih reakcija, zovu jednim imenom „reaktivne vrste“ i u organizmu mogu imati dvojaku ulogu, potencijalno štetnu i potencijalno korisnu, u zavisnosti od koncentracije u kojoj su prisutni.

Kod svakog živog organizma neophodno je izbeći oksidativni stres, tj. nužno je održavati balans između količine proizvedenih i količine eliminisanih reaktivnih vrsta, a to se postiže mehanizmom redoks regulacije.

Nastanak nekih neuroloških bolesti, dijabetesa, reumatoidnog artritisa, kancera i mnogih drugih oboljenja se povezuje sa povećanim oksidativnim stresom.

2.8.1.2. Šta su antioksidansi?

Antioksidansi su molekuli koji neutrališu slobodne radikale dajući im elektron i pri tome ne postajući reaktivna vrsta, te se oni nazivaju odbrambenim sistemom organizma od slobodnih radikala i dele se na enzimске i neenzimске antioksidanse.

Odbrambeni sistem organizma obuhvata veliki niz različitih mehanizama delovanja, pa neki deluju preventivno tako što ograničavaju broj formiranih radikala, drugi uklanjaju već formirane slobodne radikale uz zaustavljanje lančane reakcije, a treći obuhvataju različite mehanizme reparacija oštećenja nastalih usled delovanja reaktivnih vrsta (Wypych, 2020).

2.8.1.3. Sekundarni metaboliti kao antioksidansi

U do sada poznatim biljnim vrstama identifikovan je veliki broj najrazličitijih fenolnih jedinjenja, sekundarnih metabolita biljaka, sa ključnom ulogom u „hvatanju“ slobodnih radikala, odnosno u zaustavljanju štetnih posledica delovanja slobodnih radikala.

Mehanizmi delovanja fenolnih jedinjenja u živim organizmima mogu biti različiti, te je tako poznat mehanizam „hvatanja“ slobodnih radikala predajom vodonikovog atoma, mehanizam redukcije slobodnih radikala doniranjem jednog elektrona, kao i mehanizam heliranja prelaznih metala.

U prirodi se fenolna jedinjenja uglavnom ne mogu sresti kao slobodna jedinjenja, već se učestalo sreću u obliku glikozida. Pored toga fenolna jedinjenja se mogu povezivati i sa karboksilnim kiselinama, aminima, lipidima i različitim fenolnim jedinjenjima. Po strukturi, ova jedinjenja su veoma raznolika, a zajedničko im je postojanje aromatičnog prstena i hidroksilnih grupa, te se po broju prstenova i načinima njihovog vezivanja mogu podeliti na fenolne kiseline, flavonoide, stilbene i lignine (Siddiqui i sar., 2017).

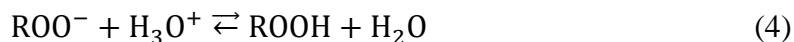
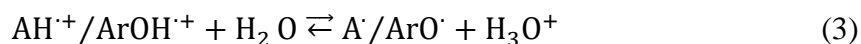
Fenolne kiseline, sekundarni metaboliti biljaka, su organska jedinjenja u kojima je za fenolni prsten vezana karboksilna grupa i predstavljaju bioprekursore, ali i metabolite polifenola. One se vrlo retko sreću kao slobodne u prirodi, češće su vezane za polisaharide, alkohole ili organske kiseline. Imaju sposobnost otpuštanja vodonikovog atoma i „hvatanja” hidroksi i peroksi radikala, superoksid radikal anjona, singletnog kiseonika i drugih reaktivnih vrsta, te se zato smatraju antioksidansima, čija je efikasnost u direktnoj sprezi sa položajem i brojem OH grupa (Ghasemzadeh i Ghasemzadeh, 2011). Hidroksi derivati cimetine kiseline, kao i hidroksi derivati benzoeve kiseline čine grupu fenolnih kiselina. Neki, u biljkama najzastupljeniji, predstavnici fenolnih kiselina su: *p*-hidroksibenzoeva kiselina, *p*-kumarninska kiselina i ferulna kiselina.

Flavonoidi su još jedna grupa sekundarnih metabolita biljaka sa polifenolnom strukturom i oni su zaslužni za raznolikost boja biljnih organa. Flavonoidi imaju širok spektar dokazanih bioloških aktivnosti, u koje spada i antioksidativna aktivnost. Mehanizam delovanja flavonoida zasniva se na davanju vodonikovog atoma slobodnim radikalima, pri čemu oni sami postaju slobodni radikali, međutim, bez tendencije pokretanja lančanih reakcija sa supstratom, jer su stabilizovani rezonantnim strukturama, što za posledicu ima prekidanje slobodno radikalskih procesa.

Flavonoidi se u prirodi retko javljaju kao slobodni, pretežno su prisutni u obliku glikozida. Na osnovu stepena oksidacije centralnog piranovog prstena i položaja sekundarnog aromatičnog prstena, flavonoidi se dele u šest grupa: flavone, izoflavone, flavonole, flavanole, flavanone i antocijanidine.

2.8.2. Spektrofotometrijske metode za određivanja antioksidativne aktivnosti

Postoji veliki broj metoda za određivanje antioksidativne aktivnosti, a sve one se zasnivaju na „hvatanju” slobodnih radikala predajom H-atoma (jednačina 1) i redukciji slobodnih radikala doniranjem jednog elektrona (jednačine 2-4).



Spektrofotometrijske metode procene antioksidantne aktivnosti ispitivanog uzorka svrstavaju se u dve grupe. Sa jedne strane nalaze se metode koje se baziraju na neutralisanju pogodnog obojenog slobodnog radikala, odnosno standarda. Smanjenje intenziteta boje rastvora služi kao mera antioksidantne sposobnosti ispitivane supstance. U ovu grupu se ubrajaju ABTS, DPPH i druge metode. Veća stabilnost radikala uzrokuje njegovu veću selektivnost, tako da je glavni nedostatak ovog tipa metoda neophodnost stabilnosti radikala, dovoljne da on u radikalskom obliku postoji u rastvoru u dužem vremenskom periodu.

Sa druge strane se nalaze metode koje koriste sposobnost ispitivanog uzorka da redukuje katjon nekog prelaznog metala vezanog u kompleks (uglavnom Fe^{3+} ili Cu^{2+}). Ovde ubrajamo FRAP, TRP, CUPRAC i druge metode. Mudrim izborom kompleksirajućeg liganda uspešno se podešava oksido-redukcioni potencijal para $\text{M}^{n+}/\text{M}^{(n-1)+}$. Nedostatak ovog tipa metoda je mogućnost detektovanja i nekih vrsta koje uopšte ne poseduju antioksidantna svojstva (Ce^{3+} može da redukuje Fe^{3+}) ili mogućnost ne detektovanja nekih jedinjenja koja zapravo poseduju antioksidantne osobine (FRAP je neupotrebljiv za tiole).

2.8.2.1. Određivanje antioksidativne aktivnosti DPPH testom

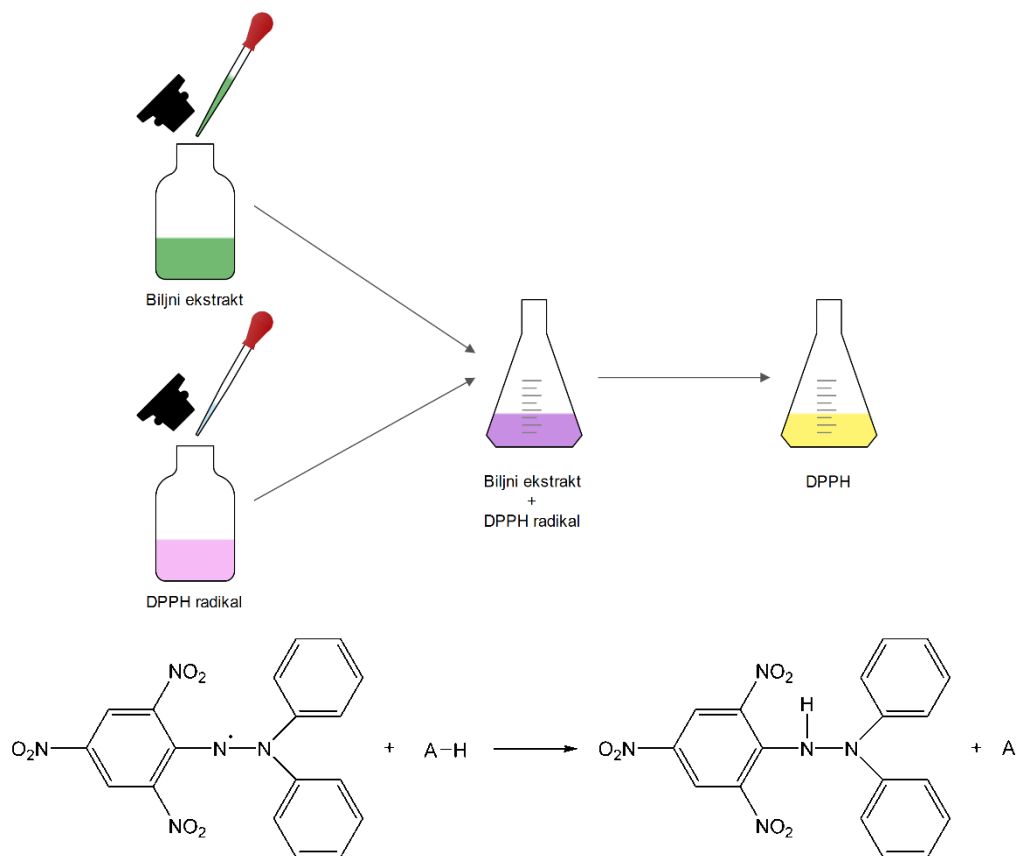
DPPH test spada u spektrofotometrijske metode određivanja antioksidativne sposobnosti uzorka da neutrališe slobodne radikale. Korišćeni rastvarač, polarnost i kiselost fenolnih jedinjenja definišu mehanizam reakcije, jer su poznata dva moguća mehanizma, prvi prenosom vodonikovog atoma (jednačina 5) i drugi prenosom elektrona (jednačina 6).



U reakciji 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala sa antioksidansom dolazi do stvaranja žuto obojenog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazina (Slika 2.14). Što je apsorbancija testiranog rastvora veća, to je antioksidativna sposobnost uzorka manja, jer u ispitivanom rastvoru ne

postoji dovoljno antioksidanasa koji bi mogli da reaguju sa DPPH radikalom, čime bi smanjili apsorpciju.

DPPH test najbolje se pokazao kod određivanja antioksidativne aktivnosti hidrofobnih sistema. Spektrofotometrijska očitavanja se vrše na apsorpcionom maksimumu, koji je za metanolni rastvor na talasnoj dužini od 515 nm (Hatano i sar., 1988).

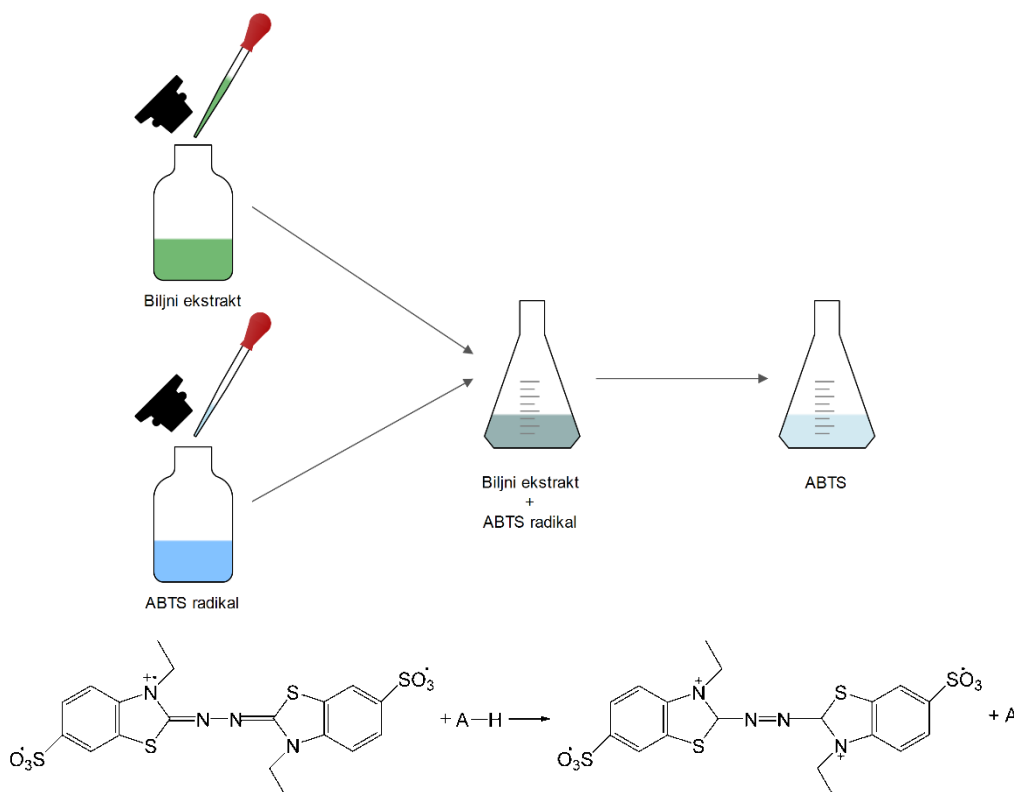


Slika 2.14 Šema određivanja antioksidativne aktivnosti DPPH metodom

2.8.2.2. Određivanje antioksidativne aktivnosti ABTS testom

Kod ABTS testa reagens je plavo-zeleni radikal katjon 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline) $ABTS^{•+}$ nastao oksidacijom rastvora ABTS i njegova antioksidativna sposobnost se određuje na talasnoj dužini od 734 nm (Slika 2.15) (Re i sar., 1999). ABTS test se pokazao dobro za hidro i lipofilne antioksidanse, za razliku od DPPH metode.

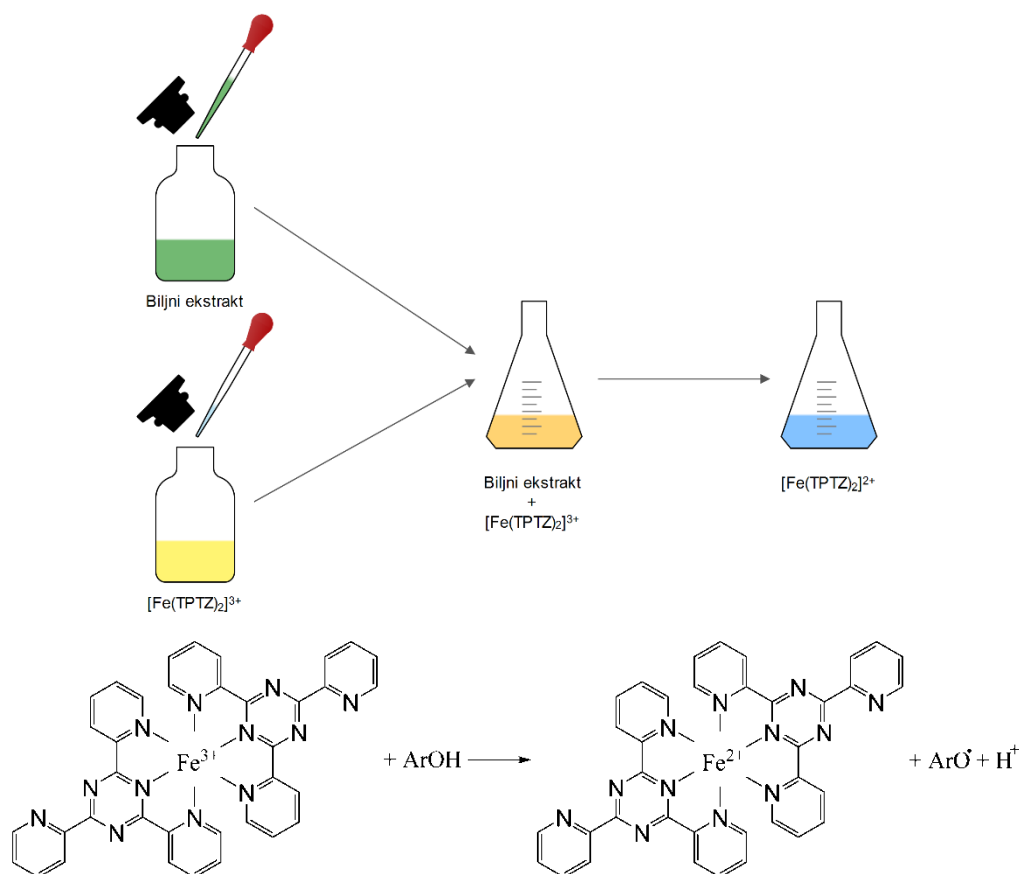
ABTS reagens, isto kao i DPPH reagens, može reagovati mehanizmom prenosa vodonikovog atoma (jednačina 7) i mehanizmom prenosa elektrona (jednačina 8).



Slika 2.15 Šema određivanja antioksidativne aktivnosti $\text{ABTS}^{\bullet+}$ metodom

2.8.2.3. Određivanje redoks aktivnosti FRAP testom

Jedna od metoda za merenje redoks potencijala putem reakcije redukcije metalnih jona (najčešće Fe^{3+} , Cu^{2+} i Ce^{3+}) je i FRAP metoda. Prilikom FRAP testa dolazi do povećanja apsorbancije analiziranog uzorka, zbog sposobnosti antioksidansa da redukuje Fe^{3+} jon iz žuto obojenog kompleksa $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$, do Fe^{2+} jona, vezanog u plavo obojeni kompleks $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ (Slika 2.16) (Benzie i Strain, 1996). Kod ove metode, količina antioksidanasa direktno je proporcionalna apsorbaniji merenoj na 595 nm. Nedostaci FRAP metode su ti što su rezultati jako zavisni od vremena očitavanja, zbog različitih brzina reagovanja pojedinih antioksidanasa, dalje, njime se ne detektuju antioksidansi sa tiolnim funkcionalnih grupama, kao i to da rezultati variraju u zavisnosti od korišćenog rastvarača.

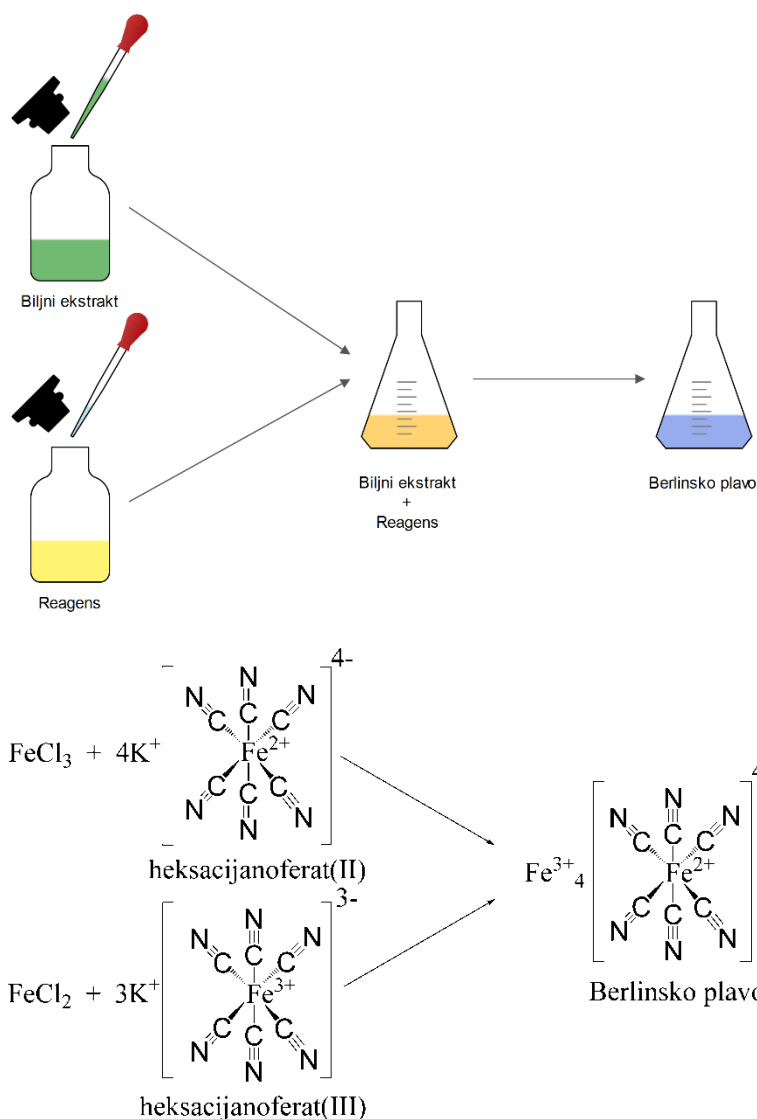


Slika 2.16 Šema određivanja redoks potencijala FRAP metodom

2.8.2.4. Određivanje ukupne redukcionne sposobnosti TRP testom

Još jedna od metoda za merenje redoks potencijala nekog uzorka putem reakcije redukcije metalnog jona je i TRP metoda.

Kod TRP testa količina antioksidanasa prisutnih u ispitivanom uzorku se određuje spektrofotometrijski nakon 30 minuta, merenjem apsorbancije kompleksa $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ na talasnoj dužini od 700 nm, jer novonastali kompleks sporo dobija boju „berlinsko plavo”. Postoje dva načina formiranja konačnog plavog kompleksa (Oyaizu, 1986). Postoji mogućnost da antioksidansi iz uzorka ili redukuju Fe^{3+} do Fe^{2+} , a da se Fe^{2+} joni potom vezuju za heksacijanoferat(II) ili redukuju heksacijanoferat(III) do heksacijanoferata(II), a heksacijanoferat(II) zatim vezuje u rastvoru slobodne Fe^{3+} jone i tako gradi kompleks gvožđe(III)-heksacijanoferat(II) (Slika 2.17).

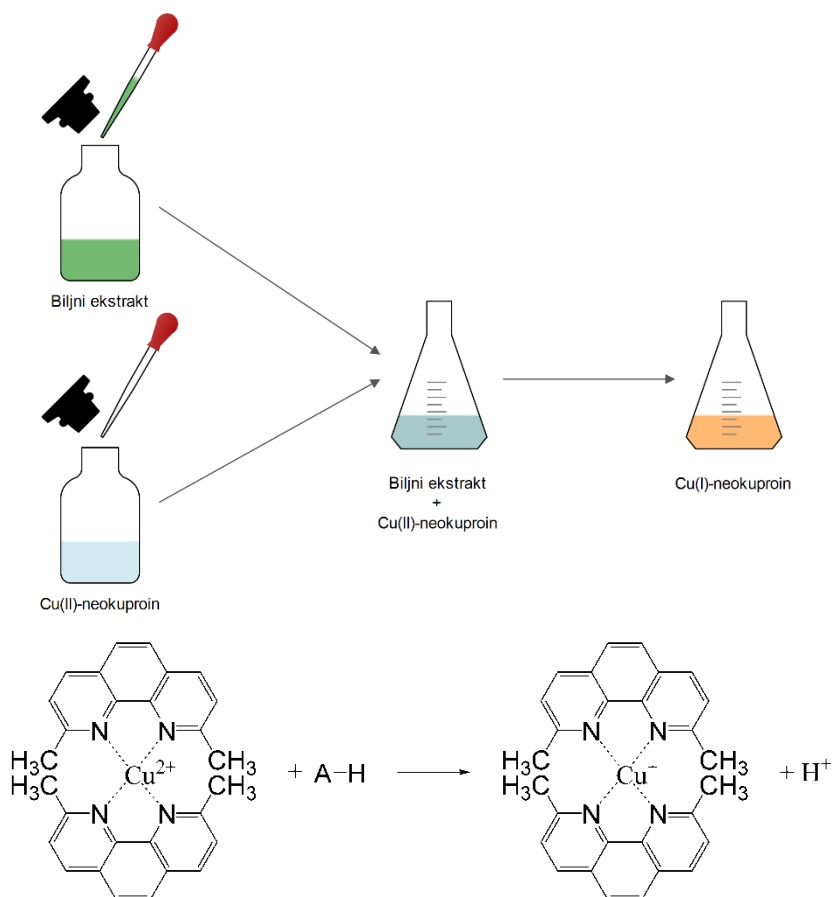


Slika 2.17 Šema određivanja redoks potencijala TRP metodom

2.8.2.5. Određivanje redox aktivnosti CUPRAC testom

U CUPRAC testu u reakciji antioksidansa sa kompleksom bis(neokuproin)-bakar(II) katjonom dolazi do redukcije Cu^{2+} u Cu^+ . U neutralnoj sredini se formira bezbojni helatni kompleks bis(neokuproin)-bakar(I). U prisustvu redukcionog sredstva nastaje kompleksno jedinjenje narandžasto-crvene boje Cu(I) -(neokuproin), koje ima maksimum apsorbancije na 450 nm (Slika 2.18) (Apak i sar., 2004). Upoređivanjem CUPRAC metode sa ostalim testovima za određivanje antioksidativne aktivnosti preko redoks potencijala, može se uočiti da na rezultate CUPRAC testa ne utiču faktori poput prirode fenolnih jedinjenja, vazduha, sunčeva svetlosti i vlažnosti, jer je bis(neokuproin)-bakar(II) reagens stabilniji od reagensa za DPPH i reagensa za ABTS. Prednost je i što se CUPRAC metoda izvodi u neutralnoj sredini, dok se FRAP test izvodi u kiselj sredini, pri čemu redoks potencijal može biti umanjen zbog

reakcije vodonikovog jona sa hidroksilnim grupama ispitivanih jedinjenja. Reagens bis(neokuproin)-bakar(II) katjon je selektivniji od reagensa sa Fe^{2+} jonima, jer ima manji redoks potencijal od njih.



Slika 2.18 Šema određivanja redoks potencijala CUPRAC metodom

2.8.3. Određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja i flavonoida

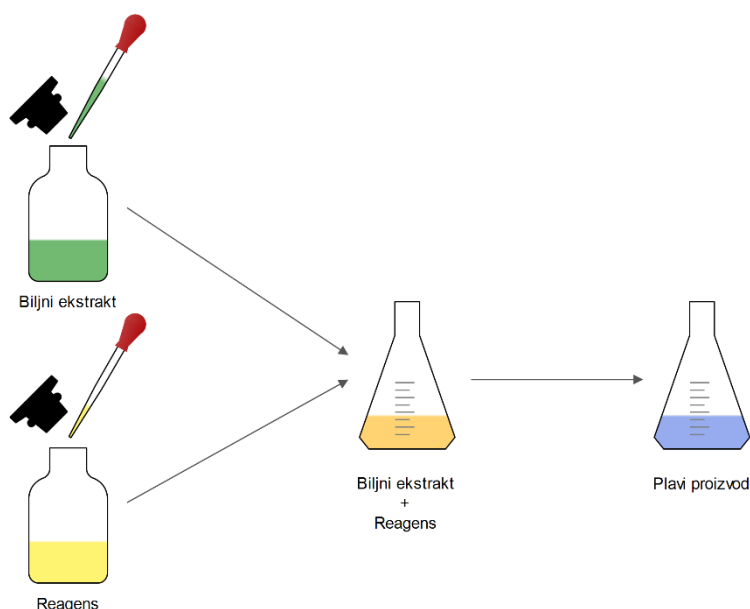
2.8.3.1. Određivanje ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja

TP test je metoda kvantifikovanja ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja u analiziranom uzorku, pri kojoj se koristi Folin-Ciocalteu reagens, koji sa fenolnim jedinjenjima daje obojeni proizvod, te je zato moguće kolorimetrijsko određivanje količine fenolnih jedinjenja na talasnoj dužini od 760 nm (Slika 2.19).

TP je elektron transfer metoda, a do transfera dolazi sa fenolnih jedinjenja na kompleks fosfomolibdenske/fosfovolframatne kiseline u baznoj sredini, pri čemu se javlja plavi proizvod. Sam mehanizam delovanja Folin-Ciocalteu reagensa je i dalje nepoznat, ali je pretpostavka da se sastoji od serije reverzibilnih reakcija transfera jednog ili dva elektrona, a

sve do nastanka plavo obojenih hemijskih vrsta (npr. $(\text{PMoW}_{11}\text{O}_{40})^{4-}$). Valenca samog metala u izopolifosforizovanim volframovim jonima je VI u totalno oksidovanom stanju. Žuta boja rastvora potiče od molibdenskih analoga izopolifosforizovanih volframovih jona, koji se zajedno nalaze u rastvoru u obliku jona heteropolifosfovolframata i molibdenata. Oko centralnog fosfata su u kiseljoj sredini orjentisani oksidi metala, čineći tako hidratizovani oktaedarski kompleks (Singleton i sar., 1999).

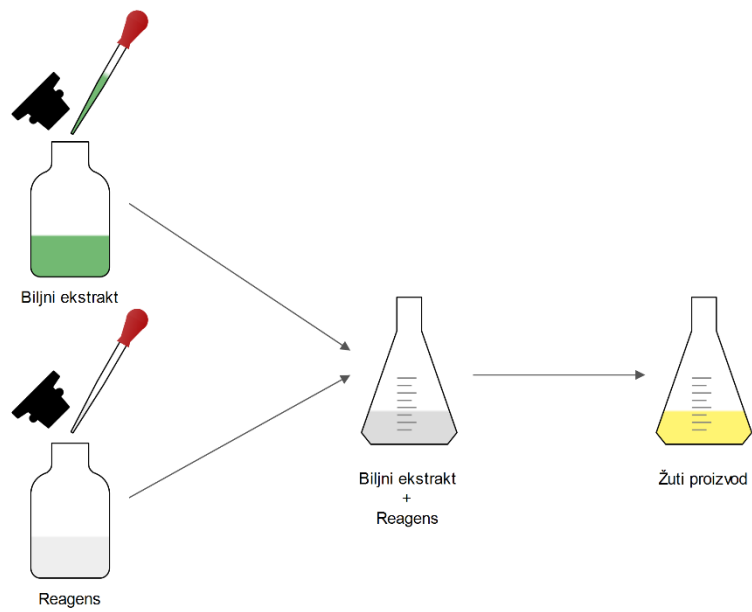
Nedostatak ove metode je taj što Folin-Ciocalteu reagens nije visoko selektivan, već na rezultate utiču određene hemijske vrste poput aromatičnih amina, SO_2 , vitamina C, Cu^+ jona i Fe^{2+} jona. Taj uticaj može da bude u smeru inhibiranja, sinergističkog delovanja ili pojačavanja uticaja reagensa.



Slika 2.19 Šema određivanja ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja TP metodom

2.8.3.2. Određivanje ukupnog sadržaja flavonoida

Flavonoidi, kao jedna od najraznovrsnijih grupa sekundarnih metabolita, imaju sposobnost da neutrališu štetne posledice slobodno radikalskog delovanja u organizmu. Ukupni sadržaj flavonoida u ispitivanim uzorcima može se odrediti spektrofotometrijski merenjem apsorbancije rastvora nagrađenih kompleksa (Slika 2.20). Kompleksi flavonoid–aluminijum imaju maksimum apsorpcije na talasnoj dužini od 520 nm, a nastaju reakcijom aluminijum(III)-hlorida sa flavonima i flavanolima, kao i reakcijom aluminijum(III)-hlorida sa ortodihidroksilnim grupama u A-prstenu ili B-prstenu flavonoida (Zhishen i sar., 1999).



Slika 2.20 Šema određivanja ukupnog sadržaja flavonoida TF metodom

2.9. TEHNIKE ODREĐIVANJA

2.9.1. Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom

Gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC-MS) je česta tehnika za razdvajanje kompleksnih isparljivih smeša i za identifikaciju jedinjenja smeše. Za kvantitativnu analizu se obično koristi plameno-jonizacioni detektor, dok je maseni detektor potreban za karakterizaciju konstituenata etarskih ulja. Identifikacija jedinjenja se vrši poređenjem dobijenih hromatografskih podataka sa podacima iz referentnih baza (poređenjem retencionih indeksa), kao i poređenjem snimljenih masenih spektara sa referentnim spektrima. Kompletno razdvajanje i identifikacija svih jedinjenja uzorka nije uvek moguća, pa se često u radu sreće slučaj koeluiranja, kada dve komponente imaju isto retenciono vreme. To se može prevazići snimanjem uzoraka na dve po polarosti različite kolone (Karasek i Clement, 2012).

2.9.1.1. Gasna hromatografija

Razdvajanje komponenata na gasnom hromatografu se bazira na razlici u koeficijentima raspodele između dve faze (stacionarne i mobilne). Gasna hromatografija se primenjuje samo u slučaju kada su jedinjenja koja se razdvajaju u gasovitom stanju ili se mogu prevesti u gasovito stanje različitim metodama. Razdvajanje se vrši prolaskom uzorka preko stacionarne faze. Mobilna faza je hemijski inertan gas koji je nosač komponenata uzorka preko kolone, odnosno čvrstog adsorbenta ili tečnosti na inertnom nosaču, što je zapravo stacionarna faza.

2.9.1.2. Masena spektrometrija

Koncept masene spektrometrije obuhvata jonizaciju jedinjenja nekom od pogodnih metoda, pa razdvajanje ovih jona prema odnosu mase i naelektrisanja (m/z) i na kraju kvalitativnu i kvantitativnu detekciju jona na osnovu m/z vrednosti i same zastupljenosti tih jona. Jonizacija se izvodi pomoću električnog polja ili pomoću ekscitiranih elektrona, jona ili fotona. Razdvajanje jona omogućavaju statička ili dinamička električna ili magnetna polja. Kao rezultat ovih delovanja, dobija se maseni spektar, koji predstavlja dvodimenzionalni prikaz zavisnosti m/z odnosa pojedinačnih jona i intenziteta struje, a intenzitet pika (m/z) jednog jona je u direktnoj korelaciji sa zastupljenošću tog jona.

2.9.2. Tečna hromatografija visokih performansi

Tečna hromatografija visokih performansi (HPLC) smatra se tehnikom visoke tačnosti, preciznosti i niske granice detekcije, čijom primenom se ne menjaju hemijska svojstva analita, te se može koristiti i za kvalitativnu i za kvantitativnu analizu.

Tečna hromatografija visokih performansi predstavlja dinamički proces adsorpcije komponenata smeše. Jedinjenja smeše nošena tečnom fazom preko stacionarne faze, „bore“ se sa molekulima eluenta oko mogućnosti interakcije sa adsorpcionim mestima površine kolone.

U svrhu što boljeg razdvajanja komponenata koriste se dve metode, HPLC na normalnoj fazi i HPLC na obrnutoj fazi. Kada su supstance koje se analiziraju polarne koristi se prva metoda i razdvajanje se tada zasniva na interakciji molekula sa polarnom stacionarnom fazom i nepolarnom mobilnom fazom. Polarnije supstance se pri tome čvršće vezuju za odgovarajuća mesta stacionarne faze, te je i vreme zadržavanje polarnijih komponenata duže. Kod druge metode, stacionarna faza je nepolarna (često C-18), dok je mobilna faza polarna. Tako je vreme zadržavanja nepolarnih jedinjenja duže, dok se polarna, zbog slabije absorpcije, nošena polarnom mobilnom fazom eluiraju za kraće vreme (Meyer, 2013).

2.9.3. Optička emisiona spektrometrija sa induktivno spregnutom plazmom

Spektrometrija induktivno spregnute plazma (ICP) je tehnika određivanja elemenata u najrazličitijim uzorcima. Ovom tehnikom moguće je kvalitativno i kvantitativno odrediti sve do sad poznate elemente, izuzev argona (noseći gas). Dobre strane ove tehnike su velika osetljivost, reproduktivnost, tačnost i preciznost, niske granice detekcije, kao i mogućnost multielementnog određivanja.

Induktivno spregnuta plazma nastala zagrevanjem ili unošenjem inertnog gasa u jako elektromagnetno polje koristi se kao izvor pobuđivanja, pri čemu se postiže visoka efikasnost jonizacije i proizvode se pozitivno naelektrisani joni. Kao gas za proizvodnju plazme uglavnom se koristi argon, neutralni gas sa velikom energijom jonizacije. Svaki uzorak koji se analizira ovom metodom, mora biti preveden u tečno stanje, nakon toga se pod dejstvom visoke temperature izvora pobuđivanja obezbeđuje isparavanje rastvarača, pobuđivanje i jonizacija atoma.

Optička emisiona spektrometrija (OES) ispituje zračenja emitovana od strane elemenata analiziranog rastvora, nakon unošenja rastvora u plazmu argona na povišenoj temperaturi.

ICP OES je kvalitativna i kvantitativna tehnika, kojom se svaki atom elementa uveden u plazmu pobuđuje i emituje svetlost, a razdvajanje svetlosti se vrši korišćenjem optičke rešetke, pa se zatim pristupa merenju intenziteta svetlosti na specifičnoj talasnoj dužini za svaku liniju elemenata (neki elementi imaju više specifičnih talasnih dužina). Signal se potom pojačava i intenzitet električnog signala se određuje na osnovu intenziteta unapred snimljenog standarda poznate koncentracije (Thompson, 2012).

2.9.4. UV/Vis spektrofotometrija

Ultraljubičasta/vidljiva (UV/Vis) spektrofotometrija je apsorpciona tehnika za kvalitativno i kvantitativno određivanje supstanci, kojom se posmatraju pomeranja unutar spektra elektromagnetnog zračenja u intervalu talasnih dužina od 200 nm do 800 nm (Perkampus, 2013).

Kvantitativna analiza zasniva se na primeni Lamber–Berovog zakona, po kome je dobijena apsorbancija linearna funkcija koncentracije ispitivane supstance i dužine optičkog puta zračenja (jednačina 9).

$$A = \log(I_0/I) = a \cdot b \cdot c \quad (9)$$

A – apsorbancija

I_0 – intenzitet upadnog zračenja

I – intenzitet propuštenog zračenja

a – molarni koeficijent apsorpcije

b – dužina optičkog puta

c – koncentracija supstance

Uslov da bi rastvor mogao da se koristi u spektrofotometrijskoj analizi u vidljivoj oblasti jeste da on mora da bude bistar i da bude obojen.

2.10. STATISTIČKA ANALIZA

Obimna laboratorijska studija, kojom se prikuplja velika količina podataka o određenom uzorku ili uzorcima, zahteva obradu sakupljenih podataka u cilju uprošćavanja kompleksnih skupova i razbijanja istih na manje celine, a sve to zarad lakše interpretacije tih podataka. Statistika se, dakle, može definisati kao numerička mera kojom se opisuju karakteristike analiziranog uzorka. Statističke metode mogu se podeliti na opisne (deskriptivne) i na one kojima se izvode određeni statistički zaključci o skupu na osnovu zadanog seta podataka. Deskriptivne metode imaju za cilj uprošćavanje i sažimanje zadatah podataka u lako razumljive celine.

Kao statistički alati za bolje objašnjavanje korelacija između dobijenih rezultata, u XLSTAT (2021) za potrebe ove doktorske disertacije korišćeno je pet statističkih metoda: PCA (analiza glavnih komponentata), ANOVA (analiza varijanse), MANOVA (multivarijantna analiza varijanse), DA (diskriminantna analiza) i aglomerativno hijerarhijsko grupisanje (AHC). Takođe, korišćen je i statistički paket Statistica 8.0, StatSoft, Tulsa, Oklahoma, SAD za obradu podataka prikupljenih ICP OES metodom pomoću PCA i AHC testova.

2.10.1. Analiza glavnih komponentata - PCA

Analiza glavnih komponentata je veoma moćna tehnika u hemometriji koja omogućava grupisanje uzoraka. Originalne varijable se redukuju, a nove, dobijene nakon određenih matematičkih transformacija, daju bolji uvid u grupisanje i korelacije između analiziranih uzoraka. Početni skupovi podataka moraju proći određene testove pre PCA i biti prethodno obrađeni u zavisnosti od rezultata testova (Bro i Smilde, 2014). Prvi pomen PCA nalazi se u radu Pearson (1901), ali današnje tumačenje PCA najbolje je u radu opisao Hotelling (1933). Grupisanje uzoraka se može posmatrati na grafikonima rezultata, ali bolja rešenja za vizuelizaciju su biplotovi koji kombinuju rezultate i opterećenja (Carlier i Kroonenberg, 1996; Gabriel, 1971; Gower, 1995). Komponente sa svojstvenim vrednostima se biraju za interpretaciju rezultata (Kaiser-ovo pravilo ili Kaiser-Guttman-ovo pravilo) (Cliff, 1988; Guttman, 1954; Kaiser, 1960).

U prvom koraku statističke evaluacije, za određivanje distribucije obično se koristi Kolmogorov-Smirnov test (kao nivo značajnosti uzima se da je $\alpha=0,05$). Pre primene PCA modelovanja matrice podataka se ispituju da bi se otkrili eventualni "autlajeri", odnosno

vrednosti koje odstupaju, korišćenjem Grubbs-ovog testa (Grubbs, 1969). Autlajeri se zatim odbacuju iz PCA analize.

2.10.2. Klaster analiza - AHC

Hijerarhijsko grupisanje je strategija gde se aglomerativni pristup uglavnom koristi u praksi sa funkcijom povezivanja za povezivanje sličnih klastera u pravcu odozdo prema gore (Pezoulas i sar., 2020). Najčešće korišćene funkcije povezivanja su: 1) Euklidova (ili Euklidova na kvadrat) razdaljina, 2) Mahalanobisovo rastojanje i 3) Menhetska distanca (Pezoulas i sar., 2020).

U ovoj doktorskoj disertaciji je urađena AHC standardizovanih varijabli primenom Ward-ove metode, kao pravila spajanja, i kvadrata Euklidove udaljenosti, kao mere blizine između uzoraka.

2.10.3. Analiza varijanse - ANOVA

Analizu varijanse je izmislio Ronald Fišer, britanski statističar, a zasniva se na zakonu ukupne varijanse. Praktično, analizira razlike između srednjih vrednosti u uzorku. U hemiji, istraživači koriste jednosmernu i dvosmernu ANOVA-u. Jednosmerna ANOVA proučava efekat $k (>2)$ nivoa jednog faktora. Dvosmerna ANOVA je produžetak ANOVA-e sa jednim faktorom. Ovde se nivoi drugog faktora obično određuju grupama subjekata ili jedinica koje se koriste u analizi. Stoga se drugi faktor naziva faktor blokiranja (fstats_ch7.pdf (cimt.org.uk)).

2.10.4. Multivarijantna analiza varijanse - MANOVA

Multivarijantna analiza varijanse je generalizovani oblik univarijantne analize varijanse (ANOVA), koja koristi kovarijansu između rezultujućih varijabli u testiranju statističke značajnosti srednjih razlika (Warne, 2014).

2.10.5. Diskriminanta analiza - DA

Diskriminanta analiza koristi značajne parametre definisane od strane MANOVA-e (nezavisne varijable) ($p < 0,05$) za linearnu kombinaciju grupa koje mogu razlikovati poznate grupe (varijable grupisanja) dajući tačne stope klasifikacije (Karabagias i sar., 2017).

2.11. SVETSKA REFERENTNA BAZA ZA RESURSE ZEMLJIŠTA - WRB

Baza geoprostornih podataka zemljišta Evroazije rađena je po WRB (2014) (*eng.* World Reference Base for Soil Resources) klasifikaciji koja predstavlja svetsku referentnu osnovu za zemljišta. Izrađena je na osnovu FAO/Unesco sistematizacije i prihvaćena od strane Međunarodnog pedološkog društva. Formiranje ovakve baze imalo je za cilj usklađivanje nacionalnih klasifikacionih sistema zemljišta radi lakše međusobne komparacije tipova zemljišta i komunikacije između istraživača na međunarodnom nivou. Ova klasifikacija se sastoji od 32 referentne grupe zemljišta, a različiti prefiksi i sufiksi detaljnije određuju svaki od tipova.

Eksperimentalni deo

3.1. BILJNI MATERIJAL

Sve biljne vrste izučavane u sklopu ove doktorske disertacije su samonikle i sakupljane su na teritoriji centralne, istočne i jugoistočne Srbije u periodu od 2015-2016. godine. U Tabeli 3.1 prikazani su nazivi lokaliteta i njihove koordinate, kao i tipovi zemljišta na staništima sa kojih su biljke sakupljane. Dodatno, na Slici 3.1 prikazana je i karta lokaliteta na kojima je vršeno sakupljanje biljnog materijala. Prikupljeni su isključivo nadzemni delovi biljaka u fazi cvetanja u periodu od juna do oktobra, u zavisnosti od biljne vrste.

Sav biljni materijal je čišćen od nečistoća i insekata, pa je potom pregledan i determinisan od strane prof. dr Bojana Zlatkovića sa Departmana za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, Univerziteta u Nišu. Herbarizovani primerci sakupljenih vrsta su deponovani u Herbarijumu Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, Univerziteta u Nišu (HMN), a vaučer brojevi svih eksikata dati su, takođe, u Tabeli 3.1.

Sav biljni materijal je, nakon berbe i čišćenja, sušen na vazduhu, u dobro provetrenoj prostoriji. Osušeni uzorci su čuvani na sobnoj temperaturi, na mračnom mestu do analize, pre koje su dobro usitnjeni.

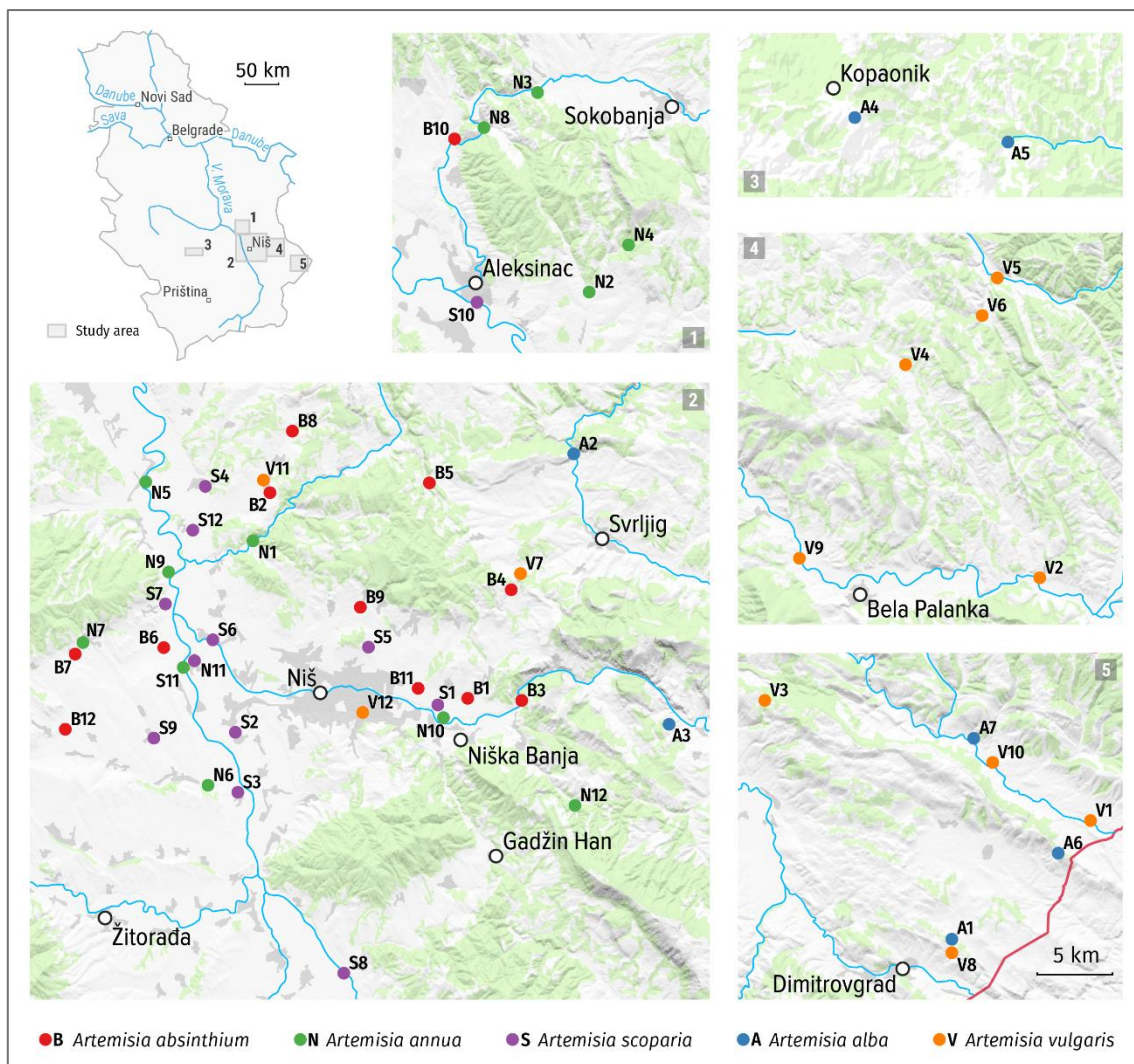
Tabela 3.1 Podaci o lokalitetima sa kojih je prikupljan biljni materijal vrsta iz roda *Artemisia*

Vrsta	Uzorak	Vaučer	Lokalitet	Geografska širina, °	Geografska dužina, °	WRB tip tla
<i>Artemisia alba</i>	AA1	13296	Kozarica, Dimitrovgrad	22.81958333	43.02902778	Pellic Vertisol (pv)
	AA2	13312	Niševac, Svrlijig	22.1005	43.46488889	Rendzic Leptosol (rl)
	AA3	13313	Radov Dol, Sičevačka klisura	22.17586111	43.30177778	Calcaric Fluvisol (cf)
	AA4	13307	Vlajkovci, Kopaonik	20.82686111	43.26786111	Haplic Leptosol (hl)
	AA5	13311	Sudimlja, Kopaonik	20.95252778	43.25325	Dystric Cambisol (dc)
	AA6	14323	Vlkovija, Mojinci	22.90833333	43.08344444	Rendzic Leptosol (rl)
	AA7	14324	Rosomač, Visok	22.84122222	43.1535	Rendzic Leptosol (rl)
	AA8	14323	Zaovine, Tara	19.39980556	43.86438889	Chromic Cambisol (cc)
<i>Artemisia absinthium</i>	AB1	14311	Gornja Vrežina, Niš	22.01083333	43.319	Calcaric Phaeozem (cp)
	AB2	14313	Velepolje, Kalafat	21.84733333	43.44763889	Eutric Cambisol (ec)
	AB3	14314	Prosek, Sičevačka klisura	22.05511111	43.31727778	Rendzic Leptosol (rl)
	AB4	14321	Vrelo, Sokobanja	22.04763889	43.38380556	Haplic Luvisol (hl)
	AB5	14315	Kopajkošara, Svrlijske planine	21.98141667	43.44852778	Rendzic Leptosol (rl)
	AB6	14318	Lalinske pojate, Lalinska slatina	21.76155556	43.35136111	Calcaric Fluvisol (cf)
	AB7	14312	Jovanovac, Merošina	21.69152778	43.35183333	Pellic Vertisol (pv)
	AB8	14322	Paligrace, Niš	21.86908333	43.48055556	Eutric Cambisol (ec)
	AB9	14317	Brenica, Niš	21.92344444	43.37441667	Calcaric Phaeozem (cp)
	AB10	14320	Subotinac, Aleksinac	21.69241667	43.62577778	Pellic Vertisol (pv)
	AB11	14319	Donja Vrežina, Niš	21.97019444	43.32533333	Calcaric Phaeozem (cp)
	AB12	14316	Oblačinsko jezero, Merošina	21.68008333	43.30286111	Pellic Vertisol (pv)
<i>Artemisia annua</i>	AN1	14334	Paljina, Niš	21.83569444	43.41491667	Eutric Cambisol (ec)
	AN2	14336	Stanci, Aleksinac	21.80233333	43.53313889	Eutric Cambisol (ec)
	AN3	14335	Mozgovo, Sokobanja	21.76130556	43.65319444	Pellic Vertisol (pv)
	AN4	14329	Lipovac, Aleksinac	21.83516667	43.56119444	Dystric Cambisol (dc)

Eksperimentalni deo

Vrsta	Uzorak	Vaučer	Lokalitet	Geografska širina, °	Geografska dužina, °	WRB tip tla	
	AN5	14325	Tešica, Aleksinac	21.74797222	43.45091667	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AN6	14327	Balajnac, Merošina	21.79683333	43.26852778	Pellic Vertisol (pv)	
	AN7	14326	Azbresnica, Merošina	21.69172222	43.35211111	Pellic Vertisol (pv)	
	AN8	14328	Selo Bovan, Aleksinac	21.71675	43.63241667	Pellic Vertisol (pv)	
	AN9	14333	Supovac, Niš	21.76605556	43.39669444	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AN10	14330	Naselje Broj Šest, Niš	21.98652778	43.30963889	Calcaric Phaeozem (cp)	
	AN11	14331	Lalinac, Lalinska slatina	21.78288889	43.34111111	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AN12	14332	Gornja Studena, Niš	22.09775	43.25388889	Rendzic Leptosol (rl)	
	<i>Artemisia vulgaris</i>	AV1	14359	Donji Krivodol, Stara planina	22.93530556	43.10255556	Rendzic Leptosol (rl)
		AV2	14353	Cmoklište, Pirot	22.46238889	43.22963889	Calcaric Fluvisol (cf)
		AV3	14352	Visočka Ržana, Pirot	22.67063889	43.17891667	Rendzic Leptosol (rl)
		AV4	14350	Miranovačka kula, Bela Palanka	22.35519444	43.35883333	Dystric Cambisol (dc)
AV5		14351	Inovo, Kalna	22.43183333	43.41002778	Calcaric Fluvisol (cf)	
AV6		14356	Kalna, Kalna	22.41886111	43.38761111	Dystric Cambisol (dc)	
AV7		14355	Česma kod Gramade, Svrlijig	22.05541667	43.39344444	Haplic Luvisol (hl)	
AV8		14354	Dimitrovgrad, Dimitrovgrad	22.81958333	43.02894444	Pellic Vertisol (pv)	
AV9		14357	Moklište, Bela Palanka	22.26555556	43.24369444	Calcaric Fluvisol (cf)	
AV10		14358	Slavinja, Vidlič	22.85625	43.13877778	Rendzic Leptosol (rl)	
AV11		14349	Velepölje, Niš	21.84716667	43.44777778	Eutric Cambisol (ec)	
AV12		14360	Gabrovačka reka, Čele kula, Niš	21.92441667	43.31125	Calcaric Fluvisol (cf)	
<i>Artemisia scoparia</i>	AS1	14345	Naselje Broj Šest, Niš	21.98569444	43.31013889	Calcaric Phaeozem (cp)	
	AS2	14342	Čokot, Niš	21.81969444	43.30013889	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AS3	14343	Batušinac, Niš	21.82125	43.26411111	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AS4	14337	Draževac, Niš	21.79697222	43.44791667	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AS5	14344	Vinik, Niš	21.92972222	43.35038889	Calcaric Phaeozem (cp)	
	AS6	14348	Trupale, Niš	21.80194444	43.35575	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AS7	14338	Supovac, Niš	21.76327778	43.37752778	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AS8	14340	Zaplanjska Toponica, Niš	21.90658333	43.15491667	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AS9	14339	Aleksandrovo, Niš	21.75272222	43.29711111	Pellic Vertisol (pv)	
	AS10	14347	Aleksinac, Aleksinac	21.70980556	43.52766667	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AS11	14346	Lalinac, Lalinska slatina	21.78138889	43.34088889	Calcaric Fluvisol (cf)	
	AS12	14341	Trnava, Niš	21.78633333	43.42166667	Calcaric Fluvisol (cf)	

WRB-World reference base for soil resources



Slika 3.1 Karta lokaliteta sa kojih je prikupljan biljni materijal

3.2. REAGENSI

Za analizu biljnog materijala u ovoj doktorskoj disertaciji korišćene su sledeće hemikalije:

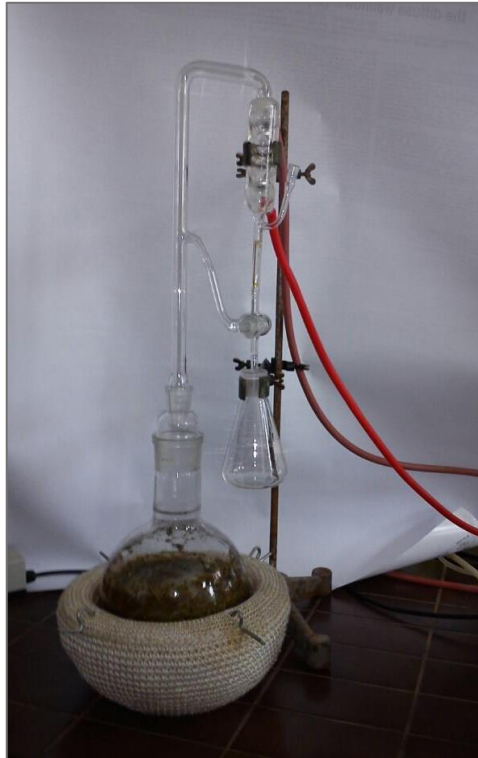
- Multielementarni standardni rastvori III (Ca, K, Mg i Na) i IV (Al, As, Ba, Be, B, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni, Se, Tl, V i Zn) i pojedinačni standardni rastvori Si, Hg i P, svi istog proizvođača–TraceCERT, Fluka Analytical, Švajcarska;
- Argon, čistoće 99,999%-Messer, Srbija;
- CRM-sertifikovan referentni materijal (CRM LGC7162; listovi jagode), ISO 9001 standard, sertifikovan od strane BSI (British Standards) pod brojem sertifikata FS27613;
- dejonizovana voda, provodljivosti 0.05 $\mu\text{S}/\text{cm}$ sa sadržajem ukupnog organskog ugljenika manjim od 10 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$, dobijena MicroMed sistemom, TKA Wasseraufbereitungssysteme GmbH, Nemačka;
- *p*-hidroksibenzoeva kiselina–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Hlorogena kiselina–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Vanilinska kiselina–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Rozmarinska kiselina–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- *p*-kumarinska kiselina–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Ferulinska kiselina–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Rutin–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Kvercetin–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Luteolin–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Naringenin–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Kempferol–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- Apigenin–Sigma-Aldrich, Nemačka;
- DPPH–Sigma Co., St. Louis, Missouri, SAD;
- Troloks–Acros Organics, Morris Plains, New Jersey, SAD;
- ABTS–Sigma Co., St. Louis, Missouri, SAD;
- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ –Merck®, Nemačka;
- $\text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ –Acros Organics, SAD;
- TPTZ–Merck®, Nemačka;
- Hloridna kiselina–Merck®, Nemačka;
- $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ –Merck®, Nemačka;
- $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ –Merck®, Nemačka;
- $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ –Merck®, Nemačka;
- $\text{CH}_3\text{COOCl}_3$ –Merck®, Nemačka;
- Askorbinska kiselina–Merck®, Nemačka;
- Na_2HPO_4 –Merck®, Nemačka;
- NaH_2PO_4 –Merck®, Nemačka;
- Na_2CO_3 –Merck® Nemačka;
- Galna kiselina–Mallinckrodt, Nemačka;
- Folin-Ciocalteu reagens–Sigma Co., St. Louis, Missouri, SAD;
- AlCl_3 –Merck®, Nemačka;
- NaNO_2 –Merck®, Nemačka;

- NaOH–Merck®, Nemačka;
- Kvercetin–Sigma Aldrich, Nemačka;
- CuCl₂–Merck®, Nemačka;
- CH₃COONH₄–Merck®, Nemačka;
- Neokuproin–Sigma Co., St. Louis, Missouri, SAD;
- Metanol–J. T. Baker, Holandija;
- Etanol–J. T. Baker, Holandija;
- Dietil-etar–Merck®, Nemačka;
- Etil-acetat–Merck®, Nemačka;
- Acetonitril–Sigma Aldrich, Nemačka;
- Dimetil-sulfoksid–Merck®, Nemačka;
- Mravlja kiselina–Merck®, Nemačka;
- Natrijum dodecil sulfat (SDS)–Merck®, Nemačka;
- Amifostin VR-2721 (S-2[3-aminopropilamino]-etilfosfotioična kiselina), 98% rastvor–Marligen, Biosciences, SAD;
- Mitomicin C (MMC)–Bristol, Myers Squibb, SAD;
- Citohalazin B–Invitrogen, Gibco, BRL, SAD;
- Gimza boja–Sigma Aldrich, Nemačka;
- NaCl–Sigma Aldrich, Nemačka;
- Na₂SO₄–Sigma Aldrich, Nemačka;
- KCl–Sigma Aldrich, Nemačka;
- NaHCO₃–Sigma Aldrich, Nemačka;
- KBr–Sigma Aldrich, Nemačka;
- H₃BO₃–Sigma Aldrich, Nemačka;
- NaF–Sigma Aldrich, Nemačka;
- MgCl₂·6H₂O–Sigma Aldrich, Nemačka;
- CaCl₂·2H₂O–Sigma Aldrich, Nemačka;
- SrCl₂·6H₂O–Sigma Aldrich, Nemačka;
- MgSO₄–Sigma Aldrich, Nemačka.

3.3. POSTUPAK PRIPREME UZORAKA

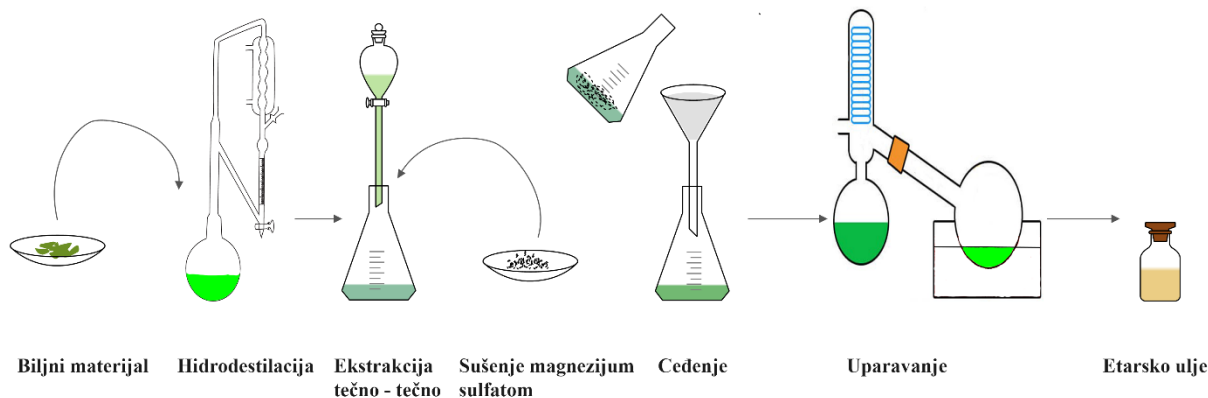
3.3.1 Postupak izolovanja etarskog ulja

Etarsko ulje je izolovano iz osušenog, usitnjenog i odmerenog biljnog materijala hidrodestilacijom po Klevendžeru u trajanju od 2,5 h. Biljni materijal je hidrodestilovan u kaloti, LABHEAT, SAF Wärmetechnik GmbH, Nemačka, a sama aparatura za izolovanje etarskog ulja data je na Slici 3.2.



Slika 3.2 Aparatura po Klevendžeru za izolovanje etarskog ulja

Nakon toga je etarsko ulje ekstrahovano dietil-etrom, a dietil-etarski ekstrakt sušen anhidrovanim $MgSO_4$. Nakon sušenja $MgSO_4$ je uklonjen filtracijom, a dietil-etar uparavanjem na rotacionom vakuum uparivaču IKA RV 05 basic, Werke, Nemačka. Analiza etarskih ulja razblaženih dietil-etrom do koncentracije od 10 mg/ml vršena je neposredno nakon izolovanja. Prinosi etarskih ulja dati su u Tabeli 3.2. Ovako dobijena etarska ulja korišćena su za GC/MS ispitivanja. Šema izolovanja etarskog ulja data je na Slici 3.3.



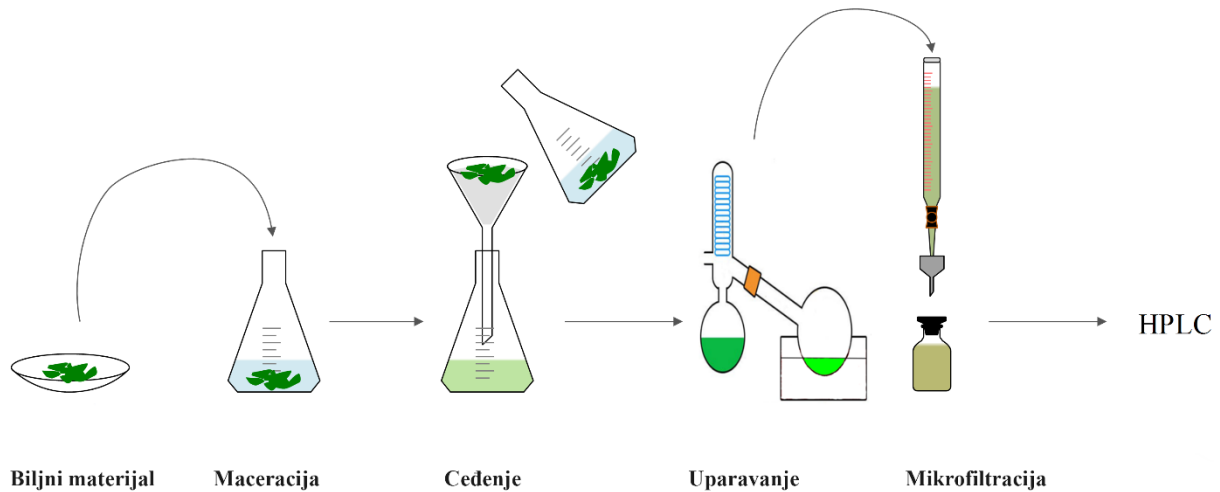
Slika 3.3 Šema postupka izolovanja etarskog ulja

3.3.1.1. Priprema uzoraka etarskog ulja za određivanje insekticidne aktivnosti i akutne toksičnosti

Sva etarska ulja jedne biljne vrste izolovana na gore opisani način su spajana i kao takva korišćena za GC/MS analize i za testiranja biološke aktivnosti, odnosno za određivanje akutne toksičnosti *Artemia salina* testom, kao i za određivanje larvicidne aktivnosti *Drosophila melanogaster* testom.

3.3.2. Postupak pripreme metanolnog ekstrakta

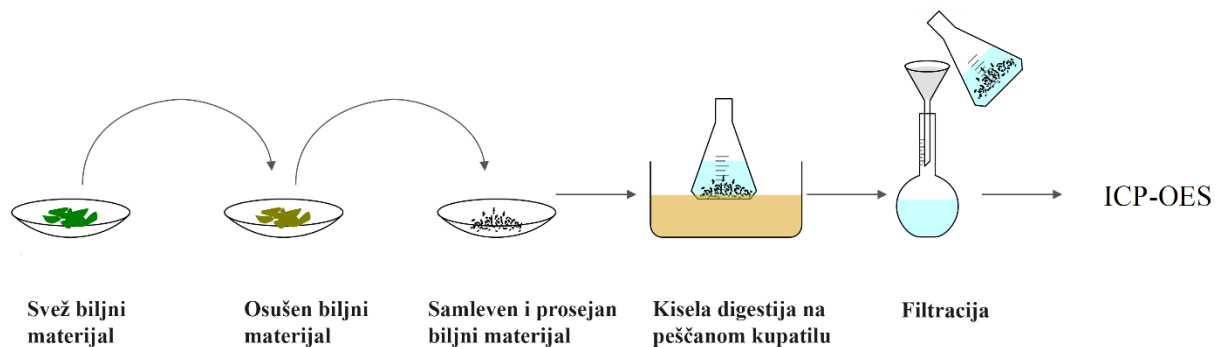
Metanolni ekstrakti su pripremani postupkom maceracije, tako što su uzorci od po 10 g osušene i fino usitnjene biljke ekstrahovani sa 100 ml metanola (80%, v/v) 72 h, na 25 °C, na tamnom mestu, uz povremeno ultrazvučno mešanje na ultrazvučnom kupatilu, UZK 8, Maget, Bela Palanka, Republika Srbija. Macerati su zatim filtrirani i upareni do suva na rotacionom vakuum uparivaču (40 °C). Prinosi metanolnih ekstrakata dati su u Tabeli 3.2. Ovako dobijeni ekstrakti korišćeni su za HPLC snimanja, za antioksidativna ispitivanja, kao i za mikronukleus test (pri čemu je za mikronukleus test odabran po jedan uzorak i to onaj sa najvećom antioksidativnom aktivnošću po DPPH metodi). Postupak pripreme metanolnog ekstrakta dat je kao šematski prikaz na Slici 3.4.



Slika 3.4 Šema postupka pripreme metanolnog ekstrakta

3.3.3. Postupak mineralizacije biljnog materijala

Mineralizacija biljaka vršena je postupkom kisele digestije, odmeravanjem po 1 g biljke, koja je prethodno sušena na sobnoj temperaturi do konstantne mase, pa sprášena i prosejana (prečnik <math>< 150 \mu\text{m}</math>). Uzorci su zatim prenošeni u erlenmajere, i u svaki je dodavano po 10 ml 65% HNO_3 , pa kasnije još po 1 ml 30% H_2O_2 . Nakon digestije, uzorci su ohlađeni, kvantitativno prenešeni u normalne sudove i razblaživani 0,5% HNO_3 do 25 ml. Postupak mineralizacije biljaka dat je kao šematski prikaz na Slici 3.5.



Slika 3.5 Šema postupka mineralizacije biljnog materijala

3.4. METODE

3.4.1. Analiza hemijskog sastava etarskog ulja

Uzorci etarskih ulja su analizirani pomoću 7890/7000B GC/MS/MS tripl kvadrupol sistema (Agilent Technologies, USA, Slika 3.6), koji je opremljen Combi PAL autosemplerom, na kapilarnoj HP-5MS koloni (5% fenilmetilsiloksan, 30 m x 0,25 mm, debljine filma 0,25 μ m). Uslovi pod kojim je vršeno snimanje etarskih ulja dati su u Tabeli 3.2, dok je prikaz samog uređaja koji je korišćen za eksperimentalni rad dat kao Slika 3.6.

Tabela 3.2 Parametri snimanja na GC/MS/MS-u

GC/MS/MS	
režim skeniranja	MS1
temperatura injektora	250 °C
temperatura interfejsa	300 °C
temperaturni program	50 °C do 290 °C
brzina zagrevanja	4 °C/min
noseći gas	helijum
brzina protoka helijuma	1 ml/min
split mode injektovanja	40:1 (razblaženje)
količina injektovanih uzoraka	1 μ l etarskog ulja rastvoren u 100 μ l dietil-etra (1:100)
Post run	
ispiranje kolone (backflush)	1,89 min
temperatura ispiranja	280 °C
pritisak helijuma	50 psi
MS uslovi	
režim jonizacije	EI režim
napon jonizacije	70 eV
opseg masa m/z	40-440 amu
vreme skeniranja	0,32 s



Slika 3.6 7890/7000B GC/MS/MS aparat

3.4.1.1. Identifikacija komponenata etarskog ulja

Komponente etarskog ulja su identifikovane korišćenjem AMDIS softvera (Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System, Ver. 2.1, DTRA/NIST, 2011), na osnovu poređenja retencionih indeksa (određenih u odnosu na standardnu seriju *n*-alkana C8-C40 snimljena na istom aparatu, na istoj koloni i pod istim uslovima kao i uzorci etarskih ulja) sa literaturnim vrednostima i poređenjem njihovih masenih spektara sa spektrima iz neke od baza: Adams (Adams, 2007), Wiley 6, NIST11, Agilent Mass Hunter Workstation B.06.00 softvera.

3.4.2. Analiza hemijskog sastava metanolnih ekstrakata

Sadržaj fenolnih jedinjenja (flavonola, flavona, flavanona, hidroksibenzoevih kiselina i hidroksicimetnih kiselina) u metanolnim ekstraktima analiziranih biljnih vrsta određen je primenom tečne hromatografije visokih performansi. Za samu analizu korišćen je HPLC aparat, Agilent Technologies 1200 Series, Agilent Technologies, SAD (Slika 3.7), sa Agilent-Eclipse XDB-C18•150 mm kolonom dimenzija 4,6×150 mm, koja je korišćena za razdvajanje komponenata, G1354A pumpom, G1329A automatskim injektorom i G1316A

termostatiranim kolonskim delom. Detekcija pikova snimljenih na više talasnih dužina vršena je pomoću G1315D UV/VIS DAD detektora sa serijom dioda (Diode Array Detector, DAD).

Za analizu je direktno injektovano 5 µl rastvora uzorka primenom autosemplera. Instrumentalni i radni uslovi pod kojim je vršeno snimanje metanolnih ekstrakata na HPLC aparatu dati su u Tabeli 3.3, dok je prikaz samog uređaja koji je korišćen za eksperimentalni rad dat kao Slika 3.7.

Tabela 3.3 Parametri snimanja na HPLC-u

HPLC	
termostatiranje kolone	30 minuta
sistem rastvarača (A, B)	A- 95% voda + 5% rastvor mravlje kiseline
	B- 80% acetonitril + 5% mravlja kiselina + 15% voda
brzina protoka eluenta	0,8 ml/min
režim	gradijentni
gradijentno eluiranje	
vreme (minuti)	odnos rastvarača u gradijentnom režimu
0-10	0% B
10-28	0-25% B
28-30	25% B
30-35	25-50% B
35-40	50-80% B
40-45	80-0% B



Slika 3.7 HPLC aparat

Kvalitativna analiza urađena je poređenjem retencionih vremena pikova metanolnih ekstrakata biljaka i izgleda UV spektara sa retencionim vremenima i UV spektrima standarda (za svaki raspoloživi standard), kao i poređenjem sa literaturnim spektralnim podacima. Identifikacija je izvršena na 280 nm za hidroksibenzojeve kiseline i flavanone, 320 nm za hidroksicimetne kiseline i 360 nm za flavonole i flavone.

Kvantitativna analiza rađena je na osnovu hromatografske analize, metodom kalibracione prave. Pripremljen je 1 mg/ml osnovnog rastvora svakog od standarda, pa je od njih pravljen serija razblaženih rastvora (0,1-1 mg/ml) svakog standarda. Dobijena kalibraciona prava, dakle, predstavlja zavisnost površine pikova od koncentracije standarda i na osnovu nje se izračunavaju masene koncentracije pojedinačnih komponenata u analiziranim uzorcima biljaka.

3.4.3. ICP OES analize

Određivanje makro elemenata (Ca, K, Mg, Na i P) i mikro elemenata (Al, B, Ba, Be, Si, V, Mg, Fe, Ni, Mn, Cr, Co, Zn, Pb, Cu i Cd) vršeno je na optičkom emisionom spektrometru sa indukovano spregnutom plazmom, iCAP 6300, Thermo Scientific, UK (Slika 3.8).

Instrumentalni i radni uslovi snimanja dati su u Tabeli 3.4, dok je prikaz samog uređaja koji je korišćen za eksperimentalni rad dat kao Slika 3.8.

Tabela 3.4 Parametri snimanja na ICP OES-u

ICP OES (iCAP 6300)	
snaga generatora	1150 W
raspršivač	koncentričan
komora za raspršivanje	ciklonska
protok rashladnog fluida	12 l/min
brzina protoka pomoćnog gasa	0,5 l/min
protok gasa u raspršivaču	0,7 l/min
brzina unošenja uzorka	1 ml/min
optički dizajn	Echelle
žlebovi	52,91 žleba/mm
ugao plamena	63,5°
detektor	RACID86
brzina pumpe za ispiranje	100 rpm
brzina pumpe za analizu	50 rpm
plazma režim	dvostruko gledanje
aksijalno/radijalno gledanje	Ca, K, Mg, Na i P
kašnjenje sa unošenjem uzorka	30 s

Osnovni rastvor multielementnog standarda III korišćenog za pravljenje serije standardnih rastvora za ICP OES merenja sadržao je: Ca, K, Mg i Na, koncentracije 1,000 g/l, dok je osnovni rastvor multielementnog standarda IV sadržao: Al, As, Ba, Be, B, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni, Se, Tl, V i Zn, iste koncentracije. Takođe, kao osnovni rastvori za kalibraciju korišćeni su i pojedinačni standardni rastvori Si, Hg i P. Uzorak referentnog materijala CRM (listovi jagode) pripreman je na isti način kao i analizirani uzorci biljaka. Svi eksperimenti su rađeni u tri replikata.



Slika 3.8 ICP OES aparat

3.4.3.1. Validacija metode

Proces validacije merenja na ICP OES uključivao je određivanje linearnosti kalibracione krive, granice detekcije i granice kvantifikacije (Tabela 3.5). Tabela 3.5 takođe daje izabrane emisione linije za svaki element, na osnovu tabela poznatih smetnji, pomeranja osnovne linije i pozadinske korekcije (najveći odnos signal/pozadina), koje su ručno odabrane za kvantitativna merenja.

Linearnost je ocenjena koeficijentima determinacije kalibracionih krivih. Granica detekcije (LOD) izračunata je kao jednačina 10, a granica kvantifikacije (LOQ) kao jednačina 11, gde je SD_b standardna devijacija slepih proba, a x_b je nagib na kalibracionom grafikonu (Thomsen i sar., 2003). Obe granice, i LOD i LOQ, su izražene u ng svakog elementa po g mase suvog uzorka.

$$LOD = x_b + 3SD_b \quad (10)$$

$$LOQ = x_b + 10SD_b \quad (11)$$

Tabela 3.5 Odabrana talasna dužina emisije (λ) i parametri kalibracione linije: granica detekcije (LOD), granica kvantifikacije (LOQ) i koeficijent korelacije (r)

Element	λ (nm)	LOD (ng/g)	LOQ (ng/g)	r
Al	396,152	1,36	4,53	0,9995
B	249,773	0,838	2,79	0,9999
Ba	493,409	0,061	0,205	1,0000
Be	265,045	15,2	50,7	0,9999
Ca	393,366	0,145	0,484	0,9999
Cd	226,502	0,164	0,546	1,0000
Co	228,616	0,264	0,882	1,0000
Cr	283,563	0,585	1,95	0,9999
Cu	324,754	0,619	2,06	1,0000
Fe	259,940	0,421	1,40	1,0000
K	766,490	44,8	149	0,9984
Mg	279,553	0,275	0,917	0,9999
Mn	257,610	0,095	0,318	1,0000
Na	589,592	0,519	1,73	1,0000
Ni	221,647	0,348	1,16	1,0000
P	213,618	4,59	15,3	0,9999
Pb	220,353	1,78	5,93	0,9999
Si	251,611	1,57	5,24	1,0000
V	309,311	0,307	1,02	0,9999
Zn	213,856	0,108	0,361	1,0000

Metoda je validirana pomoću odabranog sertifikovanog referentnog materijala (CRM LGC7162) da bi se procenila tačnost i preciznost. Tačnost je izražena kao procentualna razlika između izmerene koncentracije i vrednosti dodeljene CRM-u (%) i izračunata je po jednačini 12.

$$Tačnost (\%) = 1 - \left(\frac{\text{određena vrednost} - \text{sertifikovana vrednost}}{\text{sertifikovana vrednost}} \right) \times 100\% \quad (12)$$

Preciznost metode određena je kao ponovljivost, a izražena je kroz relativnu standardnu devijaciju kao procenat (%) i izračunata je po jednačini 13, pri čemu je c_{SR} srednja koncentracija.

$$Preciznost (\%) = \frac{SD}{c_{SR}} \times 100\% \quad (13)$$

3.4.4. Spektrofotometrijske metode za određivanje antioksidativne aktivnosti, ukupnog sadržaja fenolnih i flavonoidnih jedinjenja

Za određivanje antioksidativne aktivnosti, ukupnog sadržaja fenolnih jedinjenja i ukupnog sadržaja flavonoida korišćen je spektrofotometar (Lambda 15, Perkin Elmer, Slika 3.9), koji je dvoznačni uređaj sa dužinom optičkog puta od 1 cm, prikaz samog uređaja, koji je korišćen za eksperimentalni rad, dat je kao Slika 3.9. Eksperimenti za sve testove rađeni su u tri nezavisna ponavljanja.



Slika 3.9 UV/VIS spektrofotometar

3.4.4.1. Određivanje antioksidativne aktivnosti primenom DPPH testa

Aktivnost uklanjanja slobodnih radikala određena je korišćenjem stabilnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikala prema metodi Hatano i sar. (1988), uz male modifikacije. Odgovarajuće količine ekstrakata su pomešane sa 2,5 ml rastvora DPPH i dodat je metanol do ukupne zapremine od 10 ml. Smeše su promešane i ostavljene da odstoje 1 h u mraku, na sobnoj temperaturi. Apsorbancija rastvora merena je na 515 nm. Što je apsorbancija rastvora manja, to je veća antioksidativna aktivnost tog rastvora.

Sintetički antioksidans Troloks korišćen je kao standard, a metanol kao referentni rastvor. Kapacitet slobodnih radikala prema DPPH radikalu određen je na osnovu Troloks

kalibracione prave i rezultati su izraženi kao mikrogrami Troloks ekvivalenata po miligramu mase suvog ekstrakta ($\mu\text{g TE/mg tse}$).

Jednačina dobijene kalibracione prave za određivanje antioksidativne aktivnosti prema DPPH radikalu data je kao jednačina 14.

$$(\%) \text{ inhibicije} = 13,31 [\text{Trolox}] - 0,86 \quad r^2=0,996 (\mu\text{g/ml}) \quad (14)$$

3.4.4.2. *Određivanje antioksidativne aktivnosti primenom ABTS testa*

Metoda korišćena za određivanje kapaciteta slobodnih radikala antioksidansa je ABTS^{•+} (radikalni katjon) test dekolorizacije (Re i sar., 1999), koji je neznatno modifikovan. Osnovni rastvor ABTS^{•+} katjon radikala je pripremljen mešanjem rastvora ABTS i rastvora kalijum persulfata (1:1). Smeša je držana u mraku na sobnoj temperaturi 12 h pre upotrebe. Radni ABTS^{•+} rastvor je pripreman razblaživanjem osnovnog rastvora metanolom da bi se postigla vrednost apsorbancije od $0,7 \pm 0,02$ na 734 nm. Alikvot razblaženog ekstrakta je sipan u radni rastvor ABTS^{•+} (1,8 ml) i dodat je metanol do zapremine od 5 ml. Metanol je korišćen kao referentni rastvor, a za standardnu kalibracionu krivu je korišćen Troloks rastvor. Apsorbancija je merena na 734 nm odmah nakon dodavanja i mešanja, a zatim svakog minuta tokom 6 minuta. Kapacitet uklanjanja radikala je kvantifikovan kao mikrogram Troloks ekvivalenata po miligramu mase suvog ekstrakta ($\mu\text{g TE/mg tse}$).

Jednačina dobijene kalibracione prave za određivanje antioksidativne aktivnosti prema ABTS radikal katjonu data je kao jednačina 15.

$$(\%) \text{ inhibicije} = 23,05 [\text{Trolox}] - 5,11 \quad r^2=0,994 (\mu\text{g/ml}) \quad (15)$$

3.4.4.3. *Određivanje antioksidativne aktivnosti merenjem redukcione moći primenom FRAP testa*

Analiza antioksidativne moći redukcije gvožđa (FRAP) zasnovana je na metodologiji Benzie and Strain (1996). FRAP reagens je pripremljen kombinovanjem TPTZ-a sa gvožđe hloridom i acetatnim puferom (1:1:10). Uzorci su pomešani sa FRAP reagensom (1,0 ml) i dodata je voda do ukupne zapremine od 5 ml. Rastvori su stajali 5 minuta na 37 °C i apsorbancija je određena na 595 nm, korišćenjem metanola kao referentnog rastvora. Rastvor jona gvožđa je korišćen kao standard za kalibracionu krivu i FRAP vrednosti su izražene kao mikromol Fe^{2+} po miligramu mase suvog ekstrakta ($\mu\text{mol Fe/mg tse}$).

Jednačina dobijene kalibracione prave za određivanje antioksidativne aktivnosti primenom FRAP metode data je kao jednačina 16.

$$A = 0,02248 [Fe^{2+}] + 0,1244 \quad r^2 = 0,9987 (\mu M) \quad (16)$$

3.4.4.4. *Određivanje antioksidativne aktivnosti merenjem ukupne redukcionne moći*

Kapacitet ekstrakata da redukuju gvožđe(III) u gvožđe(II) određivan je prema metodi Oyaizu (1986). Redukciona snaga ekstrakata izražena je redukcionom moći galne kiseline kao standardnog antioksidansa. Uzorak (1 ml) je pomešan sa 2,5 ml kalijum heksacijanoferata(III) (1%) i 2,5 ml fosfatnog pufera (pH 6,6). Posle 30 minuta inkubacije na 50 °C u mraku, dodato je 2,5 ml trihlorsirćetne kiseline (10%) i 1,5 ml gvožđe hlorida. Ukupna zapremina nakon dodatka vode bila je 10 ml. Apsorbancija je merena na 700 nm. Merene su negativne (metanol) i pozitivne (galna kiselina) kontrolne reakcije, da bi se odredila zavisnost apsorbancije galne kiseline od koncentracije. Rezultati su kvantifikovani kao mikrogram ekvivalenta galne kiseline po miligramu mase suvog ekstrakta ($\mu\text{g GAE/mg tse}$).

Jednačina dobijene kalibracione prave za određivanje antioksidativne aktivnosti primenom TRP metode data je kao jednačina 17.

$$A = 0,405 [\text{Galna kiselina}] + 0,133 \quad r^2 = 0,9997 (\mu\text{g/ml}) \quad (17)$$

3.4.4.5. *Određivanje antioksidativne aktivnosti merenjem redukcionne moći primenom CUPRAC testa*

CUPRAC metoda je korišćena za određivanje antioksidanata i hvatača hidroksilnih radikala, prema metodi Apak (2004). Reakciona smeša je pripremljena mešanjem određene zapremine ekstrakta, 1 ml rastvora neokuproina, 1 ml amonijum acetatnog pufera (pH 7), 1 ml rastvora bakar(II)-hlorida i destilovane vode do ukupne zapremine od 5 ml. Posle inkubacije na sobnoj temperaturi tokom 30 minuta, merena je apsorbancija rastvora na talasnoj dužini od 450 nm. Na isti način je određena apsorbancija standardne serije Troloks rastvora i dobijeni rezultati su korišćeni za izradu kalibracione prave. Rezultati CUPRAC metode su izraženi kao Troloks ekvivalent po miligramu mase suvog ekstrakta ($\mu\text{g TE/mg tse}$).

Jednačina dobijene kalibracione prave za određivanje antioksidativne aktivnosti primenom CUPRAC metode data je kao jednačina 18.

$$A = 0,05141 [\text{Trolox}] + 0,02978 \quad r^2 = 0,9996 (\mu\text{g/ml}) \quad (18)$$

3.4.4.6. Određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja po Folin-Ciocalteu metodi

Ukupni fenolni sadržaj ekstrakta određen je spektrofotometrijski korišćenjem Folin–Ciocalteu (FC) reagensa po metodi Singleton (1999). Zapremina ekstrakta od 20 µl pomešana je sa 0,625 ml FC reagensa i 2,5 ml rastvora natrijum karbonata (20%) i reakciona smeša je razblažena destilovanom vodom do ukupne zapremine od 10 ml. Smeša je promućkana i ostavljena u mraku 30 minuta. Nakon toga, obojenost uzoraka je merena pri apsorbciji od 760 nm. Kao standard za kalibracionu krivu korišćena je galna kiselina. Ukupan sadržaj fenola je izražen kao mikrogram ekvivalenta galne kiseline po miligramu mase suvog ekstrakta (µg GAE/mg tse).

Jednačina dobijene kalibracione prave za određivanje sadržaja ukupnih fenolnih jedinjenja data je kao jednačina 19.

$$A = 0,0574 [\text{galna kiselina}] - 0,019 \quad r^2 = 0,9986 \text{ (}\mu\text{g/ml)} \quad (19)$$

3.4.4.7. Određivanje ukupnog sadržaja flavonoida

Ukupni sadržaj flavonoida u analiziranim uzorcima biljaka rađen je prema metodi Zhishen i sar. (1999). U 40 µl ekstrakta dodato je 2 ml destilovane vode i 150 µl 5% rastvora NaNO₂. Nakon 5 minuta stajanja na sobnoj temperaturi dodato je 0,75 ml 2% AlCl₃, pa nakon 5 minuta još 1 ml NaOH (1 mol/l). U rastvor je dodata destilovana voda do 5 ml. Apsorbancija ekstrakata je merena na talasnoj dužini od 520 nm. Kao standard je korišćen kvercetin, pravljenjem serije standardnih rastvora. Na osnovu dobijene kalibracione prave izračunat je sadržaj flavonoida, izražen kao mikrogram ekvivalenta kvercetina po miligramu mase suvog ekstrakta (µg QE /mg tse).

Jednačina dobijene kalibracione prave za određivanje sadržaja ukupnih flavonoida data je kao jednačina 20.

$$A = 0,03875 [\text{kvercetin}] + 0,005 \quad r^2 = 0,9997 \text{ (}\mu\text{g/ml)} \quad (20)$$

3.4.5. Određivanje biološke aktivnosti etarskih ulja

3.4.5.1. Ispitivanje akutne toksičnosti etarskih ulja *Artemia salina* testom

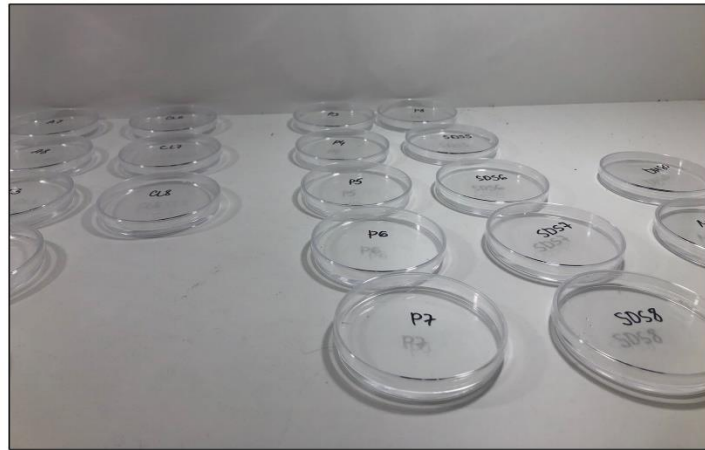
Napravljen je rastvor veštačke morske vode saliniteta 35% korišćenjem deset soli (NaCl, Na₂SO₄, KCl, NaHCO₃, KBr, H₃BO₃, NaF, MgCl₂·6H₂O, CaCl₂·2H₂O, SrCl₂·6H₂O) po metodi koju su opisali Kester i sar. (1967). Dve kašičice liofiliziranih cista *Artemia salina* dodate su u 1 l morske vode. Suspenzija je termostatirana na 28 °C, aerisana jakim protokom vazduha i držana pod konstantnim osvetljenjem 48 h, nakon čega se većina cista izlegla. Sveže izlegnuti račići (instar II nauplii) (Slika 3.10) su prebačeni u petrijeve šolje u kojima se nalazi rastvor morske vode. Testirana etarska ulja rastvorena u dimetil sulfoksidu (DMSO) su, takođe, dodata u petrijeve šolje. Konačna koncentracija DMSO-a bila je znatno manja od 1% (v/v). Račići nisu hranjeni tokom testa, ispitivani uzorci nisu aerisani, a posude za ispitivanje su ostavljene na sobnoj temperaturi, pod konstantnim osvetljenjem.

Kao rastvarač je odabran DMSO, jer je neaktivan protiv *A. salina* račića u radnim uslovima i iz tog razloga je korišćen kao negativna kontrola, dok je natrijum dodecil sulfat (SDS) korišćen kao pozitivna kontrola. Jedna petrijeva šolja napunjena je morskom vodom i to do iste zapremine koja je korišćena za sve druge petrijeve posude i svi račići su preživeli posle 24 h, 48 h i 72 h. Takođe je i za sve ostale uzorke brojanje račića koji nisu preživeli vršeno nakon 24 h, 48 h i 72 h. Koncentracija smrtonosna za 50% test organizama (LC₅₀) određena je statističkom Spearman-Kärber-ovom metodom (Hamilton i sar., 1977). Svi testovi rađeni su u tri ponavljanja.

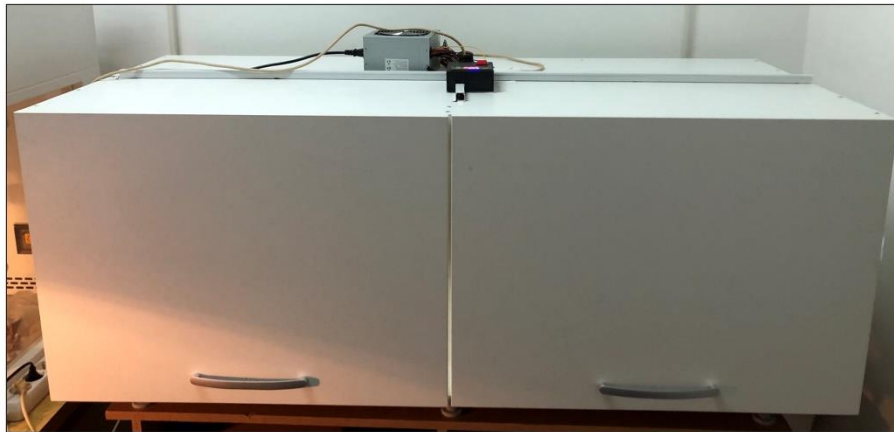
Eksperimentalni deo



a)



b)

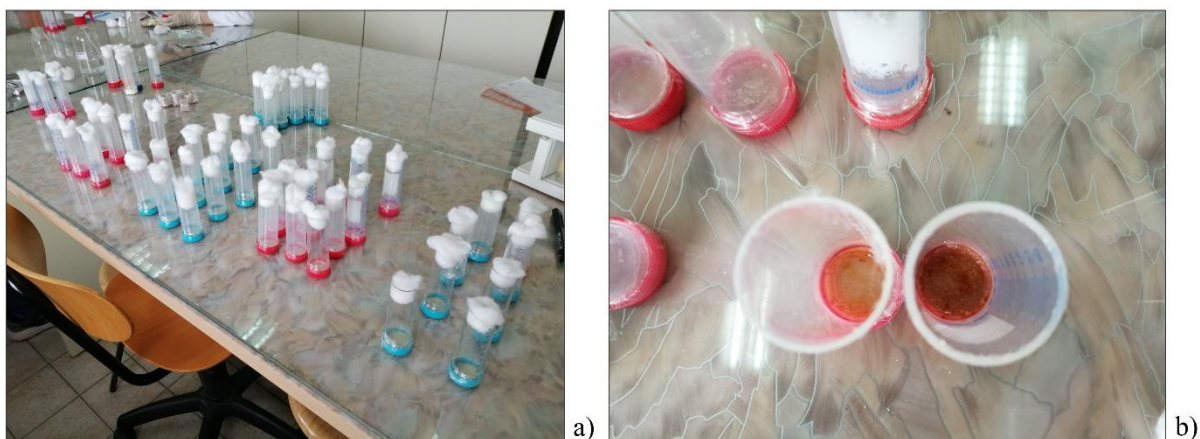


c)

Slika 3.10 A. salina test a) sistem za izleganje račića b) petrijeve šolje u toku testa c) inkubator

3.4.5.2. Ispitivanje insekticidne aktivnosti etarskih ulja *Drosophila melanogaster* testom

Ispitivanja insekticidne aktivnosti i toksičnosti etarskih ulja vršena su na trodnevnim larvama (72 ± 4 h) voćne mušice *Drosophila melanogaster* (Oregon-R-C soj broj 5, Bloomington *Drosophila* Stock Center, Univerzitet Indijana, SAD). Larve su isprane destilovanom vodom i prebačene na medijum za hranjenje koji sadrži različite koncentracije (% v/v) etarskih ulja ispitivanih biljaka. Svaka eksperimentalna, odnosno kontrolna grupa (kontrola nije sadržala etarska ulja testiranih biljaka) sastojala se od 3 replikata, a svaki replikat je sadržao 20 larvi. Broj lutaka, broj adulta i smrtnost adulta su beleženi dnevno. Period izleganja je trajao dok se svi adulti (Slika 3.11) nisu izlegli.



Slika 3.11 *D. melanogaster* test a) tube sa uzorcima b) larve u podlozi

3.4.6. Određivanje biološke aktivnosti metanolnih ekstrakata

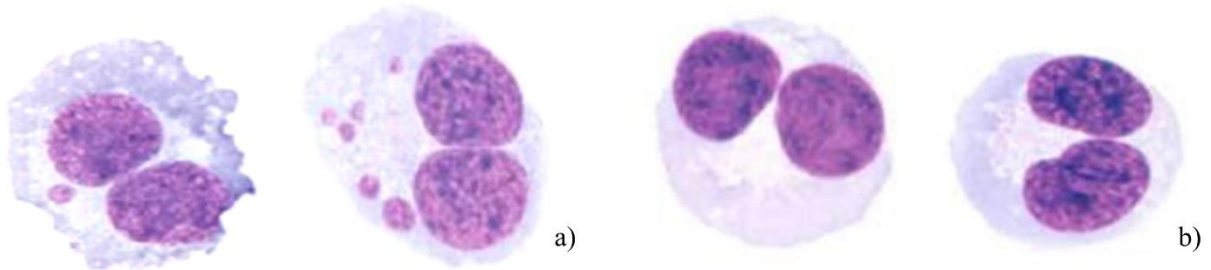
3.4.6.1. Ispitivanje uticaja metanolnih ekstrakata na formiranje mikronukleusa u limfocitima humane krvne plazme

Mikronukleus test sproveden je u skladu sa etičkim kodeksom Svetske lekarske asocijacije (Helsinška deklaracija iz 1964, revidirana 2002). Limfociti humane krvne plazme dobijeni su od pet zdravih muških osoba.

Metanolni ekstrakti biljaka (1 $\mu\text{g/ml}$, 2 $\mu\text{g/ml}$ i 4 $\mu\text{g/ml}$) testirani su *in vitro* da bi se utvrdio potencijalni zaštitni efekat na aberacije hromozoma u perifernim humanim limfocitima primenom CBMN testa uz korišćenje Citohalazin-a B. Praćena je frekvencija i distribucija mikronukleusa (MN) u limfocitima humane krvne plazme, odnosno, posmatrani su potencijalni klastogeni, antiklastogeni i modulacioni efekti u odnosu na dejstvo pozitivne i negativne kontrole. Pozitivna kontrola bio je amifostin (1 $\mu\text{g/ml}$), fosforilisani derivat cisteamina, a negativna kontrola mitomicin C (MMC) rastoren u fosfatnom puferu (0,1 $\mu\text{g/ml}$). Negativna kontrola ispoljava klastogeni efekat, odnosno, povećava broj MN, dok pozitivna kontrola ispoljava antiklastogeni efekat, tj. smanjuje broj MN.

Sve kulture termostahirane su na 37 °C onoliko dugo, koliko iznosi preračunato vreme potrebno da se ekstrakti uneti u organizam metabolišu i izluče. Kulture su potom prenete u 5 ml svežeg RPMI 1640 hranljivog medijuma i inkubirane još 72 h. Svaka kultura sadržala je $2 \cdot 10^6$ ćelija limfocita u 5 ml hranljive podloge. Vodeni rastvori metanolnih ekstrakata biljaka dodati su uzorcima 1 h nakon iniciranja ćelijske stimulacije, pa je određena učestalost MN u kontrolnim uzorcima. Citohalazin B (6 $\mu\text{g/ml}$) je potom dodat uzorcima, te su kulture limfocita inkubirane još 24 h, čime je ćelijama onemogućen ulazak u citokinezu. Nakon

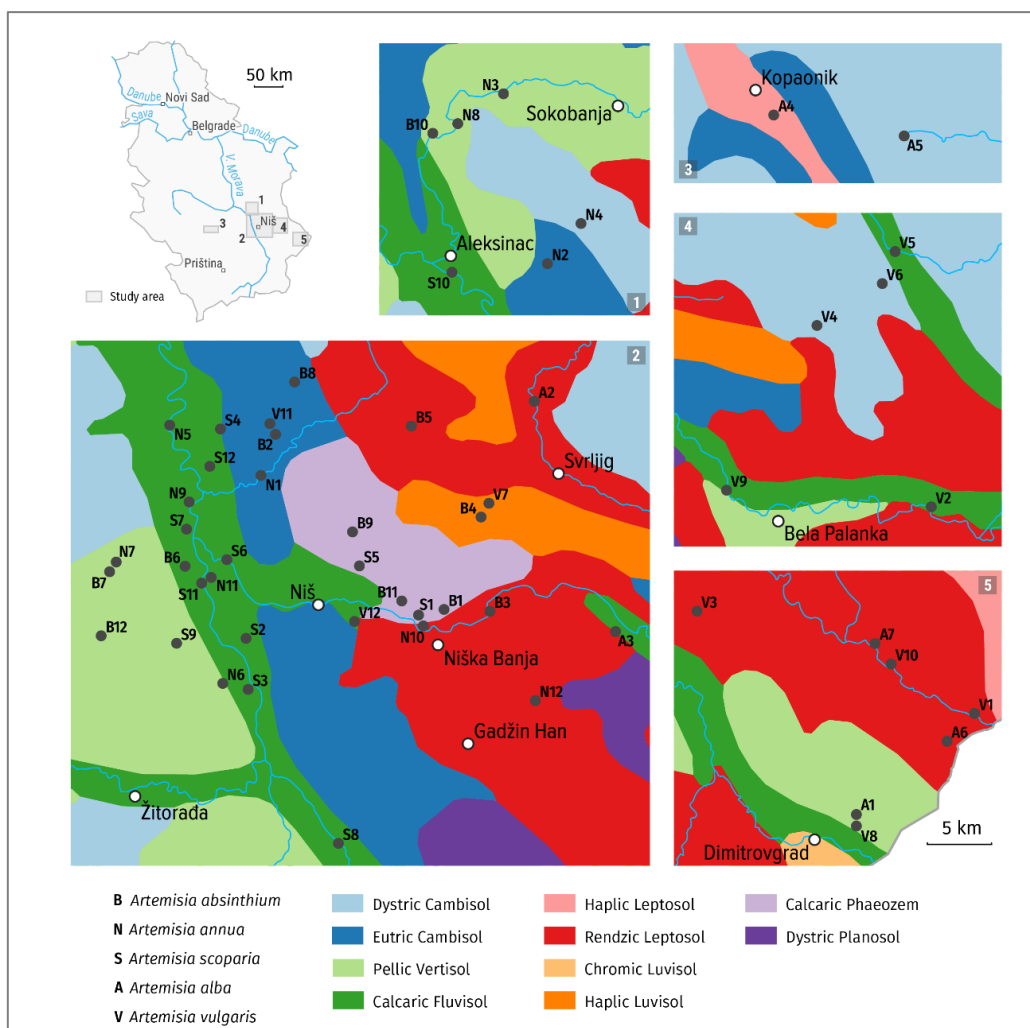
dodatnih 72 h rastvor je centrifugiran, ćelije su isprane NaCl-om, potom još jednom centrifugirane i tretirane hipotoničnim rastvorom (KCl i NaCl, 1:1, v/v). Suspenzija ćelija fiksirana je u rastvoru metanola i sirćetne kiseline (3:1) i isprana fiksatorom tri puta. Preparati su osušeni na vazduhu i obojeni 2% rastvorom Gimza boje. Izgled binuklearnih ćelija sa MN i bez MN pod mikroskopom dat je na Slici 3.12. Za procenu učestalosti mikronukleusa prebrojano je 1000 binuklearnih ćelija po uzorku, poštujući kriterijume Countryman i Heddle (1976) i Fenech (1993).



Slika 3.12 Binuklearne ćelije a) sa mikronukleusima b) bez mikronukleusa

3.5. IZRADA PEDOLOŠKE KARTE

Za pedološku osnovu karte korišćena je baza geoprostornih podataka zemljišta Evroazije, verzije 2.0, rađena u razmeri 1:1.000.000. Karta je izrađena od strane prof. dr Milana Đorđevića sa Departmana za geografiju, Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu, Univerziteta u Nišu, u programu QGIS i prikazana kao Slika 3.13. Izdvojeno je pet područja istraživanja i ona su prikazana i na preglednoj karti Srbije. U okviru tih područja nalazi se 11 tipova zemljišta po WRB (2014) klasifikaciji i to: dystric cambisol, eutric cambisol, pellic vertisol, calcaric fluvisol, haplic leptosol, rendzic leptosol, haplic luvisol, calcaric phaeozem, chromic luvisol, dystric planosol i chromic cambisol. Tipovi zemljišta su prikazani kombinacijom boja na osnovu jedne od paleta boja Colorbrewer (Brewer, 2013) kako bi karte bile čitljive i onima koji imaju smanjenu sposobnost prepoznavanja boja. Na karti su pored tačaka koje predstavljaju mesta uzorkovanja biljaka, uz redni broj ispisana i slova koja govore koja je biljna vrsta u pitanju za svaku od lokacija.



Slika 3.13 Pedološka karta lokaliteta na kojima je sakupljan biljni materijal

Rezultati i diskusija

4.1. REZULTATI ANALIZE HEMIJSKOG SASTAVA ETARSKIH ULJA ODABRANIH VRSTA *ARTEMISIA*

4.1.1. Hemijski sastav etarskih ulja

Za ovo istraživanje prikupljeno je sedam uzoraka vrste *A. alba* i po dvanaest uzoraka vrsta *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia* sa različitih lokaliteta na teritoriji Republike Srbije. Manji broj prikupljenih uzoraka *A. alba* u odnosu na ostale vrste je posledica nepristupačnosti staništa na kojima ova biljka raste u prirodi. Izolovana su etarska ulja, identifikovane su komponente etarskih ulja, grupisane su u odgovarajuće klase i određena je njihova relativna zastupljenost u ulju. Urađena je hemometrijska analiza da bi se ispitala uslovljenost hemijskog sastava etarskog ulja tipom tla sa koga su *Artemisia* uzorci prikupljeni.

4.1.1.1. Hemijski sastav etarskog ulja vrste *A. alba*

Rezultati analize hemijskog sastava etarskih ulja vrste *A. alba* dati su u Tabeli 4.1. Ukupan broj identifikovanih komponentata u svim uzorcima je bio 220, od kojih je 81 komponenta bila prisutna samo u jednom uzorku, dok su samo 4 komponente: kamfen (tr - 3,3%), 1,8-cineol (1,9 - 19,7%), kamfor (1,6 - 51,6%) i germakren D (2,1 - 21,3%) pronađene u svih sedam uzoraka. Vredno spominjanja je prisustvo trikinanskih seskviterpena u AA2 (56,1%), uključujući silfiperfol-5-en-3-on A (35,0%) kao glavnu komponentu. Seskviterpenoidi su bili glavna klasa jedinjenja u dva uzorka *A. alba*, dok su u preostalim pet uzoraka preovladavali monoterpenoidi (Tabela 4.2).

Tabela 4.1 Hemijski sastav uzoraka etarskog ulja vrste *A. alba* (AA)

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	AA6	AA7
O	(Z)-2-penten-1-ol	775	765	/	/	/	/	/	/	tr
O	3-metil-2-buten-1-ol	775	765	/	/	/	/	/	tr	tr
O	3-metil-2-butenal	788	778	tr	tr	/	/	/	0,2	tr
O	1-okten	793	788	/	/	/	/	/	tr	/
O	heksanal	801	801	tr	/	/	/	/	tr	tr
O	furfural	833	828	tr	/	/	/	/	tr	tr
O	4-hidroksi-4-metil-2-pentanon	841	831	/	tr	0,3	/	/	/	/
CD	etil-2-metil-butirat	848	842*	/	/	/	/	/	tr	/
O	(E)-2-heksenal	850	846	/	/	/	/	/	0,2	tr
O	(Z)-3-heksenol	852	850	tr	tr	/	/	/	/	tr
O	<i>n</i> -heksanol	867	863	tr	tr	/	/	/	tr	tr
CD	izopentil-acetat	876	869	/	/	/	/	/	tr	/
CD	2-metil-butil-acetat	879	875	/	/	/	/	/	tr	/
A	<i>n</i> -nonan	900	900	/	/	/	/	/	tr	/
O	heptanal	903	901	/	/	/	/	/	tr	/
M	santolina-trien	909	906	tr	/	/	/	/	tr	/

Rezultati i diskusija

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	AA6	AA7
M	triciklen	924	921	/	/	/	/	/	tr	tr
M	artemizija-trien	928	922*	/	/	/	/	/	0,2	/
M	α -tujen	928	924	tr	tr	/	/	/	/	/
M	α -pinen	935	932	tr	tr	/	0,5	/	1,0	tr
M	kamfen	950	946	tr	tr	0,9	3,3	0,4	1,5	0,2
M	tuja-2,4(10)-dien	956	953	/	tr	/	/	/	tr	/
O	(E)-2-heptenal	957	947	/	/	/	/	/	/	tr
O	benzaldehyd	962	952	tr	tr	/	/	/	tr	tr
O	n-heptanol	969	959	tr	tr	/	/	/	tr	tr
M	sabinen	975	969	tr	tr	/	0,6	/	tr	tr
MO	artemizeol	977	971	tr	/	/	/	/	tr	tr
M	β -pinen	979	974	tr	tr	/	3,8	/	1,2	0,4
O	1-okten-3-ol	980	974	tr	/	/	/	/	tr	/
O	6-metil-5-hepten-2-on	988	981	/	/	/	/	/	/	tr
O	2-pentil-furan	993	984	/	/	/	/	/	0,4	tr
O	mezitilen	996	994	/	tr	/	/	/	tr	/
MO	jomogi alkohol	1001	999	tr	/	/	/	/	7,3	tr
O	n-oktanal	1004	998	tr	tr	/	/	/	tr	tr
M	α -felandren	1006	1002	tr	tr	/	/	/	tr	tr
O	(E,E)-2,4-heptadienal	1012	1005	/	/	/	/	/	tr	tr
CD	heksil-acetat	1015	1007	/	/	/	/	/	tr	/
M	α -terpinen	1019	1014	tr	tr	tr	/	/	0,4	tr
M	o-cimen	1027	1022	tr	tr	/	0,1	/	0,9	0,3
M	β - felandren	1032	1025	/	tr	/	/	/	/	tr
MO	1,8-cineol	1033	1026	5,8	1,9	15,3	16,4	19,7	9,8	2,1
MO	santolina alkohol	1037	1034	tr	/	/	/	/	tr	/
M	(Z)- β -ocimen	1039	1032	/	tr	/	/	/	/	tr
MO	lavender lakton	1042	1034*	tr	tr	/	/	/	tr	tr
O	fenilacetaldehyd	1046	1036	0,6	tr	/	/	/	0,2	0,4
M	(E)- β -ocimen	1050	1044	tr	tr	/	/	/	tr	tr
M	γ -terpinen	1061	1054	0,3	tr	0,6	/	/	0,5	0,2
MO	artemizija keton	1063	1056	/	/	/	8,3	/	14,9	0,9
MO	cis-sabinen hidrat	1069	1065	0,3	0,2	/	0,7	/	0,5	0,4
MO	cis-linalol-oksidi	1074	1067	0,3	tr	/	/	/	tr	tr
O	m-krezol	1080	1072	/	/	/	/	/	/	tr
MO	artemizija alkohol	1085	1080	tr	/	/	/	/	6,6	tr
MO	trans- linalol-oksidi	1090	1084	0,3	/	/	/	/	/	tr
M	terpinolen	1091	1086	0,2	tr	/	/	/	0,2	0,2
CD	izobutil-tiglat	1094	1088	/	/	/	/	/	/	tr
MO	trans-sabinen hidrat	1100	1098	/	0,4	0,5	/	/	0,6	0,9
MO	linalol	1103	1098	0,3	0,2	/	/	/	/	/
O	n-nonanal	1105	1100	tr	tr	/	/	/	tr	tr
MO	filifolon	1106	1103*	/	/	/	0,5	1,5	/	/
O	6-metil-(E)-3,5-heptadien-2-on	1107	*	/	/	/	/	/	0,5	0,5
MO	cis-tujon	1108	1101	/	/	/	/	3,9	/	/
O	6-etenildihidro-2,2,6-trimetil-2H-piran-3(4H)-on	1110	1109*	/	/	/	/	/	0,3	/
O	fenil etil alkohol	1116	1106	/	/	/	/	/	/	tr
MO	trans-tujon	1119	1112	/	/	/	1,5	2,6	0,2	tr
MO	trans-hrizantenol	1120	1114	/	/	28,3	/	/	/	/
MO	trans-p-menta-2,8-dien-1-ol	1121	1119	8,6	2,9	/	/	/	/	/
MO	cis-p-ment-2-en-1-ol	1124	1118	0,3	0,6	/	/	/	0,3	0,9
MO	hrizantenon	1128	1124	0,2	tr	/	1,7	4,5	0,6	/
MO	α -kamfolenal	1129	1122	tr	/	/	/	/	tr	0,2
MO	cis-p-menta-2,8-dien-1-ol	1135	1133	0,2	tr	/	/	/	/	/
O	nopinon	1140	1135	/	tr	/	0,2	/	0,2	1,9
MO	trans-pinokarveol	1141	1135	0,7	/	/	/	/	1,1	/

Rezultati i diskusija

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	AA6	AA7
MO	<i>trans-p-ment-2-en-1-ol</i>	1143	1136	/	tr	/	/	/	/	1,7
MO	<i>trans-verbenol</i>	1147	1140	/	tr	0,3	/	/	/	/
MO	kamfor	1148	1141	3,0	1,6	22,7	27,9	51,6	8,9	14,1
MO	(Z)-tageton	1153	1148	tr	/	/	/	/	/	/
MO	sabina keton	1161	1154	/	tr	/	/	/	tr	tr
MO	<i>trans-pinokamfon</i>	1165	1158	/	/	/	/	/	tr	tr
MO	nerol-oksid	1164	1154	tr	/	/	/	/	/	/
MO	pinokarvon	1167	1160	0,8	0,2	/	0,5	/	1,4	1,0
MO	borneol	1174	1165	/	1,6	1,5	2,7	/	3,2	3,7
MO	artemizil-acetat	1175	1169	/	/	/	/	/	3,6	/
MO	santalon	1177	1177	8,1	/	/	/	/	/	/
MO	<i>cis-pinokamfon</i>	1178	1172	/	0,4	1,0	25,1	/	8,6	13,5
MO	terpinen-4-ol	1181	1174	1,2	0,8	0,7	1,0	/	2,5	tr
MO	<i>p-cimen-8-ol</i>	1188	1179	tr	0,2	0,3	/	/	0,2	tr
CD	(Z)-3-heksenil-butanoat	1190	1184	0,2	/	/	/	/	0,3	/
MO	<i>trans-p-menta-1(7),8-dien-2-ol</i>	1191	1187	/	/	/	/	/	/	0,2
MO	α -terpineol	1194	1186	0,2	tr	tr	/	/	0,2	0,3
CD	metil-salicilat	1196	1190	/	/	/	/	/	tr	/
MO	mirtenol	1197	1194	tr	tr	/	/	/	0,8	3,1
MO	<i>cis-piperitol</i>	1199	1195	/	tr	/	/	/	/	tr
MO	mirtenal	1200	1195	/	0,5	/	1,4	/	/	/
PP	metil-kavikol	1202	1195	tr	/	/	/	/	tr	/
O	<i>n-dekanal</i>	1207	1201	tr	tr	/	/	/	/	/
MO	<i>trans-piperitol</i>	1210	1207	0,2	0,4	/	/	/	tr	0,4
MO	verbenon	1213	1204	0,1	tr	/	/	/	tr	tr
MO	<i>trans-karveol</i>	1222	1215	0,2	tr	/	/	/	0,2	0,5
O	<i>m-kumenol</i>	1230	1224	tr	tr	/	/	/	tr	/
MO	<i>cis-p-menta-1(7),8-dien-2-ol</i>	1231	1227	/	/	/	/	/	/	0,3
MO	<i>cis-karveol</i>	1234	1226	0,1	tr	/	/	/	tr	0,3
MO	<i>trans-hrizantenil-acetat</i>	1238	1235	0,2	tr	0,7	/	/	/	/
CD	heksil-2-metil-butirat	1239	1233	/	/	/	/	/	/	tr
O	kumin aldehid	1244	1238	tr	tr	/	/	/	tr	tr
MO	karvon	1248	1239	tr	tr	/	/	/	tr	tr
CD	izoamil-heksanoat	1253	1246	tr	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans-2-hidroksi-pinokamfon</i>	1254	1247	/	/	/	/	/	tr	0,1
MO	geraniol	1257	1249	/	0,2	/	/	/	/	2,4
MO	piperiton	1258	1249	tr	0,2	/	/	/	2,3	tr
O	(E)-2-decenal	1263	1260	tr	tr	/	/	/	/	/
MO	<i>trans-mirtanol</i>	1264	1258	tr	/	/	/	/	/	tr
MO	<i>cis-hrizantenil-acetat</i>	1265	1261	0,1	/	/	/	/	1,2	/
MO	geranial	1273	1264	tr	tr	/	/	/	/	tr
MO	perila aldehid	1279	1269	/	/	/	/	/	/	tr
MO	<i>cis-verbenil-acetat</i>	1281	1280	5,3	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans-α-nekrodol-acetat</i>	1287	1282	tr	/	/	/	/	/	/
MO	bornil-acetat	1290	1287	/	tr	/	/	/	0,5	0,3
MO	<i>trans-linalol-oksid-acetat (piranoid)</i>	1291	1287	tr	/	/	/	/	/	/
MO	<i>p-cimen-7-ol</i>	1291	1289	tr	/	/	/	/	/	/
O	(E,Z)-2,4-dekadienal	1296	1292	/	tr	/	/	/	/	/
MO	timol	1298	1289	/	tr	tr	/	/	tr	tr
MO	perila alkohol	1302	1294	0,2	/	/	/	/	/	0,3
MO	terpinen-4-ol-acetat	1303	1299	tr	/	/	/	/	0,2	/
MO	karvakrol	1304	1298	tr	tr	/	/	/	/	0,2
O	undekanal	1309	1305	tr	/	/	/	/	tr	/
MO	6-hidroksi-karvotanaceton	1315	1309	/	tr	/	/	/	/	tr
O	<i>p-vinil-gvajakol</i>	1318	1309	tr	/	/	/	/	/	/
O	(E,E)-2,4-dekadienal	1319	1315	tr	tr	/	/	/	tr	tr
MO	δ -terpinil-acetat	1321	1316	tr	/	/	/	/	/	/

Rezultati i diskusija

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	AA6	AA7
MO	mirtenil-acetat	1330	1324	tr	/	/	/	/	tr	tr
MO	<i>p</i> -menta-1,4-dien-7-ol	1331	1325	tr	/	/	/	/	/	tr
S	silfiperfol-5-en	1332	1326	/	0,6	/	/	/	tr	/
CD	heksil-tiglat	1333	1330	/	tr	/	/	/	/	/
S	presilfiperfol-7-en	1338	1334	/	tr	/	/	/	/	/
S	δ -elemen	1343	1335	1,5	1,0	0,8	/	/	0,3	tr
S	7-epi-silfiperfol-5-en	1350	1345	/	0,2	/	/	/	tr	/
MO	α -terpinil-acetat	1354	1346	0,2	tr	/	/	/	/	tr
S	α -kubeben	1355	1345	tr	/	/	/	/	/	/
PP	eugenol	1362	1356	0,2	tr	/	/	/	tr	0,2
S	silfiperfol-4,7(14)-dien	1364	1358	/	0,2	/	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -karvil-acetat	1367	1365	/	/	/	/	/	/	tr
S	α -kopaen	1380	1374	0,2	tr	/	/	/	tr	tr
S	silfiperfol-6-en	1382	1377	/	0,5	/	/	/	/	/
MO	geranil-acetat	1386	1379	/	/	/	/	/	/	tr
S	β -burbonen	1392	1387	tr	tr	/	/	/	/	tr
S	β -kubeben	1396	1387	0,2	/	/	/	/	/	/
S	β -elemen	1398	1389	0,6	0,2	/	/	/	0,4	0,8
O	(<i>Z</i>)-jasmon	1401	1392	tr	/	/	/	/	/	tr
S	<i>izo</i> -italicen	1405	1401	0,4	/	/	/	/	/	/
PP	metil eugenol	1407	1403	tr	tr	/	/	/	0,3	0,3
S	(<i>E</i>)-kariofilen	1427	1417	0,7	0,7	/	/	/	tr	0,5
S	β -kopaen	1437	1430	tr	tr	/	/	/	/	/
MO	geranil aceton	1456	1453	/	/	/	/	/	/	tr
S	(<i>E</i>)- β -farnezen	1460	1454	/	/	/	/	/	tr	tr
S	α -humulen	1462	1452	0,5	0,3	/	/	/	tr	tr
S	<i>allo</i> -aromadendren	1467	1458	tr	/	/	/	/	/	/
S	9-epi-(<i>E</i>)-kariofilen	1469	1464	tr	/	/	/	/	tr	/
S	<i>cis</i> -murola-4(14),5-dien	1471	1465	tr	/	/	/	/	/	/
S	γ -himakalen	1487	1481	/	/	/	/	/	/	tr
S	germakren D	1490	1484	21,3	9,5	4,2	2,7	3,4	2,1	5,3
S	β -selinen	1495	1489	/	/	/	/	/	tr	tr
S	α -zingiberen	1498	1493	0,4	tr	/	/	/	/	/
SO	indipon	1502	1496	/	/	/	/	/	0,3	/
S	biciklogermakren	1505	1500	2,6	1,2	/	/	/	0,4	1,4
SO	β -dihidro-agarofuran	1510	1503	/	/	/	/	/	0,3	tr
S	germakren A	1514	1508	0,3	/	/	/	/	/	0,7
SO	silfiperfolan-6- α -ol	1514	1507	/	1,9	/	/	/	0,2	/
S	γ -kadinen	1522	1513	tr	/	/	/	/	/	/
S	δ -kadinen	1531	1522	0,5	4,8	/	/	/	/	0,2
S	<i>trans</i> -kadina-1,4-dien	1540	1533	tr	/	/	/	/	/	/
S	presilfiperfolan-9- α -ol	1530	*	/	10,9	/	/	/	/	/
S	silfiperfol-5-en-3-ol B	1543	1534	/	2,5	/	/	/	/	/
S	α -kalakoren	1551	1544	tr	/	/	/	/	tr	tr
SO	elemol	1556	1548	5,2	/	/	/	/	0,4	0,4
SO	silfiperfol-5-en-3-on B	1557	1550	/	2,9	/	/	/	0,3	/
SO	(<i>E</i>)-nerolidol	1566	1561	tr	/	/	/	/	tr	0,2
SO	silfiperfol-5-en-3-ol A	1567	1557	/	1,1	/	/	/	/	/
SO	β -kalakoren	1574	1564	/	/	/	/	/	tr	tr
SO	zieron	1579	1574	0,2	/	/	/	/	/	/
SO	silfiperfol-5-en-3-on A	1582	1574	/	35,0	2,9	/	/	0,9	/
SO	spatulenol	1587	1577	tr	/	/	/	/	0,3	1,0
SO	davanon	1591	1587	/	/	/	/	1,4	0,7	1,8
SO	kariofilen-oksid	1592	1582	0,4	/	/	/	/	/	/
SO	viridiflorol	1599	1592	tr	/	/	/	/	tr	0,2
SO	humulen epoksid I	1603	1601*	/	0,7	/	/	/	/	/
SO	ledol	1612	1602	/	/	/	/	/	/	tr

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	AA6	AA7
SO	humulen epoksid II	1618	1608	/	/	/	/	/	tr	/
SO	10- <i>epi</i> - γ -eudezmol	1631	1622	0,1	/	/	/	/	/	/
SO	silfiperfol-6-en-5-on	1634	1624	/	0,3	/	/	/	/	/
SO	γ -eudezmol	1640	1630	1,8	/	/	/	/	/	/
SO	kariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol	1646	1639	/	0,3	/	/	/	/	0,4
SO	kariofila-4(12),8(13)-dien-5- β -ol	1649	1639	/	1,4	/	/	/	/	/
SO	<i>epi</i> - α -murolol	1650	1640	/	/	/	/	/	/	tr
SO	β -eudezmol	1659	1649	1,3	/	/	/	/	tr	11,6
SO	α -eudezmol	1662	1652	1,4	2,3	/	/	/	0,4	5,2
SO	14-hidroksi-(Z)-kariofilen	1672	1666	0,1	/	/	/	/	/	/
SO	kadalen	1684	1675	/	/	/	/	/	tr	/
SO	elemol-acetat	1686	1680	1,8	/	/	/	/	/	/
SO	α -bisabolol	1691	1685	0,5	/	1,1	/	/	0,9	1,7
SO	germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	1695	1685	/	/	/	/	/	/	0,2
O	pentadekanal	1718	1715*	0,2	tr	/	/	/	/	/
SO	ciklokolorenon	1761	1759	/	/	/	/	/	tr	tr
CD	benzil-benzoat	1769	1759	/	tr	/	/	/	/	/
SO	14-oksi- α -murolen	1777	1767	/	/	/	/	/	/	0,2
SO	heksahidro-farnezil aceton	1848	1847	/	tr	/	/	/	tr	0,2
SO	(<i>E,E</i>)-5,9-farnezil aceton	1923	1913	/	tr	/	/	/	/	/
SO	(<i>E,E</i>)-geranil linalol	2033	2026	/	tr	/	/	/	/	/
A	heneikozan	2100	2100	/	tr	/	/	/	/	/
O	fitol	2116	2114*	/	0,2	/	/	/	/	/
O	eikozanal	2226	2224*	/	tr	/	/	/	/	/
O	1-eikozanol	2287	2281*	/	tr	/	/	/	/	/
A	trikozan	2300	2300	/	tr	/	/	/	/	/
A	tetrakozan	2400	2400	/	tr	/	/	/	/	/
O	dokozanal	2430	2426*	/	tr	/	/	/	/	/
O	1-dokozanol	2461	2456*	/	tr	/	/	/	/	/
A	pentakozan	2500	2500	/	tr	/	/	/	/	/
O	tetrakozanal	2634	2632*	/	tr	/	/	/	/	/
O	1-tetrakozanol	2678	-	/	tr	/	/	/	/	/
A	heptakozan	2700	2700	/	tr	/	/	/	/	/
A	nonakozan	2900	2900	/	tr	/	/	/	/	/

RI - Eksperimentalni indeksi linearne retencije u odnosu na C8-C40 alkane. RIa - Literaturni indeksi - Adams-ovi indeksi i * prema NIST bazi podataka. Jedinjenja u procentu <0,05 označena su kao tr (trag), a neidentifikovana jedinjenja su označena kao (/).

Tabela 4.2 Broj identifikovanih komponenata po uzorku *A. alba* (AA), procenat svake klase jedinjenja, procenat ukupno identifikovanih komponenata i prinos etarskog ulja

Uzorak	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	AA6	AA7
Ukupno identifikovano (%)	81,0	90,8	82,1	98,7	89,1	91,7	83,8
Broj komponenti	117	116	20	19	9	117	121
Monoterpeni	37,6	12,3	72,8	95,8	84,2	81,4	48,9
Ugljovodonični (M)	0,5	/	1,5	8,3	0,4	5,8	1,2
Oksigenovani (MO)	37,1	12,3	71,2	87,5	83,8	75,6	47,6
Seskviterpeni	42,1	78,2	9,1	2,7	4,9	7,8	31,6
Ugljovodonični (S)	29,3	32,4	5,0	2,7	3,4	3,1	8,8
Oksigenovani (SO)	12,8	45,8	4,1	/	1,4	4,7	22,9
Fenilpropanoidi (PP)	0,2	/	/	/	/	0,3	0,5
Derivati karboksilnih kiselina (CD)	0,2	/	/	/	/	0,3	tr
<i>n</i> -Alkani (A)	/	/	/	/	/	tr	/
Drugo (O)	0,9	0,2	0,3	0,2	/	1,9	2,8
Prinos etarskog ulja u %	0,01	0,05	0,07	0,11	0,04	0,01	0,03

4.1.1.2. Hemijski sastav etarskog ulja vrste *A. absinthium*

Komponentni sastav etarskih ulja vrste *A. absinthium* dat je u Tabeli 4.3. U uzorcima *A. absinthium* ukupno su identifikovane 234 komponente. Samo pet jedinjenja je bilo prisutno u svim uzorcima sa procentom zastupljenosti $\geq 1\%$, sabinen (5,7 - 18,9%), *o*-cimen (2,1 - 8,8%), linalol (2,1 - 29,8%), terpinen-4-ol (3,0 - 10,3%) i lavandulil-izovalerat (1,2 - 5,7%). Nasuprot tome, *trans*-tujon je bio prisutan u tragovima u pet uzoraka, dok je u tri uzorka bio najzastupljenija komponenta (20,6 - 48,2%). Slična situacija je bila i sa (*Z*)-epoksiocimenom, koji je najzastupljenija komponenta u tri uzorka, dok u tri uopšte nije ni identifikovan. U svim *A. absinthium* uzorcima, monoterpenoidi su bili visoko dominantna klasa jedinjenja, posebno oksigenovani monoterpeni (Tabela 4.4).

Tabela 4.3 Hemijski sastav uzoraka etarskog ulja vrste *A. absinthium* (AB)

Klasa	Komponenta	RI	Ria	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12
O	3-metil-2-buten-1-ol	775	765	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	tr	/	tr
O	metil-2-metilbutirat	784	780*	tr	tr	/	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/
O	3-metil-2-butenal	788	778	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	1-okten	793	788	tr	tr	tr	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	heksanal	801	801	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	2-metil-1-pentanol	831	824*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	tr
O	4-metil-pentanol	834	830	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	metil angelat	843	843	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
CD	etil-2-metilbutirat	848	842*	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	(<i>E</i>)-2-heksenal	850	846	tr	0,7	0,7	0,2	0,2	0,7	tr	0,3	0,2	0,2	tr	0,3
O	(<i>Z</i>)-3-heksenol	852	850	tr	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	tr	0,4	tr	0,2	/	0,2
O	7-metil-1-okten	855	852*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,2	/
O	4-metil-3-pentenol	858	868*	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
O	(<i>E</i>)-salven	861	858	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
O	(<i>Z</i>)-2-heksenol	865	859	/	tr	tr	tr	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	<i>n</i> -heksanol	867	863	tr	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	tr	0,4	tr	0,2	tr	0,2
A	<i>n</i> -nonan	900	900	tr	tr	tr	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/
O	heptanal	903	901	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	(<i>E,E</i>)-2,4-heksadienal	912	907	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	/
CD	izobutil-izobutirat	915	908	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M	triciklen	924	921	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	/	tr	/
M	α -tujen	928	924	0,2	tr	0,2	tr	tr	0,2	tr	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2
M	α -pinen	935	932	0,3	0,2	0,2	tr	0,1	0,3	0,3	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2
CD	etil-tiglat	939	929	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	tr
M	α -fenhen	949	945	tr	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	0,3	0,2	0,2	0,2	tr
M	kamfen	950	946	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
CD	butil-izobutirat	953	952*	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	(<i>E</i>)-2-heptenal	957	947	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	benzaldehyd	962	952	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	(<i>Z</i>)-4-heptenol	966	959	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	<i>n</i> -heptanol	969	959	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	izoamil-propionat	970	960	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
CD	2-metilbutil-propanoat	973	968*	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M	sabinen	975	969	18,9	17,6	16,1	5,7	13,9	15,3	9,5	18,5	17,0	16,4	18,2	12,1

Klasa	Komponenta	RI	Ria	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12
O	1-okten-3-ol	980	974	0,7	0,8	0,6	0,3	0,4	0,7	0,6	0,7	0,7	0,5	0,5	0,4
O	3-oktanon	988	979	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
O	6-metil-5-hepten-2-on	988	981	/	/	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
M	mircen	992	988	2,9	14,8	6,7	2,4	2,7	4,0	0,8	4,5	2,2	1,2	4,7	1,0
M	<i>cis-m</i> -menta-2,8-dien	993	983	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	tr
O	3-oktanol	995	988	tr	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	jomogi alkohol	1001	999	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
O	<i>n</i> -oktanal	1004	998	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
M	α -felandren	1006	1002	1,5	0,2	tr	0,3	0,7	2,2	1,5	2,5	2,4	0,2	0,8	0,6
O	(<i>E,E</i>)-2,4-heptadienal	1012	1005	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	izoamil-izobutirat	1014	1007	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	/	/	/	/
CD	2-metilbutil-izobutirat	1017	1017*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	/
M	α -terpinen	1019	1014	0,6	tr	0,4	tr	0,3	0,4	0,3	0,6	0,5	0,3	0,8	0,4
M	<i>o</i> -cimen	1027	1022	5,1	4,9	2,1	2,1	2,5	8,8	3,9	6,2	8,4	2,1	2,1	3,2
M	limonen	1031	1024	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M	β -felandren	1032	1025	0,4	/	0,3	tr	0,2	0,3	0,3	tr	0,3	0,2	0,3	0,2
MO	1,8-cineol	1033	1026	0,4	4,5	0,3	0,2	0,3	1,5	0,6	6,9	1,3	0,3	0,2	0,3
O	benzil-alkohol	1036	1026	/	/	/	tr	tr	tr	/	/	/	tr	/	tr
M	(<i>Z</i>)- β -ocimen	1039	1032	tr	tr	tr	0,6	0,2	0,2	tr	0,4	0,2	2,1	0,6	0,5
O	fenilacetaldehid	1046	1036	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr
M	(<i>E</i>)- β -ocimen	1050	1044	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	0,2	0,2	tr	tr
CD	prenil-izobutirat	1055	1048	tr	/	/	/	/	/	tr	/	tr	tr	tr	tr
M	γ -terpinen	1061	1054	1,5	0,5	1,1	0,4	0,9	1,0	0,7	1,4	1,3	0,7	1,6	0,9
MO	artemizija keton	1063	1056	tr	tr	/	/	/	0,3	/	/	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -sabinen hidrat	1069	1065	tr	tr	tr	tr	0,5	tr	0,3	0,4	0,7	0,5	0,4	0,3
O	<i>n</i> -oktanol	1071	1063	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	<i>cis</i> -linalol-oksidi	1074	1067	tr	tr	0,3	0,1	tr	0,2	tr	0,3	tr	tr	tr	0,2
O	1-nonen-3-ol	1082	1078*	0,4	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	/	/	/
M	terpinolen	1091	1086	0,3	0,2	0,5	0,2	0,3	0,4	tr	0,4	0,4	0,2	0,4	0,2
CD	izobutil-tiglat	1094	1088	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
MO	6,7-epoksimircen	1095	1090	/	/	/	/	tr	tr	/	tr	/	tr	tr	tr
CD	metil-benzoat	1098	1088	tr	tr	tr	tr	/	/	tr	tr	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -sabinen hidrat	1100	1098	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
MO	linalol	1103	1098	2,1	15,1	29,8	12,5	21,6	28,9	6,0	13,2	12,8	4,3	6,6	5,3
O	<i>n</i> -nonanal	1105	1100	0,3	0,4	0,4	tr	0,3	0,4	tr	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2

Klasa	Komponenta	RI	Ria	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12
MO	<i>cis</i> -tujon	1108	1101	0,4	/	/	0,5	tr	/	1,1	/	/	/	/	0,5
CD	2-metil-butyl-izovalerat	1109	1103	/	tr	tr	/	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	/
MO	(2 <i>S</i> ,4 <i>R</i>)-2-(2-metil-1-propenil)-4-metil-tetrahidropiran	1113	1106	tr	/	/	/	tr	/	/	tr	0,2	0,2	/	tr
CD	3-metil-3-butenil-3-metil butirat	1115	1112	/	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -tujon	1119	1112	20,6	tr	tr	26,2	5,5	0,3	48,2	tr	0,3	tr	tr	21,7
MO	<i>cis-p</i> -ment-2-en-1-ol	1124	1118	0,4	0,4	0,5	0,2	0,4	0,3	tr	0,6	0,5	0,3	0,4	0,2
MO	(2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-2-(2-metil-1-propenil)-4-metil-tetrahidropiran	1128	1122	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	/	tr
MO	α -kamfolenal	1129	1122	tr	tr	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -limonen-oksida	1131	1132	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
MO	(<i>Z</i>)-epoksi-ocimen	1134	1128	/	/	/	5,9	9,6	0,9	5,3	7,6	2,3	25,6	27,2	29,5
MO	<i>izo</i> -3-tujanol	1137	1134	tr	/	/	0,2	tr	tr	2,1	tr	tr	tr	tr	0,4
CD	pentil-2-metilbutirat	1140	1136*	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -pinokarveol	1141	1135	/	/	/	0,5	/	/	/	0,9	/	/	/	/
MO	<i>trans-p</i> -ment-2-en-1-ol	1143	1136	/	0,8	0,7	tr	tr	/	/	/	0,6	/	/	/
MO	<i>trans</i> -sabinol	1144	1137	0,5	/	/	/	0,8	0,5	0,8	/	/	/	/	/
MO	(<i>E</i>)-epoksi-ocimen	1145	1137	/	/	/	/	/	/	/	/	/	1,2	2,5	1,9
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-izobutirat	1146	1142	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	/	/
MO	<i>trans</i> -verbenol	1147	1140	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	kamfor	1148	1141	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	/	/	tr	/	/
CD	heksil-izobutirat	1150	1147	tr	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr
MO	nerol-oksida	1157	1154	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	sabina keton	1161	1154	tr	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	tr	0,2	0,4	0,3	0,5	0,4
MO	izoborneol	1161	1155	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	pinokarvon	1167	1160	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	/	/	/	/
MO	lavandulol	1172	1165	1,1	0,8	1,5	0,4	2,0	1,1	0,9	1,4	1,1	1,9	0,7	1,7
O	<i>n</i> -nonanol	1173	1165	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
MO	borneol	1174	1165	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	/	/
MO	<i>cis</i> -linalol-oksida	1175	1170	tr	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	2-((3,3-dimetiloksiran-2-il)metil)-3-metilfuran	1178	1173	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	0,2	0,3
MO	terpinen-4-ol	1181	1174	6,6	10,2	10,3	3,0	4,9	6,0	3,6	7,1	6,0	4,7	6,6	5,1
MO	<i>p</i> -cimen-8-ol	1188	1179	/	0,3	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	tuj-3-en-10-al	1189	1181	tr	/	0,2	0,6	/	0,3	/	/	0,4	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	Ria	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12
CD	(Z)-3-heksenil-butirat	1190	1184	/	tr	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	1,2
MO	α -terpineol	1194	1186	0,5	1,4	0,6	0,3	0,4	0,6	0,4	1,4	0,4	0,4	0,4	0,3
CD	metil-salicilat	1196	1190	tr	0,5	0,3	0,3	0,3	/	tr	0,3	0,4	0,3	tr	0,3
MO	mirtenol	1197	1194	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	<i>cis</i> -piperitol	1199	1195	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	tr
CD	4-metilpentil 2-metilbutirat	1201	1197	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	sabinil-acetat	1205	1298*	/	/	/	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	/	/	/
O	<i>n</i> -dekanal	1207	1201	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	<i>trans</i> -piperitol	1210	1207	tr	0,3	0,3	tr	0,2	0,2	tr	0,3	0,2	0,2	tr	tr
MO	fraganol	1217	1214	0,3	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,3	tr	0,2	0,3	0,2	0,2
MO	γ -izogeraniol	1221	1222*	/	1,0	0,5	0,5	0,2	0,3	0,5	0,4	0,3	0,3	0,4	0,2
MO	β -ciklocitral	1224	1217	/	/	/	/	/	/	tr	/	tr	/	/	/
MO	nerol	1231	1227	0,9	1,2	0,5	0,5	0,8	0,7	1,4	1,5	2,5	2,3	1,1	1,0
CD	(Z)-3-heksenil-2-metil-butirat	1234	1229	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	heksil-2-metil-butirat	1239	1233	tr	tr	0,2	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	0,2	0,1	tr
MO	neral	1244	1235	0,5	/	/	0,2	/	/	0,3	0,3	0,7	0,4	0,3	0,2
O	kumin aldehid	1244	1238	/	0,6	0,5	/	0,4	0,4	/	/	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -mirtanol	1247	1250	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr
CD	heptil-izobutirat	1248	1246	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	karvotanacetone	1251	1244	tr	tr	/	tr	/	/	tr	/	/	/	/	tr
MO	geraniol	1257	1249	0,4	0,5	0,2	0,2	0,2	0,5	0,4	0,6	0,7	0,4	0,4	0,3
CD	benzil-propanoat	1261	1257	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	karvenon	1262	1255	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -hrižantenil-acetat	1265	1261	/	/	/	/	/	1,6	/	/	/	/	/	/
MO	<i>izo</i> -3-tujanol-acetat	1269	1267	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
MO	geranial	1273	1264	0,5	0,7	0,5	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2
MO	perila aldehid	1279	1269	tr	0,3	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	0,2	0,2	tr
MO	α -terpinen-7-al	1288	1283	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	bornil-acetat	1290	1287	/	/	0,2	/	/	/	/	tr	0,2	/	/	/
MO	lavandulil-acetat	1292	1288	tr	tr	0,9	0,2	0,6	0,3	tr	0,4	0,9	0,4	0,1	tr
MO	<i>p</i> -cimen-7-ol	1293	1289	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	6-undekanol	1294	1284	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr
O	(<i>E,Z</i>)-2,4-dekadienal	1296	1292	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/
CD	benzil-izobutirat	1300	1297	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr
MO	perila alkohol	1302	1294	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	Ria	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12
MO	karvakrol	1304	1298	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	4-metilheksil-2-metil-butirat	1308	1304	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
CD	(E)-3-heksenil-tiglat	1316	1315	tr	tr	tr	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	(E,E)-2,4-dekadienal	1319	1315	/	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	cis-2,3-pinandiol	1320	1318	tr	0,2	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/
CD	(Z)-3-heksenil-tiglat	1327	1319	tr	0,2	tr	/	0,2	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr
MO	p-menta-1,4-dien-7-ol	1331	1325	tr	/	/	/	/	tr	/	/	tr	/	tr	/
CD	heksil-tiglat	1333	1330	/	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr
CD	heptil-2-metilbutirat	1337	1336*	tr	tr	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
O	fragranil-acetat	1348	1345*	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	0,1	tr	tr
MO	citronelil-acetat	1355	1350	/	/	/	/	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	2-fenil-etil-propanoat	1355	1351	0,2	tr	tr	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/
PP	eugenol	1362	1356	0,3	tr	0,2	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	tr
MO	neril-acetat	1366	1359	0,4	0,2	0,2	0,1	0,2	0,4	tr	tr	0,4	0,3	tr	tr
O	metil-p-anisat	1379	1371	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	mirtanil-acetat	1382	1381*	/	/	/	/	0,1	tr	tr	tr	tr	/	/	/
MO	geranil-acetat	1386	1379	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	benzil-2-metilbutirat	1391	1392*	tr	0,3	tr	0,1	tr	0,2	tr	tr	0,2	0,1	0,2	tr
O	(E)-jasmon	1395	1390	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
S	7-epi-seskvitujen	1395	1390	/	/	tr	tr	/	tr	/	/	/	tr	/	/
S	β -kubeben	1396	1387	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/
S	β -elemen	1398	1389	tr	0,6	0,6	tr	0,1	0,2	/	tr	0,2	tr	/	/
CD	benzil-valerat	1398	1396*	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	tr	tr
CD	fenil-etil-izobutirat	1399	1393	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
O	(Z)-jasmon	1403	1392	tr	0,2	0,2	0,2	0,3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
S	italicen	1411	1405	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr
MO	linalol-butirat	1425	1421	1,9	0,7	2,0	0,7	1,4	0,8	/	/	/	/	/	/
MO	lavandulil-izobutirat	1426	1421	/	/	/	/	/	/	0,8	1,9	2,2	1,4	1,0	0,6
S	(E)-kariofilen	1427	1417	0,9	0,9	tr	1,4	0,9	1,3	0,4	tr	1,0	0,8	0,9	0,6
S	β -kopaen	1437	1430	/	/	/	/	/	/	tr	/	tr	/	/	/
CD	2-fenil-etil-butirat	1445	1439	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	citronelil-propanoat	1445	1444	tr	/	/	/	tr	tr	/	/	tr	tr	tr	/
S	(Z)- β -farnezen	1448	1440	tr	/	0,2	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	/	tr
MO	neril-propanoat	1456	1452	0,3	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
S	α -humulen	1462	1452	tr	tr	tr	0,2	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr

Klasa	Komponenta	RI	Ria	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12
O	γ -dekalakton	1472	1465	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	dehidro-seskvicineol	1474	1469	/	/	0,3	0,2	0,1	tr	/	tr	0,2	tr	/	/
MO	geranil-propanoat	1476	1476	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
S	γ -selinen	1483	1479*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	/
S	γ -kurkumen	1485	1481	0,4	/	0,3	0,5	0,1	0,3	0,3	0,3	0,5	0,2	/	tr
MO	citronellol-izobutirat	1486	1482	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	<i>ar</i> -kurkumen	1489	1479	0,4	tr	0,9	1,0	0,2	0,6	0,6	0,3	1,1	0,7	/	tr
MO	neril-izobutirat	1493	1490	2,6	1,5	1,0	0,5	1,0	1,0	0,6	0,7	1,6	1,4	tr	0,3
S	β -selinen	1495	1489	0,7	1,2	1,6	1,2	0,4	0,6	0,3	1,1	1,5	1,0	4,4	0,7
CD	benzil-tiglat	1503	1497	/	tr	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	/	/	/
S	α -selinen	1503	1498	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
S	biciklogermakren	1505	1500	tr	/	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/	tr
SO	lavandulil-izovalerat	1513	1509	5,7	2,0	1,2	2,5	2,5	2,4	2,1	3,8	5,4	4,9	3,2	1,7
SO	lavandulil-2-metil butirat	1514	1511	tr	tr	0,6	tr	2,2	/	/	/	tr	tr	tr	tr
MO	geranil-izobutirat	1516	1514	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	/	/	tr	/	/	tr
S	α -dehidro- <i>ar</i> -himakalen	1521	1516	0,4	/	/	tr	0,2	tr	tr	0,3	0,2	tr	0,4	tr
SO	10- <i>epi</i> -italicen etar	1523	1515	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
S	7- <i>epi</i> - α -selinen	1527	1520	/	tr	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
S	β -seskvifelandren	1530	1521	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
S	δ -kadinen	1531	1522	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	/
SO	italicen etar	1543	1536	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/
SO	silfiperfolan-6- β -ol	1547	1546	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	<i>cis</i> -seskvisabinen hidrat	1550	1542	/	/	tr	tr	/	tr	tr	/	/	tr	/	/
SO	(<i>E</i>)-nerolidol	1566	1561	0,3	0,4	0,2	0,3	0,5	0,2	0,3	0,4	0,4	0,2	0,2	0,2
SO	citronelil-izovalerat	1573	1563	tr	/	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	0,3	0,3	tr	tr
SO	<i>trans</i> -seskvisabinen hidrat	1586	1577	4,4	2,0	0,9	1,4	2,0	1,4	1,5	2,0	3,0	3,9	1,3	0,7
SO	neril-izovalerat	1587	1582	2,4	0,9	0,9	1,2	1,6	1,1	0,9	1,1	2,2	2,3	0,7	0,4
SO	kariofilen-oksid	1592	1582	0,6	1,2	0,5	0,9	1,0	1,3	0,3	0,5	1,5	0,8	0,9	0,4
SO	10- <i>epi</i> -junenol	1593	1590*	/	0,2	/	0,2	0,2	0,2	tr	/	0,3	/	/	/
SO	humulen epoksid I	1603	1601*	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	/	tr	/
SO	geranil-2-metil butirat	1604	1601	0,6	tr	0,3	tr	0,2	tr	tr	0,2	0,3	0,3	0,2	tr
SO	kusimon	1614	1604	tr	/	/	/	/	/	tr	tr	0,2	tr	tr	tr
SO	geranil-izovalerat	1616	1606	0,8	0,5	0,5	0,3	0,4	0,4	tr	0,4	0,7	0,5	0,4	tr
SO	humulen epoksid II	1618	1608	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	junenol	1628	1618	/	/	/	/	/	/	/	/	0,4	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	Ria	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12
SO	kariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol	1646	1639	/	/	/	/	/	tr	/	/	tr	tr	tr	/
SO	<i>allo</i> -aromadendren epoksid	1647	1639	/	/	/	/	0,3	0,3	tr	/	/	/	/	/
SO	β -eudezmol	1659	1649	/	/	0,6	/	/	/	/	/	tr	/	/	/
SO	α -eudezmol	1662	1652	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	α -bisabolol-oksidi B	1663	1656	/	/	/	tr	tr	/	/	/	tr	0,2	/	/
SO	intermedeol	1670	1665	0,4	tr	/	/	tr	0,3	tr	tr	0,4	0,2	tr	tr
SO	<i>epi</i> - β -bisabolol	1678	1670	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	/
SO	β -bisabolol	1678	1674	/	/	0,2	0,1	0,3	/	/	/	/	/	/	/
SO	elemol-acetat	1686	1680	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
SO	<i>epi</i> - α -bisabolol	1690	1683	/	/	/	0,6	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	α -bisabolol	1691	1685	tr	/	1,3	0,4	0,5	0,2	tr	0,5	0,9	0,4	/	tr
SO	germakron	1694	1693	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
SO	šobunol	1695	1687	/	/	/	/	/	/	/	/	0,3	0,2	/	/
SO	β -sinensal	1709	1699	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	pentadekanal	1718	1715*	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
O	kamazulen	1740	1730	0,4	tr	tr	0,2	0,4	0,2	tr	0,3	0,3	0,2	0,2	tr
SO	eudezma-2,4(15),11-trien	1751	*	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	γ -kostol	1755	1745	/	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	/
O	eupatoriohromen	1771	1761	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
SO	β -kostol	1775	1765	tr	tr	tr	0,4	tr	tr	tr	tr	0,2	0,2	0,2	tr
O	fenantren	1786	1784*	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
SO	bisabola-1(6),10-dien- <i>trans</i> -2,3-diol	1789	*	/	/	/	0,2	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	heksahidrofarnezil aceton	1848	1846*	/	tr	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr
SO	(<i>Z</i>)-lanceol-acetat	1861	1854	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	linalil-fenilacetat	1913	*	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
O	(<i>E</i>)-3-cembren A	1957	1947	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
O	geranil- α -terpinen	1962	1962	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	0,4	tr	tr
O	geranil- <i>p</i> -cimen	2003	1993*	/	/	1,0	1,8	0,8	0,7	tr	0,5	0,8	1,8	0,3	0,2

RI - Eksperimentalni indeksi linearne retencije u odnosu na C8-C40 alkane. RIa - Literaturni indeksi - Adams-ovi indeksi i * prema NIST bazi podataka. Jedinjenja u procentu <0,05 označena su kao tr (trag), a neidentifikovana jedinjenja su označena kao (/).

Tabela 4.4 Broj identifikovanih komponenata po uzorku *A. absinthium* (AB), procenat svake klase jedinjenja, procenat ukupno identifikovanih komponenata i prinos etarskog ulja

Uzorak	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AB7	AB8	AB9	AB10	AB11	AB12
Ukupno identifikovano (%)	92,0	94,8	94,6	82,9	91,5	95,6	98,6	95,5	95,1	93,7	94,3	98,1
Broj komponenti	134	131	142	143	138	142	141	136	144	137	119	127
Monoterpeni	71,8	79,8	78,5	65,8	73,4	80,5	90,9	81,7	70,7	71,8	79,6	90,5
Ugljovodonični (M)	31,7	38,4	27,9	11,6	21,8	33,0	17,1	35,4	33,6	24,1	29,9	19,4
Oksigenovani (MO)	40,1	41,4	50,7	54,2	51,6	47,6	73,8	46,4	37,1	47,7	49,7	71,1
Seskviterpeni	17,9	9,9	11,2	13,4	13,9	10,7	6,8	10,7	21,3	17,1	12,7	4,5
Ugljovodonični (S)	2,5	2,7	3,6	4,4	2,1	3,1	1,6	1,9	4,6	2,8	5,7	1,3
Oksigenovani (SO)	15,5	7,2	7,6	9,0	11,8	7,6	5,1	8,8	16,8	14,3	7,0	3,3
Fenilpropanoidi (PP)	0,3	tr	0,2	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	tr
Derivati karboksilnih kiselina (CD)	0,2	1,6	0,7	0,5	0,8	0,2	0,3	0,3	0,6	0,9	0,3	1,5
<i>n</i> -Alkani (A)	tr	tr	tr	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/
Drugo (O)	1,8	3,4	4,0	3,2	3,1	4,2	0,6	2,8	2,4	4,0	1,5	1,6
Prinos etarskog ulja u %	0,15	0,07	0,06	0,07	0,06	0,07	0,07	0,05	0,06	0,05	0,07	0,05

4.1.1.3. Hemijski sastav etarskog ulja vrste *A. annua*

Rezultati analize hemijskog sastava etarskih ulja vrste *A. annua* dati su u Tabeli 4.5. Ukupno su u *A. annua* uzorcima identifikovane 153 komponente, od kojih su 24 bile prisutne samo u jednom uzorku (sve prisutne u tragovima), a čak 58 komponenata bilo je prisutno u svim uzorcima. Najzastupljenija ili druga najzastupljenija komponenta u svim uzorcima bila je artemizija keton (6,9 - 49,8%), α -pinen (3,8 - 23,3%) i kamfor (2,5 - 18,8%). Komponenta prisutna u procentu od preko 5 u svim uzorcima bila je 1,8-cineol. Artemizija alkohol, *trans*-pinokarvol i pinokarvon takođe su bili prisutni u svim analiziranim uzorcima, ali u količini od preko 1%. Kao i u slučaju *A. absinthium*, tako su i u *A. annua* uzorcima monoterpenoidi bili dominantna klasa jedinjenja, a posebno oksigenovani monoterpeni (Tabela 4.6).

Tabela 4.5 Hemijski sastav uzoraka etarskog ulja vrste *A. annua* (AN)

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AN1	AN2	AN3	AN4	AN5	AN6	AN7	AN8	AN9	AN10	AN11	AN12
O	3-metil-2-buten-1-ol	775	765	/	tr	/	/	/	tr	tr	/	tr	/	tr	/
CD	metil-2-metilbutirat	784	780*	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	3-metil-2-butenal	788	778	/	tr	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	/
O	heksanal	801	801	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	etil-2-metilbutirat	848	842*	0,4	0,6	0,6	0,5	0,6	0,4	0,4	0,7	0,5	0,7	0,5	0,3
O	(<i>E</i>)-2-heksenal	850	846	/	/	/	/	/	/	0,1	/	tr	/	/	tr
CD	etil-3-metilbutirat	851	849	tr	tr	tr	tr	0,1	/	/	0,1	/	tr	tr	/
O	(<i>Z</i>)-3-heksenol	852	850	/	tr	/	/	/	/	tr	/	tr	/	tr	/
CD	propil-izobutirat	854	856*	/	/	0,1	0,1	tr	tr	/	0,1	/	tr	/	tr
O	(<i>E</i>)-2-heksenol	864	854	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr
O	(<i>Z</i>)-2-heksenol	865	859	/	/	/	/	tr	/	tr	/	tr	/	/	/
O	<i>n</i> -heksanol	867	863	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1	0,1	tr	tr	tr	tr	tr
M	santolina-trien	909	906	0,4	0,2	tr	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3	0,8	0,5	0,4	0,3
M	triciklen	924	921	0,1	tr	0,1	0,1	tr	0,1	tr	0,2	0,1	tr	0,1	0,1
M	α -tujen	928	924	0,1	tr	0,1	tr	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	tr
M	α -pinen	935	932	12,8	12,2	20,3	3,8	14,9	10,9	13,4	10,1	8,6	16,4	23,3	9,0
CD	etil-tiglat	939	929	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr
CD	propil-2-metilbutirat	946	944*	0,2	0,4	0,5	0,5	0,3	tr	0,2	0,4	0,3	0,4	0,3	0,1
M	kamfen	950	946	1,2	0,5	3,3	2,7	1,1	1,6	0,7	3,7	1,9	1,0	1,7	1,6
CD	butil-izobutirat	953	952*	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M	tuja-2,4(10)-dien	956	953	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	benzaldehyd	962	952	tr	/	tr	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr
M	sabinen	975	969	1,1	0,7	1,8	1,5	1,1	0,8	0,6	1,5	0,7	0,8	1,8	1,0
M	β -pinen	979	974	1,2	1,1	2,4	0,7	1,3	1,0	1,1	1,4	1,0	1,3	2,1	0,9
O	6-metil-5-hepten-2-on	988	981	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M	mircen	992	988	0,9	0,4	2,9	0,5	1,5	1,0	0,7	4,3	0,1	0,7	0,6	0,7
MO	jomogi alkohol	1001	999	0,6	1,2	0,2	0,9	1,1	1,1	1,0	0,9	1,0	1,0	0,4	0,6
CD	izobutil-izovalerat	1005	1004*	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/
M	α -felandren	1006	1002	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
M	δ -3-karen	1013	1008	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M	α -terpinen	1019	1014	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1
M	<i>o</i> -cimen	1027	1022	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	tr
M	limonen	1031	1024	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	tr
MO	1,8-cineol	1033	1026	5,8	5,4	11,0	11,9	7,6	6,0	4,9	9,7	5,4	5,0	8,4	6,6

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AN1	AN2	AN3	AN4	AN5	AN6	AN7	AN8	AN9	AN10	AN11	AN12
MO	santolina alkohol	1037	1034	0,2	0,2	tr	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3	0,1	0,2
M	(Z)- β -ocimen	1039	1032	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
CD	butil-2-metilbutirat	1043	1041*	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	fenilacetaldehid	1046	1036	/	tr	tr	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	0,1	tr
M	(E)- β -ocimen	1050	1044	tr	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr
CD	prenil-izobutirat	1055	1048	/	/	tr	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
M	γ -terpinen	1061	1054	tr	tr	0,4	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	artemizija keton	1063	1056	38,1	49,8	6,9	40,8	43,9	45,7	49,7	32,8	48,8	46,5	20,7	36,0
MO	cis-sabinen hidrat	1069	1065	0,9	0,6	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5	0,2	0,3	0,5	0,8	0,7
MO	cis-linalol-oksidi	1074	1067	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	artemizija alkohol	1085	1080	5,8	4,7	1,2	5,2	4,2	6,4	4,4	4,6	5,2	6,2	3,3	6,6
M	terpinolen	1091	1086	tr	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	tr
MO	trans-sabinen hidrat	1100	1098	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	tr	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,3
MO	α -pinen-oksidi	1102	1099	/	tr	0,1	/	/	/	tr	/	/	tr	0,1	tr
CD	2-metil-butil-2-metil-butirat	1104	1100	tr	/	/	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr
O	n-nonanal	1105	1100	/	tr	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/
CD	3-metil-3-butenil-3-metil-butirat	1115	1112	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1
MO	exo-fenhol	1117	1114	tr	/	/	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	trans-tujon	1119	1112	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	trans-p-menta-2,8-dien-1-ol	1121	1119	/	0,1	tr	/	0,1	tr	tr	tr	/	/	/	/
MO	cis-p-ment-2-en-1-ol	1124	1118	0,1	/	0,2	/	/	tr	/	0,1	0,1	/	0,1	tr
MO	trans-pinen hidrat	1125	1119	/	/	/	/	/	/	0,1	/	/	0,1	/	0,1
MO	α -kamfolenal	1129	1122	0,1	0,5	0,5	0,2	0,1	0,3	0,4	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3
MO	cis-p-menta-2,8-dien-1-ol	1135	1133	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	butil-2-metilbutirat	1140	1141*	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
MO	trans-pinokarveol	1141	1135	2,8	4,3	5,4	1,7	3,3	2,4	4,1	1,3	1,8	2,6	3,4	2,3
MO	kamfor	1148	1141	7,8	2,5	18,2	18,8	5,6	10,6	3,6	17,8	10,3	4,0	8,6	12,8
MO	β -pinen-oksidi	1159	1154	tr	0,3	1,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	/	0,1	/	0,1
MO	izoborneol	1161	1155	/	/	/	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	cis-hrizontalenol	1166	1160	0,1	tr	/	/	0,1	0,1	tr	0,1	0,2	tr	0,1	0,1
MO	pinokarvon	1167	1160	1,9	3,9	4,2	1,7	3,0	2,1	3,6	1,2	1,5	2,2	2,8	2,4
MO	δ -terpineol	1171	1162	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	lavandulol	1172	1165	1,1	tr	/	tr	0,8	0,7	0,6	0,6	tr	tr	tr	tr
MO	borneol	1174	1165	tr	0,4	0,6	0,3	tr	tr	tr	tr	0,9	0,9	1,0	0,8
MO	artemizil-acetat	1175	1169	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	cis-pinokamfon	1178	1172	0,4	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	0,1	0,1	0,3	tr

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AN1	AN2	AN3	AN4	AN5	AN6	AN7	AN8	AN9	AN10	AN11	AN12
MO	terpinen-4-ol	1181	1174	0,3	0,6	1,4	0,6	0,7	0,7	0,6	0,6	0,5	0,5	0,8	0,4
MO	<i>p</i> -cimen-8-ol	1188	1179	tr	tr	/	/	/	/	/	/	tr	tr	0,1	/
MO	tuj-3-en-10-al	1189	1181	/	/	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	/	/	/	tr
MO	<i>trans-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	1191	1187	/	/	tr	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	α -terpineol	1194	1186	0,5	0,2	0,6	0,3	0,5	0,4	0,2	0,4	0,3	0,4	0,9	0,5
MO	<i>p</i> -menta-1,5-dien-7-ol	1196	1191	/	/	0,1	0,1	/	/	tr	tr	tr	tr	/	/
MO	mirtenol	1197	1194	tr	0,7	1,0	0,5	0,5	0,4	0,6	0,3	0,4	0,4	0,6	0,5
MO	mirtenal	1200	1195	0,4	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -piperitol	1210	1207	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	/
MO	verbenon	1213	1204	tr	tr	tr	/	tr	/	tr	/	tr	tr	tr	tr
MO	<i>trans</i> -karveol	1222	1215	0,1	0,1	0,4	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,4	/
MO	<i>cis-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	1231	1227	/	tr	tr	tr	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-2-metil-butirat	1234	1229	0,1	0,2	0,3	0,1	/	/	0,1	/	0,2	0,1	0,3	0,2
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-3-metil-butirat	1238	1232	0,1	/	0,2	/	0,1	0,2	/	0,2	/	/	/	/
CD	heksil-2-metil-butirat	1239	1233	/	0,2	/	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1
O	kumin aldehid	1244	1238	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
CD	heksil-3-metil-butirat	1245	1241	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	karvon	1248	1239	tr	tr	0,1	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1
MO	karvotanaceton	1251	1244	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	geraniol	1257	1249	0,1	/	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1
MO	<i>cis</i> -hrizantenil-acetat	1265	1261	tr	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	geranial	1273	1264	tr	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	/
MO	<i>cis</i> -verbenil-acetat	1281	1280	/	/	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	izobornil-acetat	1289	1283	/	/	tr	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	bornil-acetat	1290	1287	tr	tr	tr	0,1	/	tr	tr	/	tr	/	tr	tr
O	1-tridecen	1293	1290	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1
CD	benzil-izobutirat	1300	1297	tr	/	tr	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -pinokarvil-acetat	1304	1298	0,1	0,2	0,4	0,2	0,1	0,1	0,2	/	0,1	tr	0,1	0,1
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-tiglat	1327	1319	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	mirtenil-acetat	1329	1324	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
CD	heksil-tiglat	1333	1330	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	<i>trans</i> -karvil-acetat	1341	1339	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	α -kubeben	1355	1345	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
PP	eugenol	1362	1356	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4
S	α -kopaen	1380	1374	0,3	0,3	0,3	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	0,3
CD	benzil-2-metilbutirat	1391	1392*	/	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AN1	AN2	AN3	AN4	AN5	AN6	AN7	AN8	AN9	AN10	AN11	AN12
S	β -kubeben	1396	1387	/	0,1	0,1	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	0,1	0,1
S	β -elemen	1398	1389	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	0,1	0,1
O	(Z)-jasmon	1401	1392	0,1	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1	0,1	0,1
S	α -kedren	1420	1410	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	(E)-kariofilen	1427	1417	2,1	0,9	0,9	0,5	0,9	0,7	1,0	0,5	1,6	1,0	2,3	1,7
S	β -kopaen	1437	1430	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/	tr	tr	tr
S	amorfa-4,11-dien	1458	1449	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,4	0,3	/
S	(E)- β -farnezen	1460	1454	0,5	/	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,5	0,5
S	α -humulen	1462	1452	tr	0,1	0,1	0,1	0,3	0,4	0,1	tr	0,1	tr	tr	0,6
S	cis-murola-4(14),5-dien	1471	1465	tr	tr	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	γ -selinen	1483	1479*	0,5	tr	0,1	tr	0,3	0,2	0,2	0,1	0,5	0,4	1,1	0,6
S	germakren D	1490	1484	3,4	1,5	1,3	1,1	1,3	1,0	1,7	0,8	1,4	1,5	2,8	2,7
S	β -selinen	1495	1489	2,2	2,1	3,6	0,5	0,5	0,7	0,2	2,1	0,3	0,6	0,4	0,5
SO	indipon	1502	1496	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1
S	biciklogermakren	1505	1500	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
S	(E,E)- α -farnezen	1512	1505	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	β -bisabolen	1513	1505	/	/	/	/	tr	/	tr	/	/	/	/	/
S	germakren A	1514	1508	0,1	tr	tr	/	/	tr	/	/	tr	tr	0,1	0,1
SO	kubenol	1522	1514	/	tr	/	/	tr	/	tr	tr	/	tr	0,1	tr
SO	izobornil-izovalerat	1523	1521	tr	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
S	δ -kadinen	1531	1522	0,1	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1
S	γ -kuprenen	1542	1532	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/
S	α -kalakoren	1551	1544	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	bornil-angelat	1569	1564	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
CD	(Z)-3-heksenil-benzoat	1575	1565	tr	/	0,1	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
SO	germakren D-4-ol	1584	1574	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,2
SO	spatulenol	1587	1577	/	/	tr	tr	/	/	/	tr	/	tr	tr	tr
SO	tujopsan-2- α -ol	1590	1586	/	/	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	kariofilen-oksidi	1592	1582	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2
SO	β -kopaen-4- α -ol	1598	1590	/	tr	0,1	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
SO	1,10-di- <i>epi</i> -kubenol	1624	1618	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
SO	<i>epi</i> -kedrol	1626	1618	/	0,1	0,1	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	murola-4,10(14)-dien-1- β -ol	1637	1630	/	/	0,1	0,2	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	longifolen aldehid	1635	1631*	/	/	/	/	/	/	0,2	/	0,3	0,2	0,5	0,5
SO	cis-kadin-4-en-7-ol	1640	1635	0,1	0,1	0,1	tr	tr	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2
SO	selina-3,11-dien-6- α -ol	1642	1642	/	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,4	tr	0,4	0,3	0,7	0,7

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AN1	AN2	AN3	AN4	AN5	AN6	AN7	AN8	AN9	AN10	AN11	AN12
SO	kariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol	1646	1639	0,1	0,1	0,1	0,1	/	tr	tr	tr	0,1	0,1	0,1	0,2
SO	<i>allo</i> -aromadendren epoksid	1647	1639	0,1	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
SO	pogostol	1655	1651	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,1	/	/
SO	selin-11-en-4- α -ol	1665	1658	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	/	0,1	0,1	0,3	0,3
SO	intermedeol	1670	1665	0,1	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	14-hidroksi-(Z)-kariofilen	1672	1666	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	<i>epi</i> -zizanon	1675	1668	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	(Z)- α -santalol	1679	1674	0,1	/	/	/	tr	tr	0,1	/	0,1	0,1	0,3	/
SO	α -bisabolol	1691	1685	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,2	0,2
SO	germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	1695	1685	0,4	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	tr	0,3	0,6
SO	kedr-8(15)-en-9-il-acetat	1746	1741	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/

RI - Eksperimentalni indeksi linearne retencije u odnosu na C8-C40 alkane. RIa - Literaturni indeksi - Adams-ovi indeksi i * prema NIST bazi podataka. Jedinjenja u procentu <0,05 označena su kao tr (trag), a neidentifikovana jedinjenja su označena kao (/).

Tabela 4.6 Broj identifikovanih komponentata po uzorku *A. annua* (AN), procenat svake klase jedinjenja, procenat ukupno identifikovanih komponentata i prinos etarskog ulja

Uzorak	AN1	AN2	AN3	AN4	AN5	AN6	AN7	AN8	AN9	AN10	AN11	AN12
Ukupno identifikovano (%)	97,5	98,5	96,8	98,8	99,1	99,0	98,9	99,1	98,8	99,3	97,7	96,9
Broj komponenti	98	97	114	94	94	94	99	87	96	99	99	97
Monoterpeni	85,4	91,2	86,5	94,1	93,2	93,9	92,5	93,3	91,1	92,1	84,4	85,2
Ugljovodonični (M)	17,9	15,2	32,0	9,8	20,7	16,0	17,1	22,0	13,5	21,0	30,5	13,6
Oksigenovani (MO)	67,5	75,9	54,6	84,3	72,5	77,9	75,45	71,3	77,5	71,1	53,9	71,6
Seskviterpeni	10,7	5,7	7,9	3,2	4,2	3,9	4,9	4,0	6,0	5,4	11,3	10,3
Ugljovodonični (S)	9,4	5,0	6,6	2,4	3,7	3,4	3,8	3,8	4,5	4,5	8,4	7,2
Oksigenovani (SO)	1,2	0,7	1,3	0,8	0,5	0,4	1,1	0,2	1,6	0,9	2,9	3,1
Fenilpropanoidi (PP)	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,4
Derivati karboksilnih kiselina (CD)	1,0	1,5	2,0	1,4	1,3	1,0	1,1	1,7	1,4	1,6	1,6	0,9
Drugo (O)	0,1	tr	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,2	0,1
Prinos etarskog ulja u %	0,63	0,51	0,6	0,43	0,92	1,09	0,63	1,56	0,47	0,86	0,45	0,75

4.1.1.4. Hemijski sastav etarskog ulja vrste *A. vulgaris*

Rezultati analize hemijskog sastava etarskih ulja vrste *A. vulgaris* dati su u Tabeli 4.7. Zajedno u svim uzorcima *A. vulgaris* pronađeno je ukupno 315 komponenti, njih 78 je bilo prisutno samo u jednom uzorku, dok je 40 bilo prisutno u svim uzorcima. Za razliku od relativno ujednačenog sastava *A. annua*, u smislu najzastupljenijih jedinjenja, sastav *A. vulgaris* etarskih ulja bio je veoma raznolik. Ekstremni primer je sadržaj *cis*-hrizantenil-acetata koji je bio dominantna komponenta u četiri uzorka (79,4 - 24,8%), dok je u tri uzorka bio prisutan u tragovima, a u tri uzorka uopšte nije identifikovan. Davanon je pokazao sličnu distribuciju; tri uzorka sadržavala su davanon u najvećem procentu (59,8 - 27,4%) dok u šest uzoraka ova komponenta nije uopšte ni identifikovana. Kod osam uzoraka monoterpenoidi su bili glavna klasa jedinjenja, dok su se seskviterpenoidi izdvojili kao glavna klasa jedinjenja u četiri uzorka (Tabela 4.8).

Tabela 4.7 Hemijski sastav uzoraka etarskog ulja vrste *A. vulgaris* (AV)

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
O	(Z)-2-penten-1-ol	775	765	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,2	/
O	3-metil-2-butenal	788	778	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr
O	1-okten	793	788	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	/	tr
O	heksanal	801	801	/	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	furfural	833	828	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
O	4-metil-pentanol	834	830	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
CD	metil-3-metil-2-butirat	843	842*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	/
O	(E)-2-heksenal	850	846	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	0,8	/
O	(E)-3-heksenal	851	846	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	(Z)-3-heksenol	852	850	/	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	0,4	tr
O	7-metil-1-okten	853	852*	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	/	/
O	(E)-2-heksenol	864	854	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
O	(Z)-2-heksenol	865	859	/	/	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
O	cikloheksanol	865	869*	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	<i>n</i> -heksanol	867	863	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,4	tr
CD	izopentil-acetat	876	869	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
O	1-hepten-3-ol	879	870*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
O	1-nonen	892	892*	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	/
O	(Z)-4-heptenal	895	893	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
A	<i>n</i> -nonan	900	900	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
M	santolina-trien	909	906	4,2	tr	1,5	0,4	/	3,4	tr	2,3	6,1	3,2	tr	/
O	(E,E)-2,4-heksadienal	912	907	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	/
CD	izobutil-izobutirat	915	908	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
O	2,5-dietenil-2-metil-tetrahidrofuran	917	912	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
M	triciklen	924	921	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr
M	α -tujen	928	924	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	0,4	0,1	tr	0,2	tr	tr
M	α -pinen	935	932	1,3	tr	0,4	tr	tr	1,5	4,5	1,0	1,6	2,3	tr	tr
M	kamfen	950	946	0,1	tr	0,2	tr	/	0,3	0,8	tr	0,4	0,2	tr	tr
M	tuja-2,4(10)-dien	956	953	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	/	tr
O	(E)-2-heptenal	957	947	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	tr
O	benzaldehyd	962	952	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	izoamil-propionat	970	960	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
M	sabinen	975	969	2,5	tr	0,7	tr	tr	6,0	15,4	3,0	3,3	2,4	0,8	0,5

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
M	β -pinen	979	974	0,9	tr	0,5	tr	tr	1,5	1,3	1,0	1,4	0,8	tr	0,4
O	1-okten-3-ol	980	974	tr	0,2	tr	tr	0,2	tr	/	tr	/	tr	0,5	tr
O	6-metil-5-hepten-2-on	988	981	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
M	mircen	992	988	3,6	tr	1,0	1,6	0,7	2,6	4,9	0,7	1,4	3,3	0,6	2,0
O	3-oktanol	995	988	/	/	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
O	mezitilen	996	994	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	tr
MO	jomogi alkohol	1001	999	/	tr	/	/	/	/	tr	tr	tr	/	0,6	/
O	<i>n</i> -oktanal	1004	998	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	tr
CD	izobutil-2-metilbutanoat	1005	1004*	tr	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/
M	α -felandren	1006	1002	tr	tr	0,6	/	/	tr	tr	tr	tr	0,4	tr	tr
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-acetat	1008	1004	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
O	(<i>E,E</i>)-2,4-heptadienal	1012	1005	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	/
M	δ -3-karen	1013	1008	/	/	/	/	tr	/	/	/	tr	/	/	/
CD	izoamil-izobutirat	1014	1007	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
CD	2-metilbutil-izobutirat	1017	1017*	tr	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/
M	α -terpinen	1019	1014	0,2	tr	tr	tr	tr	0,4	0,5	0,3	0,3	0,4	tr	tr
M	<i>o</i> -cimen	1027	1022	0,5	tr	0,9	tr	0,1	0,8	0,3	0,5	0,7	1,4	0,2	tr
O	2-etilheksanol	1030	1027*	/	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
M	limonen	1031	1024	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	/	/	/	tr	tr
MO	1,8-cineol	1033	1026	16,2	2,6	6,9	0,9	1,0	31,5	8,3	16,1	23,1	23,8	1,4	3,5
MO	santolina alkohol	1037	1034	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
M	(<i>Z</i>)- β -ocimen	1039	1032	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	tr	tr	tr	0,2	tr	tr
MO	lavender lakton	1042	1034*	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
CD	butil-2-metilbutirat	1043	1041*	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	β -izoforon	1043	1043*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
O	fenilacetaldehid	1046	1036	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	/	tr	tr	tr	0,5	tr
M	(<i>E</i>)- β -ocimen	1050	1044	0,5	1,2	0,3	tr	tr	1,9	0,3	0,3	0,8	1,8	tr	tr
MO	santolina epoksid	1055	-	0,2	/	0,2	tr	/	tr	/	tr	0,2	tr	tr	/
MO	bergamal	1055	1051	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M	γ -terpinen	1061	1054	0,8	tr	0,2	tr	tr	1,2	1,2	0,8	1,0	1,1	tr	tr
MO	artemizija keton	1063	1056	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	16,3	tr
MO	<i>cis</i> -sabinen hidrat	1069	1065	1,0	0,2	0,3	tr	0,2	0,8	1,5	0,3	0,4	0,3	1,0	tr
O	<i>n</i> -oktanol	1071	1063	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
MO	<i>trans</i> -arbuskulon	1072	1066	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -linalol-oksid	1074	1067	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
O	1-nonen-3-ol	1082	1078*	/	/	/	/	tr	tr	tr	/	/	tr	tr	tr
MO	artemizija alkohol	1085	1080	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	tr	2,1	tr
MO	<i>trans</i> -linalol-oksidi	1090	1084	/	tr	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
M	terpinolen	1091	1086	0,2	/	/	tr	/	tr	0,3	0,2	tr	0,2	tr	tr
MO	6,7-epoksimircen	1095	1090	0,2	/	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	0,2	tr	tr
MO	<i>trans</i> -sabinen hidrat	1100	1098	0,7	tr	tr	tr	0,1	0,9	1,1	0,3	0,5	0,5	0,9	tr
MO	linalol	1103	1098	/	0,4	1,0	tr	tr	/	/	/	/	/	/	0,4
CD	2-metil-butil-2-metil butirat	1104	1100	/	0,4	tr	tr	/	/	/	/	tr	tr	/	/
O	<i>n</i> -nonanal	1105	1100	/	/	/	/	0,3	tr	tr	0,1	/	/	2,0	0,5
MO	filifolon	1106	1103*	1,8	/	/	/	/	/	/	/	/	1,1	/	/
MO	<i>cis</i> -tujon	1108	1101	5,9	/	3,3	0,4	1,2	0,2	tr	1,1	tr	/	/	/
CD	2-metil-butil-izovalerat	1109	1103	/	tr	/	/	/	tr	/	/	tr	tr	/	/
O	1-okten-3-il-acetat	1113	1110	/	0,8	/	/	/	/	tr	tr	tr	/	tr	0,6
O	feniletanol	1116	1116*	/	tr	/	/	/	tr	tr	/	/	tr	/	/
MO	<i>trans</i> -tujon	1119	1112	1,7	tr	1,5	10,3	22,5	4,5	0,9	23,3	2,8	/	0,3	tr
MO	<i>cis-p</i> -ment-2-en-1-ol	1124	1118	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	0,1	tr	tr	tr	tr
MO	hrizantenon	1128	1124	16,5	tr	tr	1,3	tr	/	tr	/	tr	3,0	/	1,5
MO	α -kamfolenal	1129	1122	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	/	tr	/
MO	(<i>Z</i>)-epoksi-ocimen	1134	1128	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
MO	<i>trans-p</i> -menta-2,8-dien-1-ol	1134	1128*	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	0,2	/	/
MO	<i>cis-p</i> -menta-2,8-dien-1-ol	1135	1133	/	/	0,4	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
MO	1-terpineol	1137	1130	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	/
MO	izo-3-tujanol	1137	1134	0,1	/	0,2	2,7	10,0	0,9	0,3	3,7	0,3	/	/	/
CD	pentil-2-metilbutirat	1140	1136*	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -pinokarveol	1141	1135	0,2	tr	tr	/	0,2	0,2	0,4	/	tr	0,2	0,5	tr
MO	<i>trans</i> -sabinol	1144	1137	/	/	/	tr	/	/	/	0,7	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -verbenol	1145	1137	/	/	/	/	tr	/	tr	/	/	/	/	tr
MO	(<i>E</i>)-miroksid	1146	1140	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -verbenol	1147	1140	tr	tr	/	/	0,3	/	1,0	/	/	/	/	0,4
MO	kamfor	1148	1141	0,9	0,5	4,9	1,0	/	1,5	/	0,8	2,0	0,4	2,4	/
CD	3-metil-2-butenil-3-metil-butirat	1152	1147	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>neo</i> -3-tujanol	1152	1149	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>p</i> -menta-1,5-dien-8-ol	1152	1159	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr
O	(<i>E,Z</i>)-2,6-nonadienal	1155	1150	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	/
O	<i>m</i> -krezol-acetat	1159	1158	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
MO	sabina keton	1161	1154	/	/	/	/	/	/	0,2	tr	/	/	/	tr
MO	izoborneol	1161	1155	/	/	0,3	tr	/	0,2	/	/	tr	/	/	/
O	(E)-2-nonen-1-al	1161	1157	/	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	trans-hrizantenol	1162	1163*	0,2	/	/	/	/	/	/	/	0,2	0,2	1,0	tr
MO	cis-hrizantenol	1166	1160	0,2	/	0,2	tr	/	/	6,0	0,4	2,4	0,2	1,6	4,1
MO	pinokarvon	1167	1160	/	tr	tr	tr	tr	0,2	/	tr	/	/	/	/
MO	δ -terpineol	1171	1162	/	0,2	/	/	tr	/	/	0,7	tr	tr	tr	/
O	n-nonanol	1173	1165	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	borneol	1174	1165	1,9	/	1,0	1,3	0,2	3,1	8,0	tr	1,9	1,9	3,1	/
MO	cis-pinokamfon	1178	1172	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
MO	terpinen-4-ol	1181	1174	1,4	0,6	0,7	tr	0,4	2,0	3,0	1,6	1,2	1,7	2,3	0,6
MO	p-cimen-8-ol	1188	1179	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	/	tr	/	tr
MO	tuj-3-en-10-al	1189	1181	tr	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr
MO	α -terpineol	1194	1186	2,2	0,5	1,9	0,3	0,3	5,5	1,2	2,2	3,3	3,7	0,3	tr
MO	p-menta-1,5-dien-7-ol	1196	1191	tr	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	/	/	/
MO	mirtenol	1197	1194	0,2	0,1	tr	tr	tr	tr	0,4	tr	tr	tr	tr	tr
MO	cis-piperitol	1199	1195	/	/	/	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/
MO	mirtenal	1200	1195	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
CD	4-metilpentil-2-metilbutirat	1201	1197	/	tr	tr	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
MO	safranal	1203	1196	tr	/	/	tr	tr	/	tr	/	/	/	tr	tr
MO	α -kamfolenol	1205	1202*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	0,4	tr
O	n-dekanal	1207	1201	/	tr	tr	/	0,1	/	/	tr	/	tr	tr	tr
MO	trans-piperitol	1210	1207	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	verbenon	1213	1204	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	trans-karveol	1222	1215	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr
MO	β -ciklocitral	1224	1217	/	tr	/	/	tr	/	/	/	/	tr	tr	/
MO	nerol	1231	1227	/	tr	tr	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	/
MO	nor-davanon	1233	1228	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	cis-karveol	1234	1226	0,1	/	tr	/	/	tr	tr	0,1	tr	0,2	/	tr
CD	(Z)-3-heksenil-2-metil butirat	1234	1229	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	izogeraniol	1235	1232	/	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/	tr	/
CD	(Z)-3-heksenil-3-metil butirat	1238	1232	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
CD	heksil-2-metil-butirat	1239	1233	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	trans-hrizantenil-acetat	1239	1235	0,4	tr	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	tr
MO	neral	1244	1235	0,2	0,8	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
O	kumin aldehid	1244	1238	/	/	/	tr	tr	0,2	tr	0,1	tr	tr	tr	tr
O	2-metil-3-fenil-propanal	1244	1244	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	karvon	1248	1239	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	karvotanaceton	1251	1244	/	/	/	/	tr	/	/	tr	/	/	/	/
MO	geraniol	1257	1249	tr	1,6	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	/
O	2-fenil-etil-acetat	1260	1254	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	karvenon	1262	1255	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -hrizantenil-acetat	1265	1261	0,6	0,3	/	/	tr	tr	24,8	tr	29,1	/	41,5	79,4
MO	<i>izo</i> -3-tujanol-acetat	1269	1267	/	/	/	/	1,9	/	/	/	/	/	/	/
MO	geranial	1273	1264	tr	1,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	izopiperitenon	1276	1272*	0,2	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr
O	α -etiliden-fenilacetaldehid	1276	1274*	/	/	/	/	tr	tr	tr	/	tr	/	/	/
O	2-fenil-2-butenal	1276	1274*	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	perila aldehid	1279	1269	0,1	/	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	4-tujen-2- α -il-acetat	1279	1275*	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -verbenil-acetat	1281	1280	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> - α -nekrodol-acetat	1288	1282	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	tr	/
MO	α -terpinen-7-al	1288	1283	/	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/
MO	bornil-acetat	1290	1287	/	0,4	tr	tr	/	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr
MO	lavandulil-acetat	1292	1288	0,3	/	tr	/	/	tr	/	/	tr	tr	tr	tr
MO	<i>trans</i> -sabinil-acetat	1295	1289	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	23,1	tr	tr	tr	tr
O	indol	1300	1290	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	tr	/
MO	perila alkohol	1302	1294	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
MO	karvakrol	1304	1298	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	/
O	undekanal	1309	1305	/	tr	tr	tr	0,1	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
CD	(<i>E</i>)-3-heksenil-tiglat	1316	1315	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	(<i>E,E</i>)-2,4-dekadienal	1319	1315	/	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	tr
MO	δ -terpinil-acetat	1321	1316	/	/	0,2	/	/	/	tr	/	tr	/	/	/
MO	mirtenil-acetat	1330	1324	/	tr	/	/	tr	/	0,2	tr	tr	/	tr	tr
MO	<i>p</i> -menta-1,4-dien-7-ol	1331	1325	/	/	/	/	/	tr	tr	/	/	/	tr	/
MO	silfiperfol-5-en	1332	1326	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
CD	heptil-2-metilbutirat	1337	1336*	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -karvil-acetat	1341	1339	0,2	tr	/	/	/	/	0,5	tr	/	/	tr	tr
S	δ -elemen	1343	1335	tr	0,2	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr
S	bicikloelemen	1344	1336	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
MO	<i>exo</i> -2-hidroksicineol-acetat	1346	1346*	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	silfinen	1351	1345	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	α -terpinil-acetat	1354	1346	/	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	/	tr	tr
S	α -kubeben	1355	1345	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	/	/
S	<i>cis</i> -murola-3,5-dien	1356	1348	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
S	α -longipinen	1358	1350	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
PP	eugenol	1362	1356	0,3	0,5	tr	tr	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	tr	tr
MO	<i>cis</i> -karvil-acetat	1367	1365	0,1	0,6	/	/	/	/	tr	tr	tr	/	0,2	tr
S	ciklosativen	1373	1369	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
S	α -ilangen	1378	1373	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	tr	/	/
S	α -kopaen	1380	1374	0,4	0,1	0,5	tr	1,0	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	tr
MO	geranil-acetat	1386	1379	tr	2,3	/	tr	/	/	tr	tr	tr	tr	/	tr
S	β -burbonen	1392	1387	0,2	tr	tr	tr	0,6	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
S	α -izokomen	1394	1387	/	tr	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/
S	7- <i>epi</i> -seskvitujen	1395	1390	/	/	/	/	/	/	/	0,2	/	/	/	/
S	β -elemen	1398	1389	3,1	0,3	0,7	0,6	0,9	1,3	0,4	0,9	0,7	0,7	0,4	0,5
A	tetradekan	1400	1400	/	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
PP	metil eugenol	1407	1403	/	tr	/	/	tr	tr	tr	/	/	tr	tr	/
S	seskvitujen	1410	1405	tr	/	tr	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/
S	β -izokomen	1415	1407	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
S	(<i>Z</i>)-kariofilen	1415	1408	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	α -gurjunen	1417	1409	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/	0,5	/	/
S	<i>cis</i> - α -bergamoten	1421	1411	0,2	tr	0,3	tr	0,9	0,3	0,2	tr	tr	tr	0,2	tr
S	(<i>E</i>)-kariofilen	1427	1417	1,3	7,2	2,5	0,8	4,1	1,1	0,8	0,6	1,8	2,5	0,9	0,7
S	β -kopaen	1437	1430	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
S	<i>trans</i> - α -bergamoten	1441	1432	0,2	tr	0,2	tr	0,7	0,3	0,2	tr	tr	tr	tr	tr
S	aromadendren	1447	1439	tr	/	tr	tr	/	tr	/	/	/	tr	tr	tr
S	(<i>Z</i>)- β -farnezen	1448	1440	/	/	/	/	/	tr	/	0,2	/	/	/	/
S	6,9-gvajadien	1452	1442	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
S	<i>epi</i> - β -santalen	1454	1445	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	geranil aceton	1456	1453	/	0,4	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/
S	(<i>E</i>)- β -farnezen	1460	1454	tr	/	/	0,8	2,3	tr	tr	tr	tr	/	/	tr
S	α -humulen	1462	1452	0,5	1,6	1,4	tr	tr	0,8	0,6	0,4	0,8	0,6	0,5	tr
S	9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-kariofilen	1469	1464	/	0,1	/	/	/	/	/	/	/	0,3	/	/
S	dauka-5,8-dien	1471	1471	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
S	10- <i>epi</i> - β -akoradien	1475	1474	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
S	4,5-di- <i>epi</i> -aristolohen	1478	1471	/	0,2	/	/	/	tr	/	tr	/	/	/	/
S	selina-4,11-dien	1483	-	/	/	/	/	/	0,9	/	/	/	tr	tr	tr
S	γ -selinen	1483	1479*	0,2	1,0	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	γ -murolen	1484	1478	/	/	/	tr	0,5	/	tr	/	tr	0,1	tr	tr
S	γ -kurkumen	1485	1481	/	/	/	/	/	/	/	1,1	/	/	/	/
S	<i>ar</i> -kurkumen	1489	1479	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
S	germakren D	1490	1484	9,1	1,1	12,3	7,2	15,1	8,7	5,4	3,4	6,0	3,9	2,3	1,3
S	δ -selinen	1498	1492	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	α -zingiberen	1498	1493	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
S	β -selinen	1495	1489	1,8	24,6	0,8	1,3	0,5	3,6	0,4	0,4	0,5	1,1	0,6	1,0
SO	10,11-epoksi-kalamenen	1498	1491	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
SO	<i>epi</i> -kubebol	1502	1493	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
S	α -selinen	1503	1498	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
S	biciklogermakren	1505	1500	1,8	0,8	2,1	1,4	2,8	1,3	0,6	1,3	1,4	1,3	0,4	tr
S	α -murolen	1507	1500	/	0,2	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/
S	(<i>E,E</i>)- α -farnezen	1512	1505	/	0,5	tr	tr	0,2	0,2	tr	/	tr	tr	/	/
S	germakren A	1514	1508	0,4	0,2	0,8	0,6	0,8	0,6	0,3	0,2	0,3	0,7	tr	tr
SO	davana etar izomer I	1516	1514*	/	/	0,4	0,3	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	davana etar izomer II	1517	1517*	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
S	β -kurkumen	1517	1514	/	/	/	/	/	/	tr	0,4	/	/	/	/
S	γ -kadinen	1522	1513	tr	0,8	0,2	tr	0,5	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr
SO	izobornil-izovalerat	1523	1521	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
S	7- <i>epi</i> - α -selinen	1527	1520	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	tr	tr	/
S	δ -kadinen	1531	1522	0,3	1,1	0,4	0,5	0,9	0,3	0,4	0,3	0,2	0,2	0,3	tr
S	<i>trans</i> -kadina-1,4-dien	1540	1533	/	tr	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/
SO	davana etar izomer III	1536	1535*	/	/	0,2	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/
S	(<i>E</i>)- <i>izo</i> - γ -bisabolen	1538	1528	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
S	α -kadinen	1546	1537	/	tr	tr	/	tr	tr	/	tr	/	tr	/	/
SO	<i>cis</i> -seskvisabinen hidrat	1550	1542	0,3	/	/	/	/	/	/	0,3	/	/	tr	/
S	α -kalakoren	1551	1544	/	tr	tr	tr	/	tr	tr	/	/	/	tr	tr
SO	salviadienol	1562	1549*	0,2	0,3	0,6	/	1,0	0,4	tr	tr	tr	0,2	0,5	tr
SO	(<i>E</i>)-nerolidol	1566	1561	tr	0,3	1,0	/	tr	tr	/	/	tr	/	0,2	/
S	β -kalakoren	1572	1564	/	tr	/	/	/	/	tr	/	/	/	tr	/
SO	davanon B	1574	1564	/	/	0,2	0,8	/	/	/	/	/	0,4	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
SO	palustrol	1577	1567	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,2	/	/
SO	germakren D-4-ol	1584	1574	/	0,5	tr	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/
SO	<i>trans</i> -seskvisabinen hidrat	1586	1577	/	/	/	/	/	/	/	2,7	/	/	/	/
SO	spatulanol	1587	1577	3,1	tr	2,9	1,9	3,9	1,4	0,6	tr	1,2	0,9	2,2	0,8
SO	kariofilen-oksidi	1592	1582	1,0	13,2	tr	tr	3,8	0,9	0,5	0,4	1,2	tr	3,1	0,9
SO	davanon	1596	1587	/	/	32,1	59,8	tr	tr	/	/	/	27,4	tr	/
SO	β -kopaen-4- α -ol	1598	1590	/	0,2	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	tr
SO	viridiflorol	1599	1592	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	fokienol	1601	1596	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,2	/	/
SO	humulen epoksid i	1603	1601*	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	ledol	1612	1602	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,3	tr	tr
SO	salvial-4(14)-en-1-on	1613	1603*	0,1	tr	0,3	tr	0,4	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	tr
SO	torilenol	1614	1604	/	/	1,1	0,3	1,8	0,9	0,3	0,4	0,4	0,4	1,1	tr
SO	geranil-izovalerat	1616	1606	/	0,3	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	humulen epoksid II	1618	1608	0,7	1,9	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	/
O	tetradekanal	1619	1611	/	tr	/	/	0,4	/	/	/	/	/	/	/
SO	1,10-di- <i>epi</i> -kubenol	1624	1618	/	tr	tr	/	tr	/	/	/	tr	/	/	/
SO	<i>epi</i> -kedrol	1626	1618	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	tr	/
SO	1- <i>epi</i> -kubenol	1637	1627*	/	/	/	tr	0,1	tr	/	tr	/	/	0,2	tr
SO	gvaja-6,10(14)-dien-4- β -ol	1638	1631*	tr	1,2	0,5	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
SO	<i>cis</i> -kadin-4-en-7-ol	1642	1635	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
SO	β -akorenol	1643	1636	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
SO	<i>epi</i> - α -kadinol	1648	1638	0,1	tr	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
SO	kariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol	1646	1639	tr	0,3	tr	/	tr	tr	/	/	/	tr	/	/
SO	<i>allo</i> -aromadendren epoksid	1647	1639	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr
SO	<i>epi</i> - α -murolol	1650	1640	/	/	0,5	/	0,6	tr	/	/	/	/	tr	tr
SO	selina-3,11-dien-6- α -ol	1642	1642	/	/	/	/	/	tr	/	/	tr	/	/	tr
SO	α -murolol	1654	1644	0,2	0,2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	β -eudezmol	1659	1649	tr	0,2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,4
SO	α -kadinol	1662	1652	4,2	1,4	/	0,5	2,0	0,8	0,2	0,4	0,4	0,3	0,6	tr
SO	selin-11-en-4- α -ol	1665	1658	/	/	3,5	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr
SO	<i>cis</i> -kalamenen-10-ol	1668	1660	tr	0,2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	14-hidroksi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-kariofilen	1669	1668	0,3	1,6	/	tr	0,9	0,5	tr	tr	tr	tr	0,3	tr
SO	<i>trans</i> -kalamenen-10-ol	1677	1668	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
SO	β -bisabolol	1678	1674	/	/	/	/	0,1	/	/	0,7	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
SO	(Z)- α -santalol	1679	1674	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,4	/
SO	mustakon	1686	1676	0,1	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	longiborneol-acetat	1690	1684	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
SO	eudezma-4(15),7-dien-1- β -ol	1691	1685	/	/	tr	tr	0,4	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/
SO	germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	1695	1685	0,6	0,8	1,2	0,4	2,3	0,8	0,2	0,3	0,4	0,2	0,8	tr
SO	(Z)- α -trans-bergamotol	1698	1690	/	/	/	/	0,9	0,6	0,1	/	0,2	/	/	/
SO	(Z,Z)-2,6-farnezol	1701	1698	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
O	pentadekanal	1718	1715*	0,2	0,5	0,3	/	1,2	/	/	/	/	/	0,3	tr
SO	(E,Z)-2,6-farnezal	1721	1713	tr	1,3	tr	tr	/	tr	/	/	tr	/	/	/
SO	(Z,E)-2,6-farnezal	1721	1715	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
SO	β -davanon-2-ol	1725	1718	/	/	0,7	0,7	/	/	/	/	/	tr	/	/
SO	(Z,E)-2,6-farnezol	1728	1722	tr	4,6	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	longifolen aldehid	1732	-	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
SO	(E,E)-2,6-farnezal	1749	1740	tr	2,1	tr	tr	/	tr	/	/	tr	tr	/	/
SO	mint sulfid	1750	1740	/	/	/	/	tr	/	tr	/	/	/	/	/
SO	γ -kostol	1755	1745	tr	2,3	tr	tr	tr	0,2	/	/	/	/	/	/
SO	ciklokolorenon	1761	1759	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
SO	β -akoradienol	1765	1762	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
SO	β -kostol	1775	1765	tr	5,4	tr	tr	0,3	0,2	/	tr	/	tr	tr	tr
SO	α -kostol	1782	1773	/	/	/	tr	0,1	tr	tr	tr	/	/	/	/
SO	2- α -hidroksi-amorfa-4,7(11)-dien	1786	1775	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
SO	14-hidroksi- δ -kadinen	1810	1803	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
O	heksadekanal	1819	1818*	tr	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
SO	(E,E)-2,6-farnezil-acetat	1846	1845	tr	0,9	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	heksahidrofarnezil aceton	1848	1846*	tr	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	tr
SO	(Z)-lanceol-acetat	1861	1854	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/
A	nonadekan	1900	1900	tr	0,2	/	/	0,4	/	/	/	/	/	tr	/
O	<i>m</i> -kamforen	1960	1960*	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	(E,Z)-geranil-linalol	1992	1987	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
A	eikozan	2000	2000	tr	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
A	heneikozan	2100	2100	tr	0,8	/	/	0,5	/	/	/	/	/	/	/
O	fitol	2116	2114*	tr	tr	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
O	(Z,Z)-9,12-oktadekadienoična kiselina	2156	2156*	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
A	trikozaan	2300	2300	tr	0,2	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
A	pentakozan	2500	2500	tr	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
A	heptakozan	2700	2700	tr	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
A	nonakozan	2900	2900	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/

RI - Eksperimentalni indeksi linearne retencije u odnosu na C8-C40 alkane. RIa - Literaturni indeksi - Adams-ovi indeksi i * prema NIST bazi podataka. Jedinjenja u procentu <0,05 označena su kao tr (trag), a neidentifikovana jedinjenja su označena kao (/).

Tabela 4.8 Broj identifikovanih komponenata po uzorku *A. vulgaris* (AV), procenat svake klase jedinjenja, procenat ukupno identifikovanih komponenata i prinos etarskog ulja

Uzorak	AV1	AV2	AV3	AV4	AV5	AV6	AV7	AV8	AV9	AV10	AV11	AV12
Ukupno identifikovano (%)	99,1	96,3	96,8	98,0	93,6	98,5	99,8	99,7	100,0	98,4	97,8	99,5
Broj komponenti	120	156	119	110	152	125	122	132	116	137	146	133
Monoterpeni	68,8	13,8	29,2	20,1	39,1	71,6	88,3	84,5	84,3	55,5	77,3	92,9
Ugljovodonični (M)	14,7	1,2	6,3	1,9	0,8	19,9	29,9	10,1	16,8	17,8	1,6	2,9
Oksigenovani (MO)	54,0	12,6	23,0	18,2	38,3	51,7	58,4	74,4	67,5	37,7	75,7	90,1
Seskviterpeni	29,9	79,0	67,3	77,9	50,9	26,5	11,4	14,8	15,5	42,6	15,4	5,6
Ugljovodonični (S)	19,1	40,0	22,1	13,2	32,4	19,7	9,4	9,7	11,8	12,2	5,8	3,5
Oksigenovani (SO)	10,8	39,0	45,2	64,7	18,5	6,8	2,0	5,2	3,7	30,5	9,6	2,1
Fenilpropanoidi (PP)	0,3	0,5	tr	tr	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	tr	tr
Derivati karboksilnih kiselina (CD)	tr	0,4	tr	tr	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
n-Alkani (A)	tr	1,2	/	/	0,9	/	/	/	/	/	tr	tr
Drugo (O)	0,2	1,5	0,3	tr	2,5	0,2	tr	0,3	tr	/	5,1	1,1
Prinos etarskog ulja u %	0,12	0,04	0,07	0,11	0,02	0,16	0,08	0,1	0,06	0,12	0,06	0,05

4.1.1.5. Hemijski sastav etarskog ulja vrste *A. scoparia*

Komponentni sastav etarskih ulja vrste *A. scoparia* dat je u Tabeli 4.9. Ukupno 156 komponenti je identifikovano u *A. scoparia* uzorcima, njih 30 je bilo prisutno samo u jednom uzorku, 43 u svim uzorcima, a među njima su β -pinen (4,7 - 14,8%), limonen (2,0 - 4,2%), (*Z*)- β -ocimen (4,6 - 8,5%) i γ -terpinen (1,4% - 4,0%) bili prisutni u procentima većim od 1%. U svim analiziranim uzorcima glavna komponenta je bila kapilen, a za njim i 2,4-pentadiinilbenzen. Dominantna klasa jedinjenja bili su derivati fenildiacetilena sa zastupljenošću od 57% i više (Tabela 4.10).

Tabela 4.9 Hemijski sastav uzoraka etarskog ulja vrste *A. scoparia* (AS)

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AS1	AS2	AS3	AS4	AS5	AS6	AS7	AS8	AS9	AS10	AS11	AS12
O	3-metil-2-butenal	788	778	/	/	tr	0,1	tr	/	/	tr	/	tr	tr	tr
A	<i>n</i> -oktan	800	800	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/
O	heksanal	801	801	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	1,3-oktadien	829	827	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
CD	2-metil-butanska kiselina	842	832	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/	tr	/	/
O	(<i>E</i>)-2-heksenal	850	846	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
O	(<i>Z</i>)-3-heksenol	852	850	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	(<i>Z</i>)-2-heksenol	865	859	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	tr	tr	/
O	<i>n</i> -heksanol	867	863	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
O	(<i>E,Z</i>)-1,3,5-oktatrien	882	880	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
A	<i>n</i> -nonan	900	900	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
O	heptanal	903	901	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
M	triciklen	924	921	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
M	α -tujen	928	924	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
M	α -pinen	935	932	0,9	0,9	1,3	1,4	1,3	1,0	0,7	2,0	1,0	1,2	2,5	1,9
M	α -fenhen	949	945	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
M	kamfen	950	946	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	(<i>E</i>)-2-heptenal	957	947	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	benzaldehyd	962	952	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
M	sabinen	975	969	0,3	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	0,2	0,5	0,3	0,4	0,7	0,5
M	β -pinen	979	974	7,3	4,7	7,9	8,0	11,6	8,3	5,3	10,6	8,5	9,7	16,9	14,8
O	6-metil-5-hepten-2-on	988	981	/	tr	/	/	/	/	/	tr	/	tr	tr	/
M	mircen	992	988	0,6	1,9	1,8	2,9	1,1	0,8	1,3	2,6	0,9	1,9	2,7	1,9
O	mezitilen	996	994	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
O	<i>n</i> -oktanal	1004	998	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
M	α -felandren	1006	1002	tr	tr	tr	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	(<i>E</i>)-3-heksenil-acetat	1007	1001	/	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-acetat	1008	1004	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
M	α -terpinen	1019	1014	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
M	<i>p</i> -cimen	1027	1020	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	tr	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1
M	limonen	1031	1024	2,3	2,4	2,5	2,6	2,0	2,4	2,1	3,9	2,1	2,0	4,2	2,9
MO	1,8-cineol	1033	1026	0,3	tr	0,1	0,3	0,4	tr	tr	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2
M	(<i>Z</i>)- β -ocimen	1039	1032	6,9	4,6	4,7	8,5	6,4	7,7	6,2	8,5	6,4	4,6	5,4	6,2

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AS1	AS2	AS3	AS4	AS5	AS6	AS7	AS8	AS9	AS10	AS11	AS12
O	fenilacetaldehid	1046	1036	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
M	(<i>E</i>)- β -ocimen	1050	1044	0,4	0,3	0,4	0,5	0,3	0,4	0,4	0,7	0,4	0,5	0,7	0,4
M	γ -terpinen	1061	1054	2,5	3,7	3,6	3,2	2,8	1,9	1,4	4,6	3,9	3,0	4,0	1,5
MO	<i>cis</i> -sabinen hidrat	1069	1065	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	<i>n</i> -oktanol	1071	1063	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	tr	tr	/
M	terpinolen	1091	1086	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/ 0,1
MO	<i>trans</i> -sabinen hidrat	1100	1098	/	/	tr	/	tr	tr	tr	/	tr	tr	/	tr
MO	linalol	1103	1098	/	/	/	tr	/	/	/	tr	/	/	tr	tr
O	<i>n</i> -nonanal	1105	1100	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr
CD	2-metil-butil-izovalerat	1109	1103	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	tr
MO	<i>endo</i> -fenhol	1116	1114	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
O	4,8-dimetil-1,3,7-nonatrien	1118	1114	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	<i>cis-p</i> -ment-2-en-1-ol	1124	1118	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
M	<i>allo</i> -ocimen	1131	1128	0,1	tr	tr	0,1	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	tr	tr	0,1
MO	(<i>Z</i>)-epoksi-ocimen	1134	1128	/	/	/	tr	/	tr	/	tr	/	/	tr	tr
MO	<i>trans</i> -pinokarveol	1141	1135	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	/	/	/
MO	<i>trans-p</i> -ment-2-en-1-ol	1143	1136	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/
MO	<i>trans</i> -sabinol	1144	1137	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr
MO	<i>neo-allo</i> -ocimen	1144	1140	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-izobutirat	1146	1142	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr
MO	kamfor	1148	1141	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
MO	kamfen hidrat	1152	1145	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
O	pentil-benzen	1159	1152	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
O	(<i>E</i>)-2-nonen-1-al	1161	1157	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	pinokarvon	1167	1160	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	lavandulol	1172	1165	0,6	0,1	0,2	tr	0,2	0,3	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2	tr
O	<i>n</i> -nonanol	1173	1165	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	umbelulon	1176	1167	/	tr	tr	/	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
MO	<i>cis</i> -pinokamfon	1178	1172	tr	/	/	tr	/	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
MO	terpinen-4-ol	1181	1174	0,1	tr	0,1	0,1	0,1	tr	tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
O	naftalen	1187	1178	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	tr	tr	/
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-butirat	1190	1184	/	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	α -terpineol	1194	1186	tr	tr	tr	0,1	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1
MO	mirtenol	1197	1194	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	tr	tr
MO	mirtenal	1200	1195	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AS1	AS2	AS3	AS4	AS5	AS6	AS7	AS8	AS9	AS10	AS11	AS12
O	<i>n</i> -dekanal	1207	1201	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
MO	<i>trans</i> -piperitol	1210	1207	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	tr	/
MO	citronelol	1230	1223	/	/	/	tr	tr	tr	/	tr	tr	/	tr	tr
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-2-metil-butirat	1234	1229	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-3-metil-butirat	1238	1232	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr
CD	heksil-2-metil-butirat	1239	1233	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
CD	heksil-3-metil-butirat	1245	1241	/	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/
CD	(<i>E</i>)-2-heksenil-izovalerat	1246	1243	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	/	/
MO	geraniol	1257	1249	/	/	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/	/
MO	piperiton	1258	1249	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	(<i>E</i>)-2-decenal	1263	1260	/	/	/	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/
MO	<i>cis</i> -hrizantenil-acetat	1265	1261	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
MO	citronelil-format	1277	1271	/	/	/	tr	/	0,1	tr	tr	tr	/	/	tr
O	1-dekanol	1284	1274	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	tr	/
P	2,4-pentadiinil-benzen	1290	1286	13,5	9,8	17,2	14,8	21,1	24,5	16,3	18,7	24,7	12,5	24,0	24,1
MO	lavandulil-acetat	1292	1288	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
O	(<i>E,Z</i>)-2,4-dekadienal	1296	1292	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
O	2-metil-naftalen	1299	1299	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
MO	geranil-format	1304	1298	/	/	tr	/	/	/	/	tr	tr	/	tr	/
O	undekanal	1309	1305	/	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	/	/	tr	tr
O	<i>p</i> -vinil-gvajakol	1318	1309	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr
CD	(<i>E</i>)-3-heksenil-tiglat	1316	1315	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
O	(<i>E,E</i>)-2,4-dekadienal	1319	1315	/	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	/	tr	tr	/
O	1-metil-naftalen	1326	1317	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-tiglat	1327	1319	0,2	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
P	1,3-heksadienil-benzen	1330	-	/	tr	/	/	tr	tr	/	/	tr	tr	tr	tr
CD	heksil-tiglat	1333	1330	tr	/	/	tr	tr	/	/	/	tr	tr	/	/
S	δ -elemen	1343	1335	/	/	/	/	tr	tr	tr	/	/	/	/	/
S	bicikloelemen	1344	1336	tr	tr	tr	tr	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr
S	silfinen	1351	1345	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/
MO	α -terpinil-acetat	1354	1346	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
MO	citronelil-acetat	1355	1350	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	tr
PP	eugenol	1362	1356	2,1	tr	1,1	tr	tr	0,4	0,4	0,3	0,7	1,1	1,6	0,7
S	ciklosativen	1373	1369	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr
S	α -ilangen	1378	1373	/	tr	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AS1	AS2	AS3	AS4	AS5	AS6	AS7	AS8	AS9	AS10	AS11	AS12
S	α -kopaen	1380	1374	tr	tr	tr	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr
CD	(Z)-3-heksenil-heksenoat	1383	1378	/	/	/	tr	/	/	/	tr	/	/	/	/
S	modhef-2-en	1389	1382	tr	/	tr	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/
S	α -izokomen	1394	1387	tr	tr	tr	tr	/	/	/	tr	tr	tr	tr	/
S	β -elemen	1398	1389	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/	/
O	2-etil-naftalen	1402	1398	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	2,6-dimetil-naftalen	1405	1400	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,5	0,2	0,3
O	2,7-dimetil-naftalen	1406	1402	/	/	/	tr	/	tr	/	tr	tr	tr	/	tr
PP	metil eugenol	1407	1403	tr	0,1	0,4	/	0,2	/	2,3	/	0,7	tr	tr	0,4
S	β -izokomen	1415	1407	tr	/	tr	tr	/	/	/	/	/	tr	/	/
O	1,6-dimetil-naftalen	1424	1419	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
S	(E)-kariofilen	1427	1417	1,6	0,7	0,9	1,6	0,3	0,7	1,3	1,1	0,9	1,3	0,8	0,6
S	aromadendren	1447	1439	tr	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/	/
O	2,3-dimetil-naftalen	1444	1444	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
MO	citronelil-propanoat	1445	1444	/	/	tr	tr	/	tr	/	/	/	/	/	/
S	(Z)- β -farnezen	1448	1440	/	/	/	tr	tr	tr	/	/	/	tr	tr	tr
S	6,9-gvajadien	1452	1442	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	/	/	/
O	1-naftalen karboksaldehid	1457	1467	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
S	(E)- β -farnezen	1460	1454	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	tr	/
S	α -humulen	1462	1452	0,1	tr	0,1	0,2	tr	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
S	γ -kurkumen	1485	1481	0,3	0,1	0,3	0,4	0,4	0,3	0,2	0,1	0,3	0,3	0,4	0,3
S	germakren D	1490	1484	0,4	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,7	0,1
S	β -selinen	1495	1489	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
P	kapilen	1503	1493	56,7	67,9	52,1	51,0	49,6	48,3	59,5	43,8	47,1	58,6	33,6	42,1
S	biciklogermakren	1505	1500	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
SO	lavandulil-izovalerat	1513	1509	tr	tr	/	/	/	tr	/	/	/	/	tr	/
SO	lavandulil-2-metil-butirat	1514	1511	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	/
S	β -kurkumen	1517	1514	tr	/	/	/	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr
SO	šobunon	1523	1519	/	tr	tr	/	/	/	/	tr	tr	tr	tr	tr
S	δ -kadinen	1531	1522	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
O	2,3,6-trimetil-naftalen	1533	1533	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
O	1,3,6- trimetil-naftalen	1537	*	/	/	/	/	/	/	tr	/	/	/	/	/
SO	italicen etar	1543	1536	/	/	tr	tr	/	/	tr	/	tr	tr	tr	tr
SO	α -kopaen-11-ol	1549	1539	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr
SO	cis-seskvisabinen hidrat	1550	1542	/	/	tr	tr	/	tr	tr	/	/	/	/	/

Klasa	Komponenta	RI	RIa	AS1	AS2	AS3	AS4	AS5	AS6	AS7	AS8	AS9	AS10	AS11	AS12
SO	italicen epoksid	1557	1547	/	tr	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
SO	(E)-nerolidol	1566	1561	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
SO	citronelil-izovalerat	1573	1563	/	tr	tr	/	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,0	tr
SO	germakren D-4-ol	1584	1574	/	tr	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/	/
SO	spatulenol	1587	1577	0,3	tr	tr	0,6	0,1	tr	0,4	0,2	tr	tr	0,2	0,1
SO	kariofilen-oksidi	1592	1582	0,2	tr	tr	0,6	tr	tr	0,3	0,1	tr	tr	0,1	tr
SO	viridiflorol	1599	1592	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
SO	ledol	1612	1602	/	tr	tr	0,1	/	tr	0,2	0,1	/	tr	tr	0,1
SO	geranil-izovalerat	1616	1606	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
SO	junenol	1628	1618	0,2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	1- <i>epi</i> -kubenol	1637	1627*	/	/	/	0,1	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	(E)-seskvilavandulol	1639	1631	0,1	/	tr	/	tr	/	/	/	/	/	tr	/
SO	kariofila-4(12),8(13)-dien-5- β -ol	1649	1639	/	/	/	0,3	/	/	/	/	/	/	/	/
SO	β -eudezmol	1659	1649	0,4	tr	0,6	0,7	0,1	tr	0,2	0,4	0,2	0,2	0,1	0,4
SO	(E)-seskvilavandulil-acetat	1743	1739	/	/	tr	/	/	/	/	/	/	/	tr	/
SO	(S,R)-6,7-bisabolon	1754	1748	/	/	tr	tr	/	/	/	/	/	/	/	/
CD	2-metoksi-4-(2-propenil)fenil estar 2-metil-butanske kiseline	1767	*	/	tr	0,2	/	/	tr	0,1	/	0,1	0,1	0,1	/
SO	Heksahidrofarnezil aceton	1848	1847	/	/	tr	tr	/	/	tr	/	/	/	/	/

RI - Eksperimentalni indeksi linearne retencije u odnosu na C8-C40 alkane. RIa - Literaturni indeksi - Adams-ovi indeksi i * prema NIST bazi podataka. Jedinjenja u procentu <0,05 označena su kao tr (trag), a neidentifikovana jedinjenja su označena kao (/).

Tabela 4.10 Broj identifikovanih komponenata po uzorku *A. scoparia* (AS), procenat svake klase jedinjenja, procenat ukupno identifikovanih komponenata i prinos etarskog ulja

Uzorak	AS1	AS2	AS3	AS4	AS5	AS6	AS7	AS8	AS9	AS10	AS11	AS12
Ukupno identifikovano (%)	98,8	98,3	96,6	99,4	99,3	98,1	99,6	99,6	99,3	99,1	99,6	99,8
Broj komponenti	69	73	86	87	74	81	78	79	79	95	98	85
Monoterpeni	22,3	19,0	23,0	28,2	27,0	23,4	17,7	34,3	24,2	24,1	37,7	30,7
Ugljovodonični (M)	21,4	18,9	22,7	27,7	26,2	23,1	17,6	33,7	23,8	23,7	37,3	30,3
Oksigenovani (MO)	0,9	0,1	0,4	0,5	0,8	0,3	0,1	0,6	0,4	0,4	0,4	0,4
Seskviterpeni	3,7	0,9	2,2	4,9	1,0	1,2	2,9	2,3	1,6	2,1	2,3	1,6
Ugljovodonični (S)	2,4	0,9	1,5	2,4	0,9	1,2	1,8	1,5	1,4	1,9	1,9	1,0
Oksigenovani (SO)	1,2	tr	0,6	2,4	0,1	tr	1,1	0,8	0,2	0,2	0,4	0,6
Fenilacetileni (P)	70,3	77,7	69,3	65,8	70,7	72,8	75,8	62,4	71,7	71,1	57,6	66,2
Fenilpropanoidi (PP)	2,1	0,1	1,5	tr	0,2	0,4	2,7	0,3	1,4	1,1	1,6	1,1
Derivati karboksilnih kiselina (CD)	0,2	0,1	0,2	0,1	tr	tr	0,1	tr	0,1	0,3	0,1	tr
Drugo (O)	0,4	0,5	0,4	0,5	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,5	0,2	0,3
Prinos etarskog ulja u %	0,11	0,12	0,19	0,17	0,3	0,25	0,22	0,31	0,31	0,25	0,33	0,29

4.1.2. Hemometrijska analiza sadržaja komponenata etarskih ulja

Kako bi se ispitala veza između hemjskog sastava etarskog ulja utvrđenog primenom GC/MS metode i tipa tla određenog po WRB, sa koga su *Artemisia* uzorci prikupljeni, urađena je hemometrijska analiza, korišćenjem pet različitih alata PCA, AHC, ANOVA, MANOVA i DA. Sva statistička istraživanja su obavljena sa istim skupovima podataka kao za PCA, nakon normalizacije i sa izostavljenim autlajerima.

4.1.2.1. Analiza glavnih komponenata

Kolmogorov-Smirnov test je korišćen za proveru normalne distribucije originalnog skupa podataka u vezi sa procentima jedinjenja utvrđenih korišćenjem GC/MS za svaku biljku *Artemisia* posebno. Nijedan od originalnih skupova podataka, osim za *A. scoparia*, nije bio normalno raspoređen, pa su korišćene različite matematičke funkcije u pokušaju da se podaci normalizuju. Funkcija *Sin* je dala zadovoljavajuće rezultate, pri čemu je većina podataka pokazala normalnu distribuciju, pa su transformisani podaci korišćeni za dalji rad. Grubbs-ov test je pokazao autlajere za sve skupove podataka. Autlajeri su izostavljeni iz matrice podataka i izvršena je PCA analiza za svaku vrstu *Artemisia*. Zbog nezadovoljavajućih vrednosti prema Kaiser-ovom kriterijumu, svaka korelaciona matrica je podvrgnuta Varimax-ovoj rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju.

4.1.2.1.1. Analiza glavnih komponenata *A. alba* po komponentama

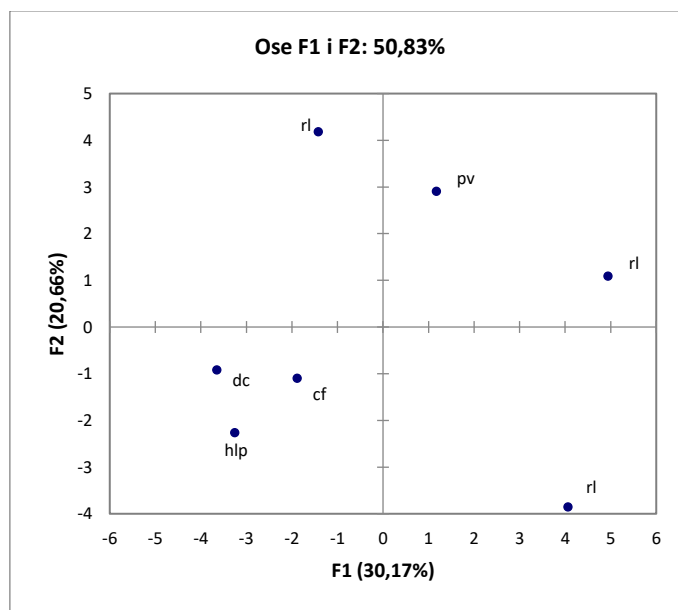
U slučaju *A. alba* bilo je šest vrednosti većih od 1 (10,2581; 7,0232; 6,5152; 5,6111; 2,8128; 1,7796), što objašnjava 100% varijanse. Zbog nezadovoljavajuće vrednosti prema Kaiser-ovom kriterijumu, korelaciona matrica je podvrgnuta Varimax-ovoj rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju (Tabela 4.11). Nakon rotacije prvih pet faktora objašnjavalo je više od 95% varijanse, te su oni i korišćeni za opisivanje. Prvom faktoru su najviše doprineli terpinolen i benzen acetaldehid sa visokim pozitivnim vrednostima. Drugi faktor je sadržao dva glavna faktora (*trans*-piperitol i biciklogermakren). Najveći doprinos trećem faktoru dao je davanon sa visokim pozitivnim vrednostima, dok su α -eudezmol i terpinen-4-ol davali doprinose sa visokim negativnim vrednostima, što znači da kada je vrednost davanona visoka, vrednosti za α -eudezmol i terpinen-4-ol su niske i obrnuto. Četvrti i peti faktori su sadržali po dva glavna doprinosioca (*cis*-pinokamfon i γ -terpinen; hrizantenon i *cis*-sabinen hidrat, redom).

Tabela 4.11 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. alba* u pogledu hemijskog sastava

	D1	D2	D3	D4	D5	D6
α -pinen	0,1938	-0,6191	0,1375	0,1642	0,6877	0,2457
kamfen	0,0856	-0,5571	0,2358	0,7642	-0,1188	0,1692
β -pinen	0,5577	0,0453	0,3905	0,6752	-0,0508	0,2755
1,8-cineol	-0,2921	0,5431	0,4334	0,1417	-0,6387	0,0623
benzen acetaldehid	0,8855	0,3982	-0,1786	0,0392	0,1083	-0,1101
γ -terpinen	0,2631	-0,3127	-0,1656	0,8933	0,0078	-0,0866
artemizija keton	0,2380	-0,1518	0,5843	0,0148	0,7603	-0,0273
<i>cis</i> -sabinen hidrat	0,3709	0,0493	0,1251	-0,2156	0,8932	0,0034
terpinolen	0,9038	0,2226	0,0700	0,2592	0,2466	0,0276
<i>trans</i> -sabinen hidrat	0,1481	0,4434	0,5186	0,7158	-0,0099	0,0044
linalol	0,2593	0,4746	-0,7795	-0,2838	-0,1388	-0,0017
filifolon	-0,2965	-0,5235	0,3726	-0,6795	-0,1747	0,0835
6-metil-(<i>E</i>)-3,5-heptadien-2-on	0,5148	0,1358	0,6550	0,4540	0,2669	0,1012
<i>trans</i> -tujon	-0,2714	-0,6024	0,1955	-0,5835	0,4294	0,0160
<i>cis</i> - <i>p</i> -ment-2-en-1-ol	0,3445	0,8956	0,2482	0,1256	-0,0390	0,0194
hrizantenon	0,1113	-0,1666	-0,3236	0,0722	0,9172	-0,0933
<i>trans</i> -pinokarveol	0,7535	-0,2925	-0,3415	0,2526	0,3353	0,2320
kamfor	0,1029	0,5158	0,6124	-0,5162	-0,0756	0,2760
pinokarvon	0,7815	0,1859	0,2017	0,1605	0,5352	0,0438
borneol	-0,7503	-0,0901	-0,6290	0,0945	-0,1555	-0,0158
<i>cis</i> -pinokamfon	0,0417	0,1726	0,3639	0,9132	-0,0423	-0,0187
terpinen-4-ol	-0,0731	-0,1085	-0,9218	-0,0785	0,3534	-0,0461
<i>p</i> -cimen-8-ol	-0,4062	-0,1794	-0,3259	0,8094	-0,1466	0,1413
α -terpineol	0,7254	0,4006	0,4403	0,2915	0,1798	-0,0456
<i>trans</i> -piperitol	0,1001	0,9755	-0,0263	-0,0706	-0,1808	-0,0058
δ -elemen	-0,0029	0,2921	-0,8987	0,1991	-0,2576	-0,0301
β -elemen	0,7339	0,6474	0,1113	0,1457	0,0832	-0,0416
(<i>E</i>)-kariofilen	0,2902	0,8441	-0,3783	-0,1773	-0,1641	-0,0415
germakren D	0,3656	-0,3543	-0,5067	-0,3579	0,5389	0,2559

	D1	D2	D3	D4	D5	D6
biciklogermakren	0,3101	0,9344	0,1229	0,0934	-0,0592	0,0589
silfiperfol-5-en-3-on A	0,3820	-0,6487	0,2230	0,5245	0,3121	0,1053
davanon	0,3385	-0,0035	0,9124	0,0578	-0,1731	0,1401
α -eudezmol	-0,0010	-0,0526	-0,9512	-0,2247	-0,0461	0,1994
α -bisabolol	0,4536	0,0882	0,2659	0,8304	0,0299	-0,1594

Uzorci *A. alba* iz dc, cf i hlp tipa zemljišta grupisani su na negativnoj strani plota, prvenstveno na osnovu procenta filifolona i *trans*-tujona. Za uzorke iz rl tipa zemljišta nije uočena pravilnost u grupisanju (Slika 4.1).



Slika 4.1 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. alba* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenata određenih GC/MS-om

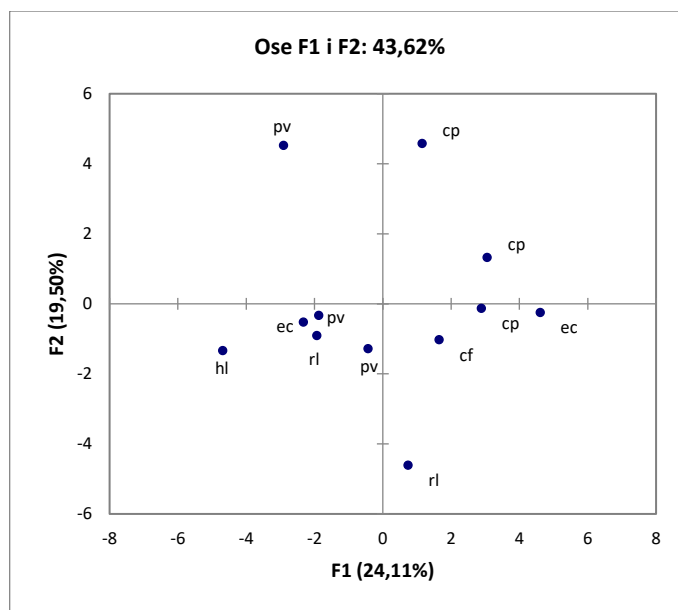
4.1.2.1.2. Analiza glavnih komponenata *A. absinthium* po komponentama

Za set podataka za *A. absinthium* nakon PCA analize bilo je osam svojstvenih vrednosti veće od 1, što objašnjava 93,5% varijanse. Nakon rotacije korelacione matrice osam faktora je dalo više od 95% kumulativne varijanse (Tabela 4.12). Najveći doprinos prvom faktoru dali su 1-okten-3-ol i geraniol, drugom faktoru α -fenhen i *n*-nonal, petom faktoru *trans*-tujon, a šestom fragranol. Što se tiče trećeg faktora, glavni doprinosioci su bili neral sa visokom pozitivnom vrednošću i *n*-heksanol i (*E*)-2-heksenal sa visokim negativnim vrednostima, što ukazuje na to da ako je vrednost za neral visoka, vrednosti za *n*-heksanol i (*E*)-2-heksenal su niske i obrnuto. Četvrti faktor je sadržao dva glavna faktora α -terpinen sa pozitivnom vrednošću i metil-salicilat sa negativnom vrednošću.

Tabela 4.12 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. absinthium* u pogledu hemijskog sastava

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
(<i>E</i>)-2-heksenal	0,0180	0,3112	-0,8737	-0,3306	0,0216	-0,0453	0,1033	-0,1073	0,0123	0,0371
<i>n</i> -heksanol	-0,0183	0,2031	-0,9190	-0,1573	-0,0383	0,2734	0,0000	0,0560	0,0616	0,0776
α -tujen	0,2340	0,5574	0,0353	0,7022	0,2697	0,1662	0,1475	0,1203	-0,0505	-0,0199
α -pinen	0,7526	0,0056	0,1621	0,6124	-0,0471	0,0048	0,1479	-0,0115	-0,0499	-0,0003
α -fenhen	0,0498	0,8976	0,0564	0,1387	0,0840	0,2744	0,2152	0,0905	0,0054	-0,1731
sabinen	-0,3018	-0,3445	-0,2509	0,5433	-0,4420	0,0852	-0,2655	-0,3106	0,0833	0,2177
1-okten-3-ol	0,8619	0,0343	-0,2070	0,1902	0,0596	-0,2479	0,0743	-0,3169	0,0686	0,0059
mircen	-0,3406	-0,2517	0,2302	-0,7574	-0,1050	-0,3071	0,2361	-0,1479	-0,0529	0,0780
α -felandren	0,3237	-0,4365	0,4513	0,6592	-0,0737	-0,0441	-0,1229	-0,1446	0,0692	0,1109
α -terpinen	0,1925	0,3126	0,2913	0,8729	0,0395	0,1007	0,0105	0,0139	-0,0792	-0,0045
<i>o</i> -cimen	-0,6969	0,6473	-0,0025	-0,0065	-0,0038	0,1571	0,0214	0,2332	0,1178	-0,0043
β -felandren	-0,2279	0,1383	0,4564	0,6699	-0,1455	-0,3842	0,1025	-0,2805	-0,0070	0,1088
(<i>Z</i>)- β -ocimen	-0,4231	0,2909	0,3201	-0,1250	0,1046	0,2607	0,0629	0,7278	0,0150	-0,0048
γ -terpinen	0,2284	0,4754	0,1596	0,8117	0,0266	0,0991	0,0107	-0,1230	-0,1040	0,0292
<i>cis</i> -sabinen hidrat	-0,0753	0,3505	0,7530	0,0543	-0,4279	0,1911	0,0481	0,2619	-0,0285	0,1006
<i>cis</i> -linalol-oksidi	-0,1509	0,3211	-0,7383	0,0912	0,1704	0,4565	0,2666	-0,0137	-0,0572	-0,0886
terpinolen	0,0094	0,8014	-0,4191	0,3430	0,1999	0,1113	0,0087	-0,0928	-0,0504	-0,0225
linalol	0,6809	-0,2684	0,3274	0,1679	0,1730	0,0894	-0,5091	-0,1734	-0,0277	-0,0162
<i>n</i> -nonanal	0,1760	0,8896	-0,2975	0,0891	-0,0700	-0,2313	-0,0117	0,0310	-0,0415	0,1165
<i>trans</i> -tujon	-0,0822	0,0074	-0,0438	0,0659	0,9905	-0,0630	-0,0180	0,0332	-0,0003	0,0203
(<i>Z</i>)-epoksi-ocimen	0,3559	0,7525	-0,0238	0,4053	0,1514	0,1469	-0,1855	0,1946	0,1581	-0,0111
sabina keton	-0,2723	0,8408	-0,0568	-0,1916	-0,1719	0,0716	-0,0391	0,3137	-0,1634	0,0587
terpinen-4-ol	0,4853	-0,0778	0,1925	0,5383	0,4695	0,3419	-0,2256	0,0592	0,0905	-0,1752
α -terpineol	0,7907	0,1409	-0,5365	-0,1360	0,0297	0,1668	-0,0917	-0,0582	-0,0176	-0,0649
metil-salicilat	-0,0249	0,2892	-0,2285	-0,9111	-0,0225	0,1250	0,0051	0,0461	-0,1155	0,0431
fraganol	0,0624	-0,3642	0,3351	-0,1697	0,1741	-0,8094	0,0433	-0,1829	-0,0005	-0,0265
nerol	0,7870	-0,4155	0,2364	0,1775	-0,2468	0,0744	-0,0623	0,1859	-0,1222	-0,0240
neral	0,1952	-0,0187	0,8976	0,2573	0,2589	0,0023	0,1097	0,0816	0,0506	-0,0220
geraniol	0,8572	0,2997	0,3127	0,2163	0,0341	0,0203	-0,0162	0,0674	0,1295	0,0412
lavandulil-acetat	-0,3870	0,8565	-0,1119	-0,0707	-0,1243	0,1988	0,0680	-0,1588	0,1137	0,0309

Kod uzoraka *A. absinthium* uočava se dobro grupisanje uzoraka iz cp zemljišta. Ono što je najviše uticalo na ovakvo grupisanje su monoterpeni i oksigenovani monoterpeni, pre svega α i β felandren, nerol i neral, kao i terpinen i njegovi derivati. Uočljivo je i solidno grupisanje uzoraka iz pv tla. Kvadrant u kome je x-osa pozitivna, a y-osa negativna je pretežno određen derivatima α -tujena i *trans*-tujona, *o*-cimena i ocimena (Slika 4.2).



Slika 4.2 PCA dijamram analiziranih uzoraka *A. absinthium* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenata određenih GC/MS-om

4.1.2.1.3. Analiza glavnih komponenata *A. annua* po komponentama

Nakon analize glavnih komponenata za set podataka za *A. annua* bilo je deset svojstvenih vrednosti većih od 1, što objašnjava 98,7% varijanse. Zbog nezadovoljavajuće vrednosti, korelaciona matrica je podvrgnuta rotaciji uz normalizaciju, nakon čega je sedam faktora dalo više od 95% kumulativne varijabilnosti (Tabela 4.13). Kariofilen-oksid, *trans*-sabinen hidrat, biciklogermakren i (*Z*)-jasmon su najviše doprineli prvom faktoru; α -tujen je najviše doprineo trećem faktoru; heksil-2-metil-butirat četvrtom; triciklen je najviše uticao na peti faktor. Drugi faktor je pokazao da α -kamfolenal i mirtenol najviše doprinose visokim pozitivnim vrednostima opterećenja, dok pinokarvon i *trans*-pinokarveol doprinose visokim negativnim vrednostima opterećenja. Propil-2-metil-butirat je najviše doprineo šestom faktoru i to umereno negativnom vrednošću, dok je α -humulen istom faktoru doprineo svojom visokom pozitivnom vrednošću, te zaključujemo da ukoliko je koncentracija propil-2-metil-butirata veća, koncentracija α -humulena je manja i obrnuto.

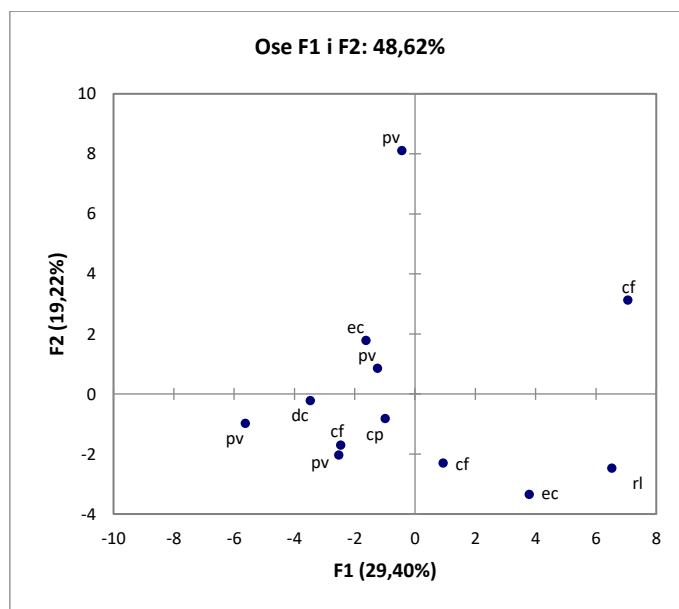
Tabela 4.13 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. annua* u pogledu hemijskog sastava

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
etil-2-metilbutirat	-0,6822	0,2167	0,2977	-0,1518	0,1082	-0,5376	-0,0364	-0,0291	0,2304	0,1389
santolina-trien	0,1167	-0,8033	0,0687	0,4766	-0,2473	-0,0534	0,1341	-0,1643	-0,0127	-0,0068
triciklen	-0,1100	0,0655	0,1645	-0,1839	0,9391	-0,1437	-0,0433	-0,1136	-0,0425	0,0580
α -tujen	0,1324	-0,2062	0,9355	0,0220	0,1453	-0,1593	-0,1255	0,0392	0,0076	0,0084

Rezultati i diskusija

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
α -pinen	0,2372	0,2592	-0,3630	-0,2580	-0,1279	0,0846	0,8085	-0,0144	-0,0031	-0,0040
propil-2-metil-butirat	-0,3447	0,4152	0,0196	-0,1729	0,3551	-0,7286	0,0289	0,0779	0,1174	-0,0248
kamfen	0,5449	-0,4097	-0,0452	0,4144	-0,4640	0,3453	0,0132	0,0258	0,0067	-0,1594
sabinen	0,0877	-0,0477	0,3809	-0,3281	0,7779	-0,1599	-0,1714	0,2598	0,0906	-0,0390
β -pinen	-0,1388	-0,6140	0,3733	-0,1131	-0,5995	-0,0585	-0,0142	0,1444	-0,0507	0,2520
jomogi alkohol	-0,7349	-0,4255	-0,1606	0,1479	-0,4562	0,0826	-0,0986	0,0365	-0,0638	0,0117
<i>o</i> -cimen	-0,1723	0,7559	0,4259	-0,0737	0,1055	-0,4172	0,0941	-0,1196	-0,0128	-0,0580
1,8-cineol	0,4104	-0,3706	0,3965	0,2713	0,0099	0,4011	-0,0987	0,5398	-0,0168	0,0137
artemizija keton	-0,2612	0,1093	0,6918	-0,3759	0,3254	-0,1738	-0,4027	0,0033	-0,0081	-0,0004
<i>cis</i> -sabinen hidrat	0,9309	0,1129	-0,0403	0,0162	-0,2464	0,1921	-0,1095	0,0854	-0,0342	-0,0245
artemizija alkohol	0,6132	0,4421	0,1466	-0,1791	0,3744	0,3264	0,0489	-0,2450	0,2554	-0,0232
terpinolen	-0,5486	0,6120	0,3335	-0,2125	0,3339	-0,2153	0,0395	0,0701	0,0566	-0,0215
<i>trans</i> -sabinen hidrat	0,9685	-0,0174	-0,0330	0,1401	0,0894	-0,1270	0,0522	0,1076	-0,0148	-0,0414
3-metil-3-butenil-3-metil-butirat	-0,5247	-0,0009	0,1864	-0,5965	0,3505	-0,3351	0,2187	-0,1553	0,0623	0,1522
α -kamfolenal	0,0697	0,9619	-0,1061	0,1722	0,0180	-0,0539	0,0091	-0,1586	-0,0165	0,0121
<i>trans</i> -pinokarveol	-0,1767	-0,9075	-0,0263	0,1178	0,3132	0,0921	-0,0743	-0,0942	0,0942	-0,0278
kamfor	0,9216	-0,0085	-0,1608	0,0883	-0,1538	-0,0147	-0,1792	0,1973	-0,1308	-0,0278
<i>cis</i> -hrizantenol	0,4180	-0,7689	0,0623	0,3427	0,0568	0,1267	0,2419	-0,0919	-0,1294	0,0657
pinokarvon	0,0014	-0,9622	0,0936	0,1387	0,1287	0,0704	-0,1346	-0,0389	0,0342	-0,0555
lavandulol	-0,2452	-0,5192	0,3195	-0,5458	-0,3087	0,2407	-0,0155	0,1752	-0,2833	0,0041
terpinen-4-ol	-0,2949	0,8521	0,2455	-0,1180	0,3049	-0,1201	0,0216	0,0146	0,0554	-0,0385
α -terpineol	0,7735	0,0849	0,4850	0,0411	0,3684	0,0434	-0,0198	0,1336	0,0298	0,0040
mirtenol	-0,1718	0,9536	-0,0586	0,1435	0,1597	-0,0212	0,0478	0,0151	0,0902	-0,0200
<i>trans</i> -karveol	0,3044	0,7931	0,4249	-0,0646	0,1220	-0,2564	0,0525	-0,0764	-0,0227	-0,0598
(<i>Z</i>)-3-heksenil-2-metil-butirat	0,7141	0,5404	-0,0642	0,3050	0,1329	-0,1947	0,1411	-0,1476	0,0470	-0,0329
(<i>Z</i>)-3-heksenil-3-metil-butirat	-0,4488	0,1197	0,4325	-0,6765	0,3433	0,1168	0,0446	-0,0012	-0,0414	0,0532
heksil-2-metil-butirat	0,0108	0,0322	0,1615	0,8980	-0,2740	0,1431	-0,2115	0,0586	-0,1272	0,0504
eugenol	0,8710	-0,1916	0,1024	-0,1467	-0,1118	0,3945	0,0174	-0,0148	0,0143	-0,0468
α -kopaen	0,9023	0,3024	0,1193	0,1258	-0,2178	-0,0943	0,0094	0,0338	-0,0645	0,0465
benzil-2-metil-butirat	-0,1817	0,8103	-0,2223	0,3123	0,2408	-0,1262	-0,0644	-0,2859	0,0165	0,0347
β -kubeben	0,3810	0,8541	-0,2382	0,1714	-0,1385	0,0261	0,0579	0,0036	-0,0783	0,0908
(<i>Z</i>)-jasmon	0,9428	-0,0957	0,0981	0,0172	0,0960	-0,0835	0,1676	-0,1779	0,1260	-0,0122
(<i>E</i>)-kariofilen	0,6997	-0,0730	-0,2332	0,2487	-0,4106	0,1570	0,4018	-0,1662	0,0726	0,0303
(<i>E</i>)- β -farnezen	0,8382	-0,4104	0,1498	0,1085	-0,1128	0,2654	-0,0347	0,0852	0,0216	-0,0156
α -humulen	0,1602	-0,2868	-0,2928	0,2039	-0,0826	0,8436	0,1557	0,0978	0,1046	0,0168
γ -selinen	0,7798	-0,3364	0,1819	0,4591	-0,1374	0,1092	0,0482	0,0155	0,0127	-0,0078
biciklogermakren	0,9453	-0,1467	-0,0149	0,2128	-0,1521	0,1116	0,0087	0,0444	-0,0211	-0,0085
kariofilen-oksidi	0,9642	0,0517	0,0535	0,1398	-0,1018	0,0235	0,1507	-0,0203	-0,1040	-0,0015
longifolen aldehid	0,6864	-0,0738	-0,1116	0,6781	-0,0776	0,1505	0,0926	-0,0366	0,0567	0,0467
<i>cis</i> -kadin-4-en-7-ol	0,8472	0,0124	0,0212	0,4486	0,1290	0,1480	0,0071	-0,1297	0,0976	0,1118
selina-3,11-dien-6- α -ol	0,5870	0,0771	-0,1651	0,7459	-0,0527	0,2085	0,0693	0,0358	0,0837	-0,0430
kariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol	0,8430	-0,0908	-0,3709	0,1978	0,1933	0,1266	0,1444	-0,0897	0,1419	-0,0030
selin-11-en-4- α -ol	0,8131	-0,1004	-0,1099	0,5097	0,0327	0,1921	0,0950	0,0558	0,0586	0,0056
germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	0,8950	0,0438	-0,3035	0,0059	0,1026	0,2830	0,0959	0,0426	-0,0174	0,0444

U slučaju *A. annua* svi uzorci iz pv zemljišta bili su u delu plota gde je x-osa negativna. Na suprotnim stranama plota nalazili su se uzorci iz ec tla, a komponenta koja je najviše uticala na to bio je kamfen. Skoro svi derivati ugljene kiseline bili su locirani u kvadrantu grafikona gde je x-osa bila negativna, a y-osa pozitivna. Određena pravilnost među uzorcima iz cf zemljišta nije uočena (Slika 4.3).



Slika 4.3 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. annua* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponentata određenih GC/MS-om

4.1.2.1.4. Analiza glavnih komponentata *A. vulgaris* po komponentama

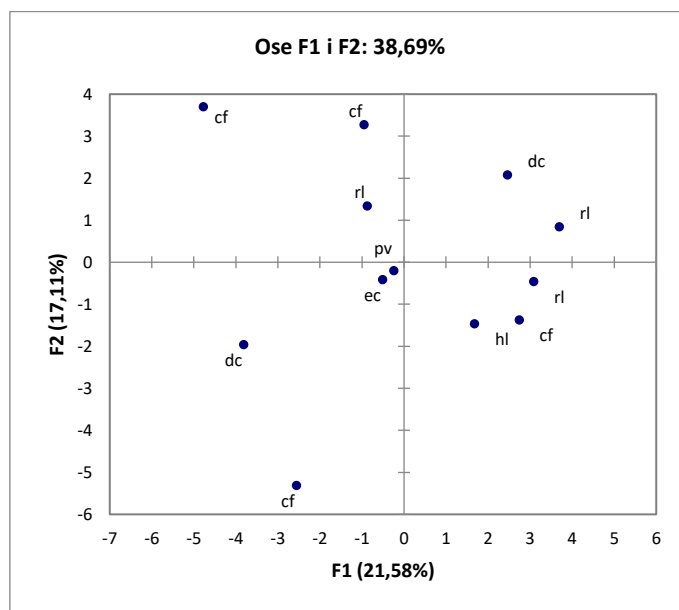
Analiza glavnih komponentata *A. vulgaris* dala je devet svojstvenih vrednosti većih od 1, što objašnjava 96,1% varijabilnosti. Kao i kod tri prethodne biljne vrste, zbog nezadovoljavajuće vrednosti po Kaiser-ovom kriterijumu, korelaciona matrica je podvrgnuta Varimax-ovoj rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju (Tabela 4.14). Posle rotacije, osam faktora je dalo više od 95% kumulativne varijanse. Terpinen-4-ol i α -pinen su najviše doprineli prvom faktoru sa visokim pozitivnim vrednostima, dok je 1,8-cineol doprineo sa visokom negativnom vrednošću. To znači da ako su prisutne veće koncentracije α -pinena i terpinen-4-ola, koncentracija 1,8-cineola je niža. Drugom faktoru najviše su doprineli eugenol i *cis*-hrizantenil-acetat; *trans*-tujon trećem faktoru; torilenol četvrtom faktoru; *trans*-pinokarveol petom faktoru; *izo*-3-tujanol sedmom faktoru, svi sa visokim pozitivnim vrednostima, dok germakren D najviše doprinosi šestom faktoru umerenom negativnom vrednošću opterećenja.

Tabela 4.14 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. vulgaris* u pogledu hemijskog sastava

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
santolina-trien	-0,2772	-0,2757	-0,1478	0,3758	-0,6892	0,3505	-0,1951	0,1329	-0,1029	0,1144
α -pinen	0,9612	0,0595	-0,1674	-0,0280	-0,1061	-0,0072	0,0994	0,1037	0,0959	0,0498
sabinen	-0,0436	-0,3856	0,8492	0,0587	0,2394	0,0551	-0,2080	0,0155	0,0301	-0,0792
mircen	-0,0186	-0,3681	-0,4169	0,2618	-0,7107	-0,2995	-0,0367	0,1337	-0,0367	0,0691
α -terpinen	0,5102	-0,0619	-0,1118	-0,2825	0,5888	0,4997	0,1970	-0,0895	-0,0114	-0,0142
<i>o</i> -cimen	0,8156	-0,0932	0,0924	0,1412	0,2641	0,4297	0,2051	0,0157	-0,0018	-0,0249
1,8-cineol	-0,8715	0,1752	0,0304	0,4209	-0,0064	-0,1174	-0,0475	0,0933	-0,0300	0,0703
(<i>E</i>)- β -ocimen	0,6893	0,4567	-0,1082	-0,2236	0,2097	0,1996	0,3719	-0,0264	-0,1139	-0,1363
<i>cis</i> -sabinen hidrat	0,1222	0,0750	0,3350	-0,0689	0,8821	0,1204	0,1896	0,1328	-0,0518	0,1162
<i>trans</i> -sabinen hidrat	0,3035	-0,0918	0,1094	-0,1173	0,8881	0,1376	0,2273	0,1080	-0,0467	0,0224
<i>cis</i> -tujon	-0,2486	0,0658	-0,7164	0,3175	-0,3189	0,0166	-0,4583	-0,0035	0,0805	0,0361
<i>trans</i> -tujon	0,0179	-0,0034	0,9095	-0,0758	0,3539	0,1188	0,0907	0,0293	-0,0568	0,0512
hrizantenon	-0,4224	-0,5526	-0,3409	-0,1108	-0,5608	-0,1418	0,0775	-0,1710	0,0054	-0,1296
<i>izo</i> -3-tujanol	0,1831	-0,1462	-0,0175	-0,1884	0,2474	0,0433	0,9179	-0,0539	0,0173	0,0210
<i>trans</i> -pinokarveol	-0,2098	-0,1017	0,2954	0,1763	0,8981	-0,0111	-0,0068	0,0923	-0,0410	-0,0851
<i>cis</i> -hrizantenol	0,4611	-0,0025	0,1258	0,3940	0,2901	0,0221	-0,0608	0,7250	-0,0303	0,0089
terpinen-4-ol	0,9518	0,0256	0,0510	-0,1099	0,2135	0,0012	-0,0161	0,1340	-0,1055	0,0198
α -terpineol	-0,5379	0,2327	0,5926	0,0088	-0,0391	0,2270	-0,3608	0,1341	0,0820	0,3120
<i>cis</i> -hrizantenil-acetat	0,1599	0,8736	0,1236	0,1315	-0,0243	0,1455	-0,1052	-0,0838	0,3451	0,0658
eugenol	0,2975	0,8894	-0,0593	-0,1656	0,2505	0,0489	-0,1027	-0,0678	-0,0077	-0,0808
β -elemen	0,2867	-0,1361	-0,7762	0,4007	-0,3145	0,1727	0,0234	-0,0578	-0,0544	-0,0123
α -humulen	0,4830	0,5076	0,3331	-0,0162	0,1865	0,2931	0,3812	0,2197	-0,2842	0,0478
germakren D	-0,4439	0,1964	-0,2378	0,0435	-0,3522	-0,7586	0,0404	-0,0049	0,0060	0,0006
β -selinen	-0,0396	-0,7232	0,4828	0,0232	-0,1220	0,0730	-0,2724	-0,0902	0,3674	-0,0475
biciklogermakren	0,6949	0,2742	-0,0998	-0,0941	0,0051	0,4853	0,2924	0,1618	0,2657	0,0732
germakren A	0,1517	0,2953	-0,2755	0,7033	-0,2570	0,3152	0,0248	-0,2174	0,3159	-0,0607
δ -kadinen	-0,4660	0,7506	-0,1460	0,3307	-0,2354	-0,0743	-0,1555	0,0276	0,0271	-0,0241
salviadienol	-0,1590	0,4052	-0,0102	0,8381	0,0086	-0,2388	-0,2186	0,0265	-0,0431	-0,0229
spatulenol	0,2406	-0,6434	-0,0932	-0,3358	0,1619	0,0383	0,5989	0,0561	-0,0418	-0,1195
kariofilen-oksidi	0,4637	0,0069	0,0797	-0,7091	0,2506	-0,0531	0,4100	0,0041	-0,1542	0,1346
torilenol	-0,1420	-0,1123	-0,2562	0,9159	0,0068	-0,0050	-0,1055	0,2015	-0,0865	0,0533
14-hidroksi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-kariofilen	-0,2365	0,8333	-0,1871	0,2260	0,0167	-0,3708	-0,0908	0,0168	-0,1193	-0,0566
germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	-0,1045	0,6423	0,1098	0,6767	-0,0611	-0,1659	0,0346	0,2334	-0,0484	0,1313

Uzorci *A. vulgaris* sa istog tipa zemljišta bili su na suprotnim stranama plota (npr. uzorci dc, rl, odnosno cf). Ali i u ovim slučajevima može se primetiti neka pravilnost. Na primer, u slučaju dva uzorka sa cf zemljišta, koja su na plotu locirana sa suprotne strane u odnosu na treći uzorak sa cf, može se videti da su dva grupisana uzorka delimično određena procentom *cis*-tujona, dok je usamljeni uzorak određen procentom *trans*-tujona i *izo*-3-tujanola. Takođe, dva uzorka sa cf zemljišta su grupisana na osnovu germakrena i njegovih derivata, koji su odgovorni za grupisanje u kvadrantu gde je x-osa negativna, a y-osa pozitivna. Dalje, položaj dc uzorka u negativnom kvadrantu je definisan procentom hrizantenona, dok je, nasuprot tome, uzorak iz dc zemljišta određen procentom *cis*-

hrizantenola i *cis*-hrizantenil-acetata. Pozitivni kvadrant je određen *trans* i *cis* sabinen hidratom (Slika 4.4).



Slika 4.4 PCA dijamogram analiziranih uzoraka *A. vulgaris* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenata određenih GC/MS-om

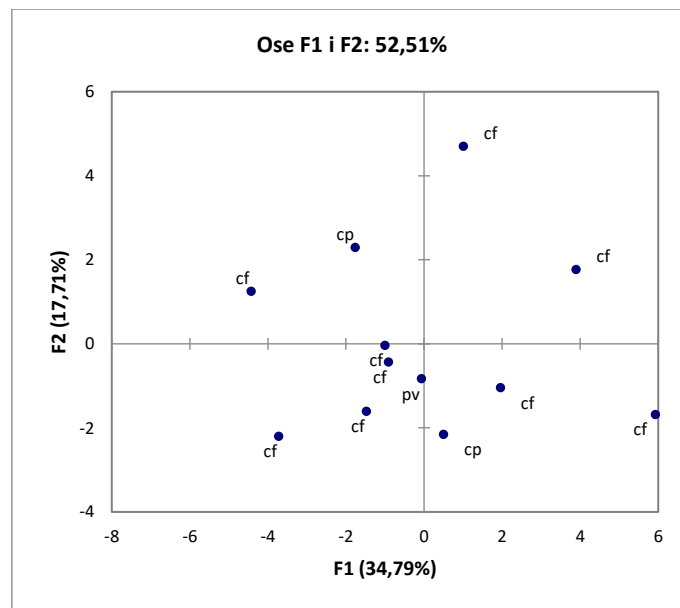
4.1.2.1.5. Analiza glavnih komponenata *A. scoparia* po komponentama

Nakon statističke obrade podataka za *A. scoparia* izdvojilo se šest svojstvenih vrednosti većih od 1, što objašnjava 90,6% varijanse. Korelaciona matrica je podvrgnuta rotaciji uz normalizaciju, nakon čega je šest faktora davalo više od 95% kumulativne varijabilnosti, pa su ti faktori korišćeni za razjašnjavanje rezultata (Tabela 4.15). Glavni doprinosioci su β -pinen, α -pinen, sabinen, 2,4-pentadiinil-benzen, limonen (visoke pozitivne vrednosti) i kapilen i 2,6-dimetil-naftalen (visoke negativne vrednosti) za prvi faktor, koji znači da ako su procenti β -pinena, α -pinena, sabinena, 2,4-pentadiinil-benzena i limonena visoki, procenti kapilena i 2,6-dimetil-naftalena su niski, i obrnuto. Glavni doprinos drugom faktoru dali su (*Z*)- β -ocimen i *alo*-ocimen (pozitivne vrednosti) i 2-metil-2-metoksi-4-(2-propenil)fenil estar butanske kiseline (negativna vrednost). Kao što je ranije pomenuto, veće vrednosti za (*Z*)- β -ocimen i *alo*-ocimen znače niže vrednosti za 2-metil-2-metoksi-4-(2-propenil)fenil estar butanske kiseline, i obrnuto. Za treći faktor, glavni doprinos opterećenje dali su *p*-cimen i γ -terpinen, oba sa visokim pozitivnim vrednostima; za četvrti β -eudesmol i α -humulen, dok je za peti glavni doprinos dao 1,8-cineol.

Tabela 4.15 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. scoparia* u pogledu hemijskog sastava

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D10
α -pinen	0,9260	-0,0139	0,3379	-0,1174	0,0461	-0,0187	-0,0186	0,1065	0,0149	0,0066
sabinen	0,9233	-0,0542	0,2046	-0,2702	0,1440	-0,0278	0,0407	0,0730	0,0307	0,0113
β -pinen	0,9328	-0,0336	0,1277	-0,2650	0,1881	0,0530	0,0230	0,0542	0,0066	0,0208
mircen	0,6055	-0,0032	0,5988	0,2391	-0,0971	-0,3527	0,0149	0,2831	0,0446	0,0355
α -terpinen	0,5510	0,0784	0,7614	-0,2777	0,1389	0,0586	-0,0851	-0,0580	-0,0087	0,0086
<i>p</i> -cimen	0,1293	0,0194	0,9550	-0,2279	0,0790	-0,0248	0,0558	0,0902	0,0094	0,0278
limonen	0,8744	0,0516	0,4279	-0,0097	-0,1888	0,0049	-0,0194	0,1125	0,0020	-0,0280
1,8-cineol	0,1209	0,3771	0,0862	0,0430	0,9129	0,0152	-0,0132	0,0061	-0,0078	-0,0032
(<i>Z</i>)- β -ocimen	0,2708	0,8634	-0,0592	0,3877	0,0421	-0,0401	0,0358	-0,1455	-0,0249	-0,0080
(<i>E</i>)- β -ocimen	0,8296	0,1114	0,4627	0,2604	-0,0526	0,0554	0,0743	0,0176	-0,0684	0,0310
γ -terpinen	0,2588	-0,0611	0,9380	-0,1715	-0,0472	-0,0210	-0,0885	-0,0898	-0,0081	-0,0385
allo-ocimen	0,3035	0,8617	0,0720	0,2770	0,2228	-0,0609	-0,0918	-0,1409	0,0238	0,0278
terpinen-4-ol	0,8170	0,1263	0,3557	-0,0684	0,4142	0,0820	-0,0656	0,0364	-0,0332	0,0138
2,4-pentadiinil-benzen	0,8787	0,1564	-0,1585	-0,3262	0,0652	0,0481	0,0115	-0,2546	0,0095	0,0040
eugenol	0,3092	-0,6039	-0,0699	0,1665	0,0654	0,7082	0,0337	0,0048	0,0033	0,0047
2,6-dimetil-naftalen	-0,9371	-0,2938	-0,0823	0,1159	-0,0345	-0,0671	-0,0023	0,0881	-0,0095	0,0425
(<i>E</i>)-kariofilen	-0,5272	0,0472	-0,0653	0,8205	-0,0661	0,1618	0,0815	0,0287	-0,0542	0,0359
α -humulen	-0,2928	-0,0068	-0,2554	0,8929	-0,0948	0,1533	0,0868	-0,0777	-0,0667	0,0350
γ -kurkumen	0,5756	-0,1890	-0,3518	0,0096	0,5286	0,1058	0,4520	-0,0886	0,0782	0,0143
kapilen	-0,9681	-0,1159	-0,0941	0,1313	-0,0895	-0,0541	-0,0160	0,1092	-0,0137	-0,0004
spatulenol	-0,1273	0,3686	-0,2848	0,8247	0,0018	-0,1411	0,2055	0,1235	-0,0318	-0,0894
β -eudezmol	-0,0010	0,1352	-0,0465	0,9238	0,1670	-0,0639	-0,2841	-0,0102	0,1155	0,0078
2-metoksi-4-(2-propenil)fenil estar 2-metil-butanske kiseline	0,0199	-0,9682	0,0060	0,0591	-0,1394	0,0602	-0,0059	-0,1881	0,0000	0,0128

Uzorci sa cp zemljišta nalaze se u suprotnim kvadrantima plotu, a ono što čini tu razliku su procenti spatulenola, (*E*)-kariofilena i α -humulena. Uzorak iz pv zemljišta, kao i još četiri uzorka iz cf zemljišta, izolovani su u negativnom kvadrantu plotu zbog prisustva 2-metil-2-metoksi-4-(2-propenil)fenil estara butanske kiseline, koji nije identifikovan u preostalim sedam uzoraka. Kvadrant određen pozitivnom x-osom i negativnom y-osom sastoji se od monoterpena, sa izuzetkom 2,4-pentadiinil-benzena (Slika 4.5).



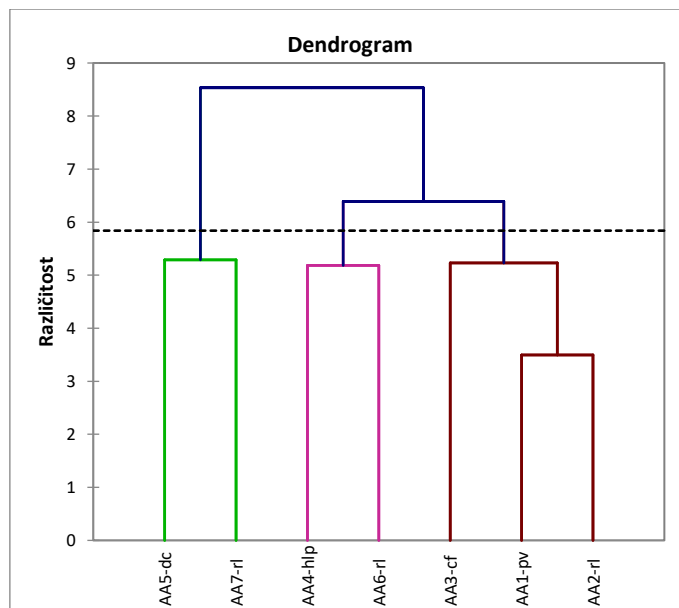
Slika 4.5 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. scoparia* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenata određenih GC/MS-om

4.1.2.2. Klaster analiza po komponentama

Klaster analiza (AHC) ispitivanih vrsta *Artemisia* pokazala je tri glavna klastera na svih pet dendrograma za sve biljne vrste, a na osnovu procenata jedinjenja određenih GC/MS. Za klaster analizu su korišćeni isti skupovi podataka kao za PCA (normalizovani, bez autlajera).

4.1.2.2.1. Klaster analiza *A. alba* po komponentama

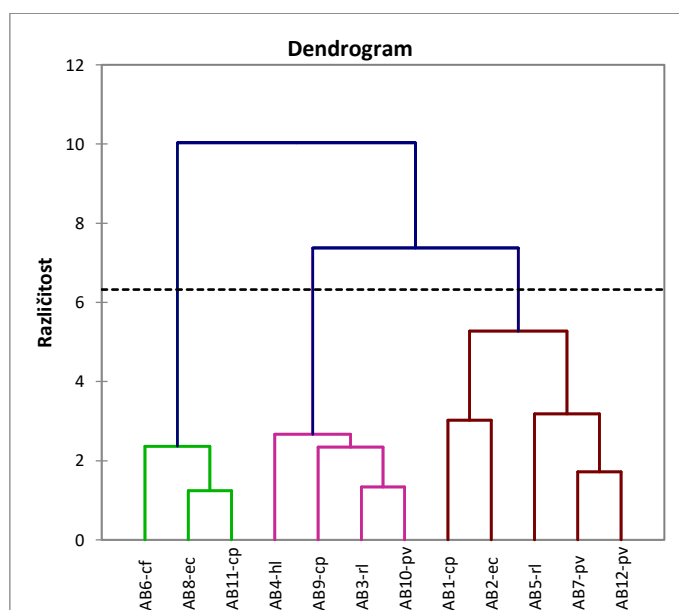
Dendrogram klaster analize za *A. alba* prikazan je na Slici 4.6 i pokazuje veliku nepravilnost u distribuciji uzoraka. Svi uzorci sa rl zemljišta su locirani u odvojenim klasterima, ali postoje neka poklapanja sa PCA plotom.



Slika 4.6 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. alba* (AA) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenata utvrđenih GC/MS-om

4.1.2.2.2. Klaster analiza *A. absinthium* po komponentama

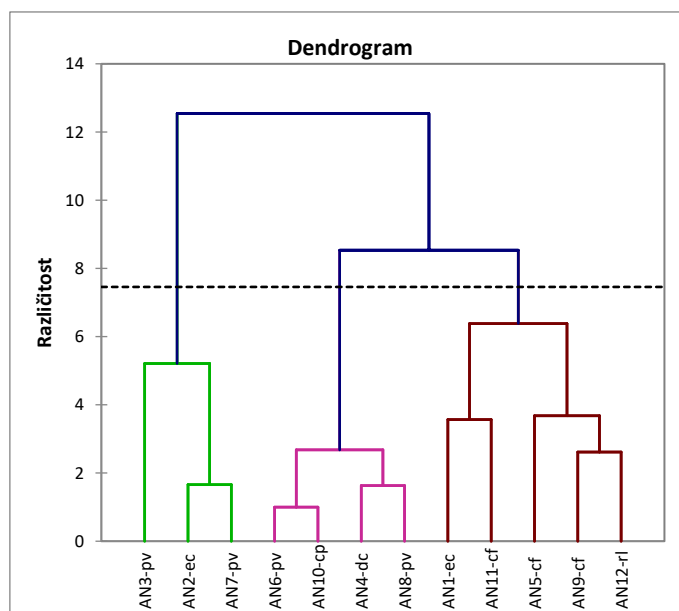
Na Slici 4.7 prikazan je dendrogram klaster analize za *A. absinthium*, koji pokazuje suštinski isto što i PCA dijagram. Na nivou različitosti od 1, izolovan je klaster sa dva uzorka sa pv tipa zemljišta (AB7 i AB12), dok je preostali uzorak iz istog tipa zemljišta (AB10) bio u zasebnom klasteru.



Slika 4.7 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. absinthium* (AB) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenata utvrđenih GC/MS-om

4.1.2.2.3. Klaster analiza *A. annua* po komponentama

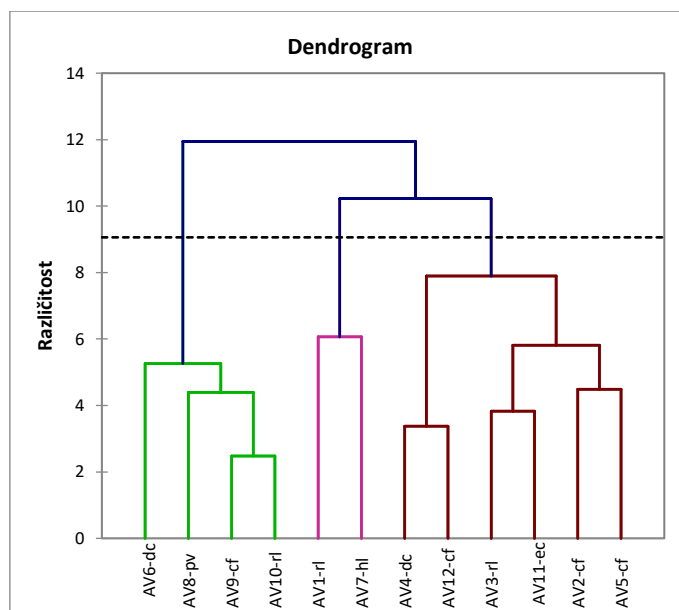
Rezultati AHC analize za uzorke *A. annua* prikazani su na Slici 4.8 i pokazuju odlično grupisanje uzoraka sa cf tipa zemljišta i zanimljivo razdvajanje četiri uzorka sa pv zemljišta u dva klastera (svaki klaster sadrži dva uzorka).



Slika 4.8 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. annua* (AN) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenta utvrđenih GC/MS-om

4.1.2.2.4. Klaster analiza *A. vulgaris* po komponentama

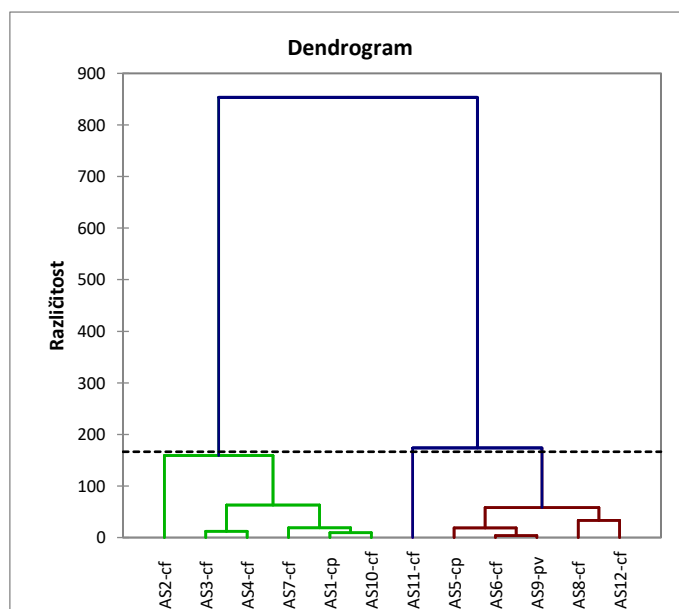
Dendrogram klaster analize uzoraka *A. vulgaris* prikazan na Slici 4.9 pokazao je dobre korelacije između cf tipa zemljišta i sastava EO, uočava se da su tri od četiri uzorka u jednom klasteru. Za ostale uzorke nije uočena pravilnost u grupisanju.



Slika 4.9 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. vulgaris* (AV) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenata utvrđenih GC/MS-om

4.1.2.2.5. Klaster analiza *A. scoparia* po komponentama

Na Slici 4.10 prikazan je dendrogram klaster analize za *A. scoparia*. U slučaju *A. scoparia* uočava se da su uzorci sa cp zemljišta u različitim klasterima, kao i da je jedan od uzoraka u istom klasteru sa uzorkom sa pv zemljišta.



Slika 4.10 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. scoparia* (AS) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata komponenata utvrđenih GC/MS-om

4.1.2.3. Analiza varijanse po komponentama

Rezultati ANOVA testova izvedenih na normalno raspoređenim komponentama iz originalnog skupa podataka bez autlajera određenih za svaku biljnu vrstu posebno dostupni su u nastavku. Oni pokazuju da postoje značajne statističke razlike utvrđene korišćenjem najmanje jednog od četiri testa za analizu razlika između zadatih kategorija sa intervalom poverenja od 95% (Tukey test, Fisher test, Bonferroni test, ili/i Dunnett test) u sadržaju određenih jedinjenja, a u odnosu na tip zemljišta.

Kada je ANOVA primenjena na vrednosti za biljne uzorke *A. alba*, ustanovljeno je da samo *trans*-tujon ima statistički značaj.

U slučaju uzoraka *A. absinthium*, analizom varijansi je ustanovljeno da za ispitivanu biljnu vrstu dvanaest komponenata: (*E*)-2-heksenal, *n*-heksanol, α -pinen, 1-okten-3-ol, α -terpinen, β -felandren, γ -terpinen, linalol, α -terpineol, nerol, neral i geraniol ima statistički značaj.

Kada je ANOVA primenjena na vrednosti uzoraka *A. annua* osam komponenata (etil-2-metilbutirat; *o*-cimen; kamfor; α -humulen; selina-3,11-dien-6- α -ol; kariofila-4(12),8(13)-dien-5- α -ol; selin-11-en-4- α -ol; germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol) etarskog ulja pokazalo je statističku značajnost.

Primenom ANOVA statističkog alata na vrednosti analiziranih uzoraka, ustanovljeno je da za ispitivanu biljnu vrstu *A. vulgaris* postoji osam komponenata (α -pinen, sabinen, mircen, *cis*-tujon, *trans*-tujon, *izo*-3-tujanol, *trans*-pinokarveol, germakren D) koje imaju statistički značaj.

Kada je analiza varijansi primenjena na vrednosti normalizovanih uzoraka (bez autlajera), utvrđeno je da su za ispitivanu biljnu vrstu *A. scoparia* samo dve komponente (mircen i 1,8-cineol) pokazale statističku značajnost.

4.1.2.4. Multivarijantna analiza varijanse po komponentama

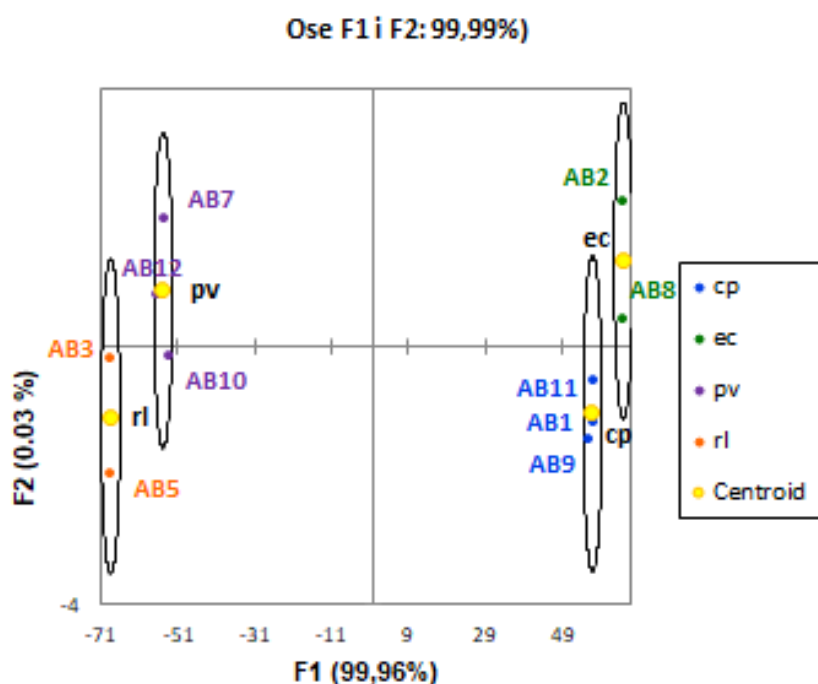
Kao zavisne varijable za multivarijantnu analizu varijanse korišćene su komponente sa procentom od pet ili više u najmanje jednom uzorku, dok je tip zemljišta uzet kao varijabla za grupisanje/objašnjanje. Wilks' Lambda vrednost je pokazala značajnu zavisnost od ispitivane vrste *A. absinthium*.

Za ostale biljne vrste MANOVA je pokazala da nema statistički značajnog uticaja tipa zemljišta na odabrane zavisne varijable.

4.1.2.5. Diskriminantna analiza po komponentama

Za diskriminantnu analizu korišćen je samo skup podataka za *A. absinthium*, jer je MANOVA pokazala da postoji statistički značajan uticaj tipa zemljišta na procenite identifikovanih jedinjenja ove biljne vrste. Ako se tip zemljišta nije ponavljao među uzorcima, takav uzorak je izostavljen. Rezultati diskriminantne analize podržali su rezultate multivarijantne analize.

Plot dobijen nakon diskriminantne analize za uzorke *A. absinthium*, koji pokazuje grupisanje uzoraka na osnovu tipova zemljišta, prikazan je na Slici 4.11, a klasifikacija uzoraka je bila veoma dobra, sa četiri dobro razdvojena centroida. Matrica konfuzije za uzorak za obuku bila je 100% tačna, dok je matrica konfuzije za rezultate unakrsne validacije bila 60% tačna, sa najmanjim procentom za calcaric phaeozem (cp). Ovo nam kazuje da je verovatnoća da bi novoubačeni uzorak bio grupisan sa uzorcima sa istog tipa tla 60%.



Slika 4.11 Diferencijacija uzoraka *A. absinthium* (AB) sa različitih tipova zemljišta na osnovu procenata pojedinih komponenta određenih GC/MS

4.1.3. Hemometrijska analiza klasa jedinjenja etarskih ulja

Pored pokušaja da se nađe veza između hemjskog sastava etarskog ulja i tipa tla sa koga su *Artemisia* uzorci prikupljeni, urađena je i statistička analiza korelisanja klasa jedinjenja određenih GC/MS tehnikom sa tipom zemljišta korišćenjem istih statističkih alata kao i za komponente etarskog ulja.

Sva statistička istraživanja su obavljena sa istim skupovima podataka kao za PCA, bez transformacije (funkcija *Sin* je urađena samo za skup podataka za *A. scoparia*) i sa izostavljenim autlajerima. Sedam klasa jedinjenja korišćeno je za statističku analizu *A. alba* i *A. annua* (monoterpeni ugljovodonici - M, oksigenovani monoterpeni - MO, seskviterpeni ugljovodonici - S, oksigenovani seskviterpeni - SO, derivati fenilpropanoidi - PP, derivati ugljene kiseline - CD, i ostalo - O), dok je za matricu *A. scoparia*, pored pomenutih sedam klasa jedinjenja, korišćena još jedna klasa (fenildiacetileni - P). Za *A. absinthium* je u skupu podataka bilo šest klasa jedinjenja (M, MO, S, SO, CD i O), dok je za *A. vulgaris* razmatrano pet klasa (M, MO, S, SO i PP).

4.1.3.1. Analiza glavnih komponentata po klasama jedinjenja

Kolmogorov-Smirnov test je korišćen za proveru normalne distribucije originalnog skupa podataka u vezi sa procentima klasa jedinjenja za svaku biljku *Artemisia* posebno. Svi originalni skupovi podataka, osim *A. scoparia*, bili su normalno raspoređeni, tako da su originalne matrice korišćene za dalja ispitivanja. Funkcija *Sin* sa podacima *A. scoparia* pokazala je normalnu distribuciju, pa je u statističkim analizama korišćena transformisana matrica za *A. scoparia*. Grubbs-ov test je pokazao autlajere za sve skupove podataka, te su oni izostavljeni iz matrice podataka i izvršena je PCA analiza za svaku vrstu *Artemisia* posebno.

4.1.3.1.1. Analiza glavnih komponentata *A. alba* po klasama jedinjenja

Za *A. alba* postojale su dve svojstvene vrednosti veće od 1 (3,2132; 2,2287), što objašnjava 77,7% varijabilnosti. Zbog nezadovoljavajuće vrednosti, korelaciona matrica je podvrgnuta Varimax-ovoj rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju (Tabela 4.16). Tri faktora su dala više od 95% kumulativne varijabilnosti, pa su korišćena za tumačenje dobijenih rezultata. S i SO su najviše doprineli prvom faktoru sa veoma visokim pozitivnim vrednostima. Nasuprot tome, M i MO su dali najveći doprinos sa veoma visokim negativnim

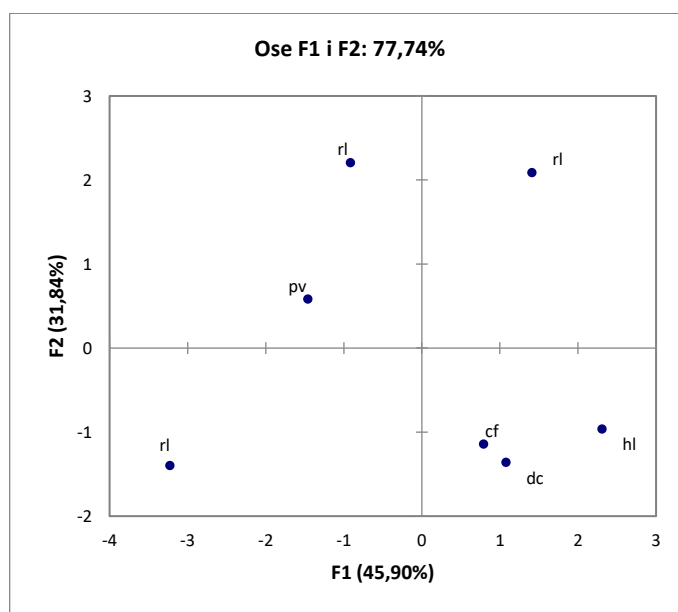
vrednostima. Dakle, ako procenti S i SO rastu, procenti M i MO se smanjuju, i obrnuto. Drugi faktor je pokazao da njega najbolje opisuju dve varijable: O i PP i to obe sa visokim pozitivnim vrednostima opterećenja (0,9872 i 0,9749, redom). Najveći doprinos trećem faktoru daje CD (0,9479).

Tabela 4.16 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. alba* u pogledu klasa jedinjenja

	D1	D2	D3	D4	D5
M	-0,9382	-0,1177	0,1259	0,2999	0,0102
MO	-0,9932	-0,0972	0,0506	-0,0398	-0,0049
S	0,9929	-0,0953	0,0436	0,0323	0,0452
SO	0,9711	0,0942	-0,1922	0,0960	-0,0446
PP	0,1271	0,9749	0,1781	-0,0336	0,0234
CD	-0,1331	0,2892	0,9479	0,0075	0,0019
O	-0,0031	0,9872	0,1561	0,0184	-0,0260

ugljovodonični monoterpeni (M), oksigenovani monoterpeni (MO), ugljovodonični seskviterpeni (S), oksigenovani seskviterpeni (SO), fenilpropanoidi (PP), derivati karboksilnih kiselina (CD), drugo (O)

Biplot za *A. alba* je pokazao da se uzorci sa rl zemljišta nalaze u tri različita kvadranta. Negativni kvadrant odredjen je prisustvom S i SO, dok je, sa druge strane, pozitivni kvadrant odredjen prisustvom M (Slika 4.12).



Slika 4.12 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. alba* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.1.2. Analiza glavnih komponenata *A. absinthium* po klasama jedinjenja

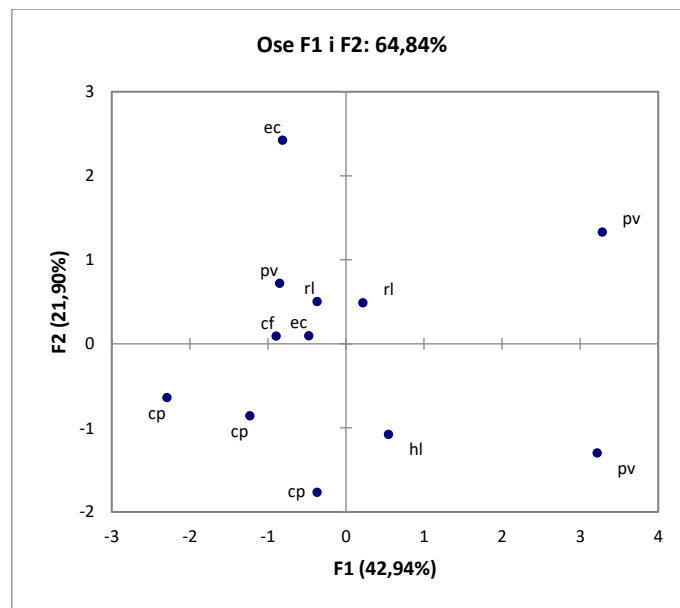
Za *A. absinthium* postoje dve svojstvene vrednosti veće od 1 (2,5766 i 1,3139), što objašnjava 64,8% varijabilnosti. Zbog veoma nezadovoljavajuće vrednosti, korelaciona matrica je podvrgnuta rotaciji uz normalizaciju (Tabela 4.17). Pet faktora je dalo više od 95% kumulativne varijabilnosti, te su ti faktori korišćeni za pojašnjavanje rezultata. Najveći doprinos prvom faktoru dali su M (0,9286) i MO (-0,6451), što znači da kada je M visoko, vrednost za MO je niska, i obrnuto. Što se tiče drugog faktora, najveći doprinosilac je CD (0,9318). Treći faktor sastoji se od jednog glavnog doprinosioca O (0,9278). SO daje glavni doprinos četvrtom faktoru (0,8387), dok je za objašnjavanje petog faktora najznačajniji S (0,8705).

Tabela 4.17 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. absinthium* u pogledu klasa jedinjenja

	D1	D2	D3	D4	D5
M	0,9286	-0,0407	0,2447	0,2434	0,1300
MO	-0,6451	0,1578	-0,3959	-0,5388	-0,3346
S	0,1959	-0,3743	0,1344	0,2137	0,8705
SO	0,3507	-0,2642	0,2421	0,8387	0,2125
CD	-0,0561	0,9318	0,0728	-0,1924	-0,2936
O	0,2801	0,0757	0,9278	0,2076	0,1088

ugljovodonični monoterpeni (M), oksigenovani monoterpeni (MO), ugljovodonični seskviterpeni (S), oksigenovani seskviterpeni (SO), derivati karboksilnih kiselina (CD), drugo (O)

Biplot za *A. absinthium* razlikuje uzorke sa cp zemljišta od drugih uzoraka, a isto je uočeno i za uzorke sa ec. Uzorci sa cp su dobro odvojeni pretežno zbog procenta S i SO (Slika 4.13).



Slika 4.13 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. absinthium* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.1.3. Analiza glavnih komponenta *A. annua* po klasama jedinjenja

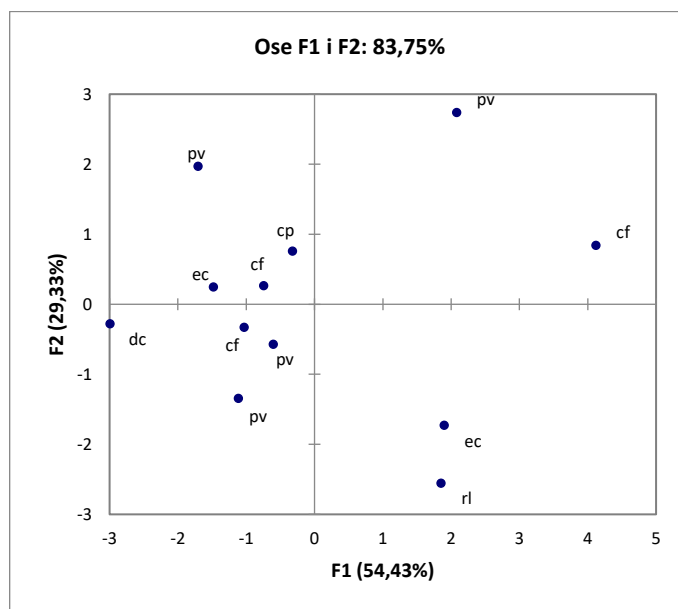
Analiza glavnih komponenta za biljnu vrstu *A. annua* dala je dve svojstvene vrednosti veće od 1 (3,8099; 2,0528), što objašnjava 83,8% varijabilnosti. I u ovom slučaju je korelaciona matrica podvrgnuta rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju (Tabela 4.18). Nakon obrade, tri faktora su dala više od 95% kumulativne varijabilnosti, pa su korišćena za objašnjenje rezultata. SO, O i S (0,9783; 0,9242, 0,7904, redom) su najviše doprineli prvom faktoru. Drugi faktor je pokazao da su tri varijable M, CD i MO dale najveći doprinos: M i CD sa visokim pozitivnim vrednostima opterećenja (0,9294; 0,8973, redom) i MO sa umerenom negativnom vrednošću opterećenja (-0,7793), implicirajući da kada su M i CD visoki, vrednost za MO je niska, i obrnuto. Najznačajniji za komentarisanje trećeg faktora je PP (0,6926). Pearson-ova korelaciona matrica za *A. annua* pokazala je najbolju korelaciju između M i MO (-0,9284).

Tabela 4.18 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. annua* u pogledu klasa jedinjenja

	D1	D2	D3	D4	D5
M	0,3124	0,9294	0,1651	0,1063	0,0082
MO	-0,5520	-0,7793	-0,2926	-0,0450	-0,0189
S	0,7904	0,2756	0,5395	-0,0531	0,0734
SO	0,9783	0,0548	0,1908	-0,0540	-0,0221
PP	0,7135	-0,0801	0,6926	0,0659	-0,0211
CD	-0,3038	0,8973	-0,2910	-0,1333	-0,0030
O	0,9242	0,1853	0,2608	0,2079	0,0184

ugljovodonični monoterpeni (M), oksigenovani monoterpeni (MO), ugljovodonični seskviterpeni (S), oksigenovani seskviterpeni (SO), fenilpropanoidi (PP), derivati karboksilnih kiselina (CD), drugo (O)

Na biplotu za *A. annua* uočava se veoma slabo grupisanje uzoraka sa istog tipa zemljišta. Dva uzorka od četiri sa pv tla nalaze se u negativnom kvadrantu biplota, dok se u pozitivnom kvadrantu nalazi usamljeni uzorak sa pv zemljišta, a na strani biplota gde je x-osa negativna, a y-osa pozitivna nalazi se četvrti pv uzorak. Primetno je da su dva uzorka sa pv zemljišta grupisana po procentu MO, dok je pv iz pozitivnog kvadranta obrnuto proporcionalan procentu MO, tj. određen je procentom M. Slično je i sa uzorcima sa ec tipa tla, položaj uzorka iz jednog kvadranta je determinisan procentom PP, dok je položaj drugog obrnuto proporcionalan procentu PP (Slika 4.14).



Slika 4.14 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. annua* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.1.4. Analiza glavnih komponenata *A. vulgaris* po klasama jedinjenja

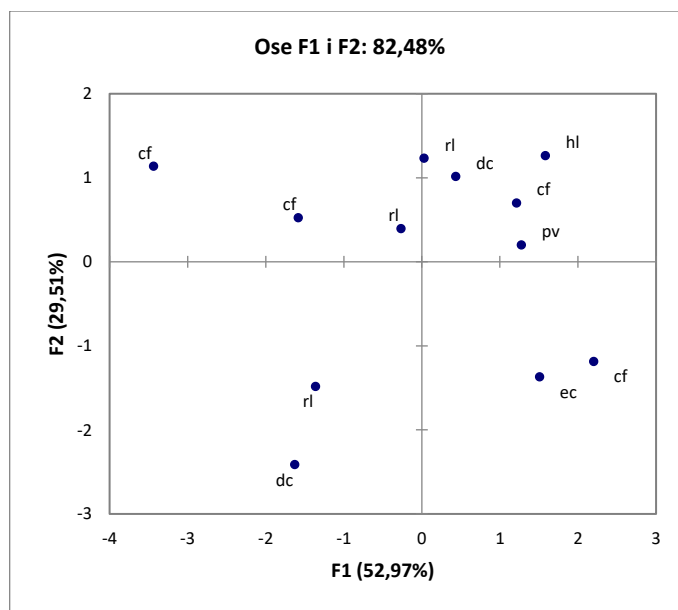
Kada su podaci GC/MS analize klasa jedinjenja etarskog ulja *A. vulgaris* iskorišćeni za PCA dobijene su dve svojstvene vrednosti veće od 1 (2,6486; 1,4753), što objašnjava 82,5% varijabilnosti, a nakon rotacije uz normalizaciju tri faktora su dala više od 95% kumulativne varijabilnosti (Tabela 4.19). Najveći doprinos prvom faktoru daju SO sa visokom pozitivnom vrednošću (0,9067) i MO sa negativnom vrednošću (-0,8701), pa kada je SO visok, vrednost za MO je niska, i obrnuto. Drugi faktor najbolje opisuju PP (0,9920) i S (0,7415), dok je za razumevanje trećeg faktora najznačajniji M (0,9213). Pearson-ova korelaciona matrica za *A. vulgaris* pokazala je najbolju korelaciju između MO i SO (-0,8592).

Tabela 4.19 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. vulgaris* u pogledu klasa jedinjenja

	D1	D2	D3	D4
M	-0,3868	-0,0386	0,9213	-0,0122
MO	-0,8701	-0,4086	0,2724	-0,0421
S	0,5601	0,7415	-0,3519	0,1124
SO	0,9067	0,0872	-0,4124	-0,0153
PP	0,1149	0,9920	0,0478	-0,0216

ugljovodonični monoterpeni (M), oksigenovani monoterpeni (MO), ugljovodonični seskviterpeni (S), oksigenovani seskviterpeni (SO), fenilpropanoidi (PP)

Na biplotu za *A. vulgaris* se mogu uočiti veoma slabo grupisani uzorci sa istog tipa zemljišta. Dva uzorka od četiri sa cf tla nalaze se na strani biplota gde je x-osa negativna, a y-osa pozitivna, nasuprot njima nalazi se jedan uzorak sa cf, a u pozitivnom kvadrantu grafikona je četvrti uzorak. Primetno je da su dva uzorka sa cf zemljišta grupisana po procentu S. Takođe, može se videti da su uzorci sa rl zemljišta veoma statistički bliski, a da je blizina određena procentom PP (Slika 4.15).



Slika 4.15 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. vulgaris* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.1.5. Analiza glavnih komponenta *A. scoparia* po klasama jedinjenja

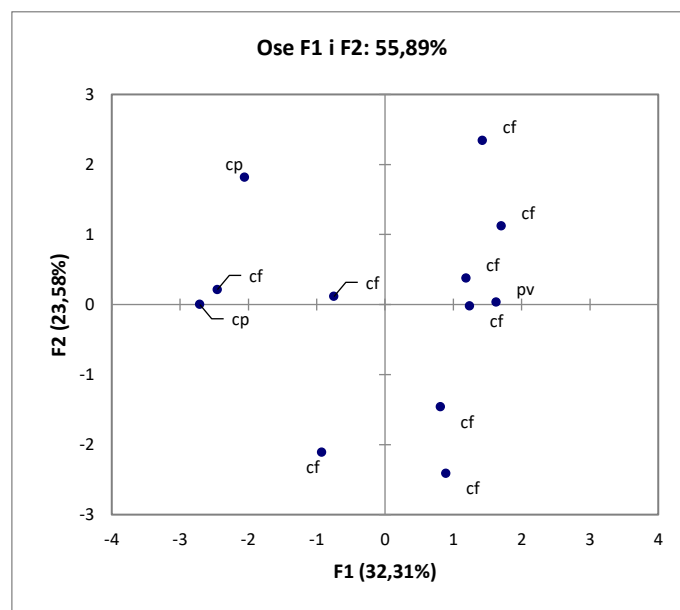
Analiza glavnih komponenta za *A. scoparia* dala je četiri svojstvene vrednosti veće od 1 (2,5847; 1,8863; 1,5821; 1,0286), što objašnjava 88,5% varijabilnosti. Rotacija korelacione matrice uz normalizaciju je i sa ovim setom podataka bila neophodna, a nakon rotacije, četiri faktora su dala više od 95% kumulativne varijabilnosti, pa su korišćena za pojašnjavanje rezultata (Tabela 4.20). Glavne klase jedinjenja koje doprinose prvom faktoru su MO (0,9632), M (0,7929) i S (-0,7614), što pokazuje da ako je S visok, vrednosti MO i M su niske, i obrnuto. Za tumačenje drugog faktora najveći značaj ima P (0,9131). Za treći faktor, glavni doprinos je daje O sa visokom pozitivnom vrednošću (0,9469), dok PP doprinosi relativno visokom negativnom vrednošću (-0,7706). Prema tome, ako je više O prisutno u uzorku, to je vrednost za PP niža, i obrnuto. Što se tiče četvrtog faktora, glavni doprinosilac je SO (0,9644). Pearson-ova korelaciona matrica za *A. scoparia* pokazala je veoma slabu korelaciju između svih procenata klasa jedinjenja.

Tabela 4.20 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. scoparia* u pogledu klasa jedinjenja

	D1	D2	D3	D4	D5
M	0,7929	0,0715	0,3921	0,1277	-0,4334
MO	0,9632	0,0595	-0,1786	0,1187	-0,1471
S	-0,7614	-0,3443	-0,4708	-0,2116	0,1639
SO	0,1838	-0,1822	-0,0513	0,9644	-0,0055
P	0,2062	0,9131	0,1729	-0,2389	0,1906
PP	-0,3526	0,1103	-0,7706	0,0201	0,5168
CD	-0,5047	0,4273	0,0501	0,0012	0,7449
O	-0,0793	0,2607	0,9469	-0,0814	0,1430

ugljovodonični monoterpeni (M), oksigenovani monoterpeni (MO), ugljovodonični seskviterpeni (S), oksigenovani seskviterpeni (SO), fenilacetileni (P), fenilpropanoidi (PP), derivati karboksilnih kiselina (CD), drugo (O)

Na biplotu za *A. scoparia* se uočava rasipanje uzoraka sa cf tipa zemljišta u sve kvadrante, dok su oba uzorka sa cp zemljišta veoma blisko određena procentima M i MO (Slika 4.16).



Slika 4.16 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. scoparia* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

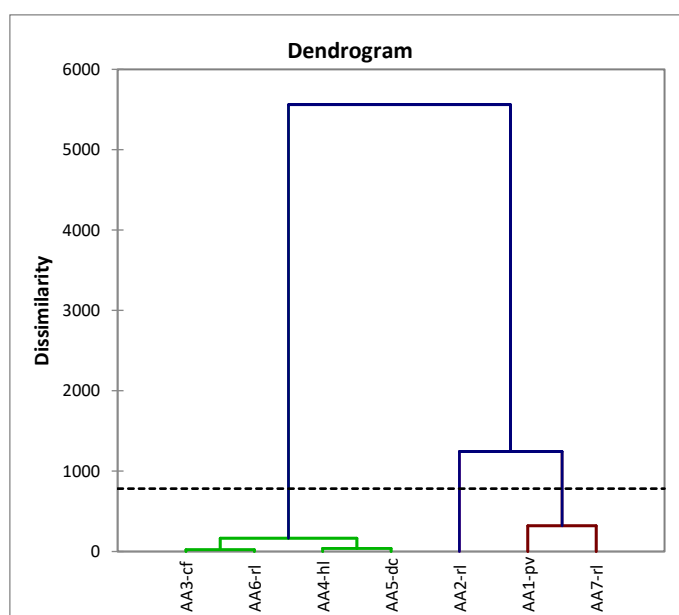
4.1.3.2. Klaster analiza po klasama jedinjenja

Aglomerativno hijerarhijsko grupisanje ispitivanih vrsta *Artemisia* svake zasebno je pokazalo tri glavna klastera za *A. alba*, *A. vulgaris* i *A. scoparia* na osnovu procenta klasa jedinjenja određenih GC/MS, dok je za *A. absinthium* i *A. annua* AHC grupisao četiri glavna klastera. Dendrogrami klaster analize za uzorke svake ispitivane vrste *Artemisia* dati su kao

Slike 4.17-4.21. Za klaster analizu su korišćeni isti skupovi podataka kao za PCA (normalizovani, bez autlajera).

4.1.3.2.1. Klaster analiza *A. alba* po klasama jedinjenja

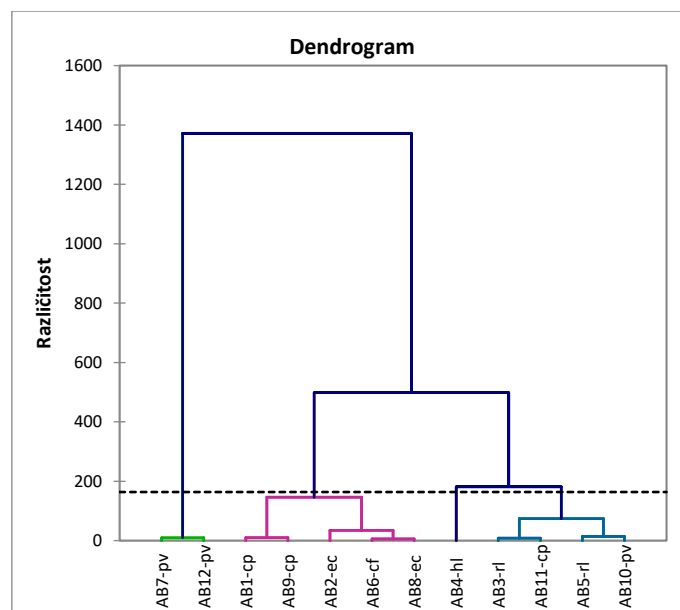
Za klase jedinjenja u uzorcima *A. alba* AHC (Slika 4.17) je otkrila velike nepravilnosti u distribuciji uzoraka, kao i AHC na osnovu procenata koji podržavaju rezultate dobijene PCA analizom. Svi uzorci sa rl zemljišta nalaze se u odvojenim klasterima, što nam pokazuje da ne postoji nikakva korelacija između identifikovanih klasa jedinjenja uzoraka i tipova zemljišta sa kojih su ti uzorci prikupljeni.



Slika 4.17 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. alba* (AA) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.2.2. Klaster analiza *A. absinthium* po klasama jedinjenja

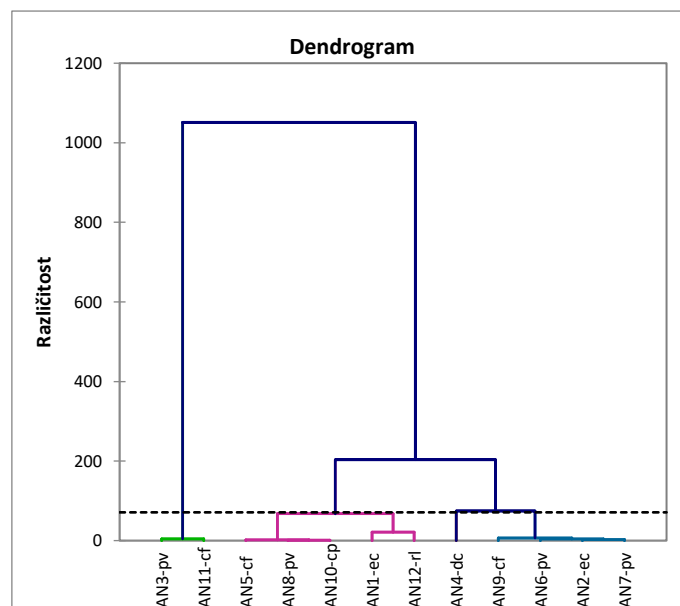
Dendrogram klaster analize za *A. absinthium* pokazao je solidno grupisanje uzoraka (Slika 4.18). Uzorci sa ec i rl tipa zemljišta su grupisani u zasebne klastere na niskom nivou različitosti, kao i dva od ukupno po tri uzorka sa pv i sa cp.



Slika 4.18 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. absinthium* (AB) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.2.3. Klaster analiza *A. annua* po klasama jedinjenja

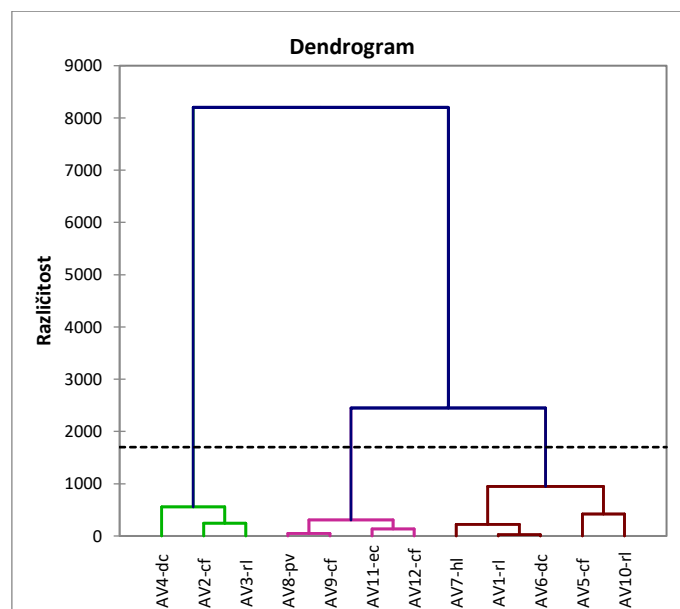
Za uzorke *A. annua* AHC analiza pokazuje slabo grupisanje svih uzoraka i formiranje četiri veoma heterogena klastera (Slika 4.19). Primetno je da je uzorak sa dc zemljišta odvojen od svih ostalih uzoraka.



Slika 4.19 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. annua* (AN) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.2.4. Klaster analiza *A. vulgaris* po klasama jedinjenja

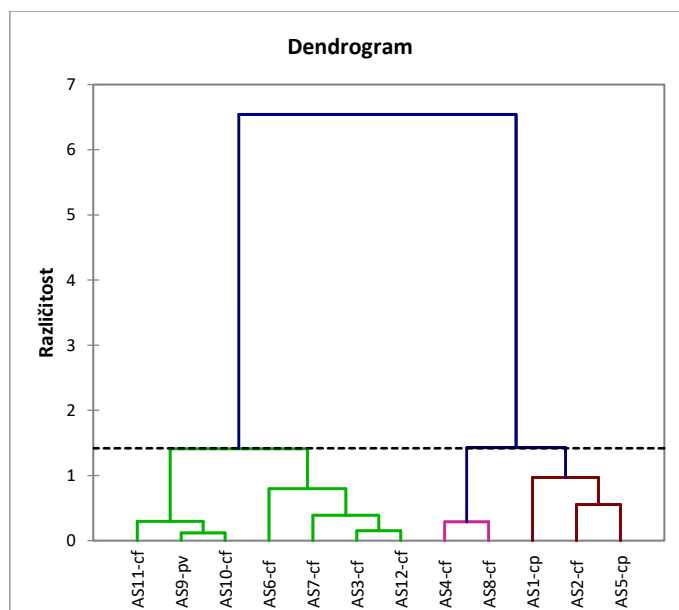
Dendrogram klaster analize uzoraka *A. vulgaris* otkriva određene korelacije između tipa zemljišta i procenta pojedinih klasa jedinjenja; dva od četiri uzorka sa cf tla su u jednom klasteru (Slika 4.20). Slično je uočeno i za uzorke sa rl tipa zemljišta. Za ostale uzorke nije uočena pravilnost u grupisanju.



Slika 4.20 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. vulgaris* (AV) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.2.5. Klaster analiza *A. scoparia* po klasama jedinjenja

Slično grupisanje kao za AHC vidi se i na PCA plotu za ovu biljnu vrstu. U slučaju *A. scoparia*, uzorci sa cp zemljišta su u istom klasteru na nivou različitosti 1, suprotno grupisanju sa pojedinačnim komponentama kao varijablama. Uzorak sa pv zemljišta nije odvojen od uzoraka iz cf zemljišta (Slika 4.21).



Slika 4.21 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. scoparia* (AS) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i procenata klasa jedinjenja utvrđenih GC/MS-om

4.1.3.3. Analiza varijanse po klasama jedinjenja

Rezultati ANOVA testa, obavljenog na normalno raspoređenim vrednostima za klase jedinjenja iz originalnog skupa podataka bez autlajera, su pokazali da postoje značajne statističke razlike ($<0,0001$) u utvrđenim procentima klasa jedinjenja u pogledu tipa zemljišta. Ovo je postignuto korišćenjem najmanje jedne od četiri analize razlika između kategorija sa intervalom poverenja od 95% (Tukey test, Fisher test, Bonferroni test, ili/i Dunnett test).

Kada je ANOVA primenjena na vrednosti za biljne uzorke *A. alba*, ustanovljeno je da nijedna klasa jedinjenja nema statistički značaj.

Primenom ANOVA na vrednosti uzoraka *A. absinthium*, ustanovljeno je da od svih identifikovanih klasa jedinjenja monoterpeni ugljovodonici i oksigenovani monoterpeni imaju statistički značaj.

U slučaju *A. annua* ANOVA otkriva da od svih prisutnih klasa jedinjenja samo oksigenisani seskviterpeni pokazuju statističku značajnost.

Kada se ANOVA primeni na vrednosti uzoraka ispitivane biljne vrste *A. vulgaris* postoji jedna klasa jedinjenja, monoterpeni ugljovodonici, koja ima statistički značaj.

Kada se na vrednosti uzoraka (normalizovane, Sin transformisane, izostavljeni autlajeri) primeni ANOVA, ustanovljava se da za ispitivanu biljnu vrstu *A. scoparia* jedna klasa jedinjenja, oksigenovani monoterpeni, pokazuje statističku značajnost.

4.1.3.4. Multivarijantna analiza varijanse po klasama jedinjenja

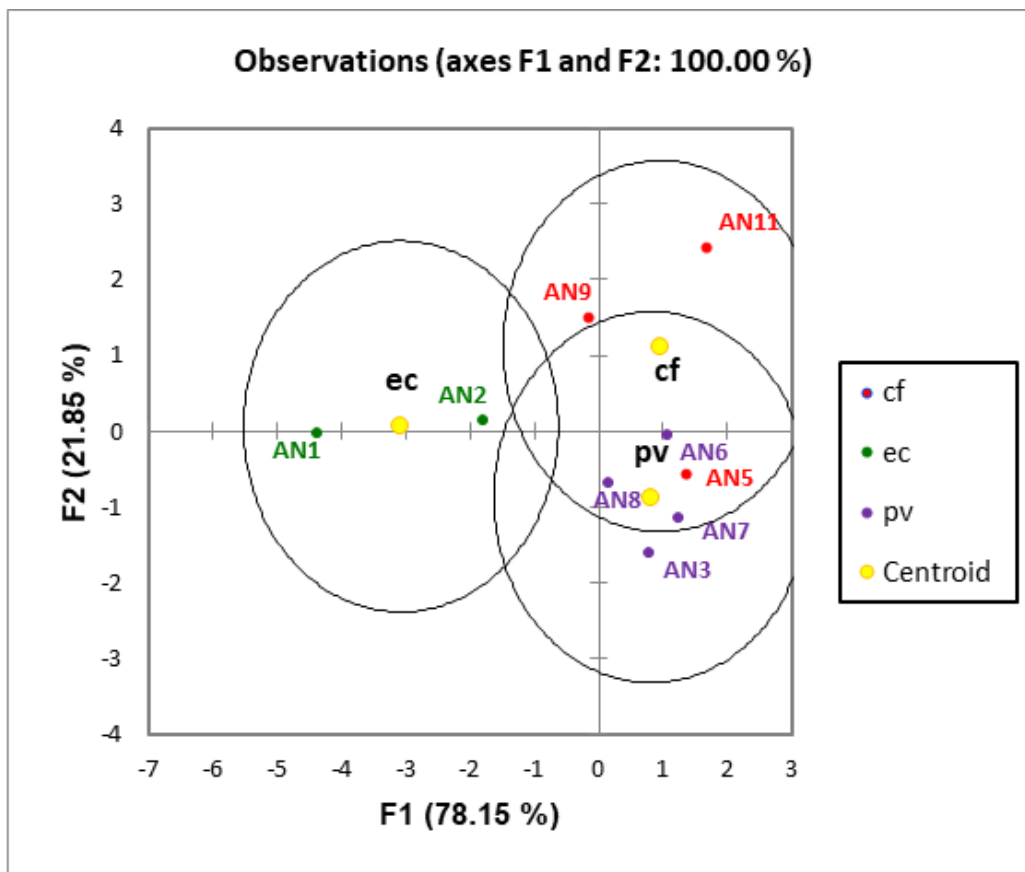
Kao zavisne varijable za multivarijantnu analizu varijanse korišćene su sve identifikovane klase jedinjenja, dok je tip zemljišta uzet kao varijabla za grupisanje/objašnjavanje. Wilks' Lambda vrednost je pokazala značajnu zavisnost od ispitivane vrste *A. annua*.

Da bi se ispitao uticaj tipa zemljišta na zavisne varijable (procente klasa jedinjenja) MANOVA analize su obavljene za uzorke svake vrste *Artemisia* zasebno. Pokazalo se da za *A. annua* postoji značajan uticaj tipa zemljišta na zavisne varijable, dok za *A. alba*, *A. absinthium*, *A. vulgaris* i *A. scoparia* nema značajnog uticaja tipa zemljišta na zavisne promenljive.

4.1.3.5. Diskriminantna analiza

Za diskriminantnu analizu korišćeni su skupovi podataka za *A. annua*, jer je MANOVA pokazala da za tu vrstu postoji značajan uticaj tipa zemljišta na procente klasa jedinjenja. Ako se tip zemljišta nije ponovio među uzorcima biljnih vrsta, takav uzorak je izostavljen.

Rezultati DA za uzorke *A. annua* na osnovu tipa zemljišta prikazani su na Slici 22. Klasifikacija uzoraka je dobra, uočavaju se tri dobro razdvojena centroida. Matrica konfuzije za uzorak za obuku bila je tačna 88,9%, dok je matrica konfuzije za rezultate unakrsne validacije bila tačna 66,7%, sa najmanjim procentom za eutric cambisol (ec).



Slika 4.22 Diferencijacija uzoraka *A. annua* (AN) sa različitih tipova zemljišta na osnovu procenata pojedinih klasa jedinjenja određenih GC/MS

4.2. REZULTATI ANALIZE HEMIJSKOG SASTAVA METANOLNIH EKSTRAKATA ODABRANIH VRSTA *ARTEMISIA*

Za ovo istraživanje korišćena su dva uzorka *A. alba* i po dvanaest uzoraka biljnih vrsta: *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia*. Uzorci su prikupljeni sa različitih lokaliteta i vršeno je upoređivanje sastava metanolnih ekstrakata tih uzoraka. Pomoću HPLC-a je identifikovano i kvantifikovano ukupno četrnaest fenolnih kiselina i flavonoida, koje pripadaju sledećim klasama jedinjenja: hidroksibenzojeve kiseline, hidroksicimetne kiseline, flavonoli, flavoni i flavanoni, a same komponente su *p*-hidroksibenzoeva kiselina, vanilinska kiselina, hlorogenska kiselina, *p*-kumarinska kiselina, ferulinska kiselina, cinarin, rutin, apigenin-glikozid, rozmarinska kiselina, kvercetin, luteolin, naringenin, kempferol i apigenin.

4.2.1. Hemijska analiza sadržaja komponenata metanolnih ekstrakata

Kod *A. alba* prinos ekstrakta biljke sakupljene u Rosomaču je veći (9,6%) od prinosa ekstrakta biljke iz Mojinaca (5,9%), pri čemu je broj identifikovanih komponenata za EAA6 jedanaest, a za EAA7 deset, kao što je i prikazano u Tabeli 4.21.

Apigenin-glikozid i rozmarinska kiselina su najzastupljeniji fenolni sastojci u ekstraktu EAA6 (5,36 i 3,29 mg/g suvog ekstrakta, redom), dok su u ekstraktu EAA7 dominantna jedinjenja rozmarinska kiselina i hlorogenska kiselina (22,0 i 18,6 mg/g suvog ekstrakta, redom). Flavonoidna jedinjenja pronađena u oba uzorka su: rutin, apigenin-glukozid, kvercetin, luteolin, kempferol i apigenin, dok su detektovane fenolne kiseline: hlorogenska kiselina, *p*-kumarinska kiselina, cinarin i rozmarinska kiselina. Jedina uočena kvalitativna razlika se odnosi na prisustvo vanilinske kiseline, koja je prisutna samo u ekstraktu EAA6. Ukupne količine flavonoida u EAA6 i EAA7 su 10,3 i 25,7 mg/g suvog ekstrakta, redom, dok sadržaj fenolnih kiselina u uzorku EAA6 iznosi 9,83 mg/g suvog ekstrakta, a u uzorku EAA7 61,8 mg/g suvog ekstrakta. Uočava se izvesna pravilnost u odnosima fenolnih kiselina u ova dva uzorka EAA7/EAA6. Odnos između EAA7 i EAA6 za rozmarinsku kiselinu, hlorogensku kiselinu, cinarin i *p*-kumarinsku kiselinu je od 6,69 do 8,39. U uzorku EAA7 ima 17,3 puta više rutina nego u uzorku EAA6, dok je odnos ova dva uzorka (EAA7/EAA6) za apigenin-glikozid 0,60. Uočava se da je ekstrakt EAA7 bogatiji flavonoidnim sastojcima i fenolnim kiselinama.

Fenolni profil ekstrakta *A. alba* je ranije objavljen i uočena je značajna sličnost sa rezultatima prikazanim u ovoj doktorskoj disertaciji. Istraživanja na severoistoku Italije su pokazala da su fenolna jedinjenja etanolnog ekstrakta biljke sa ove teritorije bila hlorogenska

kiselina, rutin, kempferol, koji su takođe bili prisutni u našim uzorcima, kao i kvercetin 3-*O*-glukozid, izoramnetin 3-*O*-rutinozid, kempferol 3-*O*-glukopiranozid, izoramnetin 3-*O*-glukopiranozid, kvercetin diheksozid, izoramnetin diheksozid i izoramnetin (Peron i sar., 2017). Fenolni sastojci metanolnog ekstrakta *A. alba* iz Bugarske, koji su bili prisutni u našim uzorcima, bili su hlorogenska kiselina, rutin, apigenin-glukozid, luteolin i apigenin (Trendafilova i sar., 2018). Hlorogenska kiselina, rutin, luteolin i apigenin pronađeni su i u etanolnom ekstraktu *A. alba* iz Srbije (Đorđević i sar., 2013).

Pregled identifikovanih i kvantifikovanih jedinjenja dat je u Tabeli 4.21. Svih četrnaest komponenata identifikovano je samo u uzorcima *A. annua*, dok u metanolnom ekstraktu *A. vulgaris* nema *p*-hidroksibenzoeve kiseline, u ekstraktima *A. absinthium* nije identifikovan luteolin i ni u jednom uzorku *A. scoparia* nije detektovana vanilinska kiselina.

U deset uzoraka *A. annua*, kao i u šest uzoraka *A. absinthium*, apigenin je najzastupljenije jedinjenje. Nasuprot tome, hlorogenska kiselina je jedinjenje koje je u najvećem procentu prisutno u jednom uzorku *A. vulgaris* i jednom uzorku *A. absinthium*. Cinarin je komponenta koja je u najvećoj količini prisutna u četiri uzorka *A. vulgaris* i dva uzorka *A. absinthium*, a naringenin u pet uzoraka *A. vulgaris*.

Najdominantnije jedinjenje u jedanaest uzoraka *A. scoparia* je apigenin-glikozid. Dalje, prosečna količina apigenin-glikozida iz svih uzoraka *A. scoparia* je višestruko veća u poređenju sa količinom u drugim ispitivanim uzorcima. Generalno, isti zaključak se može izvući i za neka druga identifikovana jedinjenja poput *p*-hidroksibenzoeve kiseline, hlorogenske kiseline, *p*-kumarinske kiseline, ferulinske kiseline, cinarina, rutina, rozmarinske kiseline i kvercetina. Ovo jedino ne važi za vanilinsku kiselinu, jer, kao što je već pomenuto, ona uopšte nije detektovana u uzorcima *A. scoparia*.

U pogledu prosečnih vrednosti pojedinačnih komponenata, *A. vulgaris* sadrži najveće prosečne količine vanilinske kiseline i naringenina, dok je *A. annua* bogata kempferolom i apigeninom.

Tabela 4.21. Količina flavonola, flavona, flavanona, hidroksibenzoeve kiseline i hidroksicimetnih kiselina u metanolnim ekstraktima (mg/g mase suvog ekstrakta) odabranih vrsta *Artemisia* dobijenih HPLC

Komp.\ Uzorak	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Σ	Prinos %
EAA6	0,00	1,29	2,66	0,51	0,00	2,08	0,85	5,36	3,29	1,91	0,75	0,00	0,82	0,60	20,1	5,90
EAA7	0,00	0,00	18,6	4,28	0,00	16,9	14,7	3,24	22,0	5,11	0,77	0,00	0,66	1,17	87,4	9,60
EAB1	0,00	0,42	3,53	0,10	0,03	6,08	1,05	5,53	4,08	0,15	0,00	0,21	0,08	1,57	22,8	9,87
EAB2	0,00	0,00	0,00	0,06	0,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,03	1,80	1,99	8,93

Rezultati i diskusija

EAB3	0,12	0,00	0,17	0,06	0,04	0,26	0,00	0,08	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,19	0,97	7,62
EAB4	0,06	0,21	0,11	0,19	0,11	0,10	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,04	0,26	1,12	3,13
EAB5	0,17	0,11	0,55	0,21	0,05	0,03	0,00	0,04	0,00	0,06	0,00	0,00	0,06	0,06	1,33	3,80
EAB6	0,26	0,02	0,16	0,08	0,03	0,43	0,15	0,11	0,00	0,04	0,00	0,00	0,08	1,84	3,19	8,20
EAB7	0,09	0,00	0,26	0,12	0,04	0,28	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,07	1,99	2,90	6,27
EAB8	0,13	0,00	0,60	0,00	0,00	1,18	0,11	0,09	0,94	0,06	0,00	0,25	0,03	1,55	4,94	4,76
EAB9	0,06	0,00	0,24	0,12	0,00	0,30	0,00	0,00	0,85	0,02	0,00	0,00	0,02	0,13	1,74	4,32
EAB10	0,12	0,00	0,51	0,04	0,22	0,82	0,08	0,00	2,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,75	5,55
EAB11	0,00	0,00	0,06	0,16	0,00	0,10	0,00	0,00	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,04	6,24
EAB12	0,07	0,00	0,00	0,25	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,02	2,56	2,93	3,68
EAN1	0,00	0,10	0,10	0,02	0,28	0,13	0,65	0,00	0,11	0,15	0,13	0,13	4,55	22,2	28,6	4,51
EAN2	0,00	1,49	10,1	0,25	0,17	9,05	8,12	2,00	8,84	0,57	0,22	0,24	3,20	8,50	52,7	6,37
EAN3	0,00	1,75	9,53	0,00	0,57	12,3	18,9	9,62	15,1	0,47	0,38	0,45	4,53	14,5	88,1	8,29
EAN4	0,00	0,83	2,90	0,30	0,18	4,52	3,88	1,36	5,74	0,24	0,19	0,31	2,63	8,55	31,6	6,95
EAN5	0,00	0,07	0,18	0,26	1,11	0,09	0,17	0,00	0,89	0,11	0,12	0,52	3,42	11,7	18,6	7,96
EAN6	0,00	0,16	0,20	0,20	1,11	0,13	0,43	0,00	1,51	0,14	0,09	1,72	6,17	15,3	27,2	5,49
EAN7	0,00	0,23	0,09	0,46	2,28	0,16	1,61	0,47	1,61	0,39	0,28	0,30	4,35	15,3	27,5	9,95
EAN8	0,00	0,34	0,44	0,32	1,15	0,44	1,04	1,40	1,27	0,67	0,30	0,61	8,05	23,1	39,1	6,92
EAN9	0,25	0,53	0,60	0,42	1,35	0,00	1,34	0,64	1,70	0,25	0,00	2,04	5,75	20,1	35,0	5,84
EAN10	0,41	0,90	0,49	1,09	0,00	0,00	0,99	0,41	1,95	0,00	0,34	0,00	8,00	22,2	36,8	5,34
EAN11	0,08	0,20	0,37	0,00	0,99	0,00	0,97	0,31	1,19	0,21	0,25	0,00	7,11	26,0	37,7	5,32
EAN12	0,39	0,24	0,26	0,19	1,95	0,00	0,95	0,26	1,59	0,03	0,23	0,00	5,09	15,4	26,6	8,47
EAV1	0,00	0,57	1,39	0,21	0,09	1,49	1,27	0,90	1,39	5,45	0,00	2,56	0,76	0,61	16,7	5,32
EAV2	0,00	1,21	20,8	0,40	0,29	28,1	6,45	6,19	18,7	1,56	0,13	8,46	0,13	0,60	92,9	5,49
EAV3	0,00	2,12	2,01	0,23	0,23	4,33	2,89	2,89	5,30	2,63	0,18	6,24	1,86	0,65	31,5	5,61
EAV4	0,00	3,25	12,0	1,88	0,00	34,2	8,71	2,76	29,6	2,32	0,00	2,43	0,84	0,35	98,3	3,77
EAV5	0,00	1,22	13,6	2,57	0,25	20,9	10,6	5,60	17,1	0,85	0,14	5,33	0,22	0,58	78,9	5,10
EAV6	0,00	0,79	1,63	0,25	0,35	4,11	3,10	1,79	4,79	0,67	0,12	7,35	0,22	0,42	25,6	4,37
EAV7	0,00	0,17	0,21	0,09	0,07	0,05	0,14	0,00	0,12	0,09	0,15	17,8	0,56	0,34	19,8	2,39
EAV8	0,00	0,73	12,1	0,62	0,25	14,8	9,11	2,59	13,9	0,73	0,00	0,90	0,20	0,41	56,3	4,02
EAV9	0,00	0,36	0,30	0,03	0,05	0,35	0,73	0,44	0,64	0,95	0,05	3,40	0,73	0,76	8,78	4,19
EAV10	0,00	0,69	1,23	0,39	0,15	2,23	3,21	0,89	1,95	2,02	0,03	2,32	0,34	0,11	15,6	5,98
EAV11	0,00	0,09	0,06	0,16	0,01	0,06	0,16	0,00	0,08	0,08	0,07	6,77	0,03	0,12	7,69	2,99
EAV12	0,00	0,57	34,7	3,39	0,41	19,0	17,2	2,41	18,1	0,35	0,00	1,43	0,14	0,11	97,9	5,26
EAS1	0,50	0,00	32,6	9,06	0,78	21,0	43,5	116	15,9	1,93	1,27	3,64	3,61	1,87	252	7,02
EAS2	0,69	0,00	15,7	7,31	0,00	10,2	60,2	9,83	22,6	2,75	0,00	5,21	4,97	9,54	149	10,7
EAS3	0,96	0,00	15,3	7,09	0,75	15,4	26,3	87,1	17,1	3,25	0,00	4,22	1,61	4,02	183	7,50
EAS4	0,65	0,00	17,4	3,98	1,46	17,7	60,4	125	14,4	4,87	0,00	1,19	5,06	8,31	260	6,43
EAS5	1,27	0,00	32,5	11,5	1,66	23,8	48,9	164	19,3	6,17	0,00	6,37	4,17	3,67	323	7,29
EAS6	0,79	0,00	12,0	10,3	0,88	9,61	18,2	33,0	12,4	2,06	0,00	3,31	1,20	6,35	110	7,92
EAS7	0,31	0,00	11,2	5,50	0,87	8,69	26,3	72,7	8,54	2,94	0,00	4,85	1,27	2,07	145	7,44
EAS8	0,74	0,00	13,7	5,55	0,93	18,5	24,8	132	11,8	8,09	0,00	5,39	3,37	6,32	231	7,76
EAS9	0,37	0,00	18,6	4,15	1,41	17,0	37,3	152	22,7	5,77	1,67	5,73	2,72	3,44	273	7,94
EAS10	0,57	0,00	12,9	6,68	1,42	18,2	18,4	143	23,1	6,26	1,96	3,08	5,70	7,59	249	6,58
EAS11	0,36	0,00	19,0	6,45	1,13	15,2	32,3	78,6	11,8	3,11	1,19	5,01	2,95	1,65	179	7,21
EAS12	0,33	0,00	32,2	5,74	1,20	21,4	29,1	135	21,2	3,68	2,17	2,62	0,61	2,80	258	6,46

1 *p*-hidroksibenzoeva kiselina; 2 vanilinska kiselina; 3 hlorogenska kiselina; 4 *p*-kumarinska kiselina; 5 ferulinska kiselina; 6 cinarin; 7 rutin; 8 apigenin-glikozid; 9 rozmarinska kiselina; 10 kvercetin; 11 luteolin; 12 naringenin; 13 kempferol; 14 apigenin; Σ-ukupna količina flavonola, flavona, flavanona, hidroksibenzoevih kiselina i hidroksicimetnih kiselina; EAA-metanolni ekstrakt *A. alba*; EAB-metanolni ekstrakt *A. absinthium*; EAN-metanolni ekstrakt *A. annua*; EAV-metanolni ekstrakt *A. vulgaris*; EAS-metanolni ekstrakt *A. scoparia*

4.2.2. Hemometrijska analiza sadržaja komponenata metanolnih ekstrakata

Kako bi se ispitala veza između hemijskog sastava metanolnih ekstrakata utvrđenog primenom HPLC metode i tipa tla određenog po WRB, sa koga su *Artemisia* uzorci prikupljeni (svi izuzev uzoraka *A. alba*), urađen je veći broj, gore pomenutih, statističkih analiza. Sva statistička istraživanja su obavljena sa istim skupovima podataka kao za PCA, nakon normalizacije i sa izostavljenim autlajerima.

4.2.2.1. Analiza glavnih komponenata po komponentama ekstrakata

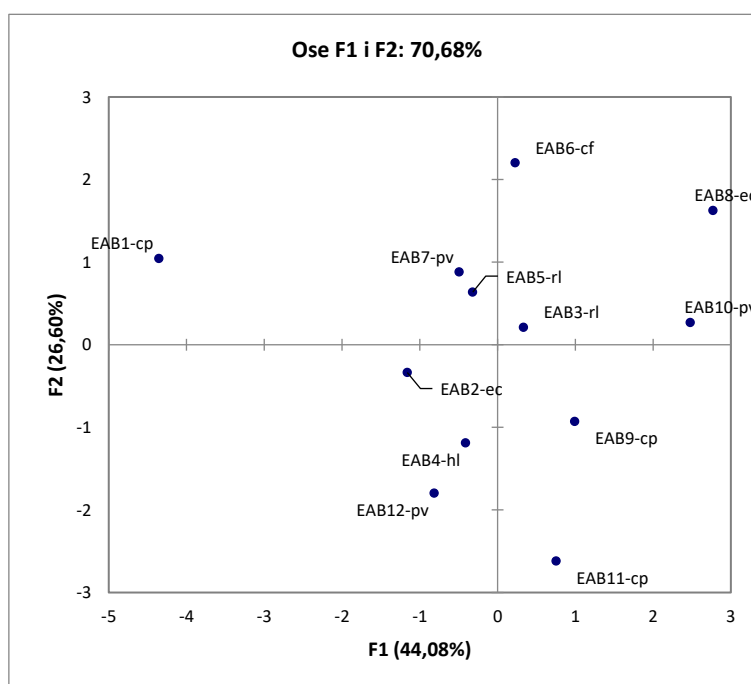
Kolmogorov-Smirnov test je korišćen za proveru normalne distribucije originalnog skupa podataka u vezi sa koncentracijama utvrđenih jedinjenja korišćenjem HPLC-a za svaku biljnu vrstu posebno. Originalni skupovi podataka nisu bili normalno raspoređeni, pa su podaci normalizovani korišćenjem različitih, uobičajenih matematičkih funkcija. Većina podataka sa funkcijom *Sin* je pokazala normalnu distribuciju, te su tako transformisani podaci korišćeni za dalji rad. Grubbs-ov test nije pokazao autlajere, pa je izvršena PCA analiza za svaku vrstu *Artemisia* posebno.

4.2.2.1.1. Analiza glavnih komponenata HPLC profila *A. absinthium*

Analiza glavnih komponenata *A. absinthium* pokazuje tri svojstvene vrednosti veće od 1 (3,0859; 1,8617; 1,1725), što objašnjava 87,4% varijabilnosti. Zbog nezadovoljavajuće vrednosti prema Kaiser-ovom kriterijumu, korelaciona matrica je podvrgnuta Varimax-ovoj rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju (Tabela 4.22). Tri faktora su dala više od 95% kumulativne varijabilnosti, pa su korišćena za objašnjavanje rezultata. Najveći doprinos prvom faktoru dale su rozmarinska kiselina i hlorogenska kiselina sa visokim pozitivnim vrednostima, dok su kempferol i kvercetin davali doprinose sa visokim negativnim vrednostima, što znači da kada su vrednosti rozmarinske kiseline i hlorogenske kiseline visoke, vrednosti za kempferol i kvercetin su niske i obrnuto. Što se tiče drugog faktora, glavni doprinosi su dali cinarin (visoka pozitivna vrednost) i *p*-kumarinska kiselina (visoka negativna vrednost), tako da ako je vrednost cinarina visoka, vrednost *p*-kumarinske kiseline je niska. Treći faktor je sadržao dva glavna faktora: *p*-hidroksibenzojevu kiselinu i hlorogensku kiselinu. Na Slici 4.23 je prikazan PCA plot koji pokazuje korelacije između jedinjenja metanolnih ekstrakata *A. absinthium* kvantifikovanih pomoću HPLC-a i tipova zemljišta klasifikovanih pomoću WRB.

Tabela 4.22 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. absinthium* u pogledu jedinjenja određenih HPLC-om

	D1	D2	D3	D4	D5
<i>p</i> -hidroksibenzojeva kiselina	0,0310	0,2355	0,9707	0,0122	-0,0038
hlorogenska kiselina	0,7021	0,3983	0,5470	-0,1095	0,1930
<i>p</i> -kumarinska kiselina	-0,0099	-0,9780	-0,2082	0,0099	-0,0024
cinarin	0,5761	0,6648	0,4678	-0,0004	0,0628
rozmarinska kiselina	0,9585	0,2465	0,0539	0,0917	0,0734
kvercetin	-0,9524	0,1871	-0,2287	-0,0514	-0,0160
kempferol	-0,9723	-0,1705	0,0509	0,1413	0,0509



Slika 4.23 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. absinthium* (EAB) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om

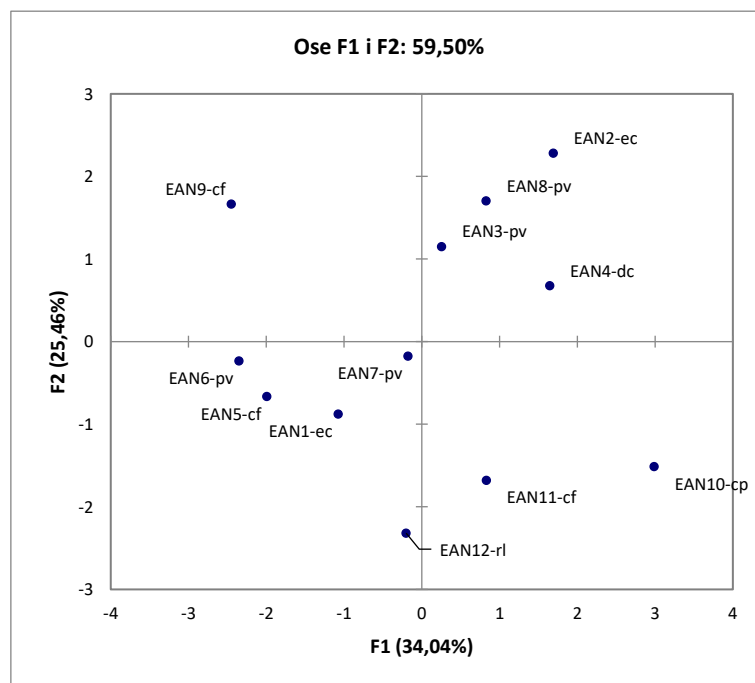
4.2.2.1.2. Analiza glavnih komponenta HPLC profila *A. annua*

Za *A. annua* nakon PCA analize dobijene su tri svojstvene vrednosti veće od 1, što objašnjava 76,3% varijabilnosti. Zbog nezadovoljavajuće vrednosti, korelaciona matrica je podvrgnuta rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju (Tabela 4.23). Nakon rotacije korelacione matrice četiri faktora su dala više od 95% kumulativne varijabilnosti, pa su korišćena za objašnjavanje rezultata. Prvom faktoru najviše su doprinose luteolin, apigenin i naringenin; luteolin i apigenin sa pozitivnim i naringenin sa negativnim vrednostima (najveća koncentracija luteolina i apigenina, najmanja koncentracija naringenina). Drugi faktor je

pokazao da kvercetin od svih komponenata najviše doprinosi i to visokom pozitivnom vrednošću opterećenja. Najveći doprinos trećem faktoru daju apigenin-glikozid i kempferol. Vanilinska kiselina je najviše doprinela četvrtom faktoru sa visokom pozitivnom vrednošću, dok je ferulinska kiselina najviše doprinela visokom negativnom vrednošću (ako su prisutne veće koncentracije vanilinske kiseline, koncentracije ferulinske kiseline su niže). Na Slici 4.24 je prikazan PCA plot koji pokazuje korelacije između jedinjenja metanolnih ekstrakata *A. annua* kvantifikovanih pomoću HPLC-a i tipova zemljišta klasifikovanih pomoću WRB.

Tabela 4.23 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. annua* u pogledu jedinjenja određenih HPLC-om

	D1	D2	D3	D4	D5
vanilinska kiselina	-0,1951	0,2582	0,1320	0,9279	-0,0074
ferulinska kiselina	0,3116	-0,0841	-0,2826	-0,8977	-0,0100
apigenin-glikozid	-0,1179	0,2730	0,8981	0,2757	-0,1654
kvercetin	0,0527	0,9719	0,0564	0,2205	-0,0149
luteolin	-0,8815	0,1683	0,0571	0,4227	0,1049
naringenin	0,8652	0,0142	-0,2251	-0,4182	0,1215
kempferol	-0,4271	-0,2264	0,8188	0,1729	0,2507
apigenin	0,8370	0,3286	-0,4217	0,0512	-0,0537



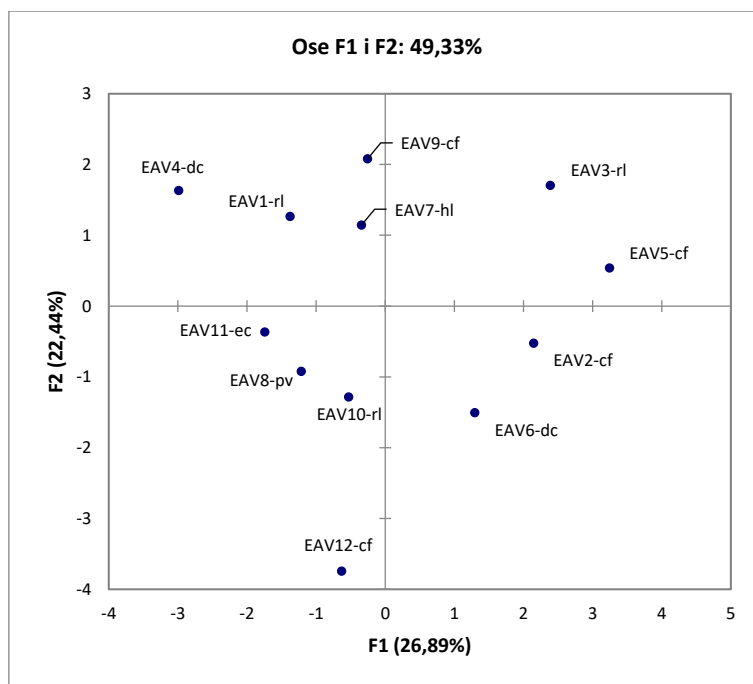
Slika 4.24 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. annua* (EAN) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om

4.2.2.1.3. Analiza glavnih komponenata HPLC profila *A. vulgaris*

Za *A. vulgaris* nakon PCA postoje četiri svojstvene vrednosti veće od 1 (3,2264; 2,6932; 1,8148; 1,6991), što objašnjava 78,6% varijabilnosti. Pierson-ova korelaciona matrica za *A. vulgaris* pokazala je veoma slabe korelacije između svih vrednosti osim hlorogenske i vanilinske kiseline (0,6502), ferulinske kiseline i vanilinske kiseline (0,7498), rutina i ferulinske kiseline (-0,6446) i naringenina i apigenin-glikozida (0,6722). Zbog jako nezadovoljavajuće vrednosti prema Kaiser-ovom kriterijumu, korelaciona matrica je podvrgnuta rotaciji uz normalizaciju (Tabela 4.24). Pet faktora je nakon toga dalo više od 95% kumulativne varijabilnosti. Drugom faktoru sa visokim pozitivnim vrednostima najviše su doprinele ferulinska kiselina i vanilinska kiselina, a sa visokim negativnim vrednostima rutin i kempferol. To znači da ako su prisutne veće koncentracije ferulinske kiseline i vanilinske kiseline, koncentracije rutina i kempferola su niže. Trećem faktoru sa visokim pozitivnim vrednostima najviše su doprineli kvercetin i *p*-kumarinska kiselina. Luteolin je najodgovorniji za četvrti faktor sa umerenom pozitivnom vrednošću, dok mu je cinarin najviše doprineo visokom negativnom vrednošću. Luteolin i apigenin se koriste za objašnjavanje petog faktora, jer mu doprinose svojim visokim pozitivnim vrednostima, dok mu naringenin i apigenin-glikozid najviše doprinese svojim visokim negativnim vrednostima. Dakle, ako su prisutne veće koncentracije luteolina i apigenina, koncentracije naringenina i apigenin-glikozida su niže. Na Slici 4.25 je prikazan PCA plot koji pokazuje korelacije između jedinjenja metanolnih ekstrakata *A. vulgaris* kvantifikovanih pomoću HPLC-a i tipova zemljišta klasifikovanih pomoću WRB.

Tabela 4.24 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. vulgaris* u pogledu jedinjenja određenih HPLC-om

	D1	D2	D3	D4	D5
vanilinska kiselina	0,4092	0,7765	0,1062	0,2140	0,3997
hlorogenska kiselina	0,4948	0,3775	-0,2272	0,3610	0,5798
<i>p</i> -kumarinska kiselina	-0,3301	-0,3646	0,7478	-0,3692	0,1279
ferulinska kiselina	0,2245	0,9053	-0,0029	0,3021	-0,1055
cinarin	-0,0817	-0,0624	0,1708	-0,9764	-0,0805
rutin	0,0386	-0,9682	-0,0290	-0,0734	-0,1462
apigenin-glikozid	0,1833	-0,1726	-0,2500	0,0732	-0,9277
kvercetin	0,1606	0,4271	0,8585	-0,0399	0,1608
luteolin	0,1020	0,2316	-0,0359	0,5696	0,7780
naringenin	-0,1143	0,1616	-0,0579	0,0020	-0,9667
kempferol	0,1680	-0,8987	-0,0710	0,1760	0,2803
apigenin	0,4340	-0,3437	0,1280	0,1646	0,7815



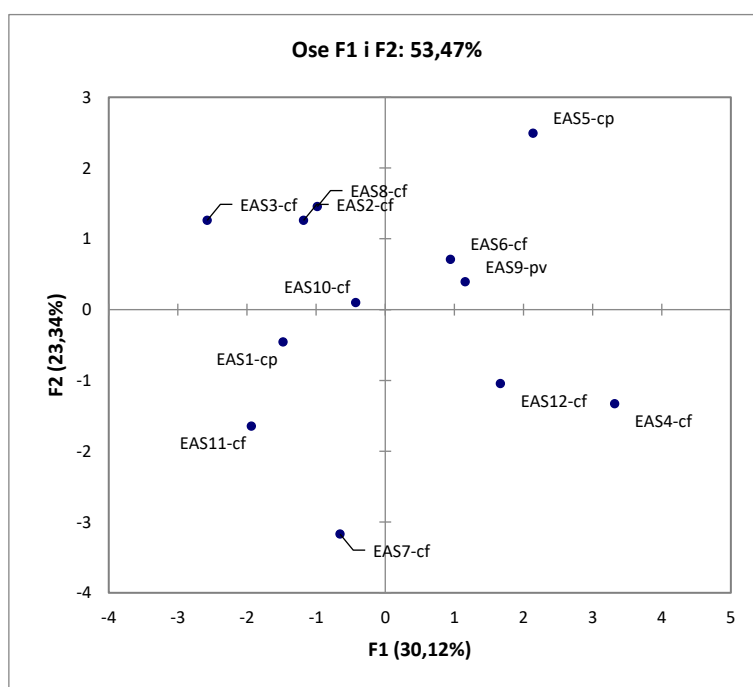
Slika 4.25 PCA dijamgram analiziranih uzoraka *A. vulgaris* (EAV) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om

4.2.2.1.4. Analiza glavnih komponenta HPLC profila *A. scoparia*

Analiza glavnih komponenta metanolnih ekstrakata *A. scoparia* dala je četiri svojstvene vrednosti veće od 1 (3,0124; 2,3342; 1,4413; 1,1691), što objašnjava 79,6% varijabilnosti. I u ovom slučaju, kao i u svim prethodnim, je izvršena rotacija korelacione matrice sa normalizacijom zbog nezadovoljavajuće vrednosti prema Kaiser-ovom kriterijumu (Tabela 4.25). Pet faktora nakon toga daje više od 95% kumulativne varijabilnosti. Glavni doprinosioci za prvi faktor su rutin (pozitivna vrednost) i naringenin (negativna vrednost), što znači da ako je koncentracija rutina visoka, vrednost naringenina je niska, i obrnuto. Drugom faktoru najviše doprinose apigenin (pozitivna vrednost) i *p*-hidroksibenzoeva kiselina (negativna vrednost). Kao i ranije, veća vrednost za apigenin je niža vrednost za *p*-hidroksibenzoevu kiselinu, i obrnuto. Treći faktor najbolje objašnjavaju *p*-kumarinska kiselina i apigenin-glikozid, prvo jedinjenje sa pozitivnom vrednošću, drugo sa negativnom. Što se tiče četvrtog faktora, glavni doprinos daje hlorogenska kiselina, dok petom faktoru doprinosi kvercetin. Na Slici 4.26 je prikazan PCA plot koji pokazuje korelacije između jedinjenja metanolnih ekstrakata *A. scoparia* kvantifikovanih pomoću HPLC-a i tipova zemljišta klasifikovanih pomoću WRB.

Tabela 4.25 Faktorska opterećenja nakon Varimax rotacije za *A. scoparia* u pogledu jedinjenja određenih HPLC-om

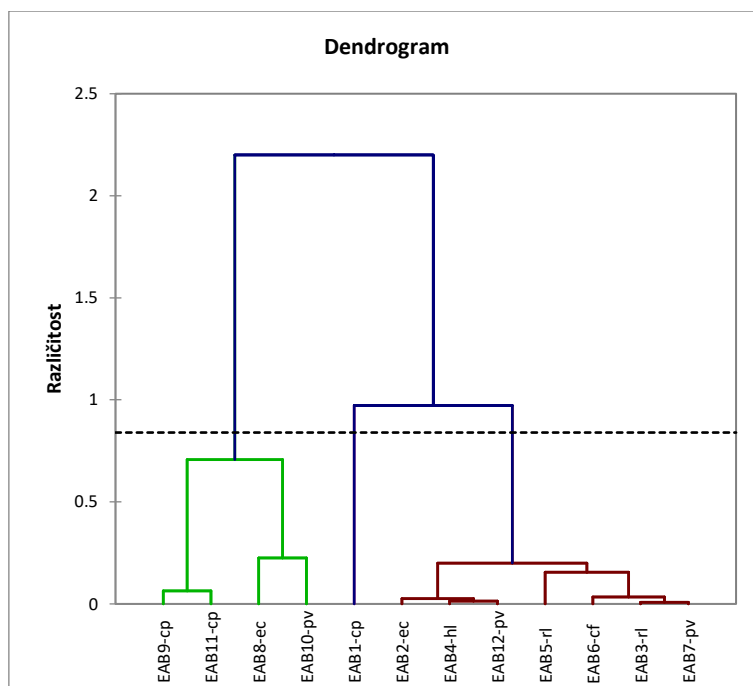
	D1	D2	D3	D4	D5
<i>p</i> -hidroksibenzojeva kiselina	-0,2856	-0,9048	0,1411	0,1637	0,1376
hlorogenska kiselina	-0,0436	-0,2966	0,0909	0,8837	0,3227
<i>p</i> -kumarinska kiselina	0,4506	-0,0104	0,7134	0,3802	0,3148
cinarin	0,6250	0,6869	0,0902	0,1154	0,2450
rutin	0,8481	0,3029	0,3608	-0,1512	0,1554
apigenin-glikozid	-0,1551	-0,0792	-0,9729	0,0054	0,0234
rozmarinska kiselina	-0,4710	0,3040	-0,3511	-0,4367	-0,5365
kvercetin	0,2497	-0,0427	0,0061	0,2714	0,9252
naringenin	-0,7685	-0,0119	-0,1878	-0,1441	-0,5888
apigenin	-0,1176	0,9130	0,2214	-0,2935	-0,0837



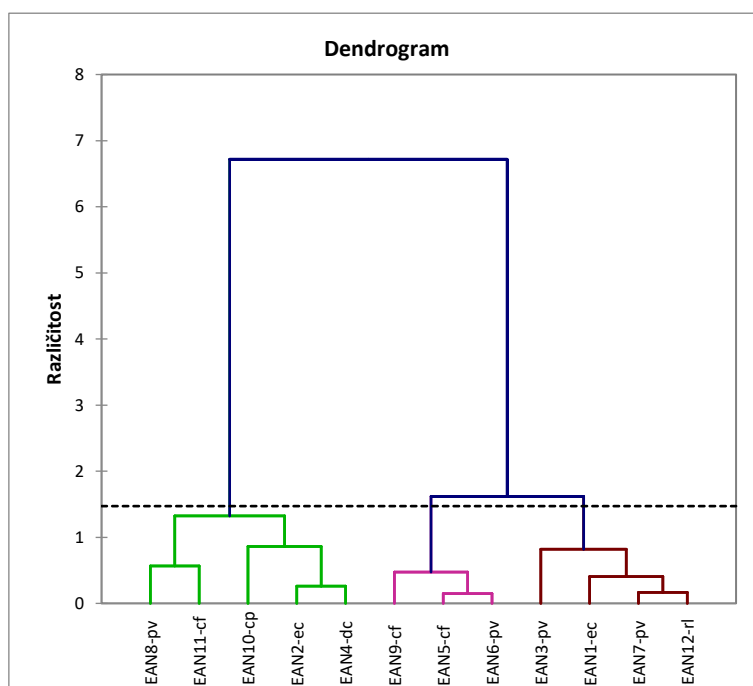
Slika 4.26 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. scoparia* (EAS) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om

4.2.2.2. Klaster analiza po komponentama ekstrakata

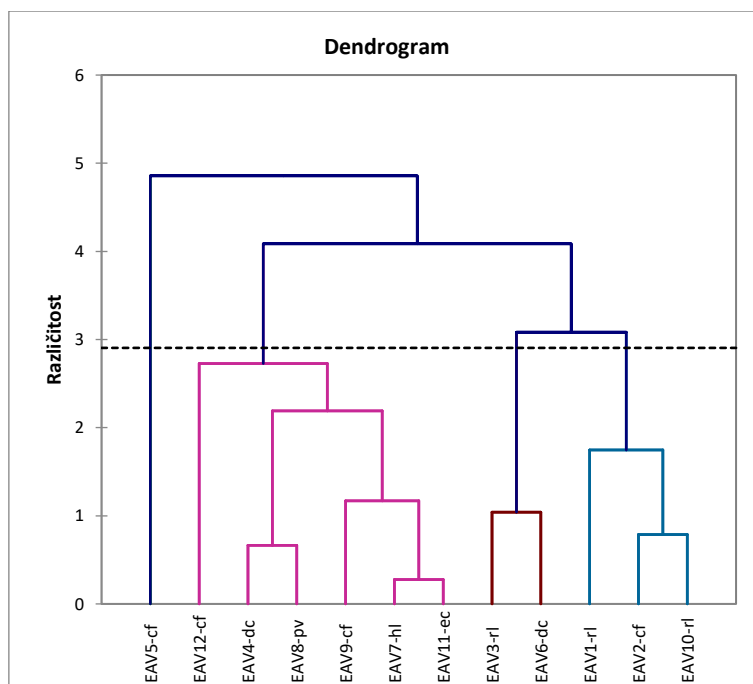
Klaster analiza ispitivanih vrsta *Artemisia* (svake vrste zasebno) pokazala je tri glavna klastera za svaku vrstu izuzev za *A. vulgaris*, kod koje se formiraju četiri klastera, a na osnovu koncentracija jedinjenja određenih HPLC-om. Za klaster analizu su korišćeni isti skupovi podataka kao za PCA (normalizovani, bez autlajera). Dendrogrami klaster analize za uzorke svake ispitivane vrste *Artemisia* dati su kao Slike 4.27-4.30.



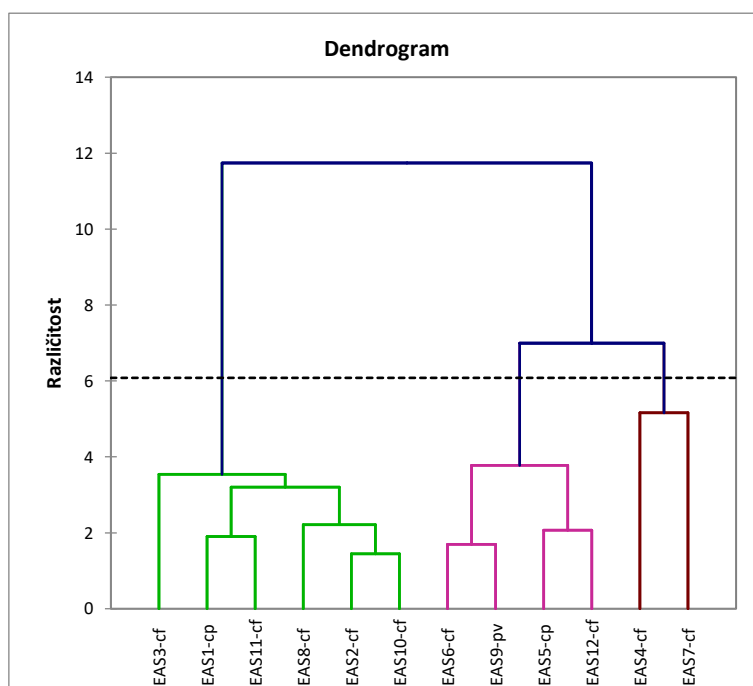
Slika 4.27 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. absinthium* (EAB) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om



Slika 4.28 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. annua* (EAN) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om



Slika 4.29 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. vulgaris* (EAV) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om



Slika 4.30 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. scoparia* (EAS) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om

4.2.2.3. Analiza varijanse po komponentama ekstrakata

Rezultati ANOVA testova izvedenih na normalno raspoređenim jedinjenjima ekstrakata iz originalnog skupa podataka bez autlajera određenih za svaku biljnu vrstu posebno dostupni su u nastavku. Oni pokazuju da postoje značajne statističke razlike utvrđene korišćenjem najmanje jednog od četiri testa za analizu razlika između zadatih kategorija sa intervalom poverenja od 95% (Tukey test, Fisher test, Bonferroni test, ili/i Dunnett test) u sadržaju određenih jedinjenja metanolnih ekstrakata, a u odnosu na tip zemljišta.

U slučaju uzoraka *A. absinthium*, analizom varijansi dobija se da za ispitivanu biljnu vrstu samo *p*-hidroksibenzoeva kiselina ima statistički značaj. Kada je ANOVA primenjena na vrednosti *p*-hidroksibenzoeve kiseline, ustanovljeno je da model ima F jednak 4,891 sa $Pr > F (< 0,0001)$. Za *p*-hidroksibenzoevu kiselinu $Pr > |t|$ i iznosi $< 0,005$. Standardni reziduali su svi u opsegu $[-2, 2]$.

Kada je ANOVA primenjena na vrednosti uzoraka *A. annua* tri komponente (ferulinska kiselina, *p*-kumarinska kiselina i *p*-hidroksibenzoeva kiselina) metanolnog ekstrakta pokazale su statističku značajnost, pri čemu je za ferulinsku kiselinu $Pr > |t|$ i iznosi 0,01; za *p*-kumarinsku kiselinu $Pr > |t|$ iznosi 0,017; za *p*-hidroksibenzoevu kiselinu $Pr > |t|$ iznosi 0,002. Standardni reziduali su svi u opsegu $[-2, 2]$.

Primenom ANOVA statističkog alata na vrednosti analiziranih uzoraka, ustanovljeno je da za ispitivanu biljnu vrstu *A. vulgaris* samo naringenin ima statistički značaj. Ustanovljeno je da model ima F jednak 4,645 sa $Pr > F (< 0,0001)$. Za naringenin je $Pr > |t|$ i iznosi $< 0,005$. Standardni reziduali su svi u opsegu $[-2, 2]$.

Kada je analiza varijansi primenjena na vrednosti normalizovanih uzoraka, utvrđeno je da su za ispitivanu biljnu vrstu *A. scoparia* samo dve komponente (*p*-kumarinska kiselina i hlorogenska kiselina) pokazale statističku značajnost, pri čemu je za *p*-kumarinsku kiselinu $Pr > |t|$ i iznosi 0,040; za hlorogensku kiselinu $Pr > |t|$ iznosi 0,013. Standardni reziduali su svi u opsegu $[-2, 2]$, izuzev onih za EAS6 i EAS12.

4.2.2.4. Multivarijantna analiza varijanse po komponentama ekstrakata

Nivo značajnosti i sposobnost sadržaja odabranih identifikovanih jedinjenja da diferenciraju uzorke jedne biljne vrste prikupljene sa različitih tipova zemljišta definisan je primenom MANOVA statističke metode.

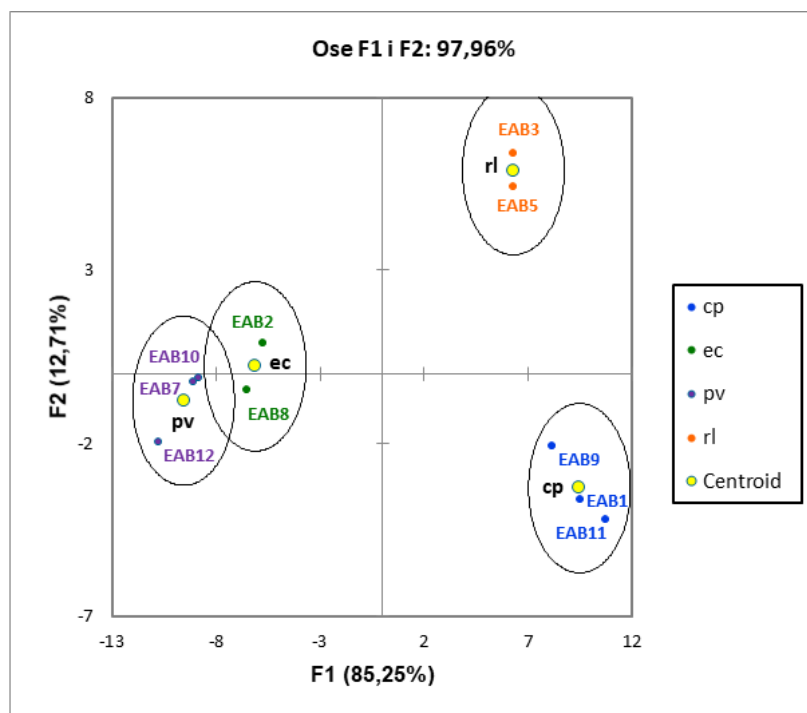
U MANOVA analizi, zavisnu varijablu činile su hlorogenska kiselina, cinarin, rutin, apigenin-glikozid, rozmarinska kiselina, kvercetin, kempferol i apigenin, dok je tip zemljišta uzet kao varijabla za grupisanje/objašnjavaње.

Wilks' Lambda vrednost dobijena prilikom multivarijantne analize varijanse za svaku ispitivanu vrstu *Artemisia* zasebno je pokazala da postoji značajan uticaj tipa zemljišta na zavisne varijable u slučaju *A. absinthium*, *A. annua* i *A. vulgaris*, dok kod *A. scoparia* nema značajnog uticaja tipa tla na zavisne promenljive.

4.2.2.5. Diskriminantna analiza po komponentama ekstrakata

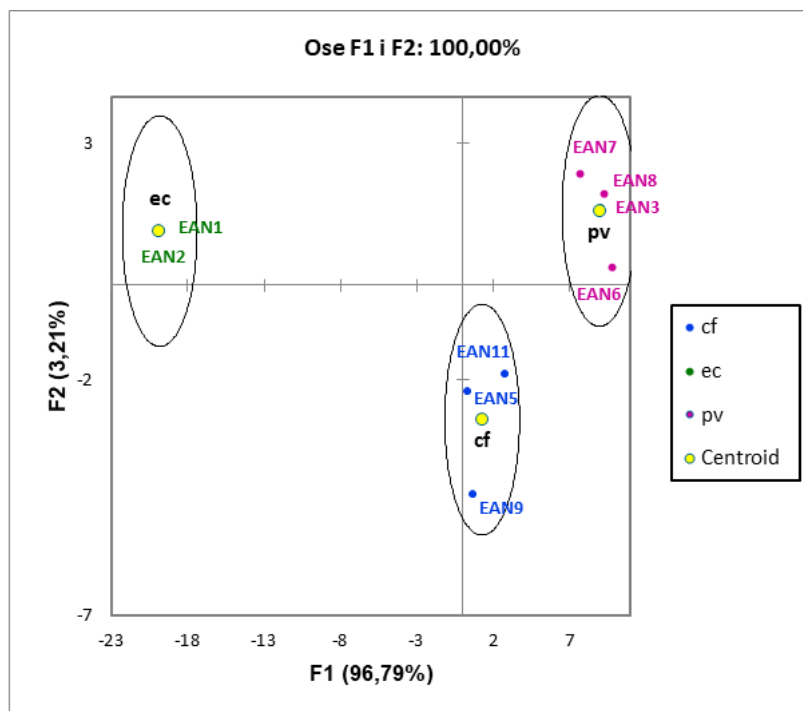
Za diskriminantnu analizu, odvojeno su korišćeni skupovi podataka za *A. vulgaris*, *A. annua* i *A. absinthium*, jer je MANOVA prethodno pokazala da za te tri biljne vrste postoji značajan uticaj tipa zemljišta na koncentracije određenih jedinjenja metanolnih ekstrakata, koja su identifikovana korišćenjem HPLC metode. Ukoliko se tip zemljišta nije ponovio među uzorcima jedne biljne vrste, takav uzorak je izostavljen. Rezultati diskriminantne analize podržali su rezultate MANOVA testa.

Rezultati DA za uzorke *A. absinthium* pokazuju postojanje četiri solidno razdvojena centroida (Slika 4.31). Centroidi sa uzorcima sa rl i cp tipa zemljišta odlično su odvojeni od svih ostalih centroida, dok nasuprot tome, dolazi do preklapanja centroida sa uzorcima sa ec i pv tipa tla.



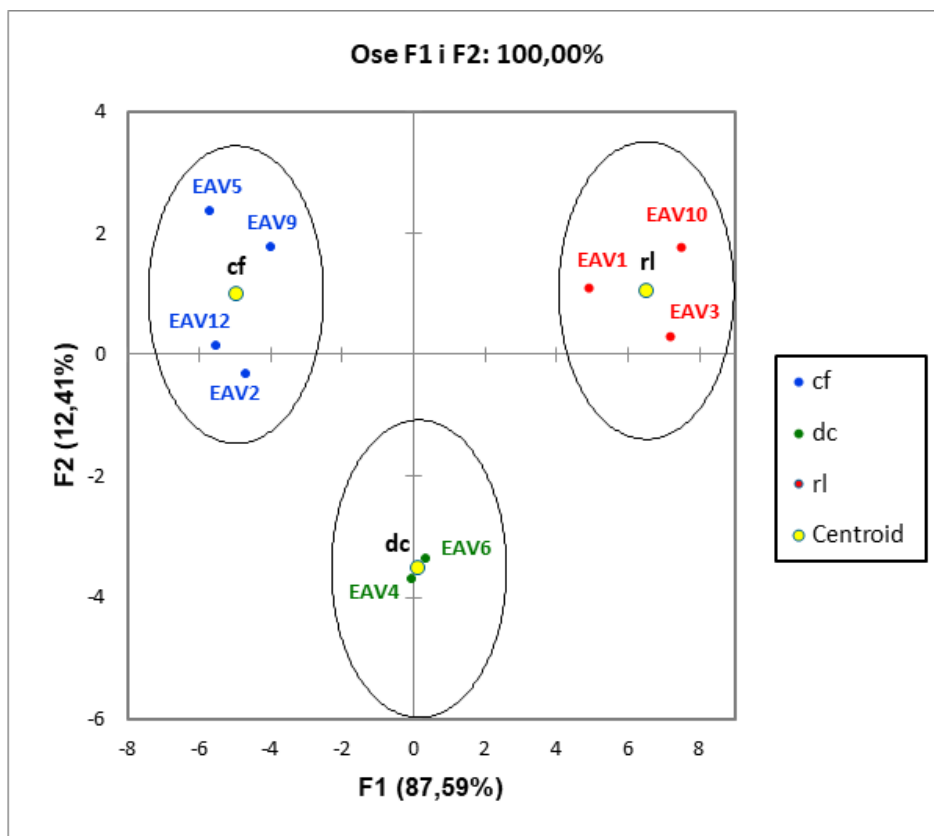
Slika 4.31 Diferencijacija uzoraka *A. absinthium* (EAB) sa različitih tipova zemljišta na osnovu količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om

Rezultati DA za uzorke *A. annua* prema tipu zemljišta prikazani su na Slici 4.32, a klasifikacija uzoraka je kao i u prethodnom slučaju odlična i mogu se uočiti tri dobro razdvojena centroida.



Slika 4.32 Diferencijacija uzoraka *A. annua* (EAN) sa različitih tipova zemljišta na osnovu količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om

Isti zaključak se može izvući i za uzorke *A. vulgaris* na osnovu tipa zemljišta. Rezultati DA prikazani su na Slici 4.33. Klasifikacija uzoraka je odlična i uočavaju se tri dobro razdvojena centroida.



Slika 4.33 Diferencijacija uzoraka *A. vulgaris* (EAV) sa različitih tipova zemljišta na osnovu količine jedinjenja utvrđenih HPLC-om

Na osnovu prikazanog možemo zaključiti da je diskriminantna analiza dobar hemometrijski alat za obradu ovakve vrste podataka i da postoji statistički značajan uticaj tipa zemljišta na koncentracije jedinjenja utvrđene korišćenjem HPLC u slučaju sve tri obrađivane biljne vrste.

4.3. REZULTATI ANALIZE SADRŽAJA UKUPNIH FENOLA, SADRŽAJA UKUPNIH FLAVONOIDA I ANTIOKSIDATIVNIH TESTOVA

Rezultati određivanja ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih aktivnosti (određenih po metodama: DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC) metanolnih ekstrakata odabranih vrsta *Artemisia* (*A. alba*, *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia*) predstavljeni su u Tabeli 4.26, a kako bi se ispitala zavisnost između ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih aktivnosti metanolnih ekstrakata sa tipom zemljišta određenog po WRB, sa koga su *Artemisia* uzorci prikupljeni, urađena je hemometrijska analiza (koja nije uključivala uzorke *A. alba*). Sva statistička istraživanja su obavljena sa istim skupovima podataka kao za PCA, nakon normalizacije i sa izostavljenim autlajerima.

Tabela 4.26 Ukupni sadržaj fenola (TP u $\mu\text{g GAE/mg tse}$), ukupni sadržaj flavonoida (TF u $\mu\text{g QE/mg tse}$), aktivnost uklanjanja DPPH-radikalala (DPPH u $\mu\text{g TE/mg tse}$), aktivnost uklanjanja ABTS-radikalala (ABTS u $\mu\text{g TE/mg tse}$), antioksidativna moć redukcije gvožđa (FRAP u $\mu\text{mol Fe/mg tse}$) ukupna redukciona moć (TRP u $\mu\text{g GAE/mg tse}$) i antioksidativni kapacitet redukcije bakra (CUPRAC u $\mu\text{g TE/mg tse}$) odabranih *Artemisia* vrsta.

Uzorak	TP	TF	DPPH	ABTS	TRP	FRAP	CUPRAC
EAA6	117	35.5	29.1	83.1	38.1	39.2	152
EAA7	185	68.6	107	90.6	61.1	27.5	302
EAB1	62,5	23,7	16,3	32,3	18,1	13,3	96,5
EAB2	28,1	15,7	12,9	24,6	7,64	7,55	56,4
EAB3	41,1	14,0	8,71	19,7	14,2	8,26	52,2
EAB4	39,0	22,1	11,9	23,4	19,2	9,06	69,6
EAB5	27,0	20,1	8,84	25,5	22,1	9,01	95,9
EAB6	33,9	12,8	6,58	15,7	9,68	4,67	51,9
EAB7	42,9	11,7	11,5	17,6	14,9	6,64	58,1
EAB8	21,9	14,6	12,8	18,0	14,6	8,47	61,7
EAB9	16,3	12,6	13,5	15,3	15,7	6,29	61,6
EAB10	38,8	20,4	11,8	17,9	15,3	8,96	77,2
EAB11	29,5	15,2	8,23	13,3	12,3	5,35	61,5
EAB12	21,8	12,8	5,52	18,5	16,9	8,60	75,4
EAN1	53,1	20,3	13,9	31,5	14,9	11,6	112
EAN2	101	35,7	64,8	50,4	30,9	26,0	186
EAN3	100	31,7	97,7	77,9	45,9	39,9	258
EAN4	53,8	24,9	37,0	39,7	23,2	18,9	135
EAN5	57,7	17,9	13,8	21,8	12,8	4,40	67,2
EAN6	63,4	16,6	16,6	29,2	15,5	11,0	73,2

Uzorak	TP	TF	DPPH	ABTS	TRP	FRAP	CUPRAC
EAN7	67,3	15,8	16,5	33,4	17,2	9,72	78,0
EAN8	72,6	22,2	30,2	33,8	18,2	15,1	93,1
EAN9	74,2	21,6	29,1	34,0	15,7	10,1	101
EAN10	77,4	17,8	32,3	42,1	22,2	16,1	94,1
EAN11	56,8	18,7	20,9	26,9	13,7	11,1	82,8
EAN12	61,4	12,8	23,2	31,5	17,0	8,91	61,8
EAV1	63,8	18,4	19,0	33,6	18,1	13,1	107
EAV2	129	56,5	106	85,0	48,4	43,7	295
EAV3	69,6	25,1	30,0	37,9	20,3	14,1	124
EAV4	150	73,2	122	97,1	62,7	37,2	373
EAV5	116	49,6	99,4	65,6	40,8	23,3	269
EAV6	59,0	22,5	24,1	37,2	18,7	15,9	130
EAV7	53,9	21,7	16,9	29,1	13,4	12,0	127
EAV8	106	46,3	82,8	70,0	44,3	27,4	245
EAV9	39,2	20,7	12,9	24,7	11,6	7,82	69,0
EAV10	47,7	13,9	19,3	28,9	16,3	11,1	78,7
EAV11	50,7	34,8	14,1	39,4	17,8	16,2	154
EAV12	145	87,3	117	106	61,8	34,0	400
EAS1	84,9	80,3	197	116	49,3	45,1	376
EAS2	98,8	74,7	235	154	47,0	38,4	362
EAS3	97,4	64,1	167	128	35,9	40,4	309
EAS4	116	72,4	200	131	44,4	48,6	373
EAS5	133	107	244	182	50,8	62,4	368
EAS6	80,9	50,9	126	96,3	34,1	31,2	243
EAS7	70,1	49,4	135	112	35,0	26,1	226
EAS8	105	69,2	204	131	37,0	50,5	338
EAS9	131	67,9	196	135	45,8	39,4	253
EAS10	117	73,5	197	140	42,5	43,4	353
EAS11	105	62,4	175	122	37,9	29,1	256
EAS12	128	77,6	217	72,7	56,5	37,5	446

EAA-metanolni ekstrakt *A. alba*; EAB-metanolni ekstrakt *A. absinthium*; EAN-metanolni ekstrakt *A. annua*; EAV-metanolni ekstrakt *A. vulgaris*; EAS-metanolni ekstrakt *A. scoparia*

Dva metanolna ekstrakta *A. alba* poreklom sa različitih lokaliteta (EAA6 i EAA7) analizirana su na ukupan sadržaj fenola, ukupan sadržaj flavonoida i antioksidativne aktivnosti (korišćenjem pet antioksidativnih metoda: DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC), a rezultati ovih testiranja dati su u Tabeli 4.26. Uzorak EAA7 je bogatiji ukupnim fenolima (185 µg GAE/mg tse) i ukupnim flavonoidima (68,6 µg QE/mg tse) od uzorka EAA6 (117 µg GAE/mg tse i 35,5 µg QE/mg tse, redom). Testovi za procenu antioksidativnog kapaciteta metanolnih ekstrakata pokazuju da ekstrakt EAA7 ima veću sposobnost uklanjanja DPPH-radikala i ABTS-radikala (107 i 90,6 µg TE/mg tse, redom) od ekstrakta EAA6 (29,1 i 83,1 µg TE/mg tse, redom), a posebno u DPPH testu. Samo je

vrednost antioksidativne aktivnosti određene FRAP testom viša za uzorak EAA6 (39,2 $\mu\text{mol Fe/mg tse}$) nego za ekstrakt EAA7 (27,5 $\mu\text{mol Fe/mg tse}$).

4.3.1. Antioksidativni kompozitni indeks-ACI

Posmatrajući metodologiju merenja antioksidativne aktivnosti, svaka antioksidativna metoda pokazuje određene prednosti i nedostatke u odnosu na druge metode. Urađene su dve metode za određivanje ukupnog sadržaja fenola i ukupnog sadržaja flavonoida, kao i pet metoda za određivanje antioksidativnog kapaciteta i izračunat je antioksidativni kompozitni indeks (ACI), tako da se svim korišćenim metodama može dati jednaka masa. Vrednosti ACI preračunate na osnovu podataka iz Tabele 4.26 za svaku vrstu posebno su prikazane u Tabeli 4.27, a sva hemometrijska testiranja rađena su sa ovako transformisanim skupovima podataka.

Tabela 4.27 Antioksidativni kompozitni indeks (ACI) za *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia* računati zasebno za svaku biljnu vrstu

Uzorak	TP	TF	DPPH	ABTS	TRP	FRAP	CUPRAC
EAB1	100,0	100,0	100,0	100,0	82,09	100,0	100,0
EAB2	45,00	66,19	78,93	76,35	34,59	56,65	58,40
EAB3	65,85	58,97	53,31	60,94	64,22	62,01	54,04
EAB4	62,41	93,18	72,67	72,39	87,06	67,99	72,13
EAB5	43,19	84,77	54,08	78,91	100,00	67,65	99,38
EAB6	54,27	54,01	40,30	48,78	43,85	35,05	53,80
EAB7	68,61	49,37	70,38	54,46	67,37	49,82	60,16
EAB8	35,00	61,68	78,56	55,88	66,02	63,62	63,96
EAB9	26,12	53,12	82,71	47,51	71,23	47,21	63,83
EAB10	62,07	86,18	72,09	55,57	69,29	67,29	80,02
EAB11	47,15	63,91	50,37	41,12	55,69	40,16	63,71
EAB12	34,90	54,06	33,80	57,19	76,33	64,53	78,08
EAN1	52,63	56,81	14,21	40,46	32,43	29,04	43,43
EAN2	100,0	100,0	66,34	64,65	67,33	65,15	71,90
EAN3	99,18	88,74	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
EAN4	53,35	69,72	37,89	50,96	83,02	47,42	52,21
EAN5	57,17	50,01	14,15	27,94	27,94	11,05	26,03
EAN6	62,85	46,44	16,98	37,47	33,84	27,71	28,35
EAN7	66,75	44,15	16,90	42,91	37,51	24,38	30,22
EAN8	72,02	62,28	30,94	43,35	39,53	37,76	36,05
EAN9	73,54	60,41	29,73	43,64	34,28	25,31	38,98
EAN10	76,71	49,93	33,05	54,04	48,30	40,48	36,47
EAN11	56,35	52,32	21,42	34,56	29,93	27,74	32,07
EAN12	60,85	35,93	23,72	40,41	37,11	22,35	23,93
EAV1	42,62	21,12	15,63	31,67	28,84	35,14	26,77
EAV2	86,06	64,74	86,89	80,14	77,10	117,38	73,85
EAV3	46,48	28,72	24,69	35,74	32,44	37,96	31,01
EAV4	100,0	83,85	100,0	91,50	100,0	100,0	93,31
EAV5	77,42	56,85	81,81	61,80	65,09	62,50	67,36
EAV6	39,39	25,72	19,82	35,02	29,82	42,79	32,63
EAV7	36,01	24,89	13,93	27,42	21,43	32,15	31,81

Uzorak	TP	TF	DPPH	ABTS	TRP	FRAP	CUPRAC
EAV8	70,76	53,05	68,15	65,96	70,59	73,68	61,35
EAV9	26,16	23,68	10,58	23,27	18,49	21,03	17,28
EAV10	31,83	15,90	15,87	27,25	25,93	29,92	19,71
EAV11	33,82	39,85	11,61	37,16	28,44	43,64	38,62
EAV12	96,96	100,0	96,12	100,0	98,47	91,49	100,0
EAS1	63,70	75,31	80,73	63,76	87,35	72,33	84,43
EAS2	74,09	70,04	96,22	84,84	83,31	61,60	81,17
EAS3	73,06	60,11	68,38	70,69	63,62	64,79	69,38
EAS4	87,29	67,85	81,87	71,98	78,58	77,89	83,67
EAS5	100,0	100,0	100,0	100,0	90,01	100,0	82,55
EAS6	60,70	47,75	51,62	53,00	60,34	50,04	54,47
EAS7	52,58	46,31	55,48	61,74	62,00	41,79	50,75
EAS8	78,62	64,88	83,60	72,08	65,49	80,96	75,76
EAS9	98,61	63,70	80,49	74,50	81,13	63,18	56,76
EAS10	87,94	68,93	80,75	76,85	75,34	69,67	79,18
EAS11	78,83	58,54	71,86	66,91	67,08	46,67	57,54
EAS12	96,35	72,79	88,84	39,98	100,0	60,11	100,0

EAA-metanolni ekstrakt *A. alba*; EAB-metanolni ekstrakt *A. absinthium*; EAN-metanolni ekstrakt *A. annua*; EAV-metanolni ekstrakt *A. vulgaris*; EAS-metanolni ekstrakt *A. scoparia*

4.3.2. Hemometrijska analiza ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata

4.3.2.1. Analiza glavnih komponenata po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata

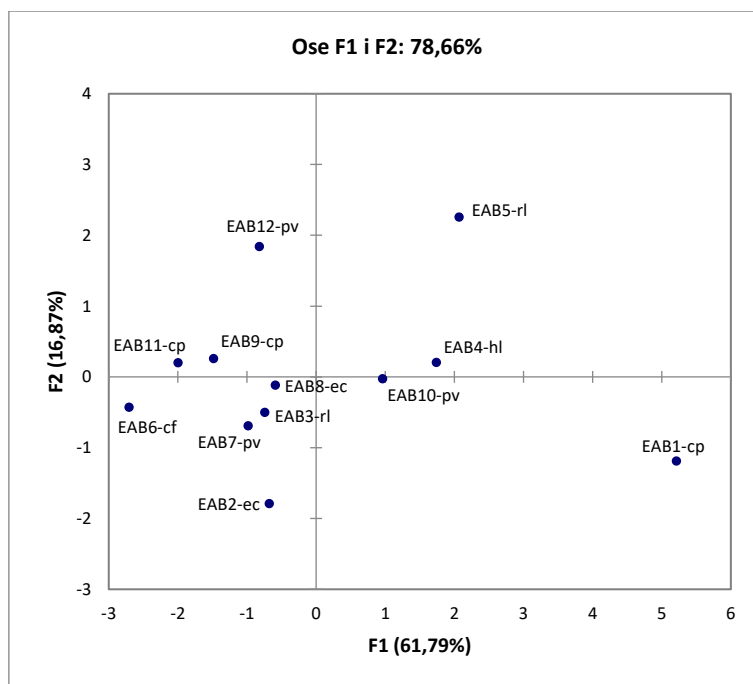
Kolmogorov-Smirnov test je korišćen za proveru normalne distribucije originalnog skupa podataka u vezi sa ACI indeksima preračunatim na osnovu količina jedinjenja utvrđenih korišćenjem HPLC metode za svaku biljku *Artemisia* posebno. Svi originalni skupovi podataka su bili normalno distribuirani. Grubbs-ov test je pokazao da nema autlajera ni za jedan skup podataka. Izvršena je PCA analiza za svaku vrstu *Artemisia* i zbog nezadovoljavajućih vrednosti prema Kaiser-ovom kriterijumu, svaka korelaciona matrica, izuzev one za *A. vulgaris*, je podvrgnuta Varimax-ovoj rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju.

4.3.2.1.1. Analiza glavnih komponenata po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata *A. absinthium*

Analiza glavnih komponenata za biljnu vrstu *A. absinthium* pokazuje postojanje dve svojstvene vrednosti veće od 1 (4,325 i 1,181), što objašnjava 78,7% varijabilnosti. Zbog tako nezadovoljavajuće vrednosti, korelaciona matrica je podvrgnuta Varimax-ovoj rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju, nakon čega su četiri faktora dala više od 95% kumulativne varijabilnosti, pa su korišćena za objašnjenje rezultata. Najveći doprinosioci prvom faktoru su DPPH (-0,9955), TRP i CUPRAC (0,7582 i 0,6529, redom), što implicira da što je veća vrednost za DPPH, to su vrednosti za TRP i CUPRAC niže, i obrnuto. Što se tiče drugog faktora, glavni doprinos daju ABTS i FRAP (0,9079 i 0,9305, redom). Treći faktor se objašnjava korišćenjem dva glavna faktora: TP (0,9808) i TRP (-0,6120). TF je glavni faktor koji doprinosi četvrtom faktoru (0,8757). Pierson-ova korelaciona matrica za *A. absinthium* (Tabela 4.28) pokazuje veoma nisku korelaciju između svih vrednosti ACI. Najniže korelacije su uočene između TRP sa TP (0,1494) i sa DPPH (0,1104), dok je najveća, a opet ne tako dobra korelacija, uočena između FRAP i ABTS (0,8473). Na Slici 4.34 je prikazan PCA plot koji pokazuje korelacije između ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata *A. absinthium* sa tipovima zemljišta klasifikovanih pomoću WRB.

Tabela 4.28 Pearson-ova korelaciona matrica za *A. absinthium* u pogledu TP, TF, DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC

Varijable	TP	TF	DPPH	ABTS	TRP	FRAP	CUPRAC
TP	1	0,5527	0,3796	0,5795	0,1494	0,5763	0,3173
TF	0,5527	1	0,4643	0,7391	0,5314	0,7588	0,7510
DPPH	0,3796	0,4643	1	0,5084	0,1104	0,5295	0,2462
ABTS	0,5795	0,7391	0,5084	1	0,3965	0,8473	0,6710
TRP	0,1494	0,5314	0,1104	0,3965	1	0,5781	0,7630
FRAP	0,5763	0,7588	0,5295	0,8473	0,5781	1	0,7617
CUPRAC	0,3173	0,7510	0,2462	0,6710	0,7630	0,7617	1



Slika 4.34 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. absinthium* (EAB) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata

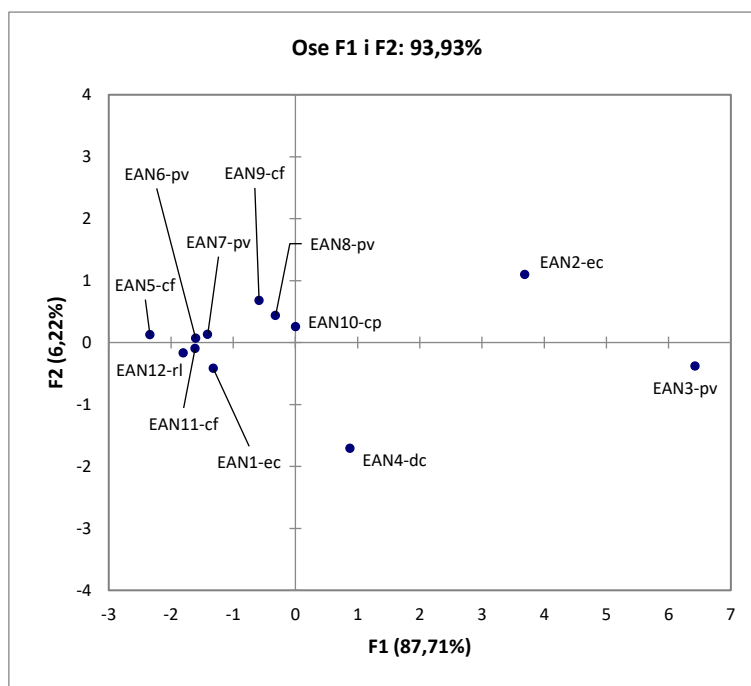
4.3.2.1.2. Analiza glavnih komponenta po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata *A. annua*

Po završetku PCA analize sa setom podataka za *A. annua* postoji samo jedna svojstvena vrednost veća od 1 (6.140), što objašnjava 87,7% varijabilnosti. Za objašnjenje rezultata korišćena su dva faktora: prvi i drugi (kumulativna varijabilnost 93,9%). Zbog nezadovoljavajuće vrednosti, korelaciona matrica je podvrgnuta Varimax-ovoj rotaciji uz Kaiser-ovu normalizaciju. Tri faktora su dala više od 95% kumulativne varijabilnosti, pa su korišćena za objašnjavanje rezultata. Prvom faktoru najviše doprinose DPPH, ABTS, FRAP i CUPRAC. Drugi faktor je pokazao da su najviše doprinele dve varijable TP i TRP (TP sa visokom negativnom vrednošću opterećenja (-0,9897) i TRP sa visokom pozitivnom vrednošću opterećenja (0,8133), što pokazuje da kada je TP visok, vrednost za TRP je niska i obrnuto). Na kraju, najveći doprinos trećem faktoru daje TF (0,9914). Pierson-ova korelaciona matrica za *A. annua* (Tabela 4.29) pokazala je dobru korelaciju između svih vrednosti ACI. Najbolje korelacije uočene su između FRAP i četiri metode: DPPH (0,9702), ABTS (0,9730), CUPRAC (0,9643) i DPPH (0,9652), dok se najlošija korelacija javlja

između TP i TRP (0,5925). Na Slici 4.35 je prikazan PCA plot koji pokazuje korelacije između ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata *A. annua* sa tipovima zemljišta klasifikovanih pomoću WRB.

Tabela 4.29 Pearson-ova korelaciona matrica za *A. annua* u pogledu TP, TF, DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC

Varijable	TP	TF	DPPH	ABTS	TRP	FRAP	CUPRAC
TP	1	0,7454	0,8510	0,8111	0,5925	0,7852	0,7556
TF	0,7454	1	0,8350	0,7397	0,7528	0,8252	0,8899
DPPH	0,8510	0,8350	1	0,9652	0,8840	0,9702	0,9535
ABTS	0,8111	0,7397	0,9652	1	0,8876	0,9730	0,9414
TRP	0,5925	0,7528	0,8840	0,8876	1	0,9117	0,8861
FRAP	0,7852	0,8252	0,9702	0,9730	0,9117	1	0,9643
CUPRAC	0,7556	0,8899	0,9535	0,9414	0,8861	0,9643	1



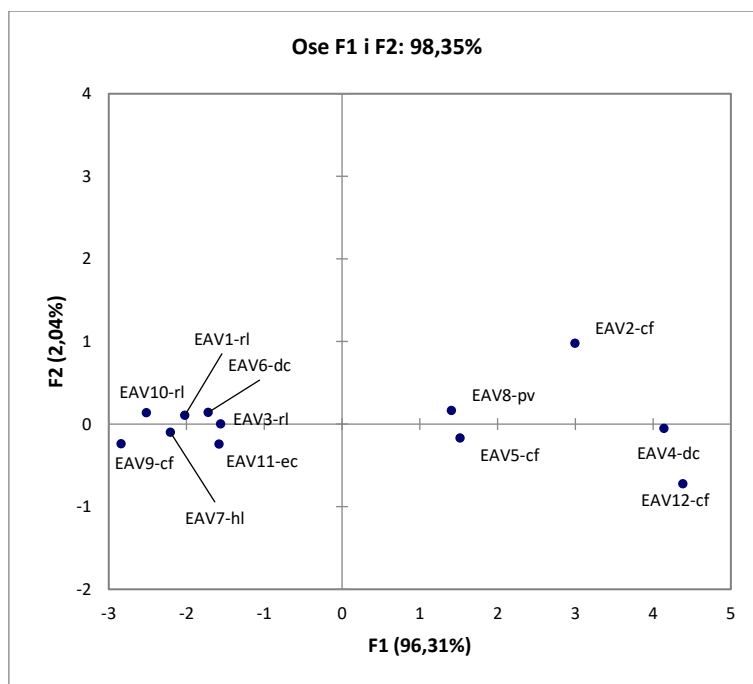
Slika 4.35 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. annua* (EAN) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata

4.3.2.1.3. Analiza glavnih komponenata po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata *A. vulgaris*

Nakon PCA testiranja rezultata dobijenih za *A. vulgaris* dobija se jedna Eigen vrednost veća od 1 (6,742), što objašnjava 96,3% varijabilnosti. Za objašnjenje rezultata korišćena su dva faktora sa kumulativnom varijabilnošću od 98,3%. Pierson-ova korelaciona matrica za *A. vulgaris* (Tabela 4.30) pokazuje veoma visoku korelaciju između svih vrednosti ACI. Najveće korelacije uočene su za TP sa DPPH (0,9883) i TRP (0,9873), kao i za ABTS sa TRP (0,9920) i sa CUPRAC (0,9886), dok je najmanja korelacija uočena između TF i FRAP (0,8749). Na Slici 4.36 je prikazan PCA plot koji pokazuje korelacije između ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata *A. vulgaris* sa tipovima zemljišta klasifikovanih pomoću WRB.

Tabela 4.30 Pearson-ova korelaciona matrica za *A. vulgaris* u pogledu TP, TF, DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC

Varijable	TP	TF	DPPH	ABTS	TRP	FRAP	CUPRAC
TP	1	0,9386	0,9883	0,9793	0,9873	0,9296	0,9744
TF	0,9386	1	0,9264	0,9777	0,9594	0,8749	0,9848
DPPH	0,9883	0,9264	1	0,9672	0,9801	0,9213	0,9617
ABTS	0,9793	0,9777	0,9672	1	0,9920	0,9396	0,9886
TRP	0,9873	0,9594	0,9801	0,9920	1	0,9244	0,9805
FRAP	0,9296	0,8749	0,9213	0,9396	0,9244	1	0,9125
CUPRAC	0,9744	0,9848	0,9617	0,9886	0,9805	0,9125	1



Slika 4.36 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. vulgaris* (EAV) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata

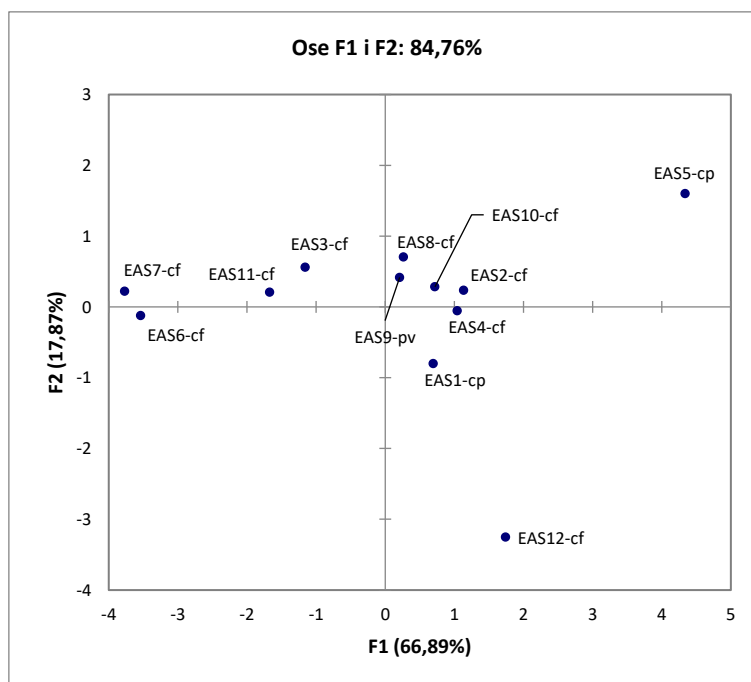
4.3.2.1.4. Analiza glavnih komponenta po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata *A. scoparia*

Dve svojstvene vrednosti veće od 1 (4,683 i 1,251) dobijene su nakon PCA analize sa setom ACI podataka za *A. scoparia*, što objašnjava 84,8% varijabilnosti. Zbog nezadovoljavajuće vrednosti, korelaciona matrica je podvrgnuta rotaciji uz normalizaciju. Četiri faktora su nakon rotacije dala više od 95% kumulativne varijanse. Glavni doprinosioci su ABTS (-0,9317), TRP (0,7701) i CUPRAC (0,8986) za prvi faktor, ukazujući na to da je vrednost ABTS obrnuto proporcionalna vrednosti TRP i CUPRAC. Glavni doprinosioci drugom faktoru su TF i FRAP, TF sa umerenom pozitivnom vrednošću (0,6180), a FRAP sa veoma visokom pozitivnom vrednošću (0,9618). Trećem faktoru glavni doprinos daje TP (0,9703), dok četvrtom faktoru glavni doprinos daju TF i DPPH (0,6906 i 0,9004, redom). Pierson-ova korelaciona matrica za *A. scoparia* (Tabela 4.31) pokazuje ne tako dobru korelaciju između vrednosti ACI. Najveće korelacije uočene su za TF sa DPPH (0,8740) i FRAP (0,8513), dok je najniža uočena između ABTS sa TRP (0,0670) i CUPRAC (0,0263). Na Slici 4.37 je prikazan PCA plot koji pokazuje korelacije između ukupnog sadržaja fenola,

ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata *A. scoparia* sa tipovima zemljišta klasifikovanih pomoću WRB.

Tabela 4.31 Pearson-ova korelaciona matrica za *A. scoparia* u pogledu TP, TF, DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC

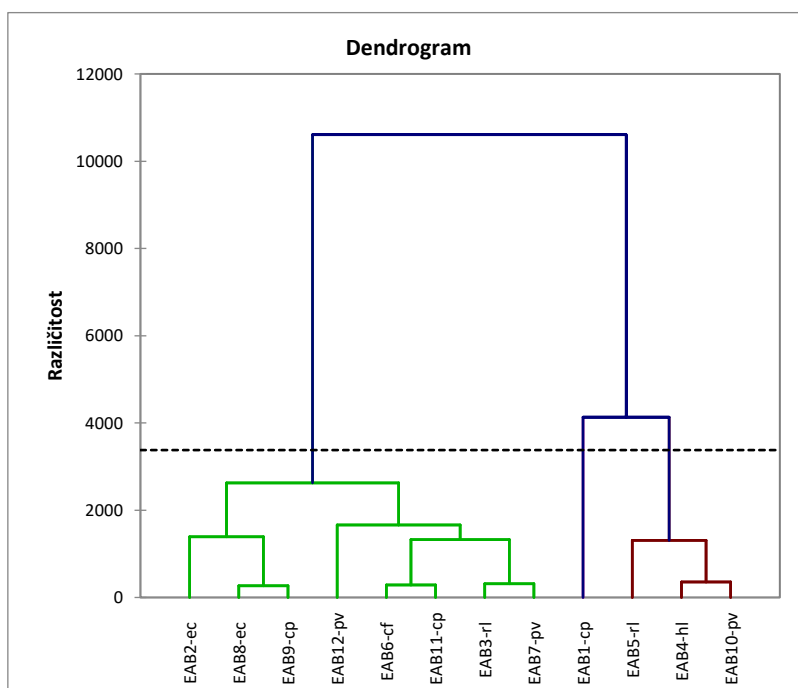
Varijable	TP	TF	DPPH	ABTS	TRP	FRAP	CUPRAC
TP	1	0,6604	0,7132	0,3230	0,6298	0,5692	0,4791
TF	0,6604	1	0,8740	0,5724	0,7600	0,8513	0,7026
DPPH	0,7132	0,8740	1	0,5321	0,7851	0,7178	0,7555
ABTS	0,3230	0,5724	0,5321	1	0,0670	0,6321	0,0263
TRP	0,6298	0,7600	0,7851	0,0670	1	0,4484	0,7871
FRAP	0,5692	0,8513	0,7178	0,6321	0,4484	1	0,5866
CUPRAC	0,4791	0,7026	0,7555	0,0263	0,7871	0,5866	1



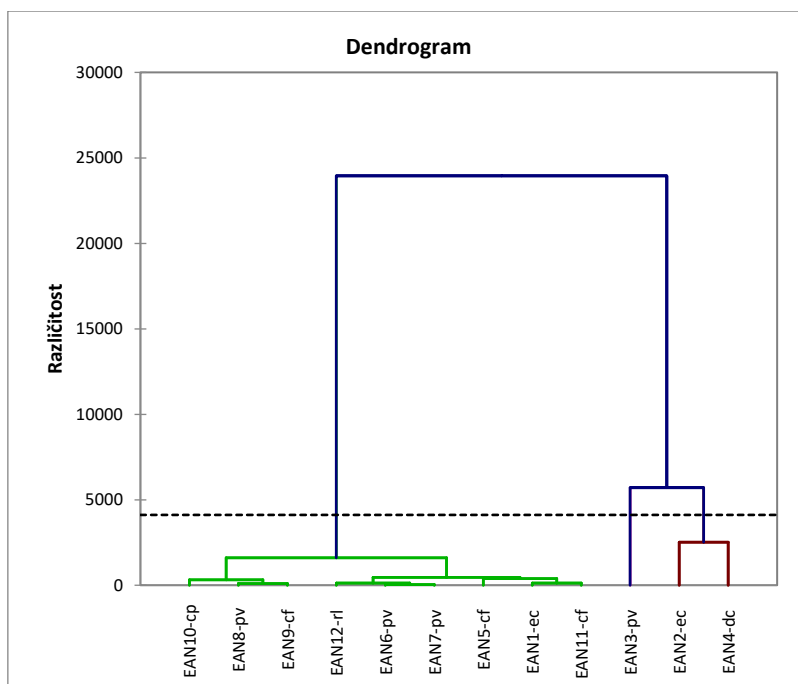
Slika 4.37 PCA dijagram analiziranih uzoraka *A. scoparia* (EAS) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata

4.3.2.2. Klaster analiza po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata

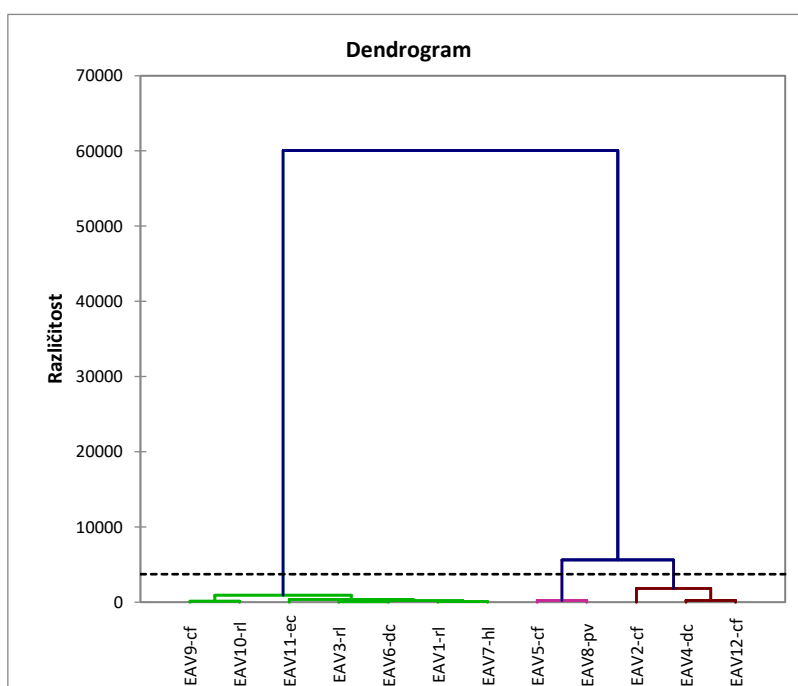
Klaster analiza ispitivanih vrsta *Artemisia* svake zasebno je pokazalo tri glavna klastera, svaki na osnovu sadržaja ukupnih fenola, ukupnih flavonoida i antioksidativnih testova (DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC). Za klaster analizu su korišćeni isti skupovi podataka kao za PCA (normalizovani, bez autlajera). Rezultati AHC analize dati su kao dendrogrami za svaku istraživanu vrstu *Artemisia* posebno (Slike 4.38-4.41).



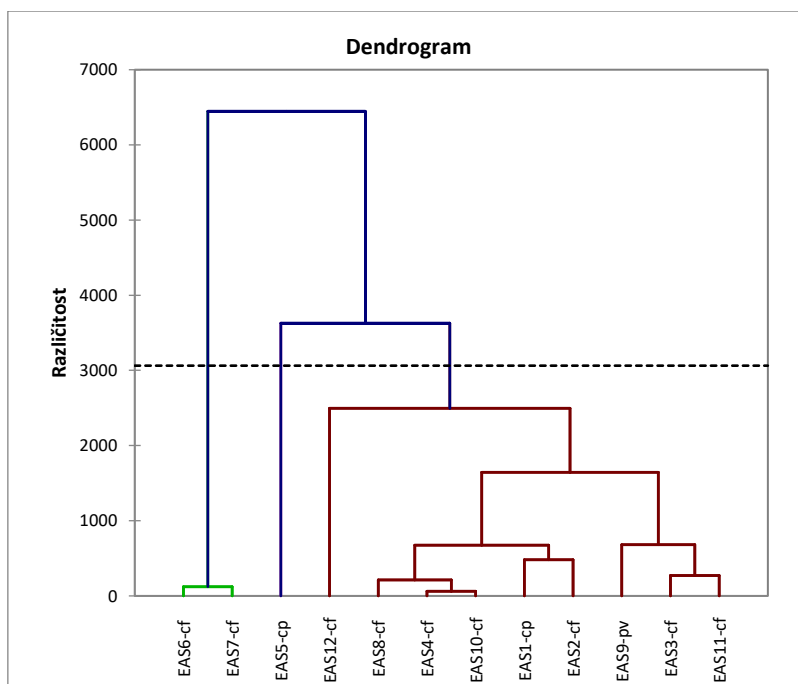
Slika 4.38 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. absinthium* (EAB) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata



Slika 4.39 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. annua* (EAN) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata



Slika 4.40 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. vulgaris* (EAV) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata



Slika 4.41 Dendrogram klaster analize uzoraka *A. scoparia* (EAS) koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata

4.3.2.3. Analiza varijanse po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata

Rezultati ANOVA testova izvršeni na normalno raspoređenim eksperimentalnim podacima (transformisanim u ACI vrednosti) pokazuju da ne postoje značajne statističke razlike ($<0,0001$) u količinama koje su utvrđene pomoću testova za određivanje ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida, DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC, izuzev u slučaju *A. scoparia*. Analiza varijanse pokazuje da postoje značajne statističke razlike utvrđene korišćenjem najmanje jednog od četiri testa za analizu razlika između zadatih kategorija sa intervalom poverenja od 95% (Tukey test, Fisher test, Bonferroni test, ili/i Dunnett test) u odnosu na tip zemljišta.

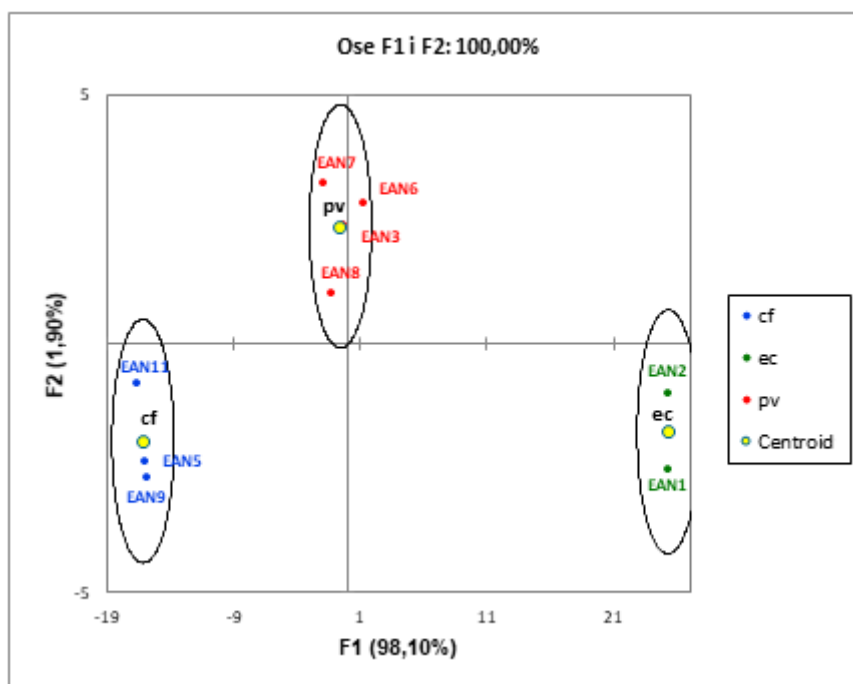
Kada je analiza varijansi primenjena na vrednosti ACI indeksa za ispitivanu biljnu vrstu *A. scoparia*, utvrđeno je sadržaj ukupnih flavonoida pokazuje statističku značajnost, pri čemu je $Pr>|t|$ i iznosi 0,0135, što bi dalje značilo da postoji mogućnost diferenciranja cf i cp tipa zemljišta na osnovu ukupnog sadržaja flavonoida kod *A. scoparia*. Standardni reziduali su svi u opsegu [-2,2].

4.3.2.4. Multivarijantna analiza varijanse po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata

MANOVA analize su urađene za uzorke svake ispitivane vrste zasebno, pri čemu je ispitivan uticaj tipa zemljišta na zavisne varijable (ukupni fenoli, ukupni flavonoidi i antioksidativni testovi DPPH, ABTS, TRP, FRAP i CUPRAC). Pokazalo se da i za *A. scoparia* i za *A. annua* postoji značajan uticaj tipa zemljišta na zavisne varijable, dok za *A. vulgaris* i *A. absinthium* nema značajnog uticaja tipa zemljišta na zavisne promenljive.

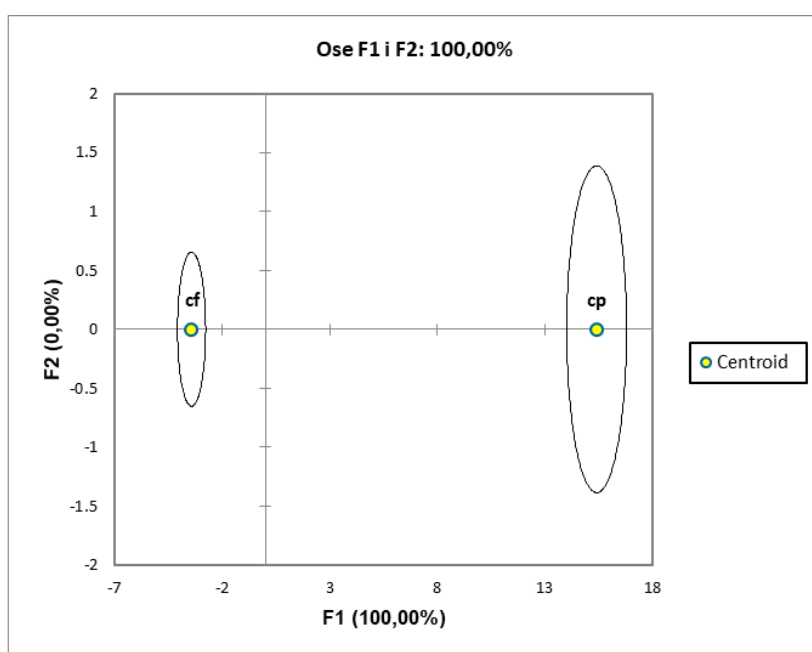
4.3.2.5. Diskriminantna analiza po ukupnom sadržaju fenola, ukupnom sadržaju flavonoida i antioksidativnim testova metanolnih ekstrakata

Za diskriminantnu analizu korišćeni su odvojeno skupovi podataka za *A. annua* i *A. scoparia*, jer je MANOVA pokazala da za te dve vrste postoji značajan uticaj tipa zemljišta na sadržaj ukupnih fenola, sadržaj ukupnih flavonoida i antioksidativne testove (DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC). Ako se tip zemljišta nije ponovio među uzorcima jedne biljne vrste, takav uzorak je izostavljen. Rezultati DA za uzorke *A. annua* na osnovu tipa zemljišta prikazani su na Slici 4.42. Klasifikacija uzoraka je odlična i uočavaju se tri dobro razdvojena centroida.



Slika 4.42 Diferencijacija uzoraka *A. annua* (EAN) sa različitih tipova zemljišta na osnovu ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata

Sličan zaključak se može izvući i za uzorke *A. scoparia*, osim što tu postoje dva centroida (Slika 4.43). I u ovom slučaju, DA se pokazala kao dobar statistički alat za obradu ovakvog tipa podataka. Dobijeni rezultati ukazuju na to da postoji statistički značajan uticaj tipa zemljišta na sadržaj ukupnih fenola, sadržaj ukupnih flavonoida i antioksidativne testove u slučaju obe odabrane biljne vrste.



Slika 4.43 Diferencijacija uzoraka *A. scoparia* sa različitih tipova zemljišta na osnovu ukupnog sadržaja fenola, ukupnog sadržaja flavonoida i antioksidativnih testova metanolnih ekstrakata

4.4. REZULTATI ANALIZE SADRŽAJA MAKRO I MIKRO ELEMENATA U ISPITIVANIM VRSTAMA RODA *ARTEMISIA*

Cilj ovog dela istraživanja je da se utvrde razlike u akumulaciji metala kod proučavanih vrsta *Artemisia* i korelacija između sadržaja elemenata i tipa zemljišta staništa. Za potrebe ovog istraživanja prikupljeno je pomenutih pet predstavnika srpske flore *Artemisia* (dva uzorka svake biljne vrste sa različitih lokaliteta i različitih tipova zemljišta, ali u istoj fazi razvoja).

Pretraživanjem literaturnih podataka, dolazi se do zaključka da ova disertacija pruža prvi izveštaj o elementnoj analizi, i to je za *A. vulgaris* detektovano i kvantifikovano osam elemenata (K, Na, P, Al, B, Ba, Si, V), za *A. alba* devet elemenata (K, Na, P, Al, B, Ba, Be, Si, V), za *A. absinthium*, takođe, devet elemenata (K, Na, P, Al, B, Be, Ba, Si, V), za *A. annua* trinaest elemenata (K, Na, P, B, Ba, Be, Si, V, Mg, Fe, Ca, Co, Zn) i za *A. scoparia* čak dvadeset elemenata (K, Na, P, Al, B, Ba, Be, Si, V, Mg, Fe, Ca, Ni, Mn, Cr, Co, Zn, Pb, Cu, Cd) korišćenjem IPC OES metode.

4.4.1. Rezultati kontrole kvaliteta

Za ispitivanje tačnosti i ponovljivosti metoda kvantitativnog određivanja sastava biljnih uzoraka korišćen je CRM, a rezultati su prikazani u Tabeli 4.32. Poređenjem koncentracije u CRM sa dobijenim rezultatima, zadovoljavajuća tačnost (<10%) postignuta je za elemente: Ba, Ca, Cd, Cr, K, Mn, Ni, P i Zn. Sertifikovane vrednosti za Fe i Pb određene su masenom spektrometrijom razblaženja izotopa, tako da je kod ovih elemenata manja preciznost. U slučaju As i Hg postoji najveća nesigurnost, koja sugerise da metod pripreme CRM nije odgovarajući. Za sve elemente je preciznost ponovljivosti ispod 9%, osim za Hg kod koje je 26%. Za većinu elemenata, tačnost i ponovljivost su bili u okviru prihvatljivih procenata (RSD) iz Horwitz (Horwitz, 1982; Thompson, 2004) i AOAC Peer Verified Methods (PVM, 2020). Prema ovim kriterijumima za koncentracije: 100 µg/kg, 1 mg/kg, 10 mg/kg i 100 mg/kg, maksimalne RSD su: 22,6%, 16,0%, 11,3% i 8,00%, redom.

Tabela 4.32 Netačnost i preciznost metode određene korišćenjem sertifikovanog referentnog materijala (CRM LGC7162)

Element	λ (nm)	Sertifikovana vrednost*	Određena vrednost*	Netačnost (%)	Preciznost (%)
As	193,759	0,28 ± 0,07	0,23 ± 0,02	-17,8	8,7
B	249,773	ND	31,2 ± 0,5	/	1,6
Ba	493,409	107 ± 10	97,2 ± 0,3	-9,20	0,3
Ca**	422,673	1,53 ± 0,07	1,412 ± 0,002	-7,70	0,1
Cd	226,502	0,17 ± 0,04	0,172 ± 0,002	1,20	1,2
Co	228,616	0,5 ± 0,1	0,396 ± 0,005	-15,7	1,3
Cr	283,563	2,1 ± 0,3	2,32 ± 0,04	7,90	1,7
Fe	259,940	818 ± 48	493 ± 3	-39,7	0,6
Hg	184,950	0,027 ± 0,006	0,8 ± 0,2	2752	26
K**	766,490	2,0 ± 0,1	1,664 ± 0,003	-10,0	0,2
Mg**	279,553	0,38 ± 0,02	0,32 ± 0,02	-15,1	7,4
Mn	257,610	171 ± 10	155,0 ± 0,3	-9,30	0,2
Ni	221,647	2,6 ± 0,7	2,61 ± 0,02	0,50	0,8
P**	213,618	0,26 ± 0,02	0,241 ± 0,001	-7,30	0,4
Pb	220,353	1,8 ± 0,4	2,10 ± 0,01	16,7	0,4
Si	251,611	ND	22,5 ± 0,3	/	1,3
Zn	213,856	24 ± 5	22,0 ± 0,1	-8,30	0,5

λ talasna dužina

* Srednja koncentracija (CSR) ± standardna devijacija

** Koncentracija na g/100g

ND nije određeno

4.4.2. Sadržaj makro i mikroelemenata

Koncentracije dvadeset elemenata, koje su utvrđene u pet vrsta *Artemisia*, sumirane su u Tabeli 4.33 (makroelementi) i Tabeli 4.34 (mikroelementi). Rezultati su dati kao mikrogram elementa po gramu suve mase ($\mu\text{g/g SM}$). Uzorak AN10 sadrži najveću količinu K i P među svim uzorcima. Uzorak AA8 sadrži najveću koncentraciju Mg, ali i najniže koncentracije P i Ca među svim uzorcima. Dalje, Na je u najvećoj količini pronađen u uzorku AS5, dok je Ca u najvećoj količini u uzorku AA2. Kao što se može videti, biljke iz roda *Artemisia* koje su ispitivane u ovoj disertaciji siromašne su Na.

Tabela 4.33 Sadržaj makroelemenata ($\mu\text{g/g}$) u uzorcima *Artemisia* ispitivanim pomoću ICP-a

Uzorak	Ca	K	Mg	Na	P
AA8	3072 \pm 40	10202 \pm 14	3346 \pm 35	3,154 \pm 0,005	952,4 \pm 0,8
AA2	8635 \pm 33	13539 \pm 664	1398 \pm 9	3,08 \pm 0,02	1616 \pm 4
AB1	3906 \pm 37	14512 \pm 42	780,6 \pm 4	3,18 \pm 0,02	2608 \pm 4
AB6	5126 \pm 5	13761 \pm 15	1019 \pm 4	2,505 \pm 0,005	2391 \pm 5
AV12	5546 \pm 30	13614 \pm 76	942,6 \pm 4	2,41 \pm 0,02	2975 \pm 1
AV11	8232 \pm 39	12681 \pm 28	1005 \pm 10	1,970 \pm 0,005	2753 \pm 10
AS8	3557 \pm 33	9127 \pm 59	899 \pm 11	2,76 \pm 0,02	1638 \pm 5
AS5	4233 \pm 5	11692 \pm 57	701,2 \pm 5	4,94 \pm 0,01	1634 \pm 10
AN1	5183 \pm 34	16229 \pm 56	1373 \pm 7	2,62 \pm 0,02	2711 \pm 2
AN10	4348 \pm 7	18554 \pm 19	1465 \pm 13	3,215 \pm 0,009	3641 \pm 4

AA-A. *alba*; AB-A. *absinthium*; AN-A. *annua*; AV-A. *vulgaris*; AS-A. *scoparia*; Vrednosti su srednje vrednosti ($n=3$) \pm standardna devijacija

U pogledu mikroelemenata, ako se uradi uporedna analiza svih uzoraka, može se videti da uzorak AA8 sadrži deset elemenata u najvećoj količini (Al, Be, Co, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, Si, V) od ukupno petnaest utvrđenih, AN10 sadrži dva elementa u najvećoj količini (B i Zn), AV11 takođe dva (Ba i Cu), dok AS5 sadrži jedan (Cd). Možda je važno napomenuti da je koncentracija Al veća od koncentracije P u uzorku AA8.

Tabela 4.34 Sadržaj mikroelemenata ($\mu\text{g/g}$) u uzorcima *Artemisia* ispitivanim pomoću ICP-a

Uzorak	Al	B	Ba	Be	Cd
AA8	973 \pm 5	42,6 \pm 0,7	10,35 \pm 0,06	14,1 \pm 0,4	0,263 \pm 0,004
AA2	55,2 \pm 0,6	50,4 \pm 0,5	1,79 \pm 0,02	n,d,	0,119 \pm 0,006
AB1	52,5 \pm 0,1	39,8 \pm 0,5	7,93 \pm 0,02	0,04 \pm 0,3	0,086 \pm 0,002
AB6	64,6 \pm 0,3	39,3 \pm 0,2	8,29 \pm 0,04	n,d,	0,059 \pm 0,002
AV12	46,6 \pm 0,3	43,7 \pm 0,2	14,13 \pm 0,08	n,d,	0,229 \pm 0,001
AV11	38,3 \pm 0,2	41,0 \pm 0,6	15,4 \pm 0,1	n,d,	0,339 \pm 0,001
AS8	110,8 \pm 0,2	16,4 \pm 0,2	8,64 \pm 0,03	0,519 \pm 0,007	0,500 \pm 0,000
AS5	130,8 \pm 0,1	28,4 \pm 0,3	8,16 \pm 0,04	0,62 \pm 0,03	0,607 \pm 0,001
AN1	50,0 \pm 0,3	29,09 \pm 0,08	6,24 \pm 0,03	0,438 \pm 0,005	0,238 \pm 0,001
AN10	70,2 \pm 0,3	53,2 \pm 0,4	5,55 \pm 0,04	0,62 \pm 0,03	0,196 \pm 0,003
Uzorak	Co	Cr	Cu	Fe	Mn
AA8	5,781 \pm 0,008	43,7 \pm 0,1	12,9 \pm 0,1	2096 \pm 10	97,7 \pm 0,4
AA2	0,165 \pm 0,001	11,11 \pm 0,08	10,47 \pm 0,06	109,0 \pm 0,6	30,5 \pm 0,1
AB1	0,109 \pm 0,001	10,70 \pm 0,05	8,6 \pm 0,1	111,7 \pm 0,9	16,05 \pm 0,05
AB6	0,110 \pm 0,004	10,22 \pm 0,08	8,38 \pm 0,04	105,5 \pm 0,4	20,55 \pm 0,08
AV12	0,150 \pm 0,000	10,09 \pm 0,08	17,9 \pm 0,2	62,7 \pm 0,3	26,7 \pm 0,2
AV11	0,169 \pm 0,002	9,06 \pm 0,07	19,6 \pm 0,2	65,46 \pm 0,09	28,0 \pm 0,1
AS8	0,178 \pm 0,005	11,24 \pm 0,03	7,82 \pm 0,09	184 \pm 1	27,50 \pm 0,09
AS5	0,179 \pm 0,006	14,89 \pm 0,07	12,77 \pm 0,08	200,7 \pm 0,1	30,61 \pm 0,03
AN1	0,130 \pm 0,001	11,55 \pm 0,07	14,87 \pm 0,05	139,1 \pm 0,8	27,1 \pm 0,1
AN10	0,172 \pm 0,003	10,92 \pm 0,09	17,7 \pm 0,2	145,6 \pm 0,8	24,8 \pm 0,1

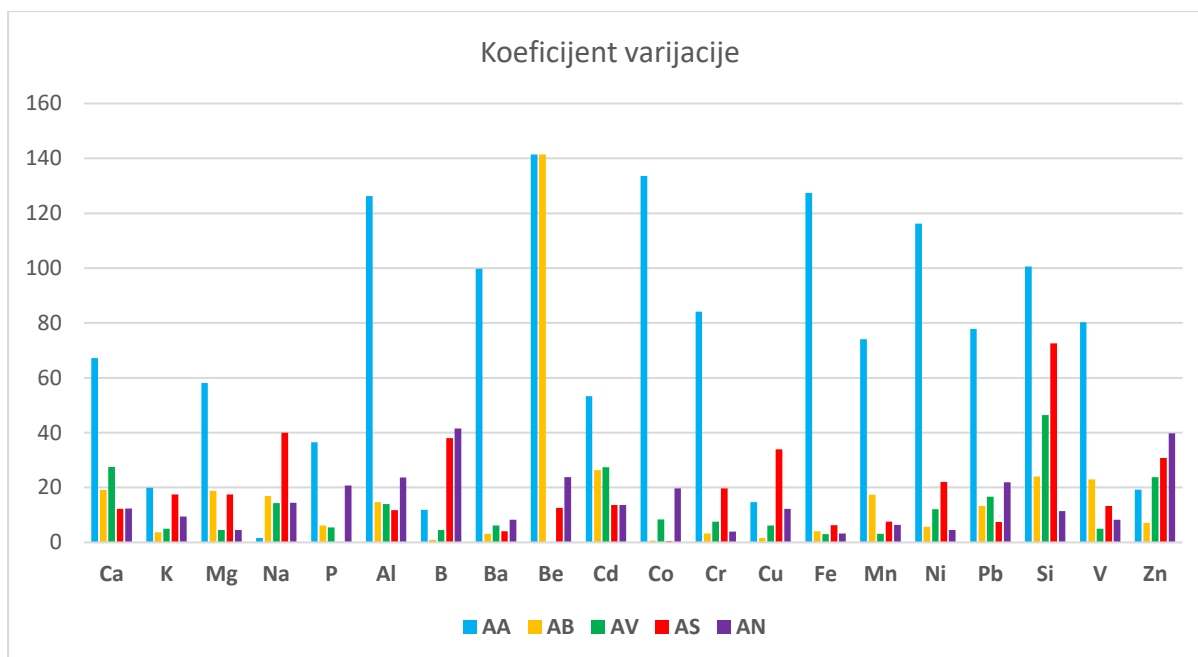
Uzorak	Ni	Pb	Si	V	Zn
AA8	80,40 ± 0,06	2,11 ± 0,03	13,1 ± 0,5	15,5 ± 0,1	21,23 ± 0,06
AA2	7,86 ± 0,04	0,61 ± 0,05	2,20 ± 0,09	4,27 ± 0,02	27,9 ± 0,2
AB1	7,412 ± 0,009	1,276 ± 0,006	2,8 ± 0,1	2,23 ± 0,03	26,27 ± 0,02
AB6	6,84 ± 0,03	1,06 ± 0,01	3,99 ± 0,04	3,10 ± 0,01	23,75 ± 0,08
AV12	7,71 ± 0,01	0,70 ± 0,02	2,8 ± 0,1	2,85 ± 0,02	31,9 ± 0,1
AV11	6,50 ± 0,02	0,55 ± 0,05	5,6 ± 0,3	3,06 ± 0,03	44,8 ± 0,2
AS8	7,28 ± 0,03	1,07 ± 0,02	5,2 ± 0,1	2,81 ± 0,01	18,83 ± 0,05
AS5	9,96 ± 0,06	1,19 ± 0,05	1,67 ± 0,08	2,326 ± 0,009	29,3 ± 0,1
AN1	8,21 ± 0,03	0,94 ± 0,02	10,5 ± 0,2	4,05 ± 0,02	35,8 ± 0,07
AN10	7,71 ± 0,01	1,29 ± 0,02	8,9 ± 0,1	4,55 ± 0,04	63,6 ± 0,1

AA-A. *alba*; AB-A. *absinthium*; AN-A. *annua*; AV-A. *vulgaris*; AS-A. *scoparia*; Vrednosti su srednje vrednosti (n=3) ± standardna devijacija

Za bolje poređenje uzoraka iste vrste, izračunati su koeficijenti varijacije (CV) i prikazani na Slici 4.44. Odatle se može videti da su za makroelemente CV generalno relativno mali za *A. absinthium*, *A. vulgaris*, *A. scoparia* i *A. annua*, dok su za *A. alba* CV za Ca i Mg prilično veliki (> 40%).

Ako se isto uzme u obzir i za mikroelemente, može se primetiti da je broj elemenata sa CV<20% prilično velik. Na primer, broj identifikovanih i kvantifikovanih elemenata sa CV<20% u *A. absinthium* i *A. vulgaris* bio je 11 za obe, od ukupno 15 i 14 detektovanih, redom. Kod *A. scoparia* i *A. annua*, broj mikroelemenata sa CV<20% bio je 10 od po 15 kvantifikovanih kod obe biljne vrste.

Može se zaključiti da su uzorci u okviru jedne biljne vrste (*A. absinthium*, *A. vulgaris*, *A. scoparia* i *A. annua*) po kvalitativnom sastavu gotovo isti, a kvantitativno prilično slični. Jedina kvalitativna razlika nađena je u pogledu Be u uzorcima AB, odnosno AB1 sadrži 0,044 µg/g, dok u AB6 Be uopšte nije detektovan. Veće razlike u količinama makro i mikroelemenata kod *A. alba* su već primetne i mogu biti posledica različitog okruženja iz kojeg su uzorci *A. alba* sakupljeni (tipovi zemljišta, tereni, nadmorske visine, zagađenje vazduha i dr.). Na primer, nadmorska visina lokaliteta na kome je sakupljan biljni materijal uzorka AA8 je 900 m, dok se drugi lokalitet na kome je sakupljan uzorak AA2 nalazi na 420 m nadmorske visine.



Slika 4.44 Koeficijenti varijacije (%) izračunati za dva uzorka u okviru jedne biljne vrste *Artemisia* (AA-*A. alba*; AB-*A. absinthium*; AN-*A. annua*; AV-*A. vulgaris*; AS-*A. scoparia*)

Prethodna istraživanja *A. vulgaris* i *A. annua* korišćenjem ICP MS prikazana su u teorijskom delu ove doktorske disertacije u Poglavlju 2.5. u Tabeli 2.11. Može se primetiti da su srednje koncentracije Al i Pb u našim uzorcima oko četiri puta niže od onih koje je odredio Brima (2017), dok je suprotno, srednja koncentracija Cd skoro devet puta veća. Nasuprot tome, srednje vrednosti za Cd i Pb prikazane u ovoj disertaciji su nešto niže, dok je srednja vrednost za Zn skoro tri puta veća, a srednja vrednost za Ni čak šest i po puta veća od onih koje su utvrdili Negi i sar. (2012).

Rezultati prethodne ICP OES višeelementne studije *A. absinthium*, *A. vulgaris* i *A. alba* (Branković, 2014) prikazani su u teorijskom delu ove doktorske disertacije u Poglavlju 2.5. u Tabeli 2.12.

U slučaju *A. alba*, upoređivanjem koncentracije elemenata ispitivanih uzoraka sa publikovanim rezultatima, može se videti da je u ispitivanom uzorku koncentracija čak deset elemenata veća (koncentracija Cr skoro pet puta veća), dok je samo koncentracija Mg skoro duplo manja. Kod *A. absinthium* situacija je obrnuta, koncentracije svih elemenata koje je odredila Branković (2014) su veće od onih, kvantifikovanih, u ovom radu. Kod *A. vulgaris* u analiziranom uzorku su zastupljenija samo četiri elementa (Cu, Zn, Pb i Cd).

Pojedine vrste iz roda *Artemisia* mogu se svrstati u dobre akumulatore metala (Branković, 2014). Na primer, Overesch i sar. (2007) su pokazali da *A. vulgaris* akumulira Cd i Cu. Ukoliko se rezultati iz Tabele 2.12 uporede sa rezultatima istraživanja sprovedenih u

okviru ove doktorske disertacije, može se videti da su koncentracije Cu u obe studije prilično visoke, ali i da su u biljnim vrstama *A. vulgaris* i *A. alba* drastično veće u ovoj studiji.

4.4.2.1. Preporučeni dnevni unos makroelemenata u odabranim vrstama roda *Artemisia*

Ako posmatramo prosečne vrednosti za svaki element u uzorcima iz svake vrste posebno, mogli bismo izračunati masu biljaka koja je potrebna da bi se obezbedio dnevni unos (Tabela 2.13 u Poglavlju 2.5. u teorijskom delu ove doktorske disertacije) navedenih elemenata (izračunali smo dnevni unos elementa samo za biljku koja ima najveći prosečan sadržaj tog elementa u odnosu na ostale četiri vrste). Na primer, da bi se obezbedile dnevne potrebe za Ca, bilo bi neophodno konzumirati 138 g *A. vulgaris*; da bi se obezbedile dnevne potrebe Mg bilo bi potrebno konzumirati 148 g *A. alba*. Dnevni unos Na može se zadovoljiti potrošnjom od 390 g *A. scoparia*, dok bi se K i P mogli uzeti od 201 g i 173 g *A. annua*, redom.

4.4.2.2. Maksimalne dozvoljene količine Pb, Cd, Cr i Cu u *Artemisia* biljnim proizvodima

S druge strane, ako računamo da maksimalna količina konzumiranih biljaka ne prelazi predloženu dnevnu granicu u gotovom dodatku ishrani navedenih elemenata (Tabela 2.14 u Poglavlju 2.5. u teorijskom delu ove doktorske disertacije), možemo preporučiti da ne bi trebalo da se unosi više od 14,7 g *A. alba* ukoliko se ne želi prekoračiti granica postavljena za Pb ili više od 0,73 g *A. alba* ukoliko se ne želi prekoračiti granica postavljena za Cr. Maksimalna masa biljke *A. scoparia* ne bi trebalo da bude veća od 10,8 g, zbog kontrole unosa Cd, dok masa od preko 1,07 g *A. vulgaris* prelazi predloženu dnevnu granicu za Cu.

4.4.3. Hemometrijska analiza sadržaja makro i mikro elemenata u ispitivanim vrstama roda *Artemisia*

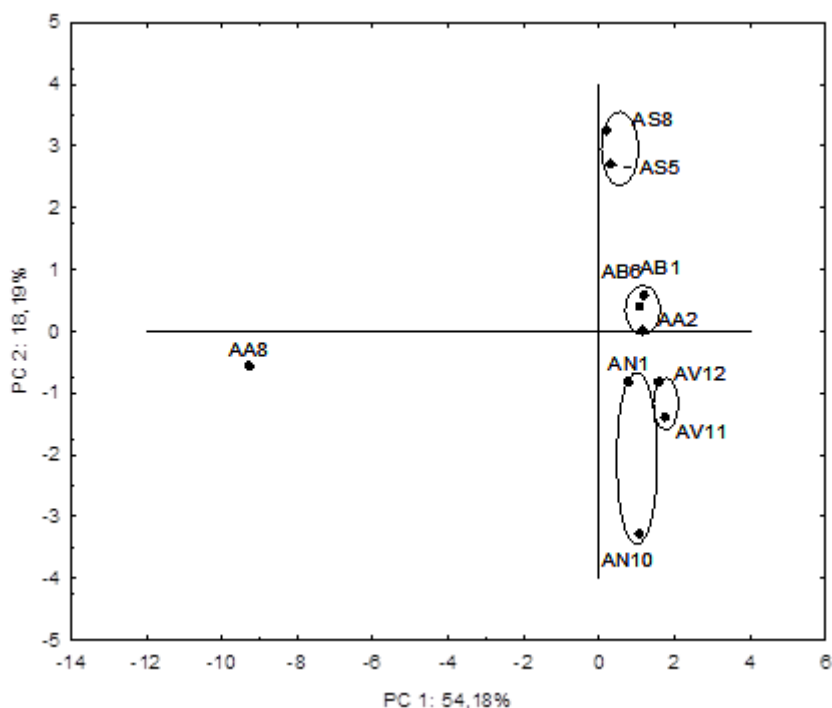
Za utvrđivanje međusobnog odnosa između analiziranih elemenata i ispitivanih vrsta roda *Artemisia*, odnosno tipa zemljišta na kojima su rasle odabrane biljne vrste, kao i između analiziranih elemenata međusobno, urađena je PCA analiza koja je sprovedena na dvadeset elemenata i pet vrsta *Artemisia*. Zbog zadovoljavajućih vrednosti po Kaiser-ovom kriterijumu, korelaciona matrica nije bila podvrgnuta rotaciji, pa je PCA primenjena na originalni skup podataka. U ovoj studiji izdvojeno je pet glavnih komponenata, sa sopstvenim

vrednostima većim od 1, kao što je sugerisano Kaiser-ovim kriterijumom (Kaiser, 1960). Pored PCA testa urađena je i klaster analiza. Korelacija između sadržaja metala je utvrđena regresionom analizom na nivou značajnosti od 95% ($p \leq 0,05$).

4.4.3.1. Analiza glavnih komponenta po sadržaju makro i mikro elemenata u vrstama roda *Artemisia*

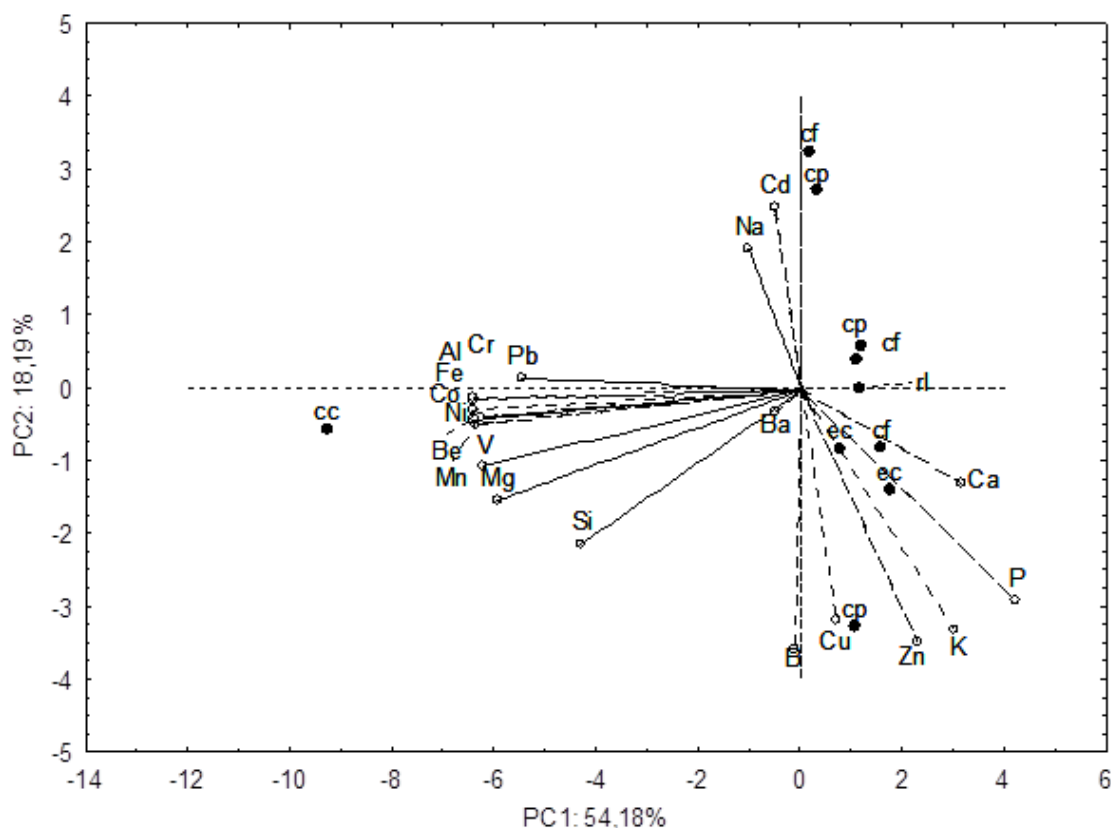
Analizirani elementi su u korelaciji sa dve glavne komponente (PC) sa 72,37% ukupne varijanse. Prva glavna komponenta (PC1) objašnjava 54,18% ukupne varijanse. Dijagram sa rezultatima za proučavane uzorke *Artemisia* prikazan je na Slici 4.45. Može se videti da su uzorci grupisani u pet grupa. Oba uzorka *A. scoparia* nalaze se na pozitivnoj strani plotu čineći jednu grupu. Uzorci *A. annua* formiraju drugu grupu uzoraka, dok su uzorci *A. vulgaris* grupisani tako da čine treću grupu. Dva uzorka *A. absinthium* i uzorak AA2 izdvojili su se kao četvrta grupa. S druge strane, uzorak AA8 je formirao sopstvenu grupu.

Uzorak AA8 je jasno izdvojen na negativnoj strani dijagrama i ima najveća negativna opterećenja na PC1, dok je uzorak AN10 sa najvećim negativnim opterećenja na PC2. Uzorak AV11 je ima najveća pozitivna opterećenja na PC1. Uzorak AS8 je odvojen na pozitivnoj strani dijagrama i ima najveća pozitivna opterećenja na PC2.



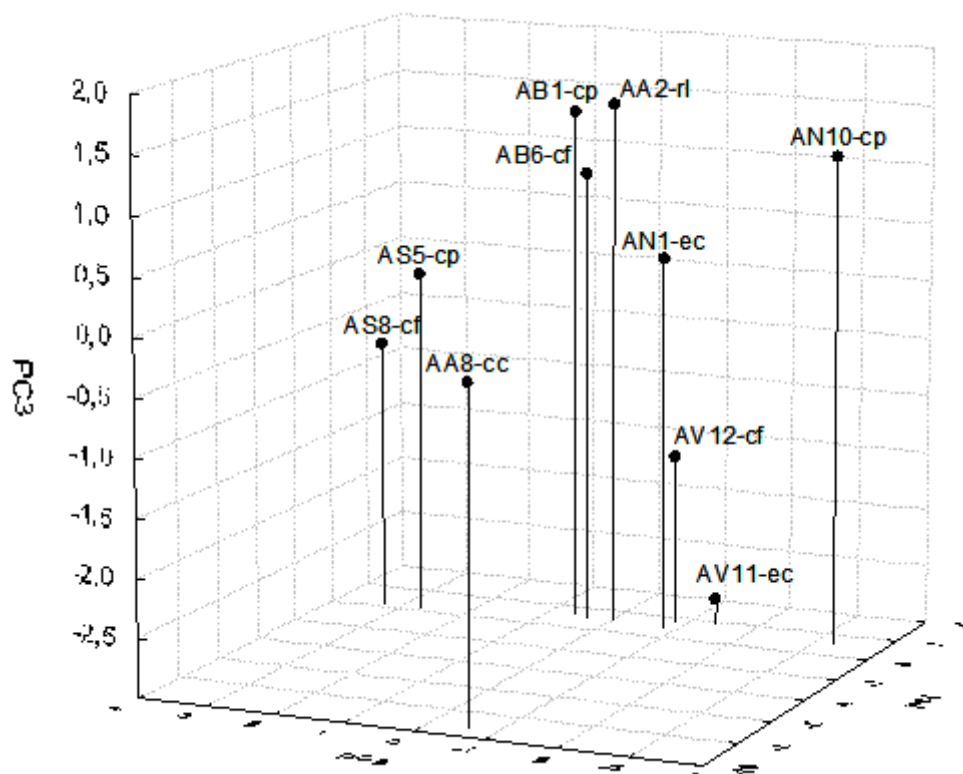
Slika 4.45 Grafikon analize glavnih komponenta uzoraka *Artemisia*-tip zemljišta na osnovu koncentracija makroelemenata i mikroelemenata određenim pomoću ICP-a; (AA-*A. alba*; AB-*A. absinthium*; AN-*A. annua*; AV-*A. vulgaris*; AS-*A. scoparia*)

Korelacija tipa zemljišta i proučavanih elemenata može se uočiti sa Slike 4.46. Nijedan od elemenata nije na pozitivnoj strani grafikona. Elementi Cd i Pb, zajedno sa Na, odvojeni su na jednoj strani grafikona i Cd ima najveća pozitivna opterećenja na PC2, dok B ima najveća negativna opterećenja na PC2. Prisutni uglavnom kao rezultat antropogenih faktora, Cd i Pb, odvojeni su od ostalih elemenata, osim od Na, a to je u korelaciji sa njihovom toksičnošću. Takođe, zanimljivo je uočiti kvantitativne razlike između ta dva elementa. Iz Tabele 4.34 može se videti da su koncentracije Pb u svim ispitivanim uzorcima veće od koncentracija Cd. Ovi rezultati su analogni nalazima nekih prethodnih studija prehrambenih biljaka (Truong, 2020; Filipiak-Szok, 2015). Makroelementi Ca, P, K grupisani su na pozitivnoj strani PC1 i može se primetiti da je tip zemljišta eutric cambisol (ec) pretežno u korelaciji sa koncentracijama tih makroelemenata, kao i Zn, te da je grupisanje uzoraka sa te vrsta tla dobro. Uzorak sakupljen sa rendzic leptosol (rl) tipa zemljišta odvojen je na jednoj strani plotu (leži na osi plotu) od uzorka iste biljne vrste, ali koji je sakupljen sa chromic cambisol (cc) tipa zemljišta, a njegovo odvajanje je u negativnoj korelaciji sa koncentracijom Pb. S druge strane, odvajanje uzoraka sa cc uslovljeno je pre svega prisustvom Cr, Al, Fe, Co, Ni, Be i Mn.



Slika 4.46 PCA dijagram analiziranih uzoraka *Artemisia* koji pokazuje korelaciju između tipa zemljišta i sadržaja makroelemenata i mikroelemenata

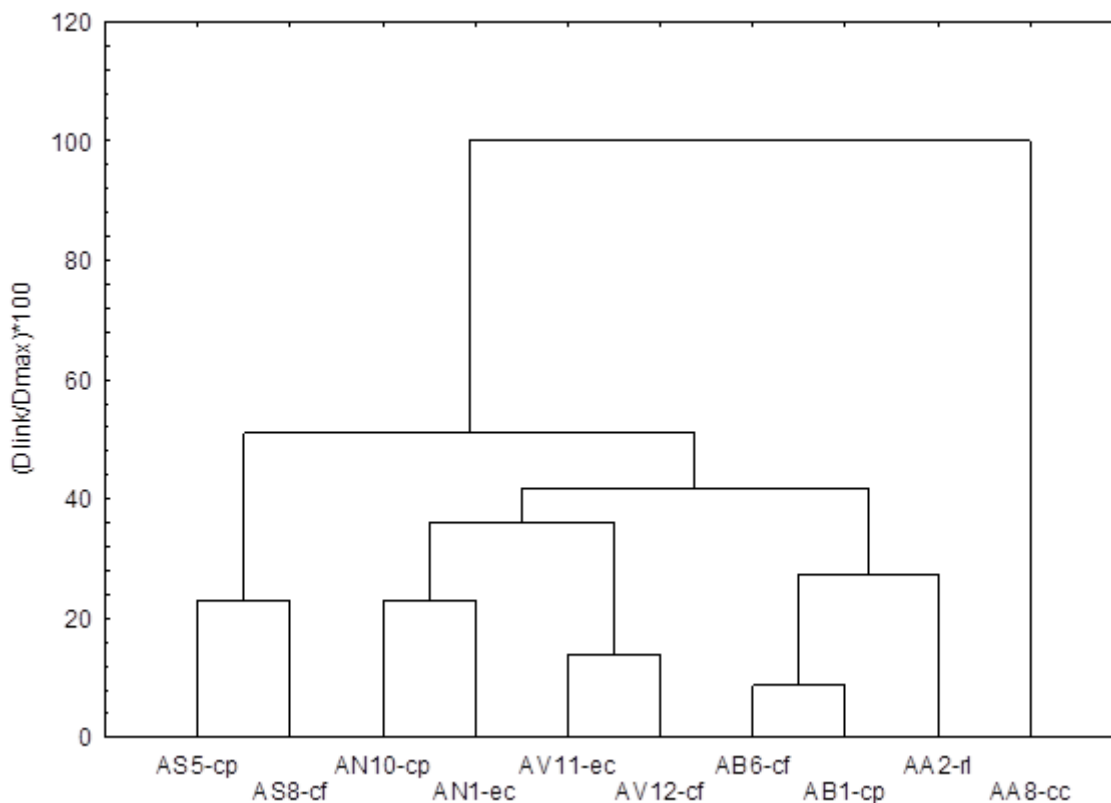
Bolji vizuelni uvid u trodimenzionalni PCA daje Slika 4.47. Rezultati 3D PCA dijagrama su u kompatibilnosti sa rezultatima dobijenim hijerarhijskom analizom klastera (Slika 4.48).



Slika 4.47 Trodimenzionalni dijagram predstavlja PCA plot makroelemenata i mikroelemenata na osnovu njihovih koncentracija na grafikonu opterećenja; (AA-A. *alba*; AB-A. *absinthium*; AN-A. *annua*; AV-A. *vulgaris*; AS-A. *scoparia*)

4.4.3.2. Klaster analiza po sadržaju makro i mikro elemenata u vrstama roda *Artemisia*

Višeelementni sastav daje korisne podatke za klasifikaciju različitih vrsta *Artemisia*-tip zemljišta. Dobijeni rezultati za vrste *Artemisia* prikazani na Slici 4.48 pokazuju prisustvo tri klastera na nivou sličnosti od 50. Prvi klaster sadrži oba uzorka *A. scoparia*. Drugi, veći klaster sadrži sve uzorke *A. annua*, *A. vulgaris*, *A. absinthium*, kao i uzorak jedan uzorak *A. alba* (AA2), a treći klaster čini samo uzorak AA8.



Slika 4.48 Dendrogram klaster analize odabranih vrsta *Artemisia*-tip zemljišta na osnovu makro i mikro elemenata kvantifikovanih pomoću ICP-a; (AA-*A. alba*; AB-*A. absinthium*; AN-*A. annua*; AV-*A. vulgaris*; AS-*A. scoparia*)

Dendrogram na nivou sličnosti od 30 pokazuje pet klastera: prvi sačinjen od AS8 i AS5; drugi od AN1 i AN10; treći od AV12 i AV11; četvrti od AB1, AB6 i AA2; i peti formiran samo od uzorka AA8.

Tri uzorka AB1, AB6 i AA2 grupisana su u dva klastera na niskom nivou različitosti u pogledu sadržaja metala (prvi klaster sačinjen od uzoraka AB1 i AB6 i drugi u kome se sam za sebe izdvojio uzorak AA2).

Klasifikacija između različitih tipova zemljišta u korelaciji sa višeelementnim sastavom, takođe, je prikazana na Slici 4.48. Grupisanje je slično onom prikazanom na PCA grafikonu (Slika 4.45). Na nivou sličnosti od 60 mogu uočavati se dva klastera. Prva grupa sadrži uzorke sakupljene sa četiri tipa zemljišta: cp, cf, ec i rl, dok drugu grupu čine uzorci biljaka sakupljeni sa chromic cambisol.

Može se primetiti da su rezultati dobijeni PCA analizom kompatibilni sa rezultatima AHC analize i da ih u potpunosti podržavaju. Dalje, može se smatrati da je dominantan faktor u akumulaciji elemenata sama vrsta, jer se uočava da se svaki podklaster sastoji od uzoraka iste vrste, a koji su prikupljeni sa različitih tipova zemljišta, izuzev uzoraka *A. alba*.

4.5. REZULTATI ANALIZE USREDNJENIH ETARSKIH ULJA I NJIHOVA BIOLOŠKA AKTIVNOST

Za ispitivanje biološke aktivnosti bila je potrebna određena masa etarskih ulja koja nije mogla biti obezbeđena za svaki uzorak pojedinačno za svaku vrstu, s obzirom na mali sadržaj etarskih ulja (prinos etarskog ulja svih uzoraka *A. alba* dat je u Tabeli 4.2; *A. absinthium* u Tabeli 4.4; *A. annua* u Tabeli 4.6; *A. vulgaris* u Tabeli 4.8 i *A. scoparia* u Tabeli 4.10). Ovaj problem rešen je tako što su spojena izolovana etarska ulja svih uzoraka svake od ispitivanih vrsta (usrednjena etarska ulja), određen je njihov hemijski sastav i ispitana biološka aktivnost.

4.5.1. Sastav usrednjenih uzorka etarskih ulja analiziranih vrsta roda

Artemisia

Sastav usrednjenog uzorka je, takođe, određen pomoću GC/MS-a za svih pet analiziranih vrsta roda *Artemisia*, a rezultati su dati u Tabeli 4.35, dok je broj identifikovanih komponenata po usrednjenom uzorku *Artemisia*, procenat svake klase jedinjenja i procenat ukupno identifikovanih komponenata dat kao Tabela 4.36.

Tabela 4.35 Hemijski sastav usrednjenih uzoraka etarskih ulja vrsta: *A. alba* (ΣAA), *A. absinthium* (ΣAB), *A. annua* (ΣAN), *A. vulgaris* (ΣAV) i *A. scoparia* (ΣAS)

Klasa	Jedinjenje	RI	Ria	ΣAA %	ΣAB %	ΣAN %	ΣAV %	ΣAS %
CD	metil-2-metilbutanoat	784	780*	-	-	tr	-	-
O	3-metil-2-butenal	791	778	-	tr	tr	-	-
O	heksanal	802	801	-	tr	tr	-	-
O	4-metil-pentanol	834	830	-	tr	-	-	-
O	4-hidroksi-4-metil-2-pentanon	841	831	-	-	-	-	0,4
CD	etil-2-metilbutanoat	848	842*	-	-	tr	-	-
CD	etil-3-metilbutanoat	851	849	-	-	tr	-	-
O	(Z)-3-heksenol	852	850	-	tr	tr	-	-
O	(E)-2-heksenol	864	854	-	-	tr	-	-
O	(Z)-2-heksenol	865	859	-	-	tr	-	-
O	n-heksanol	867	863	tr	-	tr	-	-
O	heptanal	903	901	-	tr	-	-	-
M	santolina-trien	909	906	-	-	tr	0,7	-
CD	izobutil-izobutanoat	915	908	-	tr	-	-	-
M	triciklen	924	921	-	-	tr	tr	-
M	α -tujen	928	924	-	tr	tr	-	-
M	α -pinen	935	932	-	tr	10,2	tr	0,6
CD	etil-tiglat	939	929	-	-	tr	-	-
CD	propil-2-metilbutanoat	946	944*	-	-	tr	-	-
O	α -fenhen	949	945	-	0,3	-	-	-
M	kamfen	950	946	-	-	1,4	tr	-
M	tuja-2,4(10)-dien	956	953	-	-	tr	-	-
O	benzaldehyd	962	952	tr	tr	tr	tr	4,3
O	n-heptanol	969	959	tr	tr	-	-	-

Rezultati i diskusija

Klasa	Jedinjenje	RI	Ria	ΣAA %	ΣAB %	ΣAN %	ΣAV %	ΣAS %
M	sabinen	975	969	-	tr	1,1	0,5	-
O	1-okten-3-ol	980	974	-	0,5	-	0,7	-
M	β-pinen	980	974	-	-	1,2	tr	1,8
O	3-oktanon	988	979	-	-	-	tr	-
O	6-metil-5-hepten-2-on	988	981	-	tr	-	tr	-
M	mircen	992	988	-	-	1,2	tr	-
O	3-fenil-1-propin	995	990*	-	-	-	-	tr
M	δ-2-karen	999	1001	2,0	-	-	-	-
MO	jomogi alkohol	1001	999	-	-	1,0	-	-
O	n-oktanal	1004	998	-	tr	-	-	-
M	α-felandren	1006	1002	-	tr	tr	-	-
M	α-terpinen	1019	1014	-	tr	tr	-	-
M	p-cimen	1027	1020	-	-	-	-	8,9
M	o-cimen	1027	1022	tr	1,6	tr	1,4	-
M	limonen	1031	1024	-	tr	tr	tr	0,6
M	β-felandren	1032	1025	-	tr	-	-	-
MO	1,8-cineol	1033	1026	0,8	0,9	8,0	21,4	0,4
MO	santolina alkohol	1037	1034	-	-	tr	tr	-
O	lavender lakton	1042	1034*	tr	0,3	-	tr	-
CD	butil-2-metilbutanoat	1043	1041*	-	-	tr	-	-
O	fenilacetaldehid	1046	1036	tr	tr	-	-	-
CD	prenil-izobutanoat	1055	1048	-	tr	-	-	-
M	γ-terpinen	1061	1054	tr	tr	tr	-	tr
MO	santolina epoksid	1055	*	-	-	-	tr	-
MO	artemizija keton	1063	1056	0,4	tr	35,7	tr	-
MO	cis-sabinen hidrat	1069	1065	tr	0,2	0,6	0,7	tr
O	n-oktanol	1071	1063	-	tr	-	-	-
MO	cis-linalol-oksidi	1074	1067	tr	3,2	-	tr	-
O	1-nonen-3-ol	1082	1078*	-	tr	-	-	-
MO	artemizija alkohol	1085	1080	1,2	-	5,1	tr	-
MO	trans-linalol-oksidi	1090	1084	-	2,9	-	tr	-
M	terpinolen	1091	1086	-	-	tr	-	-
MO	6,7-epoksimircen	1095	1090	-	-	-	tr	-
MO	trans-sabinen hidrat	1100	1098	0,6	-	tr	0,8	tr
MO	α-pinen-oksidi	1102	1099	-	-	tr	-	-
MO	linalol	1103	1098	-	10,0	-	-	-
CD	2-metil-butil-2-metil-butanoat	1104	1100	-	-	tr	tr	-
O	n-nonanal	1105	1100	-	0,3	-	-	tr
MO	cis-tujon	1108	1101	-	0,3	-	0,3	-
CD	2-metil-butil-izovalerat	1109	1103	-	tr	-	-	-
MO	(2S,4R)-2-(2-metil-1-propenil)-4-metil-tetrahidropiran	1113	1106	-	tr	-	-	-
CD	3-metil-3-butenil-3-metil-butanoat	1115	1112	-	tr	tr	-	-
MO	endo-fenhol	1116	1114	-	-	-	-	tr
MO	trans-tujon	1119	1112	2,0	9,8	-	5,0	-
MO	cis-p-ment-2-en-1-ol	1124	1118	0,3	0,6	-	tr	-
MO	(2R,4R)-2-(2-metil-1-propenil)-4-metil-tetrahidropiran	1128	1122	-	tr	-	-	-
MO	hrizantenon	1128	1124	-	-	-	tr	-
MO	α-kamfolenal	1129	1122	tr	-	tr	-	tr
MO	cis-p-menta-2,8-dien-1-ol	1135	1133	-	-	tr	-	-
MO	izo-3-tujanol	1137	1134	-	tr	-	1,0	-
O	nopinon	1140	1135	tr	-	-	-	3,8
MO	trans-pinokarveol	1141	1135	-	-	3,3	tr	-
MO	trans-p-ment-2-en-1-ol	1143	1136	-	0,5	-	-	-
CD	(Z)-3-heksenil-izobutanoat	1146	1142	-	tr	-	-	-

Rezultati i diskusija

Klasa	Jedinjenje	RI	Ria	ΣAA %	ΣAB %	ΣAN %	ΣAV %	ΣAS %
MO	kamfor	1148	1141	22,4	tr	11,5	2,5	-
MO	kamfen hidrat	1152	1145	-	-	-	-	tr
MO	<i>β</i> -pinen-oksid	1159	1154	-	-	tr	-	-
MO	sabina keton	1161	1154	-	0,7	-	0,3	tr
MO	<i>trans</i> -pinokamfon	1165	1158	1,1	-	-	-	-
MO	<i>cis</i> -hrizantenol	1166	1160	-	-	tr	1,6	-
MO	pinokarvon	1167	1160	tr	tr	2,7	-	2,3
MO	<i>δ</i> -terpineol	1171	1162	-	-	tr	-	-
MO	lavandulol	1172	1165	-	0,9	tr	-	-
MO	borneol	1174	1165	7,3	-	tr	2,2	tr
MO	artemizil-acetat	1175	1169	-	-	tr	-	-
MO	<i>cis</i> -linalol-oksid	1175	1170	-	0,7	-	-	-
MO	<i>cis</i> -pinokamfon	1178	1172	3,6	-	tr	-	-
MO	terpinen-4-ol	1181	1174	1,2	5,3	0,8	0,7	-
MO	<i>cis</i> -pinokarveol	1186	1182	0,4	-	-	-	-
MO	<i>p</i> -cimen-8-ol	1188	1179	-	0,8	tr	-	0,6
MO	tuj-3-en-10-al	1189	1181	-	-	tr	-	-
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-butanoat	1190	1184	-	1,4	-	-	-
MO	<i>trans-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	1191	1187	tr	-	tr	-	-
MO	<i>α</i> -terpineol	1194	1186	0,2	tr	0,5	2,4	tr
MO	<i>p</i> -menta-1,5-dien-7-ol	1196	1191	-	-	tr	-	-
CD	metil-salicilat	1196	1190	-	0,7	-	-	-
MO	mirtenol	1197	1194	0,6	2,5	0,6	tr	1,8
MO	<i>cis</i> -piperitol	1199	1195	-	tr	-	-	-
CD	4-metilpentil-2-metilbutanoat	1201	1197	-	tr	-	-	-
O	<i>n</i> -dekanal	1207	1201	tr	-	-	-	-
MO	<i>trans</i> -piperitol	1210	1207	tr	tr	tr	-	-
MO	verbenon	1213	1204	0,2	-	tr	tr	-
MO	fragranol	1217	1214	-	tr	-	-	-
MO	<i>γ</i> -izogeraniol	1221	1222*	-	0,4	-	-	-
MO	<i>trans</i> -karveol	1222	1215	0,1	-	tr	tr	tr
MO	citronelol	1230	1223	-	0,5	-	-	-
MO	<i>cis-p</i> -menta-1(7),8-dien-2-ol	1231	1227	-	-	tr	-	-
MO	<i>cis</i> -karveol	1234	1226	tr	-	-	tr	-
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-2-metil-butanoat	1234	1229	-	tr	tr	-	-
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-3-metil-butanoat	1238	1232	-	-	tr	-	-
CD	heksil-2-metil-butanoat	1239	1233	-	0,2	tr	-	-
MO	<i>trans</i> -hrizantenil-acetat	1239	1235	tr	-	-	tr	-
O	kumin aldehid	1244	1238	-	0,5	tr	tr	-
CD	heksil-3-metil-butanoat	1245	1241	-	tr	tr	-	-
MO	<i>cis</i> -mirtanol	1247	1250	-	tr	-	-	-
MO	karvon	1248	1239	0,1	-	tr	tr	-
MO	<i>trans</i> -2-hidroksi-pinokamfon	1254	1247	0,2	-	-	-	-
MO	<i>trans</i> -piperiton epoksid	1254	1252	-	0,3	-	-	-
MO	geraniol	1257	1249	0,5	-	tr	-	-
MO	piperiton	1258	1249	1,7	tr	-	-	-
MO	karvenon	1262	1255	-	0,3	-	-	-
MO	<i>cis</i> -hrizantenil-acetat	1265	1261	0,2	tr	tr	26,0	-
MO	geranial	1273	1264	-	1,1	tr	-	-
MO	perila aldehid	1279	1269	-	tr	-	-	tr
P	2,4-pentadiinil-benzen	1290	1286	-	-	-	-	4,8
MO	bornil-acetat	1290	1287	0,2	0,6	tr	tr	-
MO	<i>p</i> -cimen-7-ol	1291	1289	-	1,3	-	-	tr
MO	lavandulil-acetat	1292	1288	-	tr	-	tr	-
LO	1-tridecen	1293	1290	-	-	tr	-	-
MO	<i>trans</i> -sabinil-acetat	1295	1289	-	-	-	4,2	-

Rezultati i diskusija

Klasa	Jedinjenje	RI	Ria	ΣAA %	ΣAB %	ΣAN %	ΣAV %	ΣAS %
O	timol	1298	1289	tr	-	-	-	-
CD	benzil-izobutanoat	1300	1297	-	0,5	tr	-	-
MO	perila alkohol	1302	1294	-	-	-	-	0,8
MO	karvakrol	1304	1298	0,2	0,7	-	-	-
MO	<i>trans</i> -pinokarvil-acetat	1304	1298	-	-	tr	-	-
CD	(<i>E</i>)-3-heksenil-tiglat	1316	1315	-	0,5	-	-	-
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil-tiglat	1327	1319	-	0,5	tr	-	tr
MO	mirtenil-acetat	1330	1324	-	-	tr	-	tr
MO	<i>p</i> -menta-1,4-dien-7-ol	1331	1325	-	0,2	-	-	-
S	silfiperfol-5-en	1332	1326	0,3	-	-	-	-
CD	heksil-tiglat	1333	1330	-	-	tr	-	-
MO	limonen-1,2-diol	1342	1343*	-	-	-	-	1,8
O	fragranil-acetat	1348	1345*	-	tr	-	-	-
S	7- <i>epi</i> -silfiperfol-5-en	1350	1345	0,2	-	-	-	-
MO	α -terpinil-acetat	1354	1346	-	-	-	tr	-
S	α -kubeben	1355	1345	-	-	tr	tr	-
MO	citronelil-acetat	1355	1350	-	0,2	-	-	-
PP	eugenol	1362	1356	tr	-	tr	-	tr
S	silfiperfol-4,7(14)-dien	1364	1358	tr	-	-	-	-
MO	neril-acetat	1366	1359	-	0,3	-	-	-
MO	<i>cis</i> -karvil-acetat	1367	1365	-	tr	-	tr	-
S	α -kopaen	1380	1374	tr	-	tr	0,4	-
MO	geranil-acetat	1386	1379	tr	0,5	-	-	-
CD	benzil-2-metilbutanoat	1391	1392*	-	0,3	tr	-	-
S	β -burbonen	1392	1387	tr	-	-	tr	-
S	α -izokomen	1394	1387	-	-	-	-	tr
S	β -kubeben	1396	1387	-	-	tr	-	-
S	β -elemen	1398	1389	tr	-	tr	0,5	-
CD	fenil-etil-izobutanoat	1399	1393	-	tr	-	-	-
O	(<i>Z</i>)-jasmon	1403	1392	-	0,2	tr	-	-
PP	metil eugenol	1407	1403	tr	-	-	-	tr
S	<i>cis</i> - α -bergamoten	1421	1411	-	-	-	tr	-
MO	linalol-butanoat	1425	1421	-	2,3	-	-	-
S	(<i>E</i>)-kariofilen	1427	1417	tr	-	1,3	-	-
MO	karvon hidrat	1428	1422	-	0,2	-	0,3	-
S	β -kopaen	1437	1430	-	-	tr	tr	-
MO	perilil-acetat	1439	1436*	-	-	-	-	tr
S	<i>trans</i> - α -bergamoten	1441	1432	-	-	-	tr	-
MO	neril-propanoat	1456	1452	-	0,2	-	-	-
S	amorfa-4,11-dien	1458	1449	-	-	tr	-	-
S	(<i>E</i>)- β -farnezen	1460	1454	-	-	tr	tr	-
S	α -humulen	1462	1452	-	-	tr	tr	-
S	<i>cis</i> -murola-4(14),5-dien	1471	1465	-	-	tr	-	-
MO	geranil-propanoat	1476	1476	-	tr	-	-	-
S	γ -selinen	1483	1479*	-	-	0,4	-	-
S	γ -murolen	1484	1478	-	-	-	0,4	-
S	γ -kurkumen	1485	1481	-	2,9	-	1,2	-
S	<i>ar</i> -kurkumen	1489	1479	-	0,8	-	-	-
S	germakren D	1490	1484	-	-	1,6	-	-
MO	neril-izobutanoat	1493	1490	-	2,0	-	-	-
S	β -selinen	1495	1489	-	2,4	1,4	0,3	-
SO	indipon	1502	1496	-	-	tr	-	-
P	kapilen	1503	1493	-	-	-	-	18,3
CD	benzil-tiglat	1503	1497	-	tr	-	-	-
S	α -selinen	1503	1498	-	-	-	tr	-
S	biciklogermakren	1505	1500	-	-	tr	-	-

Rezultati i diskusija

Klasa	Jedinjenje	RI	Ria	ΣAA %	ΣAB %	ΣAN %	ΣAV %	ΣAS %
SO	<i>β</i> -dihidroagarofuran	1510	1503	tr	-	-	-	-
S	(<i>E,E</i>)- <i>α</i> -farnezen	1512	1505	-	-	tr	-	-
SO	lavandulil-izovalerat	1513	1509	-	7,2	-	-	-
S	viridifloren	1513	1496*	1,3	-	-	-	-
SO	lavandulil-2-metil-butanoat	1514	1511	-	tr	-	-	-
MO	geranil-izobutanoat	1516	1514	-	tr	-	-	-
SO	kubenol	1522	1514	-	-	tr	-	-
SO	10- <i>epi</i> -italicen etar	1523	1515	-	tr	-	-	-
SO	presilfiperfolan-9- <i>α</i> -ol	1530	*	13,5	-	-	-	-
S	<i>δ</i> -kadinen	1531	1522	-	-	tr	tr	-
SO	italicen etar	1543	1536	-	tr	-	-	-
SO	silfiperfol-5-en-3-ol B	1543	1534	1,9	-	-	-	-
S	<i>α</i> -kalakoren	1551	1544	-	-	tr	-	-
SO	silfiperfol-5-en-3-on B	1557	1550	3,1	-	-	-	-
SO	silfiperfol-5-en-3-ol A	1567	1557	-	-	-	1,5	-
S	germakren B	1560	1559	4,6	-	-	-	-
SO	(<i>E</i>)-nerolidol	1566	1561	-	0,3	-	tr	-
SO	bornil-angelat	1569	1564	-	-	tr	-	-
SO	citronelil-izovalerat	1573	1563	-	0,3	-	-	-
CD	(<i>Z</i>)-3-heksenil benzoat	1575	1565	-	-	tr	-	-
SO	silfiperfol-5-en-3-on A	1582	1574	10,0	-	-	-	-
SO	<i>trans</i> -seskvisabinen hidrat	1586	1577	-	4,0	-	-	-
SO	spatulenol	1587	1577	2,1	-	tr	2,7	1,8
SO	neril-izovalerat	1587	1582	-	2,3	-	-	-
SO	davanon	1591	1587	4,1	-	-	-	-
SO	kariofilen-oksid	1592	1582	-	1,8	tr	3,2	tr
SO	<i>β</i> -kopaen-4- <i>α</i> -ol	1598	1590	-	-	tr	-	-
SO	viridiflorol	1599	1592	0,3	-	-	-	-
SO	geranil-2-metil-butanoat	1604	1601	-	0,7	-	-	-
SO	salvial-4(14)-en-1-on	1613	1603*	-	-	-	0,3	-
SO	geranil-izovalerat	1616	1606	-	1,0	-	-	-
SO	ledol	1612	1602	0,2	-	-	-	tr
SO	humulen epoksid II	1618	1608	-	-	-	0,8	-
SO	<i>epi</i> -kedrol	1626	1618	-	-	tr	-	-
SO	junenol	1628	1618	-	tr	-	-	-
SO	silfiperfol-6-en-5-on	1634	1624	0,2	-	-	-	-
SO	murola-4,10(14)-dien-1- <i>β</i> -ol	1637	1630	-	-	tr	-	-
SO	selina-3,11-dien-6- <i>α</i> -ol	1642	1642	-	-	0,4	-	-
SO	<i>cis</i> -kadin-4-en-7-ol	1640	1635	-	-	tr	-	-
SO	kariofila-4(12),8(13)-dien-5- <i>α</i> -ol	1646	1639	-	tr	tr	tr	-
SO	<i>allo</i> -aromadendren epoksid	1647	1639	0,5	-	tr	-	-
SO	<i>epi-α</i> -kadinol	1648	1638	-	-	-	tr	-
P	kapilin	1649	1637	-	-	-	-	35,7
SO	<i>β</i> -eudezmol	1659	1649	-	tr	-	-	1,1
SO	valerianol	1661	1656	1,8	-	-	-	-
SO	<i>α</i> -eudezmol	1662	1652	0,6	-	-	-	-
SO	<i>α</i> -kadinol	1662	1652	-	-	-	0,5	-
SO	<i>α</i> -bisabolol-oksid B	1663	1656	-	0,2	-	-	-
SO	selin-11-en-4- <i>α</i> -ol	1665	1658	-	-	tr	-	-
O	1-acenaftenol	1667	*	-	-	-	-	3,9
SO	<i>cis</i> -kalamenen-10-ol	1668	1660	-	-	-	tr	-
SO	intermedeol	1670	1665	-	0,3	tr	-	-
SO	14-hidroksi-9- <i>epi</i> -(<i>E</i>)-kariofilen	1669	1668	0,4	0,4	-	0,3	-
SO	14-hidroksi-(<i>Z</i>)-kariofilen	1672	1666	-	-	tr	-	-
SO	(<i>Z</i>)- <i>α</i> -santalol	1679	1674	-	-	tr	-	-
SO	elemol-acetat	1686	1680	0,2	-	-	-	-

Klasa	Jedinjenje	RI	Ria	Σ AA %	Σ AB %	Σ AN %	Σ AV %	Σ AS %
SO	<i>epi-α-bisabolol</i>	1690	1683	-	0,7	-	-	-
SO	<i>α-bisabolol</i>	1691	1685	0,3	0,3	-	-	-
SO	germakra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	1695	1685	-	-	tr	tr	-
O	pentadekanal	1718	1715*	tr	-	-	-	-
SO	<i>β-davanon-2-ol</i>	1725	1718	-	-	-	0,6	-
SO	cedr-8(15)-en-9-il-acetat	1746	1741	-	-	tr	-	-
SO	<i>γ-kostol</i>	1755	1745	-	tr	-	-	-
O	eupatoriohromen	1771	1761	-	0,3	-	-	-
SO	heksahidrofarnezil aceton	1848	1846*	0,3	tr	-	-	-
O	geranil- α -terpinen	1962	1962	-	0,5	-	-	-
O	geranil- <i>p</i> -cimen	2003	1993*	-	1,6	-	-	-

RI - Eksperimentalni indeksi linearne retencije u odnosu na C8-C40 alkane. RIa - Literaturni indeksi - Adams-ovi indeksi i
* prema NIST bazi podataka. Jedinjenja u procentu <0,05 označena su kao tr (trag), a neidentifikovana jedinjenja su označena kao (/)

Zajedno je u svim uzorcima identifikovano 257 komponenta. U etarskom ulju *A. alba* (Σ AA) identifikovane su 72 komponente, od kojih su 44 u procentu >0,1%, a ostale su nađene u tragovima. Ukupno sve identifikovane komponente čine 92,8%, među kojima su najzastupljenije: kamfor (22,4%), presilfiperfolan-9- α -ol (13,5%) i silfiperfol-5-en-3-on A (10,0%). Identifikovano je 5 komponenta koje nisu pronađene ni u jednom od uzoraka pre spajanja (δ -2-karen, *cis*-pinokarveol, viridifloren, germakren B i valerianol). Najzastupljenije klase jedinjenja u usrednjenom uzorku su MO (45,2%) i SO (39,4%).

U uzorku *A. absinthium* (Σ AB) pronađena je 121 komponenta (86,1%), od kojih su 64 u procentu >0,1%, dok su ostale nađene u tragovima. Dominantna jedinjenja su linalol 10,0%, *trans*-tujon 9,8% i lavandulil-izovalerat 7,2%, dok je dominantna klasa jedinjenja MO (50,4%). Identifikovane su i 2 komponente koje nisu pronađene ni u jednom od prethodno analiziranih uzoraka pre spajanja (*trans*-piperiton epoksid i karvon hidrat).

U usrednjenom uzorku *A. annua* (Σ AN) nađeno je 116 isparljivih jedinjenja (95 u tragovima), što čini ukupno 90,0%. Najzastupljenija jedinjenja su: artemizija keton 35,7%, kamfor 11,5%, α -pinen 10,2% i 1,8-cineol 8,0%, a što se klasa jedinjenja tiče MO je najdominantnija 69,8%. U usrednjenom uzorku *A. annua* nije identifikovana ni jedna komponenta koja već nije nađena makar u jednom od dvanaest uzoraka pre spajanja.

Analizom usrednjenog uzorka *A. vulgaris* (Σ AV) pronađeno je 78 komponenta (46 samo u tragovima), što čini 85,5% ukupnog ulja. Glavne komponente etarskog ulja su *cis*-hrizantenil-acetat 26,0% i 1,8-cineol 21,4%, dok su MO najzastupljenija klasa jedinjenja 69,5%. Karvon hidrat je jedina komponenta koja se nije javila u zasebno analiziranim uzorcima.

U uzorku *A. scoparia* (ΣAS) je identifikovana 41 komponenta (22 u tragovima), čineći 93,7% ukupnog ulja. U svim, gore pomenutim, uzorcima nije došlo do značajnih promena u sastavu u odnosu na pojedinačna etarska ulja svake vrste zasebno, dok je situacija sa usrednjenim uzorkom *A. scoparia* potpuno drugačija. Naime, ovde su pronađene 4 komponente koje nisu prethodno nađene ni u jednom uzorku *A. scopari*, a pri tom je jedna od tih komponenta prisutna u najvećem procentu u uzorku (kapilin 35,7%). Nakon kapilina, u najvećem procentu je nađena još jedna komponenta (kapilen 18,3%) koja takođe pripada derivatima fenildiacetilena, koji su ujedno i glavna klasa jedinjenja u ovom uzorku. Nastanak kapilina može se objasniti autooksidacijom kapilena (Sørensen 1961), kao i mogućim transformacijama, izomerizacijama i oksidacijama još nekih od prisutnih jedinjenja poput 2,4-pentadiinil-benzena.

Tabela 4.36 Broj identifikovanih komponenta po usrednjenom uzorku etarskih ulja vrsta: *A. alba* (ΣAA), *A. absinthium* (ΣAB), *A. annua* (ΣAN), *A. vulgaris* (ΣAV) i *A. scoparia* (ΣAS), procenat svake klase jedinjenja i procenat ukupno identifikovanih komponenta usrednjenih uzoraka

Uzorak	ΣAA	ΣAB	ΣAN	ΣAV	ΣAS
Ukupno identifikovano (%)	92,8	86,1	90,0	85,5	93,7
Broj komponenti	72	121	116	78	41
Monoterpeni	47,2	52,0	84,8	72,1	19,6
Ugljovodonični (M)	2,0	1,6	15,04	2,6	11,9
Oksigenovani (MO)	45,2	50,4	69,83	69,5	7,7
Seskviterpeni	45,7	25,5	5,2	12,7	2,9
Ugljovodonični (S)	6,2	6,1	4,8	2,8	/
Oksigenovani (SO)	39,4	19,4	0,41	9,9	2,9
Fenildiacetileni (P)	/	/	/	/	58,9
Derivati karboksilnih kiselina (CD)	/	4,2	/	/	/
<i>n</i> -Alkani (A)	/	/	/	/	/
Drugo (O)	/	4,4	/	0,7	12,3

Razlog ovakvih promena u sastavu bi mogao da se traži u dužini, mestu i načinu skladištenja, tj. ovo može biti posledica isparavanja isparljivih esencijalnih ulja tokom skladištenja. Faktori kao što su temperatura, svetlost i vlaga veoma utiču na emisiju isparljivih metabolita i može se očekivati da za svako pojedinačno isparljivo jedinjenje postoji pozitivna korelacija između stepena njegovog isparavanja iz etarskog ulja i njegovog pritiska pare (Dudareva i dr. al. 2004).

4.5.2. *Artemia salina* test ispitivanih etarskih ulja

Rezultati *in vivo Artemia salina* testa su dati u Tabeli 4.37. Testirana etarska ulja odabranih vrsta *Artemisia* pokazuju jaku do srednju toksičnost u *A. salina* testu akutne toksičnosti prema Clarkson-ovom indeksu toksičnosti po kojem su etarska ulja sa LC₅₀ iznad 1000 µg/ml netoksična, sa LC₅₀ od 500-1000 µg/ml nisko toksična, sa LC₅₀ od 100-500 µg/ml srednje toksična, dok sa LC₅₀ od 0-100 µg/ml spadaju u veoma toksična (Clarkson i sar., 2004). (Tabela 4.37). Od svih ispitivanih ulja najmanje je toksično etarsko ulje *A. annua*, zatim ulje *A. alba* i ova etarska ulja spadaju u ona sa srednje jakom toksičnošću. Sa druge strane, *A. absinthium*, *A. vulgaris* i *A. scoparia* pokazuju jaku toksičnost, pri čemu se iz rezultata vidi da je etarsko ulje *A. scoparia* sa izrazito niskim vrednostima LC₅₀, višetruko nižim i od same kontrole, te je etarsko ulje *A. scoparia* veoma toksično. Na Slici 4.49 grafički je prikazano smanjenje LC₅₀ vrednosti usrednjenih uzoraka etarskih ulja *Artemisia* u odnosu na pozitivnu kontrolu tokom vremena (24 h - 72 h).

Table 4.37 Akutna toksičnost usrednjenih uzoraka etarskih ulja vrsta (µg/ml): *A. alba* (ΣAA), *A. absinthium* (ΣAB), *A. annua* (ΣAN), *A. vulgaris* (ΣAV) i *A. scoparia* (ΣAS) i SDS (pozitivna kontrola) na *Artemia salina*

Uzorak	ΣAA	ΣAB	ΣAV	ΣAN	ΣAS	SDS
LC ₅₀ 24 h	120,1±0,2*	81,8±0,2*	61,0±0,2*	175±0,8*	1,2±0,0*	14,1±0,0
LC ₅₀ 48 h	71,4±0,0*	64,2±0,2*	42,3±0,1*	137,1±0,4*	0,6±0,0*	11,1±0,0
LC ₅₀ 72 h	69,0±0,2*	57,8±0,1*	38,1±0,1*	128,3±0,4*	0,4±0,0*	9,4±0,1

* U poređenju sa kontrolnim grupama (SDS), statistički značajna razlika p<0,0001

Umerena toksičnost ulja *A. alba* može biti povezana sa visokom koncentracijom kamfora, koji kod ljudi može da izazove neurasteniju, prekomerni mišićni refleks, miotoničnu miopatiju, dispneju, napade, pa čak i smrt kod dece u slučaju oralne primene (Love i sar., 2004).

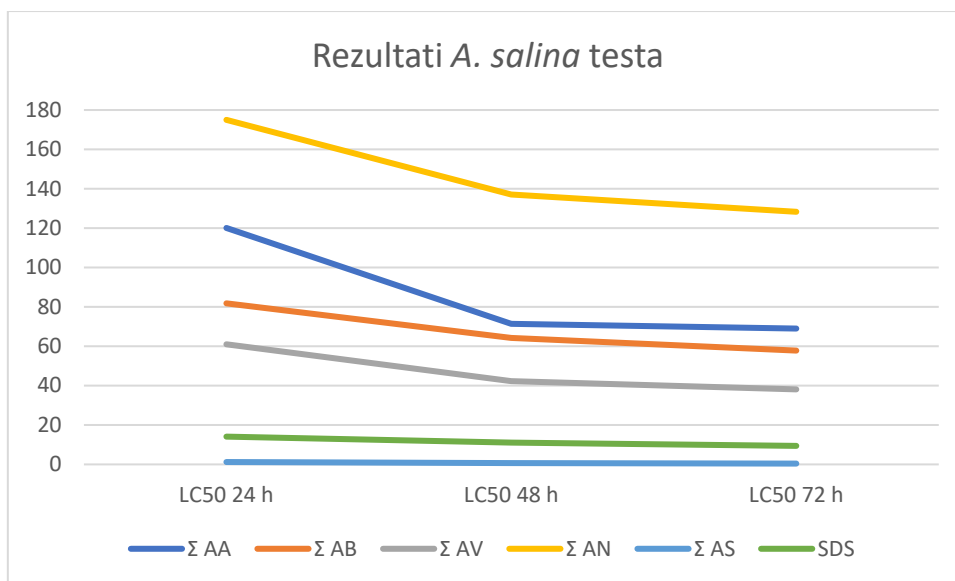
Jaka toksičnost testiranog etarskog ulja *A. absinthium* mogla bi se pripisati prisustvu linalola u visokom procentu, jer je test akutne toksičnosti na *A. salina* pokazao da rezultat (LD₅₀ linalola=70,3 µl/ml) korelira sa podacima o akutnoj oralnoj toksičnosti kod glodara i ljudi (Calleja i Persoone, 1992; Parra i sar., 2001). Istraživanje Radulovića i sar., (2017) pokazuje da etarska ulja *A. absinthium* ispoljavaju značajnu toksičnost na *A. salina* račiće, a hemotaksonomska analiza otkriva da nijedan od tujona (u ΣAB *trans*-tujon 9,8%) ne treba smatrati toksičnim za nauplii, kao i da toksičnost *A. absinthium* ulja treba da bude povezana sa nekoliko drugih (uglavnom manje zastupljenih) sastojaka poput linalola i intermedeola.

Etarsko ulje *A. annua* (artemizija keton/ α -pinen/1,8-cineol hemotip) pokazuje umereno nefroprotektivno i antimikrobno dejstvo, kao i veoma slaba antioksidativna svojstva, a isto se može smatrati i za isparljive metabolite *A. annua*, tj. može se smatrati da imaju nisku toksičnost i, da generalno, njihova upotreba ne bi trebalo da predstavlja zdravstveni rizik (Radulović i sar., 2013). Sa druge strane, rezultati Tripathii sar. (2000) jasno ukazuju da je etarsko ulje *A. annua* prilično obećavajuće kao fumigant i da je efikasno u svim fazama razvoja *T. castaneum*. U uzorku *A. annua* u značajnom procentu je prisutan α -pinen (10,2%), a on pokazuje toksičnost prema *A. salina*, jer je utvrđena vrednost LC₅₀ daleko niža od 1000 μ g/ml i iznosi 9,6 μ g/ml (Leite i sar., 2009).

Test smrtnosti račića delovanjem etarskih ulja *A. vulgaris* (15 uzoraka) daje vrednosti LC₅₀ (10,3-23,1 μ g/ml) nakon 24 h izloženosti, koje otkrivaju da su etarska ulja koja sadrže značajne količine 1,8-cineola bila toksičnija od onih sa manjim procentom 1,8-cineola (Judzentiene i Garjonyte, 2016). Sa druge strane, u poređenju sa većinom drugih fumiganata, 1,8-cineol je relativno niske toksičnosti (Lee i sar., 2004). Rezultati istraživanja Asanova i sar. (2003) pokazuju da 1,8-cineol poseduje umerena citotoksična svojstva i izraženu analgetičku i antitumorsku aktivnost.

Etarsko ulje *A. scoparia* pokazalo je veoma jaku toksičnost; nakon 24 h vrednost LC₅₀ uzorka je gotovo dvanaest puta veća od vrednosti LC₅₀ za kontrolu, nakon 48 h skoro pa devetnaest puta, a nakon 72 h oko dvadesetčetiri puta, tj. vidi se trend povećanja toksičnosti sa vremenom u poređenju sa kontrolom.

Neke komponente etarskog ulja *A. scoparia* su ispitivane u različitim testovima biološke aktivnosti i pokazale su veliki potencijal u tim studijama. Tako je dokazana insekticidna aktivnost kapilena na *Pieris rapae crucivora* (Yano, 1983), antifungalna aktivnost kapilina na *Trichophyton asteroides* (Yashina i Vereshchagin, 1978) i *Monilinia fructicola* (Nakamura i sar., 2010), citotoksična aktivnost kapilina na ćelije humane leukemije HL-60 (Masuda i sar., 2015) i ćelije humanog tumora (Whelan and Ryan, 2004) i antidijabetički potencijal kapilina (Islam i sar., 2016). Može se, dakle, smatrati da su upravo te komponente, koje spadaju u derivate fenildiacetilena, nosioci toksičnosti *A. scoparia* etarskog ulja.



Slika 4.49 Grafik smanjenja LC_{50} vrednosti usrednjenih uzoraka etarskih ulja vrsta: *A. alba* (ΣAA), *A. absinthium* (ΣAB), *A. annua* (ΣAN), *A. vulgaris* (ΣAV) i *A. scoparia* (ΣAS) i SDS (pozitivna kontrola) u testu toksičnosti na *A. salina* tokom vremena (24 h - 72 h)

Međutim, dobro je poznato da biološka aktivnost čistih jedinjenja može biti potpuno različita od one koju ta jedinjenja ispoljavaju kada deluju u etarskom ulju, koje predstavlja mešavinu različitih jedinjenja (Delaquis i sar., 2002). Naime, biološka aktivnost etarskog ulja zavisi od kompleksnih interakcija između njegovih komponenata, koje mogu pokazati aditivne, sinergističke ili antagonističke efekte (Xianfei i sar., 2007). Dalje, prema Karchesy i sar. (2016) etarska ulja umerene aktivnosti ne bi ni trebalo da se odbace kao nevažna, pošto toksičnost može značajno da varira u zavisnosti od vremena žetve, lokacije sakupljanja, organa biljke itd.

4.5.3. Insekticidna aktivnost ispitivanih etarskih ulja na modelu

Drosophila melanogaster

Sva testirana etarska ulja su pokazala određenu biološku aktivnost protiv larvi *D. melanogaster*, uglavnom u višim testiranim koncentracijama (Tabela 4.38), dok je samo etarsko ulje *A. scoparia* pokazalo statistički značajnu aktivnost ($p < 0,0001$) u svim testiranim koncentracijama. Među njima, etarska ulja *A. alba* i *A. absinthium* ne pokazuju značajan uticaj na vreme potrebno za razvoj larve u lutku (u danima), dok etarsko ulje *A. annua* ne pokazuje značajan uticaj na broj dana potrebnih za razvoj larve u adult u poređenju sa kontrolom. Sa druge strane, etarsko ulje *A. annua* pri koncentracijama 2%, 1% i 0,5% statistički bitno smanjuje procenat ulutkanih larvi, kao i procenat larvi koje stižu do stadijuma adulta, a, takođe, u koncentraciji od 2% statistički značajno smanjuje i broj dana potrebnih za razvoj larve u lutku. Etarsko ulje *A. alba* ni u jednoj testiranoj koncentraciji ne utiče bitno na procenat larvi koje dostižu stadijum lutke, ali u koncentraciji od 2% utiče statistički značajno na procenat larvi koje dostižu stadijum adulta, dok u koncentraciji od 1% pokazuje statističku značajnost u odnosu na kontrolu u pogledu broja dana potrebnih za razvoj larve u adult. Etarsko ulje *A. absinthium* u najvišoj testiranoj koncentraciji (2%) produžava vreme razvoja do stadijuma adulta, smanjuje procenat larvi koje dostižu stadijum lutke i smanjuje procenat larvi koje stižu do stadijuma adulta. Smanjenje procenata larvi koje stižu do stadijuma adulta kod *A. absinthium* je primećeno i u koncentraciji od 0,5%. Primetan uticaj na produženje vremena razvoja do stadijuma lutke (u danima) i vremena razvoja do stadijuma adulta (u danima) ima etarsko ulje *A. vulgaris* pri koncentracijama 2% i 1%, a takođe u ovim koncentracijama statistički značajno ($p < 0,05$) utiče i na procenat ulutkavanja, dok u koncentraciji od 1% statistički značajno smanjuje procenat larvi koje stižu do stadijuma adulta. U slučaju *A. scoparia* prve dve najviše koncentracije su letalne za sve larve. Ostale dve niže testirane koncentracije etarskog ulja *A. scoparia* (0,5% i 0,25%) statistički značajno smanjuju broj dana potrebnih za razvoj larve u lutku, procenat ulutkanih larvi i procenat adulta. Takođe, primećeno je smanjenje broja dana potrebnih za razvoj larve u adult pri koncentraciji od 0,5%, dok u koncentraciji od 0,25% ne postoji statistički značajan uticaj na vreme razvoja do stadijuma adulta.

Table 4.38 Procenat preživljavanja i vreme razvoja larve *D. melanogaster* do stadijuma lutke i do stadijuma adulta nakon izlaganja različitim koncentracijama usrednjenih uzoraka etarskih ulja vrsta: *A. alba*, *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia*

Biljna vrsta/Koncentracija (% v/v)	2,00%	1,00%	0,50%	0,25%	kontrola
<i>A. alba</i>					
broj dana potrebnih za razvoj larve u lutku	6,0±0,2	7,8±0,8	7,0±0,2	5,5±0,6	6,5±0,1
broj dana potrebnih za razvoj larve u adult	12,1±0,9	13,3±0,2*	12,7±0,2	11,6±0,3	11,8±0,1
% ulutkanih larvi	90	95	95	88	100
% adulta	73*	93	95	83	97
<i>A. absinthium</i>					
broj dana potrebnih za razvoj larve u lutku	6,9±0,6	6,5±0,0	6,3±0,8	5,7±0,1	6,5±0,1
broj dana potrebnih za razvoj larve u adult	13,5±0,8*	12,1±0,3	11,8±0,2	11,7±0,3	11,8±0,1
% ulutkanih larvi	80*	93	92	98	100
% adulta	77*	88	73*	95	97
<i>A. annua</i>					
broj dana potrebnih za razvoj larve u lutku	3,6±0,8**	6,2±0,8	5,3±0,2	6,0±0,1	6,5±0,1
broj dana potrebnih za razvoj larve u adult	12,6±0,8	12,6±0,5	12,1±0,2	11,9±0,3	11,8±0,1
% ulutkanih larvi	52**	83*	80*	88	100
% adulta	50**	75*	78*	85	97
<i>A. vulgaris</i>					
broj dana potrebnih za razvoj larve u lutku	8,8±1,1*	8,0±0,4*	6,4±0,2	6,3±0,3	6,5±0,1
broj dana potrebnih za razvoj larve u adult	15,5±1,0**	14,1±0,9*	12,0±0,3	11,9±0,3	11,8±0,1
% ulutkanih larvi	87*	90*	97	97	100
% adulta	85	83*	92	92	97
<i>A. scoparia</i>					
broj dana potrebnih za razvoj larve u lutku	0,0±0,0**	0,0±0,0**	0,8±0,1**	5,1±0,8*	6,5±0,1
broj dana potrebnih za razvoj larve u adult	0,0±0,0**	0,0±0,0**	0,0±0,0**	12,5±0,3	11,8±0,1
% ulutkanih larvi	0*	0*	7*	70*	100
% adulta	0**	0**	2**	47**	97

* U poređenju sa kontrolnim grupama, statistički značajna razlika $p < 0,05$; ** U poređenju sa kontrolnim grupama, statistički značajna razlika $p < 0,0001$

Toksičnost etarskog ulja *A. absinthium* na *D. melanogaster* određivana je od strane Mihajilov-Krstev i sar. (2014) i rezultati pokazuju da je ovo etarsko ulje toksično za razvoj larvi ove vrste insekata. Značajan mortalitet larvi je zabeležen u poređenju sa kontrolom, počevši od koncentracije 0,38% pa do 3% etarskog ulja u medijumu. Probit analiza daje vrednost LC_{50} testiranog etarskog ulja za larve *D. melanogaster* nakon 15 dana izlaganja 6,3% (49 mg/ml). Pored toga, utvrđeno je da etarsko ulje utiče i na razvoj larvi i značajno odlaže dostizanje stadijuma lutke (Mihajilov-Krstev i sar., 2014).

Izuzev za *A. absinthium*, za ostale analizirane vrste nema dostupnih podataka o aktivnosti njihovih etarskih ulja na *D. melanogaster*, tako da uporedna analiza nije moguća. Ipak, u Tabelama 2.15-2.19 u Poglavlju 2.6. u teorijskom delu ove doktorske disertacije su sistematizovana prethodno publikovana istraživanja, između ostalog, i na temu insekticidne aktivnosti etarskih ulja ovde analiziranih biljaka. Rezultati svi tih studija govore u prilog tome da ovde obrađivane biljne vrste poseduju veliki potencijal kao biopesticidi.

Najviša testirana koncentracija (2%), a kod nekih vrsta (*A. alba*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia*) i 1% ima određene efekte na larve *D. melanogaster*. Tako etarsko ulje *A. alba* (1%) povećava broj dana potrebnih za razvoj larve u adult; etarsko ulje *A. annua* (1%) smanjuje procenat ulutkanih larvi, kao i procenat adulta; etarsko ulje *A. vulgaris* (1%) povećava broj dana potrebnih za razvoj larve u lutku, kao i broj dana potrebnih za razvoj larve u adult, smanjuje procenat ulutkanih larvi i smanjuje procenat adulta. Etarsko ulje *A. scoparia* je najtoksičnije u poređenju sa ostalim testiranim etarskim uljima i to u svim testiranim koncentracijama, pri čemu je u koncentracijama 2% i 1% ovo etarsko ulje toksično 100%, dok u koncentracijama 0,5% i 0,25% ne izaziva apsolutni mortalitet, ali pokazuje statistički značajnu toksičnost u odnosu na kontrolu.

4.6. BIOLOŠKA AKTIVNOST METANOLNIH EKSTRAKATA ISPITIVANIH VRSTA *ARTEMISIA*

U ovoj disertaciji su prezentovani rezultati efekata metanolnih ekstrakata pet odabranih vrsta roda *Artemisia* na distribuciju mikronukleusa u humanim limfocitima. Pored ovoga, utvrđen je i efekat dostupnih čistih jedinjenja (ferulinske kiseline, rutina, rozmarinske kiseline i kvercetina) identifikovanih u ispitivanim ekstraktima.

Do sada su rezultate *in vitro* mikronukleus testa s tehnikom blokiranja citokineze (engl. cytokinesis-block micronucleus - CBMN) (metanolnih ekstrakata *A. alba* i *A. vulgaris* predstavili Jakovljević i sar. (2020), dok se, prema dostupnim literaturnim podacima, u ovoj doktorskoj disertaciji po prvi put predstavljaju rezultati CBMN testa metanolnih ekstrakata *A. absinthium*, *A. scoparia* i *A. annua*.

Za CBMN test odabran je uzorak svake vrste koji je pokazao najveću antioksidativnu aktivnost određenu DPPH eksperimentom. Rezultati CBMN testa dati su u Tabeli 4.39.

Statistička značajnost razlike između parova podataka procenjena je analizom varijanse (jednosmerna ANOVA), praćene Tukey testom. Statistička razlika je smatrana značajnom pri $p < 0,01$ i $p < 0,05$.

4.6.1. Mikronukleus test metanolnih ekstrakata

U Tabeli 4.39 dati su rezultati CBMN testa metanolnih ekstrakata odabranih vrsta roda *Artemisia*. Kao pozitivna kontrola korišćen je komercijalni radioprotektant amifostinom WR-2721 u koncentraciji od 1,00 $\mu\text{g/ml}$, koji je ispoljio značajno smanjenje ($p < 0,01$) učestalosti MN od 18,7% u poređenju sa kontrolnim ćelijskim kulturama.

Tabela 4.39 Učestalost MN, proliferacioni indeks ćelija sa blokiranom citokinezom (CBPI), distribucija MN po ćelijama i učestalost MN mereni u ćelijskim kulturama humanih limfocita tretiranih različitim koncentracijama metanolnih ekstrakata vrsta: *A. alba* (EAA), *A. absinthium* (EAB), *A. annua* (EAN), *A. vulgaris* (EAV) i *A. scoparia* (EAS)

Uzorak	Koncentracija $\mu\text{g/ml}$	MN/1000 BN ćelija	% BN ćelija sa MN	MN/Bn ćelija	CBPI	Učestalost MN %
kontrola		27,6 \pm 1,18	2,19 \pm 0,15	1,27 \pm 0,03	1,65 \pm 0,02	100
AM	1,00	22,5 \pm 0,45 ^a	1,91 \pm 0,05	1,17 \pm 0,03	1,61 \pm 0,04	81,3
MMC	0,20	36,6 \pm 0,96 ^{a,b}	3,08 \pm 0,11	1,19 \pm 0,02	1,57 \pm 0,07	132
EAA 7	1,00	16,0 \pm 0,55 ^{a,b,c}	1,29 \pm 0,05	1,24 \pm 0,05	1,69 \pm 0,02	57,9
	2,00	15,2 \pm 0,72 ^{a,b,c}	1,33 \pm 0,04	1,14 \pm 0,02	1,69 \pm 0,03	54,8
	4,00	15,8 \pm 0,72 ^{a,b,c}	1,37 \pm 0,07	1,12 \pm 0,04	1,65 \pm 0,03	57,0
EAB 1	1,00	17,5 \pm 0,46 ^{a,b,c}	1,45 \pm 0,05	1,19 \pm 0,03	1,67 \pm 0,02	63,2
	2,00	16,2 \pm 0,51 ^{a,b,c}	1,41 \pm 0,06	1,14 \pm 0,03	1,68 \pm 0,04	58,8
	4,00	16,8 \pm 0,62 ^{a,b,c}	1,37 \pm 0,08	1,37 \pm 0,08	1,65 \pm 0,02	60,9
EAN 3	1,00	19,4 \pm 0,33 ^{a,b,c}	1,65 \pm 0,01	1,17 \pm 0,02	1,74 \pm 0,08	70,3
	2,00	18,1 \pm 0,36 ^{a,b,c}	1,46 \pm 0,01	1,24 \pm 0,01	1,72 \pm 0,08	65,6
	4,00	18,7 \pm 0,29 ^{a,b,c}	1,71 \pm 0,05	1,10 \pm 0,04	1,72 \pm 0,08	67,6
EAV 4	1,00	17,1 \pm 0,23 ^{a,b,c}	1,41 \pm 0,04	1,21 \pm 0,03	1,63 \pm 0,01	61,7
	2,00	15,9 \pm 0,51 ^{a,b,c}	1,39 \pm 0,05	1,14 \pm 0,02	1,65 \pm 0,02	57,5
	4,00	16,4 \pm 0,35 ^{a,b,c}	1,45 \pm 0,04	1,14 \pm 0,05	1,68 \pm 0,06	59,4
EAS 5	1,00	18,6 \pm 0,62 ^{a,b,c}	1,57 \pm 0,05	1,17 \pm 0,04	1,75 \pm 0,07	67,2
	2,00	17,3 \pm 0,46 ^{a,b,c}	1,45 \pm 0,05	1,18 \pm 0,03	1,67 \pm 0,02	62,6
	4,00	17,9 \pm 0,60 ^{a,b,c}	1,56 \pm 0,07	1,13 \pm 0,01	1,64 \pm 0,02	64,7

Podaci su predstavljeni kao srednje vrednosti \pm SD (standardna devijacija) tri eksperimentalna merenja MN/1000 BN ćelija - incidenca MN u 1000 binukleiranih ćelija (ispitano za svaku koncentraciju)

% Bn ćelija - % Bn ćelija sa mikronukleusima

MN/Bn ćelije - učestalost MN u dvonuklearnim ćelijama.

CBPI - indeks proliferacije bloka citokineze

Učestalost MN - incidenca MN predstavljena kao % kontrolnih grupa u ćelijskim kulturama humanih limfocita tretiranih različitim koncentracijama ekstrakata *Artemisia*

^a U poređenju sa kontrolnim grupama, statistički značajna razlika $p < 0,01$

^b U poređenju sa amifostinom WR-2721, statistički značajna razlika $p < 0,01$

^{b*} U poređenju sa amifostinom WR-2721, statistički značajna razlika $p < 0,05$

^c U poređenju sa mitomicinom C, statistički značajna razlika $p < 0,01$

Poređenje efekata amifostina i svih ispitivanih ekstrakata u svim ispitivanim koncentracijama pokazalo je statistički značajnu razliku u smanjenju učestalosti MN. Aktivnost EAS 5 (2,00 $\mu\text{g/ml}$) bila je tačno dva puta veća od aktivnosti amifostina, dok je u koncentracijama od 1,00 $\mu\text{g/ml}$ i 4,00 $\mu\text{g/ml}$ aktivnost bila nešto manja od udvostručene aktivnosti amifostina. Dalje, EAB 1 u koncentraciji od 1,00 $\mu\text{g/ml}$ je, takođe, pokazao nešto nižu aktivnost od udvostručene aktivnosti amifostina, kao i EAN 3 u svim ispitivanim koncentracijama. S druge strane, ekstrakti EAV 4 i EAA 7 u svim ispitivanim koncentracijama su ispoljili više od dva puta veću aktivnost od aktivnosti amifostina.

Tretman MMC-om, koji je korišćen kao negativna kontrola, u koncentraciji od 0,20 µg/ml dao je značajno povećanje ($p < 0,01$) frekvencije MN od 32,0% u poređenju sa kontrolnim ćelijskim kulturama. U poređenju sa MMC, svi ekstrakti u svim koncentracijama su pokazali statistički značajno smanjenje učestalosti MN.

Može se zaključiti da su svi ispitivani ekstrakti pokazali najveći pad mikronukleusne frekvencije pri koncentraciji od 2,00 µg/ml, zatim nešto niži u koncentraciji od 4,00 µg/ml, a još niži u koncentraciji od 1,00 µg/ml.

Među ispitivanim ekstraktima za koncentracije 2,00 µg/ml EAA 7 je pokazao najizraženiji efekat na smanjenje učestalosti MN (45,2%), zatim EAV 4 (42,5%), EAB 1 (41,2%), EAS 5 (37,4%) i na kraju EAN 3 (34,4%). Isti trend opadanja među testiranim ekstraktima primećen je za ekstrakte u koncentracijama od 4,00 µg/ml, odnosno koncentracijama od 1,00 µg/ml. Najslabiji efekat na smanjenje učestalosti pokazao je uzorak EAN 3 (29,7%) u koncentraciji od 1,00 µg/ml, ipak i taj efekat je za 11% veći od delovanja amifostina.

Važno je primetiti da su svi ispitivani ekstrakti u svim koncentracijama pokazali statistički značajnu razliku $p < 0,01$ u poređenju sa kontrolnom grupom, zatim, u poređenju sa amifostinom i u poređenju sa mitomicinom C.

Vrednosti proliferacionog indeksa ćelija sa blokiranom citokinezom (eng. Cytokinesis Block Proliferation Index, CPBI) ispitivanih metanolnih ekstrakata, kontrole, amifostina i mitomicina C nisu pokazale statistički značajnu razliku na proliferaciju limfocitnih ćelija pri bilo kojoj primenjenoj koncentraciji, a to je značajno pomenuti, jer ekspresija mikronukleusa zavisi od deobe ćelije.

Suprotno rezultatima prikazanim u ovom radu, blok-citokineze mikronukleus test, koji su izveli Jakovljević i sar. (2020), pokazao je da metanolni ekstrakti *A. alba* i *A. vulgaris* značajno povećavaju frekvenciju MN u limfocitima periferne krvi čoveka. Međutim, Jakovljević i sar. (2020) su koristili znatno veće koncentracije: 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml i 250 µg/ml. Prikazani rezultati su pokazali da postoji optimalna koncentracija ekstrakata za smanjenje broja mikronukleusa.

4.6.2. Mikronukleus test čistih jedinjenja ekstrakata

Test CBMN za čista jedinjenja pokazao je da sva testirana čista jedinjenja pokazuju statistički značajnu razliku u učestalosti mikronukleusa u poređenju sa kontrolnom grupom. Rezultati MN testa čistih jedinjenja, identifikovanih u metanolnim ekstraktima odabranih biljnih vrsta, su prikazani u Tabeli 4.40. Ferulinska kiselina i rutin pokazuju statistički značajnu razliku u učestalosti mikronukleusa u odnosu na amifostin i mitomicin C. S druge strane, kvercetin u koncentraciji od 1,00 µg/ml, kao i rozmarinska kiselina, ni u jednoj ispitivanoj koncentraciji nisu pokazali statistički značajnu razliku u poređenju sa amifostinom, ali jesu u odnosu na mitomicin C.

Tabela 4.40 Incidenca MN, indeks proliferacije bloka citokineze, distribucija MN po ćelijama i učestalost MN mereni u ćelijskim kulturama humanih limfocita tretiranih različitim koncentracijama odabranih čistih jedinjenja metanolnih ekstrakata

Uzorak	Koncentracija µg/ml	MN/1000 BN ćelija	% BN ćelija sa MN	MN/Bn ćelija	CBPI	Učestalost MN %
kontrola		27,6 ± 1,18	2,19 ± 0,15	1,27 ± 0,03	1,65 ± 0,02	100
AM	1,00	22,5 ± 0,45 ^a	1,91 ± 0,05	1,17 ± 0,03	1,61 ± 0,04	81,3
MMC	0,20	36,6 ± 0,96 ^{a,b}	3,08 ± 0,11	1,19 ± 0,02	1,57 ± 0,07	132
ferulinska kiselina	1,00	20,4 ± 0,37 ^{a,b,c}	1,71 ± 0,09	1,20 ± 0,07	1,67 ± 0,03	71,6
	2,00	19,9 ± 0,22 ^{a,b,c}	1,60 ± 0,02	1,24 ± 0,03	1,65 ± 0,02	69,8
	4,00	20,2 ± 0,40 ^{a,b,c}	1,68 ± 0,07	1,21 ± 0,02	1,63 ± 0,02	70,9
rozmarinska kiselina	1,00	23,1 ± 0,51 ^{a,c}	1,77 ± 0,14	1,20 ± 0,02	1,64 ± 0,01	81,2
	2,00	22,6 ± 0,37 ^{a,c}	1,78 ± 0,10	1,20 ± 0,06	1,61 ± 0,04	79,3
	4,00	22,8 ± 0,53 ^{a,c}	1,77 ± 0,06	1,23 ± 0,01	1,66 ± 0,01	80,2
rutin	1,00	17,4 ± 0,37 ^{a,b,c}	1,54 ± 0,10	1,14 ± 0,08	1,61 ± 0,07	61,2
	2,00	16,6 ± 0,43 ^{a,b,c}	1,54 ± 0,08	1,14 ± 0,05	1,70 ± 0,05	58,3
	4,00	17,0 ± 0,58 ^{a,b,c}	1,54 ± 0,10	1,17 ± 0,08	1,62 ± 0,03	59,7
kvercetin	1,00	22,3 ± 0,43 ^{a,c}	1,90 ± 0,07	1,20 ± 0,05	1,60 ± 0,04	78,3
	2,00	21,4 ± 0,51 ^{a,b*,c}	1,81 ± 0,09	1,19 ± 0,04	1,66 ± 0,02	75,3
	4,00	21,8 ± 0,38 ^{a,b*,c}	1,90 ± 0,02	1,55 ± 0,03	1,68 ± 0,06	76,7

Podaci su predstavljeni kao srednje vrednosti ± SD (standardna devijacija) tri eksperimentalna merenja MN/1000 BN ćelija - incidenca MN u 1000 binukleiranih ćelija (ispitano za svaku koncentraciju)

% Bn ćelija - % Bn ćelija sa mikronukleusima

MN/Bn ćelije - učestalost MN u dvonuklearnim ćelijama.

CBPI - indeks proliferacije bloka citokineze

Učestalost MN - incidenca MN predstavljena kao % kontrolnih grupa u ćelijskim kulturama humanih limfocita tretiranih različitim koncentracijama ekstrakata *Artemisia*

^a U poređenju sa kontrolnim grupama, statistički značajna razlika p<0,01

^b U poređenju sa amifostinom WR-2721, statistički značajna razlika p<0,01

^{b*} U poređenju sa amifostinom WR-2721, statistički značajna razlika p<0,05

^c U poređenju sa mitomicinom C, statistički značajna razlika p<0,01

Kao i kod metanolnih ekstrakta *Artemisia*, sva testirana čista jedinjenja su pokazala najveći pad MN frekvencije pri koncentraciji od 2,00 µg/ml, zatim donekle niži u koncentraciji od 4,00 µg/ml i još niži u koncentraciji od 1,00 µg/ml.

Uzimajući u obzir sva ispitivana čista jedinjenja u koncentraciji od 2,00 µg/ml, rutin je pokazao najizraženiji efekat na smanjenje učestalosti MN (41,7%), veći od ferulinske kiseline (30,2%), kvercetin (24,7%) i rozmarinske kiseline (20,7%) u poređenju sa kontrolom. Isto je primećeno za testirana jedinjenja pri koncentracijama od 4,00 µg/ml, odnosno koncentracijama od 1,00 µg/ml. Najslabiji efekat na smanjenje učestalosti pokazala je rozmarinska kiselina (18,8%) u koncentraciji od 1,00 µg/ml, skoro isti kao amifostin (18,7%).

Na osnovu uticaja na učestalost MN metanolnih ekstrakta i čistih supstanci i imajući u vidu sastav ispitivanih ekstrakata (prethodno utvrđen korišćenjem HPLC metode) i datih u Tabeli 4.39 i Tabeli 4.40, može se primetiti da nema uočljive zavisnosti između aktivnosti i sadržaja pojedinih komponenata.

Uzorak koji sadrži najveću količinu rutina, EAS 5, je četvrti po ispoljenoj aktivnosti. Uzorci EAA 7 i EAV 4 smanjuju učestalost mikronukleusa u većoj meri od rutina, iako je njegov sadržaj 14,7 µg/g i 8,71 µg/g, redom.

Ranije je utvrđeno da apigenin indukuje MN zavisno od doze korišćenjem *in vitro* testa mikronukleusa blokiranog citohalasinom (Noel i sar. 2006). Naime, apigenin u koncentraciji od 10 µM/5 ml kulture, 33 µM/5 ml kulture i 100 µM/5 ml kulture povećava frekvenciju MN za vrednost koja je uporediva sa onom postignutom korišćenjem mitomicina C u koncentraciji od 6 µM po 5 ml kulture. Ovo je važno, jer je apigenin jedno od jedinjenja identifikovano u ovde ispitanim ekstraktima.

Može se pretpostaviti da je to razlog zašto je uzorak EAN 3 pokazao najveću učestalost MN (70,3%) među svim uzorcima. Uzorak EAA 7 koji je pokazao najnižu učestalost MN među svim uzorcima (54,8%) bogat je rozmarinskom kiselinom, hlorogenskom kiselinom, cinarinom i rutinom. Ista četiri jedinjenja se, takođe, pojavljuju u uzorku EAV 4 kao komponente u najvećim procentima, a ovaj uzorak pokazuje nešto veću frekvenciju MN od EAA 7. Rezultati procene mikronukleisanih polihromatskih eritrocita nisu pokazali povećanje učestalosti MN kod životinja (švajcarski miševi) tretiranih različitim koncentracijama (50 mg/kg, 100 mg/kg i 200 mg/kg telesne težine) rozmarinske kiseline u poređenju sa negativnim kontrolama (Furtado i sar. 2008). Nalazi mikronukleus testa s tehnikom blokirane citokineze ukazuju na odsustvo genotoksičnog efekta rozmarinske kiseline u testiranim koncentracijama (0,28 mM, 0,56 mM i 1,12 mM) na V79 ćelije (Furtado i sar. 2010). Hlorogenska kiselina ne povećava frekvenciju MN, procenjeno mikronukleusnim testom od

strane Hernandez i sar. (2020). Rezultati dobijeni od strane Erikel i sar. (2019) pokazuju da cinarin ispoljava antigenotoksične efekte i da može delovati kao potencijalna preventiva protiv genotoksičnih agenasa. Uzimajući u obzir rezultate MN testa, sprovedenog od strane da Silva i sar. (2002), na Swiss-Webster miševima kada su korišćene veoma visoke doze rutina (2500 mg/kg, 1250 mg/kg i 625 mg/kg) i kvercetina (2500 mg/kg, 1250 mg/kg i 625 mg) /kg), malo je verovatno da bi konzumacija rutina i kvercetina mogla da proizvede bilo kakve klastogene efekte.

Učestalost mikronukleusa u ćelijama tkiva hepatoma *in vitro* su izveli Maistro i sar. (2011) za procenu mutagenosti ferulinske kiseline, pri čemu je uočeno njeno klastogeno delovanje i mikronukleus test je pokazao povećanje učestalosti mikronukleisanih ćelija testiranih ferulinskom kiselinom u koncentracijama od 50 μM , 500 μM i 1500 μM .

Zaključak

U doktorskoj disertaciji „Hemijski sastav, antioksidativna i toksična aktivnost odabranih biljnih vrsta roda *Artemisia* L.” urađena je analiza: etarskih ulja pomoću GC-MS tehnike, metanolnih ekstrakata primenom HPLC metode, kao i multielementnog sastava korišćenjem ICP-OES tehnike pet odabranih predstavnika roda *Artemisia*: *A. alba*, *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia*. Dodatno, određena je biološka aktivnost odabranih vrsta roda *Artemisia*: testom akutne toksičnosti na vodene račiće *Artemia salina*, testom insekticidne aktivnosti na voćnu mušicu *Drosophila melanogaster*, mikronukleusnim testom, kao i merenjem antioksidativne aktivnosti pomoću pet metoda (DPPH, ABTS, FRAP, TRP i CUPRAC). Takođe, određen je i ukupni sadržaj fenola i ukupni sadržaj flavonoida. Primenom hemometrijskih testova ispitana je korelacija između pojedinačnih komponenata i klasa jedinjenja kako isparljivih, tako i fenolnih i flavonoidnih jedinjenja i multielementnog sastava, kao i antioksidativne aktivnosti sa tipom tla određenim po WRB klasifikaciji.

Urađena je GC/MS analiza ukupno pedeset pet uzoraka (sedam uzoraka etarskih ulja *A. alba* i po dvanaest uzoraka etarskih ulja svake vrste *A. absinthium* L., *A. annua* L., *A. vulgaris* L. i *A. scoparia* Waldst. et Kit.). Uzorci biljaka su prikupljeni sa različitih tipova zemljišta, koji su određeni korišćenjem Svetske Referentne Baze za resurse zemljišta (WRB). Uočena je velika raznolikost u sastavu uzoraka *A. alba*, *A. absinthium* i *A. vulgaris*, dok je kod *A. annua* i *A. scoparia* sastav ispitivanih etarskih ulja bio ujednačeniji. Seskviterpenoidi su bili glavna klasa jedinjenja u dva uzorka *A. alba* i četiri uzorka *A. vulgaris*, dok su u pet uzoraka *A. alba*, i u svim uzorcima *A. absinthium* i *A. annua* oksigenisani monoterpeni bili dominantna klasa jedinjenja. Osnovna klasa jedinjenja u etarskim uljima *A. scoparia* bili su fenildiacetileni sa zastupljenošću od minimum 57%, a u svim analiziranim uzorcima glavna komponenta je bio kapilen, praćen 2,4-pentadiinil-benzenom. Analiza glavnih komponenata je dala obilje korisnih informacija o korelacijama između određenih komponenata i između klasa jedinjenja. Multivarijantna analiza varijanse sa komponentama u procentu od pet ili više % u najmanje jednom uzorku, kao zavisnim varijablama, i tipom zemljišta, kao eksplanatornim varijablama, je pokazala da postoji značajan uticaj tipa zemljišta na zavisne varijable u slučaju *A. absinthium*. Diskriminantna analiza za uzorke *A. absinthium* podržala je multivarijantnu analizu varijanse i obezbedila stopu klasifikacije od 100% korišćenjem uzorka za trening i stopu klasifikacije od 60% na osnovu rezultata unakrsne validacije, dajući tako mogućnost ispravnog grupisanja nekog novog, potencijalnog uzorka od 60%. Za uzorke *A. annua* MANOVA je korišćenjem procenata klasa jedinjenja kao zavisnih varijabli i tipova zemljišta kao eksplanatornih varijabli pokazala da je zemljište značajan faktor sa uticajem na merljive varijable. Diskriminantna analiza bi se mogla koristiti za klasifikaciju uzoraka *A.*

annua na osnovu tipa zemljišta i klasa jedinjenja sa sigurnošću od 66,7 % (na osnovu rezultata unakrsne validacije).

Za po dvanaest uzoraka metanolnih ekstrakata četiri vrste *Artemisia*: *A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia* (ukupno 48 uzoraka) sa različitih staništa, urađena je HPLC analiza, sadržaj ukupnih fenola, sadržaj ukupnih flavonoida i antioksidativni testovi. Apigenin je bio glavno jedinjenje u deset uzoraka *A. annua* i šest uzoraka *A. absinthium*. U jedanaest uzoraka *A. scoparia* apigenin glikozid je bio prisutan u najvećoj količini. Hlorogenska kiselina je bila najzastupljenije jedinjenje u po jednom uzorku *A. vulgaris* i *A. absinthium*, dok je cinarin bio dominantan u šest uzoraka (četiri *A. vulgaris* i dva *A. absinthium*). Pet uzoraka *A. vulgaris* sadržalo je najveću količinu naringenina. Ukupna količina flavonola, flavona, flavanona, hidroksibenzojeve i hidroksicimetnih kiselina je bila najveća kod *A. scoparia* uzoraka, što se i poklapa sa najvećom antioksidativnom aktivnošću po svim primenjenim antioksidativnim testovima. Veoma korisne informacije dobijene su korišćenjem PCA na osnovu sadržaja ukupnih fenola, ukupnih flavonoida i antioksidativnih testova. Multivarijantna analiza varijanse sa hlorogenskom kiselinom, cinarinom, rutinom, apigenin glikozidom, rozmarinskom kiselinom, kvercetinom, kemferolom i apigeninom kao zavisnim varijablama i tipom zemljišta kao eksplanatornom varijablom pokazala je da za *A. absinthium*, *A. annua* i *A. vulgaris* postoji značajan uticaj tipa zemljišta na zavisne varijable. Diskriminantna analiza zasnovana na istim promenljivim i eksplanatornim varijablama dala je veoma nisku stopu klasifikacije za *A. absinthium*, *A. annua* i *A. vulgaris* na osnovu rezultata unakrsne validacije (30,00%, 11,11% i 33,33%, redom). Multivarijantna analiza varijanse zasnovana na sadržaju ukupnih fenola, sadržaju ukupnih flavonoida i antioksidativnim testovima (DPPH, ABTS, TRP, FRAP, CUPRAC) otkrila je da postoji statistički značajan uticaj tipa zemljišta na promenljive varijable u slučaju *A. annua* i *A. scoparia*, dok je diskriminantna analiza dala stopu klasifikacije od 100% koristeći trening uzorke i 55,56% na osnovu rezultata unakrsne validacije za *A. annua* i stopu klasifikacije od 100% koristeći trening uzorke i 90,91% na osnovu rezultata unakrsne validacije za *A. scoparia*. Rezultati za uzorke metanolnih ekstrakata *A. alba* su pokazali manje razlike u kvalitativnom sastavu metanolnih ekstrakata (jedina razlika se odnosila na prisustvo vanilinske kiseline), ali značajne razlike u kvantitativnom sastavu.

Određen je sadržaj 20 elemenata u pet *Artemisia* vrsta koristeći IPC OES metodu. Analiza glavnih komponenti i hijerarhijska klaster analiza pokazuju dobro odvajanje ispitivanih vrsta *Artemisia* u funkciji sadržaja elemenata. Uzorci u okviru iste biljne vrste (*A. absinthium*, *A. annua*, *A. vulgaris* i *A. scoparia*) su po kvalitativnom sastavu gotovo isti, a

kvantitativno dosta slični, dok su velike razlike uočene među uzorcima *A. alba*. Dalje, statističkom analizom podataka vezanih za sadržaj 20 elemenata u ispitivanim biljnim vrstama *Artemisia* izdvaja se samo chromic cambisol tip zemljišta prvenstveno po prisustvu Cr, Al, Fe, Co, Ni, Be i Mn. Ovo je prvi izveštaj o koncentracijama osam elemenata u *A. vulgaris*, po devet elemenata u *A. alba* i *A. absinthium*, trinaest elemenata u *A. annua* i dvadeset elemenata u *A. scoparia*.

Ispitivana etarska ulja odabranih vrsta *Artemisia* pokazuju srednju do jaku toksičnost na *A. salina*, pri čemu su se etarska ulja *A. annua* i *A. alba* pokazala kao ulja sa srednjom toksičnošću, dok su sa druge strane, *A. absinthium*, *A. vulgaris* i *A. scoparia* ispoljile jaku toksičnost. Za etarsko ulje *A. scoparia* sa izrazito niskim vrednostima LC₅₀ se može zaključiti da je veoma toksično.

Testirana *Artemisia* etarska ulja su pokazala određeni nivo toksičnosti i insekticidne aktivnosti na *D. melanogaster*, uglavnom u višim testiranim koncentracijama, izuzev ulja *A. scoparia* koje je pokazalo jaku aktivnost u svim testiranim koncentracijama. S obzirom na ovakve rezultate, ispitivana etarska ulja biljaka iz roda *Artemisia* bi se mogla smatrati potencijalnim kandidatima za specifičnije biotestove sa potencijalom za razvoj antitumorskih i pesticidnih prirodnih proizvoda.

Dobijeni rezultati *in vitro* mikronukleus testa s tehnikom blokirane citokineze pokazali su da su svi ispitivani metanolni ekstrakti u svim korišćenim koncentracijama značajno smanjili učestalost mikronukleusa u poređenju sa kontrolom i da je smanjenje broja mikronukleusa zavisno od koncentracije. Svi ispitivani ekstrakti najviše smanjuju broj mikronukleusa pri koncentraciji od 2,00 µg/ml, zatim nešto manje u koncentraciji od 4,00 µg/ml, a još manje u koncentraciji od 1,00 µg/ml. Vrednosti indeksa proliferacije limfocita za sve uzorke su imale približne vrednosti što pokazuje da ni ekstrakti ni čista jedinjenja nemaju uticaja na deobu ćelija. Ekstrakti *A. vulgaris* i *A. alba* u svim ispitivanim koncentracijama su ispoljili više od dva puta veću aktivnost od aktivnosti amifostina. S obzirom na to da se amifostin koristi kao radioprotektant, dobijeni rezultati bi mogli da budu značajni u identifikaciji prirodnih proizvoda koji sprečavaju oštećenja DNK u hromozomima.

Literatura

- Aati, H. Y., Perveen, S., Orfali, R., Al-Taweel, A. M., Aati, S., Wanner, J., ... & Mehmood, R. (2020). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia absinthium*, *Artemisia scoparia*, and *Artemisia sieberi* grown in Saudi Arabia. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(11), 8209-8217.
- Abad, M. J., Bedoya, L. M., Apaza, L., & Bermejo, P. (2012). The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules*, 17(3), 2542-2566.
- Abate, G., Zhang, L., Pucci, M., Morbini, G., Mac Sweeney, E., Maccarinelli, G., ... & Mastinu, A. (2021). Phytochemical analysis and anti-inflammatory activity of different ethanolic phyto-extracts of *Artemisia annua* L. *Biomolecules*, 11(7), 975.
- Aberham, A., Cicek, S. S., Schneider, P., & Stuppner, H. (2010). Analysis of sesquiterpene lactones, lignans, and flavonoids in wormwood (*Artemisia absinthium* L.) using high-performance liquid chromatography (HPLC)– mass spectrometry, reversed phase HPLC, and HPLC– solid phase extraction– nuclear magnetic resonance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(20), 10817-10823.
- Abiri, R., Silva, A. L. M., de Mesquita, L. S. S., de Mesquita, J. W. C., Atabaki, N., de Almeida Jr, E. B., ... & Malik, S. (2018). Towards a better understanding of *Artemisia vulgaris*: Botany, phytochemistry, pharmacological and biotechnological potential. *Food Research International*, 109, 403-415.
- Aboutabl, E. A., El Azzouny, A. M., & El Dahmy, S. I. (1998). Constituents of the essential oil of *Artemisia absinthium* grown in Egypt. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 1, 82-86.
- Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry* (Vol. 456, pp. 544-545). Carol Stream: Allured publishing corporation.
- Ahamad, J., Naquvi, K. J., Ali, M., & Mir, S. R. (2014). Isoflavone glycosides from aerial parts of *Artemisia absinthium*. *Chemistry of Natural compounds*, 49(6), 996-1000.
- Ahmadizadeh, C., Monadi, A., Rezaie, A., Rad, M. G., & Jafari, B. (2018). Antibacterial activity of methanolic extract and essence of Sagebrush (*Artemisia vulgaris*) against pathogenic bacteria. *Life Science Journal*, 15(5), 69-73.

- Ali, M., Chaudhari, A., Velasco-Negueruela, A., & Pérez-Alonso, M. J. (2000). Volatile constituents of *Artemisia scoparia* Waldst et Kit. leaves. *Journal of Essential Oil Research*, 12(1), 64-66.
- Analysis of variance (ANOVA); [fstats_ch7.pdf \(cimt.org.uk\)](#), accessed 26/01/2021
- Anshul, N., Kalra, A., & Singh, D. (2014). Biological effect of sweet wormwood, *Artemisia annua* methanol extracts and essential oil against *Helicoverpa armigera* Hub.(Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2(6), 304-307.
- AOAC International. (2000). Method Validation Program (OMA/PVM Department), Including Appemdix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis. AOAC International, Rockville, MD. (https://members.aoac.org/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/Collaborative_Study_Validation_Guidelines.pdf)
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Ariño, A., Arberas, I., Renobales, G., Arriaga, S., & Dominguez, J. B. (1999). Essential oil of *Artemisia absinthium* L. from the Spanish Pyrenees. *Journal of Essential Oil Research*, 11(2), 182-184.
- Asanova, Z. K., Suleimenov, E. M., Atazhanova, G. A., Dembitskii, A. D., Pak, R. N., Dar, A., & Adekenov, S. M. (2003). Biological activity of 1, 8-cineole from levant wormwood. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 37(1), 28-30.
- Bachrouch, O., Ferjani, N., Haouel, S., & Jemâa, J. M. B. (2015). Major compounds and insecticidal activities of two Tunisian *Artemisia* essential oils toward two major coleopteran pests. *Industrial Crops and Products*, 65, 127-133.
- Badea, M. L., Delian, E., Dobrescu, A., Bădulescu, L., & Mihai, C. A. (2020). Investigation the quantity and quality of essential oil of *Artemisia vulgaris* L. *Scientific Papers-Series B, Horticulture*, 64(1), 628-632.

- Bagchi, G. D., Haider, F., Dwivedi, P. D., Singh, A., & Naqvi, A. A. (2003). Essential oil constituents of *Artemisia annua* during different growth periods at monsoon conditions of subtropical north Indian plains. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4), 248-250.
- Bagci, E., Kursat, M., & Civelek, S. (2010). Essential oil composition of the aerial parts of two *Artemisia* species (*A. vulgaris* and *A. absinthium*) from east Anatolian region. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13(1), 66-72.
- Balasubramani, S., Sabapathi, G., Moola, A. K., Solomon, R. V., Venuvanalingam, P., & Bollipo Diana, R. K. (2018). Evaluation of the leaf essential oil from *Artemisia vulgaris* and its larvicidal and repellent activity against dengue fever vector *Aedes aegypti*—an experimental and molecular docking investigation. *ACS omega*, 3(11), 15657-15665.
- Baldin, E. L., Crotti, A. E., Wakabayashi, K. A., Silva, J. P., Aguiar, G. P., Souza, E. S., ... & Groppo, M. (2013). Plant-derived essential oils affecting settlement and oviposition of *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B on tomato. *Journal of Pest Science*, 86(2), 301-308.
- Bamoniri, A., Mirjalili, B. B. F., Mazoochi, A., & Batooli, H. (2010). Chemical composition of *Artemisia vulgaris* L. from Kashan area isolated by nano scale injection. *Iranian Journal of Organic Chemistry*, 2(4), 533-536.
- Bamunuarachchi, G. S., Ratnasooriya, W. D., Premakumara, S., & Udagama, P. V. (2013). Antimalarial properties of *Artemisia vulgaris* L. ethanolic leaf extract in a *Plasmodium berghei* murine malaria model. *Journal of Vector Borne Diseases*, 50(4), 278-284.
- Baraldi, R., Isacchi, B., Predieri, S., Marconi, G., Vincieri, F. F., & Bilia, A. R. (2008). Distribution of artemisinin and bioactive flavonoids from *Artemisia annua* L. during plant growth. *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(5-6), 340-348.
- Benkhaled, A., Boudjelal, A., Napoli, E., Baali, F., & Ruberto, G. (2020). Phytochemical profile, antioxidant activity and wound healing properties of *Artemisia absinthium* essential oil. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 10(11), 496.

- 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.
- Bilia, A. R., de Malgalhaes, P. M., Bergonzi, M. C., & Vincieri, F. F. (2006). Simultaneous analysis of artemisinin and flavonoids of several extracts of *Artemisia annua* L. obtained from a commercial sample and a selected cultivar. *Phytomedicine*, 13(7), 487-493.
- Bilia, A. R., Flamini, G., Morgenni, F., Isacchi, B., & Francesco Vincieri, F. (2008). GC MS analysis of the volatile constituents of essential oil and aromatic waters of *Artemisia annua* L. at different developmental stages. *Natural Product Communications*, 3(12), 1934578X0800301225.
- Bilia, A. R., Santomauro, F., Sacco, C., Bergonzi, M. C., & Donato, R. (2014). Essential oil of *Artemisia annua* L.: An extraordinary component with numerous antimicrobial properties. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 159819.
- Blagojević, P., Radulović, N., Palić, R., & Stojanović, G. (2006). Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4780-4789.
- Bora, K. S., & Sharma, A. (2011). The genus *Artemisia*: a comprehensive review. *Pharmaceutical Biology*, 49(1), 101-109.
- Boudjelal, A., Smeriglio, A., Ginestra, G., Denaro, M., & Trombetta, D. (2020). Phytochemical profile, safety assessment and wound healing activity of *Artemisia absinthium* L. *Plants*, 9(12), 1744.
- Branković, S. R. (2014). Uticaj geološke podloge na sadržaj metala u biljkama. [Doktorska disertacija, Univerzitet u Kragujevcu]. <https://phaidrakg.kg.ac.rs/open/o:418>
- Brewer, C. A., 2013. ColorBrewer 2.0 [Computer software - Online] Available from: <https://colorbrewer2.org/>
- Brima, E. I. (2017). Toxic elements in different medicinal plants and the impact on human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(10), 1209.

- Britannica, T. Editors of Encyclopaedia (2020, April 3). Artemisia II. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/biography/Artemisia-II>
- Bro, R., & Smilde, A. K. (2014). Principal component analysis. *Analytical Methods*, 6(9), 2812-2831.
- Brown, G. (1992). Two new compounds from *Artemisia annua*. *Journal of Natural Products*, 55(12), 1756-1760.
- Calleja, M. C., & Persoone, G. (1992). Cyst-based toxicity tests. IV. The potential of ecotoxicological tests for the prediction of acute toxicity in man as evaluated on the first ten chemicals of the MEIC programme. *Alternatives to Laboratory Animals*, 20(3), 396-405.
- Caner, A., Döşkaya, M., Değirmenci, A., Can, H., Baykan, Ş., Üner, A., ... & Gürüz, Y. (2008). Comparison of the effects of *Artemisia vulgaris* and *Artemisia absinthium* growing in western Anatolia against trichinellosis (*Trichinella spiralis*) in rats. *Experimental Parasitology*, 119(1), 173-179.
- Carbonara, T., Pascale, R., Argentieri, M. P., Papadia, P., Fanizzi, F. P., Villanova, L., & Avato, P. (2012). Phytochemical analysis of a herbal tea from *Artemisia annua* L. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 62, 79-86.
- Carrier, A., & Kroonenberg, P. M. (1996). Decompositions and biplots in three-way correspondence analysis. *Psychometrika*, 61(2), 355-373.
- Carnat, A. P., Madesclaire, M., Chavignon, O., & Lamaison, J. L. (1992). *cis*-Chrysanthenol, a main component in essential oil of *Artemisia absinthium* L. growing in Auvergne (Massif Central), France. *Journal of Essential Oil Research*, 4(5), 487-490.
- Carnat, A., Heitz, A., Fraisse, D., Carnat, A. P., & Lamaison, J. L. (2000). Major dicaffeoylquinic acids from *Artemisia vulgaris*. *Fitoterapia*, 71(5), 587-589.
- Carvalho, I. S., Cavaco, T., & Brodelius, M. (2011). Phenolic composition and antioxidant capacity of six *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 33(2), 382-388.
- Ćavar, S., Maksimović, M., Vidić, D., & Parić, A. (2012). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. from Bosnia. *Industrial Crops and Products*, 37(1), 479-485.

- Cha, J. D., Jeong, M. R., Jeong, S. I., Moon, S. E., Kim, J. Y., Kil, B. S., & Song, Y. H. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Artemisia scoparia* and *A. capillaris*. *Planta Medica*, 71(2), 186-190.
- Chandrasekharan, I., Khan, H. A., & Ghanim, A. J. P. M. (1981). Flavonoids from *Artemisia scoparia*. *Planta Medica*, 43(11), 310-311.
- Cheeseman, K. H., & Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British medical bulletin*, 49(3), 481-493.
- Chiasson, H., Bélanger, A., Bostanian, N., Vincent, C., & Poliquin, A. (2001). Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *Journal of Economic Entomology*, 94(1), 167-171.
- Clarkson, C., Maharaj, V. J., Crouch, N. R., Grace, O. M., Pillay, P., Matsabisa, M. G., ... & Folb, P. I. (2004). *In vitro* antiplasmodial activity of medicinal plants native to or naturalised in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 92(2-3), 177-191.
- Cliff, N. (1988). The eigenvalues-greater-than-one rule and the reliability of components. *Psychological bulletin*, 103(2), 276.
- Countryman, P. I., & Heddle, J. A. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 41(2-3), 321-331.
- Craciunescu, O., Constantin, D., Gaspar, A., Toma, L., Utoiu, E., & Moldovan, L. (2012). Evaluation of antioxidant and cytoprotective activities of *Arnica montana* L. and *Artemisia absinthium* L. ethanolic extracts. *Chemistry Central Journal*, 6(1), 1-11.
- Da Silva, J., Herrmann, S. M., Heuser, V., Peres, W., Marroni, N. P., Gonzalez-Gallego, J., & Erdtmann, B. (2002). Evaluation of the genotoxic effect of rutin and quercetin by comet assay and micronucleus test. *Food and Chemical Toxicology*, 40(7), 941-947.
- Dane, Y., Mouhouche, F., Canela-Garayoa, R., & Delpino-Rius, A. (2016). Phytochemical analysis of methanolic extracts of *Artemisia absinthium* L. 1753 (Asteraceae), *Juniperus phoenicea* L., and *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast, 1892

- (Cupressaceae) and evaluation of their biological activity for stored grain protection. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 41(6), 2147-2158.
- Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., & Mazza, G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1-2), 101-109.
- Derda, M., Hadaś, E., Cholewiński, M., Skrzypczak, Ł., Grzondziel, A., & Wojtkowiak-Giera, A. (2016). *Artemisia annua* L. as a plant with potential use in the treatment of acanthamoebiasis. *Parasitology Research*, 115(4), 1635-1639.
- Derwich, E., Benziane, Z., & Boukir, A. (2009). Chemical compositions and insecticidal activity of essential oils of three plants *Artemisia* sp: *Artemisia herba-alba*, *Artemisia absinthium* and *Artemisia pontica* (Morocco). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 8(12), 1202–1211.
- Desrosiers, M. R., Towler, M. J., & Weathers, P. J. (2019). *Artemisia annua* and *Artemisia afra* essential oils and their therapeutic potential. In S. Malik (Ed.) *Essential Oil Research* (pp. 197-209). Springer, Cham.
- Ding, J., Wang, L., He, C., Zhao, J., Si, L., & Huang, H. (2021). *Artemisia scoparia*: Traditional uses, active constituents and pharmacological effects. *Journal of Ethnopharmacology*, 273, 113960.
- Donato, R., Santomauro, F., Bilia, A. R., Flamini, G., & Sacco, C. (2015). Antibacterial activity of Tuscan *Artemisia annua* essential oil and its major components against some foodborne pathogens. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 1251-1254.
- Dorđević, S., Stanisavljević, D., Ristić, M., Milenković, M., Veličković, D., Stojičević, S., & Zlatković, B. (2013). Chemical, antioxidant and antimicrobial analysis of the essential oil and extract of *Artemisia alba* Turra. *Digest Journal of Nanomaterials & Biostructures*, 8(4), 1377-1388.
- Dudareva, N., Pichersky, E., & Gershenzon, J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiology*, 135(4), 1893-1902.
- Duke, J., & Bogenschutz, M. J. (1994). *Dr. Duke's phytochemical and ethnobotanical databases* (pp. 1-8). USDA, Agricultural Research Service.

- Dũng, N. X., Nam, V. V., Huóng, H. T., & Leclercq, P. A. (1992). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia vulgaris* L. var. *indica* Maxim. from Vietnam. *Journal of Essential Oil Research*, 4(4), 433-434.
- Ekiert, H., Pajor, J., Klin, P., Rzepiela, A., Ślesak, H., & Szopa, A. (2020). Significance of *Artemisia vulgaris* L. (Common Mugwort) in the history of medicine and its possible contemporary applications substantiated by phytochemical and pharmacological studies. *Molecules*, 25(19), 4415.
- El-Askary, H., Handoussa, H., Badria, F., El-Khatib, A. H., Alsayari, A., Linscheid, M. W., & Abdel Motaal, A. (2019). Characterization of hepatoprotective metabolites from *Artemisia annua* and *Cleome droserifolia* using HPLC/PDA/ESI/MS–MS. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 213-220.
- Emadi, F., & Yassa, N. (2009). Chemical composition of Iranian *Artemisia annua* L. essential oil and its antibacterial, antifungal and antioxidant effects. *Planta Medica*, 75(09), PJ91.
- Emam, A. N., Girgis, E., Khalil, W. K., & Mohamed, M. B. (2014). Toxicity of plasmonic nanomaterials and their hybrid nanocomposites. In *Advances in molecular toxicology* (Vol. 8, pp. 173-202). Elsevier.
- Erel, Ş. B., Reznicek, G., Şenol, S. G., Yavaşoğlu, N. Ü. K., Konyalioğlu, S., & Zeybek, A. U. (2012). Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L. species from western Anatolia. *Turkish Journal of Biology*, 36(1), 75-84.
- Erel, Ş. B., Şenol, S. G., Köse, F. A., & Ballar, P. (2011). *In vitro* cytotoxic properties of six *Artemisia* L. species. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(3), 247-52.
- Erikel, E., Yuzbasioglu, D., & Unal, F. (2019). *In vitro* genotoxic and antigenotoxic effects of cynarin. *Journal of ethnopharmacology*, 237, 171-181.
- Farzaneh, M., Ahmadzadeh, M., Hadian, J., & Tehrani, A. S. (2006). Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *Artemisia* on some soil-borne phytopathogens. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71(3 Pt B), 1327-1333.
- Fenech, M. (1993). The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations.

- Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 285(1), 35-44.
- Feng, X., Cao, S., Qiu, F., & Zhang, B. (2020). Traditional application and modern pharmacological research of *Artemisia annua* L. *Pharmacology & therapeutics*, 216, 107650.
- Filipiak-Szok, A., Kurzawa, M., & Szlyk, E. (2015). Determination of toxic metals by ICP-MS in Asiatic and European medicinal plants and dietary supplements. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 30, 54-58.
- Fouad, R., Bousta, D., Lalami, A. E. O., Chahdi, F. O., Amri, I., Jamoussi, B., & Greche, H. (2015). Chemical composition and herbicidal effects of essential oils of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, *Eucalyptus cladocalyx*, *Origanum vulgare* L and *Artemisia absinthium* L. cultivated in Morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(1), 112-123.
- Fu, C., Yu, P., Wang, M., & Qiu, F. (2020). Phytochemical analysis and geographic assessment of flavonoids, coumarins and sesquiterpenes in *Artemisia annua* L. based on HPLC-DAD quantification and LC-ESI-QTOF-MS/MS confirmation. *Food Chemistry*, 312, 126070.
- Furtado, M. A., de Almeida, L. C. F., Furtado, R. A., Cunha, W. R., & Tavares, D. C. (2008). Antimutagenicity of rosmarinic acid in Swiss mice evaluated by the micronucleus assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 657(2), 150-154.
- Furtado, R. A., De Araujo, F. R. R., Resende, F. A., Cunha, W. R., & Tavares, D. C. (2010). Protective effect of rosmarinic acid on V79 cells evaluated by the micronucleus and comet assays. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 30(3), 254-259.
- Gabriel, K. R. (1971). The biplot graphic display of matrices with application to principal component analysis. *Biometrika*, 58(3), 453-467.
- Gajić, M., (1975). *Artemisia* L. In: Josifović, M. (ed.). Flora SR Srbije. VII: (pp. 121-129). Srpska Akademija Nauka i Umetnosti. Beograd.

- Gao, S., Zhang, K., Wei, L., Wei, G., Xiong, W., Lu, Y., ... & Li, B. (2020). Insecticidal activity of *Artemisia vulgaris* essential oil and transcriptome analysis of *Tribolium castaneum* in response to oil exposure. *Frontiers in Genetics*, *11*, 589.
- Ghasemzadeh, A., & Ghasemzadeh, N. (2011). Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of medicinal plants research*, *5*(31), 6697-6703.
- Gilani, A. H., Janbaz, K. H., Lateef, A., & Zaman, M. (1994). Ca⁺⁺ channel blocking activity of *Artemisia scoparia* extract. *Phytotherapy Research*, *8*(3), 161-165.
- Gilani, A. H., Yaesh, S., Jamal, Q., & Ghayur, M. N. (2005). Hepatoprotective activity of aqueous–methanol extract of *Artemisia vulgaris*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *19*(2), 170-172.
- Gilani, A. U. H., & Janbaz, K. H. (1993). Protective effect of *Artemisia scoparia* extract against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *General pharmacology*, *24*(6), 1455-1458.
- Gilani, A. U. H., & Janbaz, K. H. (1995). Preventive and curative effects of *Artemisia absinthium* on acetaminophen and CCl₄-induced hepatotoxicity. *General Pharmacology: The Vascular System*, *26*(2), 309-315.
- Gonzalez-Coloma, A., Bailen, M., Diaz, C. E., Fraga, B. M., Martínez-Díaz, R., Zuniga, G. E., ... & Burillo, J. (2012). Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: Antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects. *Industrial Crops and Products*, *37*(1), 401-407.
- Goraev, M. I., Bazalitskaya, U. S., & Lishtvanova, L. N. (1962). The terpene portion of the essential oil of *Artemisia absinthium*. *Zeitschrift fur Naturforschung*, *35*, 2799-2802.
- Goud, B. J., & Swamy, B. C. (2015). A review on history, controversy, traditional use, ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Artemisia absinthium* Linn. *International Journal of Advances in Applied Sciences*, *4*(5), 77-107.

- Govindaraj, S., & RanjithaKumari, B. D. (2013). Composition and larvicidal activity of *Artemisia vulgaris* L. stem essential oil against *Aedes aegypti*. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 6(1), 11-16.
- Gower JC (1995) A general theory of biplots. in WJ. Krzanowski (Ed) Recent Advances in Descriptive Multivariate Analysis,. Oxford: Clarendon Press. pp 283–303
- Greuter, W. (2006+): Compositae (pro parte majore). – In: W. Greuter & E. von Raab-Straube (Eds.): Compositae. Euro+Med Plantbase - the information resource for Euro-Mediterranean plant diversity.
- Grubbs, F. E. (1969). Procedures for detecting outlying observations in samples. *Technometrics*, 11(1), 1-21.
- Guarrera, P. M. (2005). Traditional phytotherapy in Central Italy (Marche, Abruzzo, and Latium). *Fitoterapia*, 76(1), 1-25.
- Guetat, A., Al-Ghamdi, F. A., & Osman, A. K. (2017). The genus *Artemisia* L. in the northern region of Saudi Arabia: essential oil variability and antibacterial activities. *Natural Product Research*, 31(5), 598-603.
- Guttman, L. (1954). Some necessary conditions for common-factor analysis. *Psychometrika*, 19(2), 149-161.
- Habib, M., & Waheed, I. (2013). Evaluation of anti-nociceptive, anti-inflammatory and antipyretic activities of *Artemisia scoparia* hydromethanolic extract. *Journal of ethnopharmacology*, 145(1), 18-24.
- Hadi, A., Hossein, N., Shirin, P., Najmeh, N., & Abolfazl, M. (2014). Anti-inflammatory and analgesic activities of *Artemisia absinthium* and chemical composition of its essential oil. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 38, 237-244.
- Haghi, G., Safaei, A., & Safaei Ghomi, J. (2010). Identification and determination of flavonoids in leaf, dried aqueous and dried hydroalcoholic extract of *Artemisia absinthium* by HPLC. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, (Supplement 2), 89-90.

- Hamilton, M. A., Russo, R. C., & Thurston, R. V. (1977). Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environmental science & technology*, *11*(7), 714-719.
- Han, J., Ye, M., Qiao, X., Xu, M., Wang, B. R., & Guo, D. A. (2008). Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *47*(3), 516-525.
- Han, X., Ma, X., Zhang, T., Zhang, Y., Liu, Q., & Ito, Y. (2007). Isolation of high-purity casticin from *Artemisia annua* L. by high-speed counter-current chromatography. *Journal of Chromatography A*, *1151*(1-2), 180-182.
- Hasheminia, S. M., Sendi, J. J., Jahromi, K. T., & Moharramipour, S. (2011). The effects of *Artemisia annua* L. and *Achillea millefolium* L. crude leaf extracts on the toxicity, development, feeding efficiency and chemical activities of small cabbage *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *99*(3), 244-249.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, *36*(6), 2090-2097.
- Hernandes, L. C., Machado, A. R. T., Tuttis, K., Ribeiro, D. L., Aissa, A. F., Dévoz, P. P., & Antunes, L. M. G. (2020). Caffeic acid and chlorogenic acid cytotoxicity, genotoxicity and impact on global DNA methylation in human leukemic cell lines. *Genetics and Molecular Biology*, *43*.
- Hoffmann, B., & Herrmann, K. (1982). Flavonolglykoside des Beifuß (*Artemisia vulgaris* L.), Estragon (*Artemisia dracuncululus* L.) und Wermut (*Artemisia absinthium* L.). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, *174*(3), 211-215.
- Horwitz, W. (1982). Evaluation of analytical methods used for regulation of foods and drugs. *Analytical Chemistry*, *54*(1), 67-76.
- Hotelling, H. (1933). Analysis of a complex of statistical variables into principal components. *Journal of educational psychology*, *24*(6), 417.

- Huang, X., Chen, S. Y., Zhang, Y., Wang, Y. H., Zhang, X., Bi, Z. Y., & Yuan, H. B. (2019). Chemical composition and antifungal activity of essential oils from three *Artemisia* species against *Alternaria solani*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(6), 1581-1592.
- Huang, X., Chen, S. Y., Zhang, Y., Wang, Y. H., Zhang, X., Bi, Z. Y., & Yuan, H. B. (2019). Chemical composition and antifungal activity of essential oils from three *Artemisia* species against *Alternaria solani*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(6), 1581-1592.
- Hwang, D. I., Won, K. J., Kim, D. Y., Yoon, S. W., Park, J. H., Kim, B., & Lee, H. M. (2016). Anti-adipocyte differentiation activity and chemical composition of essential oil from *Artemisia annua*. *Natural Product Communications*, 11(4), 1934578X1601100430.
- Iqbal, S., Younas, U., Chan, K. W., Zia-Ul-Haq, M., & Ismail, M. (2012). Chemical composition of *Artemisia annua* L. leaves and antioxidant potential of extracts as a function of extraction solvents. *Molecules*, 17(5), 6020-6032.
- Islam, M., Choi, R. J., Jung, H. A., Oh, S. H., & Choi, J. S. (2016). Promising anti-diabetic potential of capillin and capillinol isolated from *Artemisia capillaris*. *Archives of Pharmacal Research*, 39(3), 340-349.
- Islamuddin, M., Chouhan, G., Want, M. Y., Tyagi, M., Abdin, M. Z., Sahal, D., & Afrin, F. (2014). Leishmanicidal activities of *Artemisia annua* leaf essential oil against Visceral Leishmaniasis. *Frontiers in Microbiology*, 5, 626.
- Ivanescu, B., Vlase, L., Corciova, A., & Lazar, M. I. (2010). HPLC-DAD-MS study of polyphenols from *Artemisia absinthium*, *A. annua*, and *A. vulgaris*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(3), 468-470.
- Ivanescu, B., Vlase, L., Lungu, C., & Corciova, A. (2016). HPLC analysis of phenolic compounds from *Artemisia* species. *European Chemical Bulletin*, 5, 119-123.
- Ivanov, M., Gašić, U., Stojković, D., Kostić, M., Mišić, D., & Soković, M. (2021). New evidence for *Artemisia absinthium* L. application in gastrointestinal ailments: ethnopharmacology, antimicrobial capacity, cytotoxicity, and phenolic profile. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 9961089.

- Jakovljević, M. R., Grujičić, D., Vukajlović, J. T., Marković, A., Milutinović, M., Stanković, M., ... & Milošević-Djordjević, O. (2020). *In vitro* study of genotoxic and cytotoxic activities of methanol extracts of *Artemisia vulgaris* L. and *Artemisia alba* Turra. *South African Journal of Botany*, 132, 117-126.
- Janačković, P., Rajčević, N., Gavrilović, M., Novaković, J., Giweli, A., Stešević, D., & Marin, P. D. (2019). Essential oil composition of five *Artemisia* (Compositae) species in regards to chemophenetics. *Biochemical Systematics and Ecology*, 87, 103960.
- Jerković, I., Mastelić, J., Miloš, M., Juteau, F., Masotti, V., & Viano, J. (2003). Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(5), 436-440.
- Jiang, C., Zhou, S., Liu, L., Toshmatov, Z., Huang, L., Shi, K., ... & Shao, H. (2021). Evaluation of the phytotoxic effect of the essential oil from *Artemisia absinthium*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 226, 112856.
- Jiang, S., Lai, P., Li, J., & Wang, G. (2012). Antioxidant activities and essential oil composition of *Herba artemisiae scopariae* from China. *Journal of Oleo Science*, 61(5), 291-295.
- Joshi, R. K. (2013). Volatile composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing in Western Ghats region of North West Karnataka, India. *Pharmaceutical Biology*, 51(7), 888-892.
- Judzentiene, A., & Garjonyte, R. (2016). Compositional variability and toxic activity of Mugwort (*Artemisia vulgaris*) essential oils. *Natural Product Communications*, 11(9), 1934578X1601100942.
- Judzentiene, A., Budiene, J., Gircyte, R., Masotti, V., & Laffont-Schwob, I. (2012). Toxic activity and chemical composition of Lithuanian wormwood (*Artemisia absinthium* L.) essential oils. *Records of Natural Products*, 6(2), 180 - 183.
- Juteau, F., Jerkovic, I., Masotti, V., Milos, M., Mastelic, J., Bessière, J. M., & Viano, J. (2003). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France. *Planta Medica*, 69(02), 158-161.

- Juteau, F., Masotti, V., Bessière, J. M., Dherbomez, M., & Viano, J. (2002). Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia*, 73(6), 532-535.
- Kaiser, H. F. (1960). The application of electronic computers to factor analysis. *Educational and Psychological Measurement*, 20(1), 141-151.
- Kapoor, R., Ali, M., Mir, S. R., & Rafiullah, M. R. M. (2004). Essential oil constituents of aerial parts of *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(2), 109-111.
- Karabagias, I. K., Louppis, A. P., Karabournioti, S., Kontakos, S., Papastephanou, C., & Kontominas, M. G. (2017). Characterization and classification of commercial thyme honeys produced in specific Mediterranean countries according to geographical origin, using physicochemical parameter values and mineral content in combination with chemometrics. *European Food Research and Technology*, 243(5), 889-900.
- Karabegović, I., Nikolova, M., Veličković, D., Stojičević, S., Veljković, V., & Lazić, M. (2011). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artemisia* sp. recovered by different extraction techniques. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 19(3), 504-511.
- Karamodini, M. K., Emami, S. A., Ghannad, M. S., Sani, E. A., & Sahebkar, A. (2011). Antiviral activities of aerial subsets of *Artemisia* species against *Herpes Simplex* virus type 1 (HSV1) *in vitro*. *Asian Biomedicine*, 5(1), 63-68.
- Karasek, F. W., & Clement, R. E. (2012). *Basic gas chromatography-mass spectrometry: principles and techniques*. Elsevier.
- Karchesy, Y. M., Kelsey, R. G., Constantine, G., & Karchesy, J. J. (2016). Biological screening of selected Pacific Northwest forest plants using the brine shrimp (*Artemia salina*) toxicity bioassay. *Springerplus*, 5(1), 1-9.
- Kaur, S., Singh, H. P., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2012). *Artemisia scoparia* essential oil inhibited root growth involves reactive oxygen species (ROS)-mediated disruption of oxidative metabolism: *In vivo* ROS detection and alterations in antioxidant enzymes. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44, 390-399.

- Kaur, S., Singh, H. P., Mittal, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2010). Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. *Industrial Crops and Products*, 32(1), 54-61.
- Kazemi, M. (2015). Essential oil of the aerial parts of *Artemisia annua* (Asteraceae) from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(4), 1003-1005.
- Kester, D. R., Duedall, I. W., Connors, D. N., & Pytkowicz, R. M. (1967). Preparation of artificial seawater 1. *Limnology and oceanography*, 12(1), 176-179.
- Khan, K., Fatima, H., Taqi, M. M., Zia, M., & Mirza, B. (2015). Phytochemical and *in vitro* biological evaluation of *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit for enhanced extraction of commercially significant bioactive compounds. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(3), 77-86.
- Khangholil, S., & Rezaeinodehi, A. (2008). Effect of drying temperature on essential oil content and composition of sweet wormwood (*Artemisia annua*) growing wild in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(6), 934-937.
- Khayyat, H. (2010). Essential oil compositions of *Artemisia scoparia* Waldst. et. Kit native to north east of Iran. *Advances in Environmental Biology*, 4(2), 254-257.
- Khayyat, M., & Karimi, H. (2005). Composition of the volatile oils of three different species of *Artemisia*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 33-37.
- Khodakov, G. V., & Kotikov, I. V. (2009). Component composition of essential oil from *Artemisia annua* and *A. scoparia*. *Chemistry of Natural Compounds*, 45(6), 909-912.
- Khosravi, R., Sendi, J. J., & Ghadamyari, M. (2010). Effect of *Artemisia annua* L. on deterrence and nutritional efficiency of lesser mulberry pyralid (*Glyphodes pylolais* Walker)(Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research*, 50(4):423–428.
- Kim, W. S., Choi, W. J., Lee, S., Kim, W. J., Lee, D. C., Sohn, U. D., ... & Kim, W. (2015). Anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial effects of artemisinin extracts from *Artemisia annua* L. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, 19(1), 21-27.

- Kordali, S., Cakir, A., Mavi, A., Kilic, H., & Yildirim, A. (2005). Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1408-1416.
- Koyuncu, I. (2018). Evaluation of anticancer, antioxidant activity and phenolic compounds of *Artemisia absinthium* L. extract. *Cellular and Molecular Biology*, 64(3), 25-34.
- Kunal, M. (2018). Antioxidant analysis of essential oils and methanolic extracts of *Artemisia vulgaris*. *International Journal of Agriculture Sciences*, 10(7), 5710-5713.
- Lai, J. P., Lim, Y. H., Su, J., Shen, H. M., & Ong, C. N. (2007). Identification and characterization of major flavonoids and caffeoylquinic acids in three Compositae plants by LC/DAD-APCI/MS. *Journal of Chromatography B*, 848(2), 215-225.
- Lee, B. H., Annis, P. C., & Choi, W. S. (2004). Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1, 8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40(5), 553-564.
- Lee, S. J., Chung, H. Y., Lee, I. K., & Yoo, I. D. (1999). Isolation and identification of flavonoids from ethanol extracts of *Artemisia vulgaris* and their antioxidant activity. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 31(3), 815-822.
- Lee, S. J., Chung, H. Y., Maier, C. G. A., Wood, A. R., Dixon, R. A., & Mabry, T. J. (1998). Estrogenic flavonoids from *Artemisia vulgaris* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 3325-3329.
- Lee, Y. J., Thiruvengadam, M., Chung, I. M., & Nagella, P. (2013). Polyphenol composition and antioxidant activity from the vegetable plant '*Artemisia absinthium*' L. *Australian Journal of Crop Science*, 7(12), 1921-1926.
- Leite, A. M., Lima, E. D. O., Souza, E. L. D., Diniz, M. D. F., Leite, S. P., Xavier, A. L., & Medeiros, I. A. D. (2009). Preliminary study of the molluscicidal and larvicidal properties of some essential oils and phytochemicals from medicinal plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(4), 842-846.
- Liu, H., Guo, S. S., Lu, L., Li, D., Liang, J., Huang, Z. H., ... & Du, S. (2021). Essential oil from *Artemisia annua* aerial parts: composition and repellent activity against two storage pests. *Natural Product Research*, 35(5), 822-825.

- Liu, H., Tian, X., Zhang, Y., Wang, C., & Jiang, H. (2013). The discovery of *Artemisia annua* L. in the Shengjindian cemetery, Xinjiang, China and its implications for early uses of traditional Chinese herbal medicine qinghao. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 278-286.
- Liu, T. T., Wu, H. B., Wu, H. B., & Zhang, J. (2019). Wormwood (*Artemisia absinthium* L.) as a promising nematicidal and antifungal agent: Chemical composition, comparison of extraction techniques and bioassay-guided isolation. *Industrial Crops and Products*, 133, 295-303.
- Lopes-Lutz, D., Alviano, D. S., Alviano, C. S., & Kolodziejczyk, P. P. (2008). Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils. *Phytochemistry*, 69(8), 1732-1738.
- Love, J. N., Sammon, M., & Smereck, J. (2004). Are one or two dangerous? Camphor exposure in toddlers. *The Journal of Emergency Medicine*, 27(1), 49-54.
- Maggio, A., Rosselli, S., Bruno, M., Spadaro, V., Raimondo, F. M., & Senatore, F. (2012). Chemical composition of essential oil from Italian populations of *Artemisia alba* Turra (Asteraceae). *Molecules*, 17(9), 10232-10241.
- Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M. A., Ansaroudi, F., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2009). Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. *African Journal of Biotechnology*, 8(24), 7170-7175.
- Maistro, E. L., Angeli, J. P. F., Andrade, S. F., & Mantovani, M. S. (2011). In vitro genotoxicity assessment of caffeic, cinnamic and ferulic acids. *Genetics and Molecular Research*, 1130-1140.
- Malik, S., de Mesquita, L. S. S., Silva, C. R., de Mesquita, J. W. C., de Sá Rocha, E., Bose, J., ... & Costa-Júnior, L. M. (2019). Chemical profile and biological activities of essential oil from *Artemisia vulgaris* L. cultivated in Brazil. *Pharmaceuticals*, 12(2), 49.
- Marinas, I. C., Oprea, E., Chifiriuc, M. C., Badea, I. A., Buleandra, M., & Lazar, V. (2015). Chemical composition and antipathogenic activity of *Artemisia annua* essential oil from Romania. *Chemistry & Biodiversity*, 12(10), 1554-1564.

- Massiha, A., Khoshkholgh-Pahlaviani, M. M., Issazadeh, K., Bidarigh, S., & Zarrabi, S. (2013). Antibacterial activity of essential oils and plant extracts of *Artemisia* (*Artemisia annua* L.) *in vitro*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 15(6), 14-18.
- Masuda, Y., Asada, K., Satoh, R., Takada, K., & Kitajima, J. (2015). Capillin, a major constituent of *Artemisia capillaris* Thunb. flower essential oil, induces apoptosis through the mitochondrial pathway in human leukemia HL-60 cells. *Phytomedicine*, 22(5), 545-552.
- Mazandarani, M., Majidi, Z., Zarghami Moghaddam, P., Abrodi, M., Hemati, H., & Fathiazad, F. (2012). Essential oil composition, total phenol, flavonoid, anthocyanin and antioxidant activities in different parts of *Artemisia annua* L. in two localities (North of Iran). *Journal of Medicinal Plants and by Products*, 1(1), 21-13.
- Mehandzhiyski, A., Batovska, D., Dimitrov, D., Evstatieva, L., & Danova, K. (2013). Nitric oxide-scavenging activity of *in vitro* cultured Balkan medicinal and aromatic plants. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19(2), 31-34.
- Melguizo-Melguizo, D., Diaz-de-Cerio, E., Quirantes-Piné, R., Švarc-Gajić, J., & Segura-Carretero, A. (2014). The potential of *Artemisia vulgaris* leaves as a source of antioxidant phenolic compounds. *Journal of Functional Foods*, 10, 192-200.
- Meyer, V. R. (2013). *Practical high-performance liquid chromatography*. John Wiley & Sons.
- Michael, A. S., Thompson, C. G., & Abramovitz, M. (1956). *Artemia salina* as a test organism for bioassay. *Science*, 123(3194), 464-464.
- Mihajilov-Krstev, T., Jovanović, B., Jović, J., Ilić, B., Miladinović, D., Matejić, J., ... & Zlatković, B. (2014). Antimicrobial, antioxidative, and insect repellent effects of *Artemisia absinthium* essential oil. *Planta Medica*, 80(18), 1698-1705.
- Milhau, G., Valentin, A., Benoit, F., Mallié, M., Bastide, J. M., Pélissier, Y., & Bessière, J. M. (1997). *In vitro* antimalarial activity of eight essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 9(3), 329-333.

- Mirjalili, M. H., Tabatabaei, S. M. F., Hadian, J., Ebrahimi, S. N., & Sonboli, A. (2007). Phenological variation of the essential oil of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit from Iran. *Journal of Essential Oil Research*, 19(4), 326-329.
- Mishra, T., Gangoo, S. A., Azad, A., Kumar, A., & Pal, M. (2020). Chemical composition and antitermite activity of essential oil from *Artemisia absinthium* growing in Kashmir valley of India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 23(2), 397-404.
- Misra, P., Pal, N. L., Guru, P. Y., Katiyar, J. C., & Tandon, J. S. (1991). Antimalarial activity of traditional plants against erythrocytic stages of *Plasmodium berghei*. *International Journal of Pharmacognosy*, 29(1), 19-23.
- Moacă, E. A., Pavel, I. Z., Danciu, C., Crăiniceanu, Z., Minda, D., Ardelean, F., ... & Dehelean, C. A. (2019). Romanian wormwood (*Artemisia absinthium* L.): Physicochemical and nutraceutical screening. *Molecules*, 24(17), 3087.
- Mohammadian, A., Moradkhani, S., Ataei, S., Shayesteh, T. H., Sedaghat, M., Kheiripour, N., & Ranjbar, A. (2016). Antioxidative and hepatoprotective effects of hydroalcoholic extract of *Artemisia absinthium* L. in rat. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 5(1), 29-32.
- Mohammadreza, V. R. (2008). Variation in the essential oil composition of *Artemisia annua* L. of different growth stages cultivated in Iran. *African Journal of Plant Science*, 2(2), 016-018.
- Monzote, L., Piñón, A., Scull, R., & Setzer, W. N. (2014). Chemistry and leishmanicidal activity of the essential oil from *Artemisia absinthium* from Cuba. *Natural Product Communications*, 9(12), 1934578X1400901236.
- Morteza-Semnani, K., & Akbarzadeh, M. (2005). Essential oils composition of Iranian *Artemisia absinthium* L. and *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. *Journal of Essential Oil Research*, 17(3), 321-322.
- Msaada, K., Salem, N., Bachrouch, O., Bousselmi, S., Tammar, S., Alfaify, A., ... & Marzouk, B. (2015). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) essential oils and phenolics. *Journal of Chemistry*, 2015, 804658.

- Mucciarelli, M., Caramiello, R., Maffei, M., & Chialva, F. (1995). Essential oils from some *Artemisia* species growing spontaneously in North-West Italy. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(1), 25-32.
- Munda, S., Pandey, S. K., Dutta, S., Baruah, J., & Lal, M. (2019). Antioxidant activity, antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Artemisia vulgaris* L. leaves from Northeast India. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(2), 368-379.
- Muzemil, A. (2008). *Determination of artemisinin and essential oil contents of Artemisia annua L. grown in Ethiopia and in vivo antimalarial activity of its crude extracts against Plasmodium berghei in mice*. [Master of Science Thesis in Medicinal Chemistry, Addis Ababa University].
- Nakamura, Y., Miyoshi, T., Oshima, S., Hayama, H., Tatsuki, M., & Yoshioka, H. (2010). Antifungal effect of postharvest treatment of *Artemisia capillaris* extract on brown rot (*Monilinia fructicola* (Winter) Honey) in peach fruit. *Horticultural Research (Japan)*, 9(4), 489-493.
- Negahban, M., & Moharramipour, S. (2007). Efficiency of *Artemisia sieberi* Besser and *Artemisia scoparia* Waldst et Kit essential oils on biological activity of *Callosobruchus maculatus* F.(Col.: Bruchidae). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 23(2), 146-156.
- Negahban, M., Moharramipour, S., & Sefidkon, F. (2006). Chemical composition and insecticidal activity of *Artemisia scoparia* essential oil against three coleopteran stored-product insects. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9(4), 381-388.
- Negahban, M., Moharramipour, S., & Yousefelahi, M. (2004, September). Efficacy of essential oil from *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). In *Proceedings of the 4th International Iran & Russia Conference, Agricultural and Natural Resources* (pp. 261-266).
- Negi, J. S., Bisht, V. K., Bh, A. K., & Sundriyal, R. C. (2012). Heavy and essential metals contents of *Artemisia annua* L. and *Pyrus pashia* Buch. Ham. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(38), 5173-5175.

- Nekoei, M., Mohammadhosseini, M., & Akhlaghi, H. (2012). Chemical composition of the volatile oils from the aerial parts of *Artemisia annua* L.(Asteraceae) by using head space solid phase microextraction and hydrodistillation methods prior to gas chromatographic-mass spectrometric determination: A comparative investigation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(6), 926-933.
- Nikolova, M. T., & Ivancheva, S. V. (2005). Quantitative flavonoid variations of *Artemisia vulgaris* L. and *Veronica chamaedrys* L. in relation to altitude and polluted environment. *Acta Biologica Szegediensis*, 49(3-4), 29-32.
- Nikolova, M., & Velicković, D. (2007). Phenological variations in the surface flavonoids of *Artemisia vulgaris* L. and *Artemisia absinthium* L. *Turkish Journal of Botany*, 31(5), 459-462.
- Nikolova, M., Gevrenova, R., & Ivancheva, S. (2004). High-performance liquid chromatographic separation of surface flavonoid aglycones in *Artemisia annua* L. and *Artemisia vulgaris* L. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 69(7), 571-574.
- Nikolova, M., Gussev, C. H., & Nguyen, T. (2010). Evaluation of the antioxidant action and flavonoid composition of *Artemisia* species extracts. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(sup1), 101-103.
- Ninditya, V. I., Purwati, E., Utami, A. T., Marwaningtyaz, A. S., Fairuz, N. K., Widayanti, R., & Hamid, P. H. (2020). *Artemisia vulgaris* efficacies against various stages of *Aedes aegypti*. *Veterinary World*, 13(7), 1423 -1429.
- Noel, S., Kasinathan, M., & Rath, S. K. (2006). Evaluation of apigenin using *in vitro* cytochalasin blocked micronucleus assay. *Toxicology in vitro*, 20(7), 1168-1172.
- Obistioiu, D., Cristina, R. T., Schmerold, I., Chizzola, R., Stolze, K., Nichita, I., & Chiurciu, V. (2014). Chemical characterization by GC-MS and *in vitro* activity against *Candida albicans* of volatile fractions prepared from *Artemisia dracunculus*, *Artemisia abrotanum*, *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 1-11.
- Oftadeh, M., Sendi, J. J., & Ebadollahi, A. (2020). Toxicity and deleterious effects of *Artemisia annua* essential oil extracts on mulberry pyralid (*Glyphodes pyloalis*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 170, 104702.

- Orav, A., Raal, A., Arak, E., Muurisepp, M., & Kailas, T. (2006, September). Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. of different geographical origin. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences Chemistry*, 55(3), 155-165
- Overesch, M., Rinklebe, J., Broll, G., & Neue, H. U. (2007). Metals and arsenic in soils and corresponding vegetation at Central Elbe river floodplains (Germany). *Environmental Pollution*, 145(3), 800-812.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- Pandey, B. P., Thapa, R., & Upreti, A. (2017). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Artemisia vulgaris* and *Gaultheria fragrantissima* collected from Nepal. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(10), 952-959.
- Parra, A. L., Yhebra, R. S., Sardiñas, I. G., & Buela, L. I. (2001). Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. *Phytomedicine*, 8(5), 395-400.
- Parveen, S., Godara, R., Katoch, R., Yadav, A., Verma, P. K., Katoch, M., & Singh, N. K. (2014). *In vitro* evaluation of ethanolic extracts of *Ageratum conyzoides* and *Artemisia absinthium* against cattle tick, *Rhipicephalus microplus*. *The Scientific World Journal*, 2014, 858973.
- Pearson, K. (1901). LIII. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *The London, Edinburgh, and Dublin philosophical magazine and journal of science*, 2(11), 559-572.
- Perazzo, F. F., Carvalho, J. C. T., Carvalho, J. E., & Rehder, V. L. G. (2003). Central properties of the essential oil and the crude ethanol extract from aerial parts of *Artemisia annua* L. *Pharmacological Research*, 48(5), 497-502.
- Perfumi, M., Valentini, G., Bellomaria, B., & Biondi, E. (1999). Chemical constituents and spasmolytic activity in guinea-pig ileum of essential oil of *Artemisia alba* from two

- geographically and ecologically different localities. *Journal of Essential Oil Research*, 11(2), 223-228.
- Perkampus, H. H. (2013). *UV-VIS Spectroscopy and its Applications*. Springer Science & Business Media.
- Peron, G., Baldan, V., Sut, S., Faggian, M., Roccabruna, L., Zanini, D., ... & Dall'Acqua, S. (2017). Phytochemical investigations on *Artemisia alba* Turra growing in the North-East of Italy. *Natural Product Research*, 31(16), 1861-1868.
- Pezoulas VC, Exarchos TP, Fotiadis DI (2020) Machine learning and data analytics. In Medical data sharing, harmonization and analytics (pp. 227-309). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2018-0-00523-X>
- Pino, J. A., Rosado, A., & Fuentes, V. (1997). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 9(1), 87-89.
- Pino, J. A., Rosado, A., & Fuentes, V. (1999). Composition of the essential oil of *Artemisia vulgaris* L. herb from Cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 11(4), 477-478.
- Pirali-Kheirabadi, K. H., & da Silva, J. T. (2011). *In-vitro* assessment of the acaricidal properties of *Artemisia annua* and *Zataria multiflora* essential oils to control cattle ticks. *Iranian Journal of Parasitology*, 6(1), 58-65.
- Pires, J. M., Mendes, F. R., Negri, G., Duarte-Almeida, J. M., & Carlini, E. A. (2009). Antinociceptive peripheral effect of *Achillea millefolium* L. and *Artemisia vulgaris* L.: both plants known popularly by brand names of analgesic drugs. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 23(2), 212-219.
- Pooladi, M., Teimouri, M., & Odoumizadeh, M. (2021). Cytotoxicity of *Artemisia vulgaris* essential oil encapsulated in SLN on breast cancer cell line (MCF7). *Archives of Advances in Biosciences*, 12(3), 11-26.
- Radulović, M., Rajčević, N., Gavrilović, M., Novaković, J., Stešević, D., Marin, P. D., & Janačković, P. (2021). Five wild-growing *Artemisia* (Asteraceae) species from Serbia and Montenegro: Essential oil composition and its chemophenetic significance. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 86(12), 1281-1290.

- Radulović, N. S., Genčić, M. S., Stojanović, N. M., Randjelović, P. J., Stojanović-Radić, Z. Z., & Stojiljković, N. I. (2017). Toxic essential oils. Part V: Behaviour modulating and toxic properties of thujones and thujone-containing essential oils of *Salvia officinalis* L., *Artemisia absinthium* L., *Thuja occidentalis* L. and *Tanacetum vulgare* L. *Food and Chemical Toxicology*, *105*, 355-369.
- Radulović, N. S., Randjelović, P. J., Stojanović, N. M., Blagojević, P. D., Stojanović-Radić, Z. Z., Ilić, I. R., & Djordjević, V. B. (2013). Toxic essential oils. Part II: Chemical, toxicological, pharmacological and microbiological profiles of *Artemisia annua* L. volatiles. *Food and Chemical Toxicology*, *58*, 37-49.
- Radulović, N., & Blagojević, P. (2010). Volatile profiles of *Artemisia alba* from contrasting serpentine and calcareous habitats. *Natural Product Communications*, *5*(7), 1934578X1000500729.
- Rajeswara Rao, B. R., Syamasundar, K. V., & Patel, R. P. (2014). Effect of method of distillation on the yield and chemical composition of *Artemisia annua* essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, *26*(6), 486-491.
- Ramezani, M., Fazli-Bazzaz, B. S., Saghafi-Khadem, F., & Dabaghian, A. (2004). Antimicrobial activity of four *Artemisia* species of Iran. *Fitoterapia*, *75*(2), 201-203.
- Ramzi, S., Seraji, A., Azadi Gonbad, R., Mirhaghparsat, S. K., Mojib Haghghadam, Z., & Haghghat, S. (2017). Toxicity of *Artemisia annua* (Asteraceae) essential oil on the tea mealy bug, *Pseudococcus viburni* Sigonet (Hemiptera: Pseudococcidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, *50*(19-20), 941-956.
- Rana, V. S., Abirami, K., Blázquez, M. A., & Maiti, S. (2013). Essential oil composition of *Artemisia annua* L. at different growth stages. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, *22*(2), 181-187.
- Rasooli, I., Rezaee, M. B., Moosavi, M. L., & Jaimand, K. (2003). Microbial sensitivity to and chemical properties of the essential oil of *Artemisia annua* L. *Journal of Essential Oil Research*, *15*(1), 59-62.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, *26*(9-10), 1231-1237.

- Rezaeinodehi, A., & Khangholi, S. (2008). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(6), 946-949.
- Rigat, M., Bonet, M. À., Garcia, S., Garnatje, T., & Valles, J. (2007). Studies on pharmaceutical ethnobotany in the high river Ter valley (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula). *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 267-277.
- Risaliti, L., Pini, G., Ascrizzi, R., Donato, R., Sacco, C., Bergonzi, M. C., ... & Bilia, A. R. (2020). *Artemisia annua* essential oil extraction, characterization, and incorporation in nanoliposomes, smart drug delivery systems against *Candida* species. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 59, 101849.
- Rizvi, S. A. H., Ling, S., Tian, F., Xie, F., & Zeng, X. (2018). Toxicity and enzyme inhibition activities of the essential oil and dominant constituents derived from *Artemisia absinthium* L. against adult Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). *Industrial Crops and Products*, 121, 468-475.
- Ronse, A. C., & De Pooter, H. L. (1990). Essential oil production by Belgian *Artemisia alba* (Turra) before and after micropropagation. *Journal of Essential Oil Research*, 2(5), 237-242.
- Saadatian, M., Alizadeh, M., Aghaei, M., & Sharifian, I. (2011). Chemical composition of essential oil of *Artemisia vulgaris* from West Azerbaijan, Iran. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry (EJEAFCh)*, 11(05), 493-496.
- Sadaka, M. W. M., Moustapha, C., & Hasen, T. (2012). Chemical composition of the essential oil of *Artemisia vulgaris* L. from Syria. *J Damascus Univ Basic Sci*, 28, 283-292.
- Sadiq, A., Hayat, M. Q., & Ashraf, M. (2014). Ethnopharmacology of *Artemisia annua* L.: A review. *Artemisia annua-Pharmacology and Biotechnology*, 9-25.
- Safaei-Ghomi, J., Bamoniri, A., Sarafraz, M. B., & Batooli, H. (2005). Volatile components from *Artemisia scoparia* Waldst et Kit growing in central Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(6), 650-652.
- Saleh, A. M., Aljada, A., Rizvi, S. A., Nasr, A., Alaskar, A. S., & Williams, J. D. (2014). *In vitro* cytotoxicity of *Artemisia vulgaris* L. essential oil is mediated by a

- mitochondria-dependent apoptosis in HL-60 leukemic cell line. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), 1-15.
- Schmiech, M., Lang, S. J., Syrovets, T., & Simmet, T. (2019). Data on cytotoxic activity of an *Artemisia annua* herbal preparation and validation of the quantification method for active ingredient analysis. *Data in brief*, 27, 104635.
- Sefidkin, F., Jalili, A., Rabie, M., Hamzehee, B., & Asri, Y. (2003). Chemical composition of the essential oil of five *Artemisia* species from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 6(1), 41-45.
- Şenkal, B. Ç., Kiralan, M., & Yaman, C. (2015). The effect of different harvest stages on chemical composition and antioxidant capacity of essential oil from *Artemisia annua* L. *Journal of Agricultural Sciences*, 21(1), 71-77.
- Shaik, A., Kanhere, R. S., Cuddapah, R., Nelson, K. S., Vara, P. R., & Sibyala, S. (2014). Antifertility activity of *Artemisia vulgaris* leaves on female Wistar rats. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(3), 180-185.
- Sharifian, I., Hashemi, S. M., & Darvishzadeh, A. (2013). Fumigant toxicity of essential oil of Mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) against three major stored product beetles. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 46(4), 445-450.
- Sharma, P., Mohan, L., & Srivastava, C. N. (2006). Growth inhibitory nature of *Artemisia annua* extract against *Culex quinquefasciatus* (Say). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9(4), 389-395.
- Sharopov, F. S., & Setzer, W. N. (2011). The essential oil of *Artemisia scoparia* from Tajikistan is dominated by phenyldiacetylenes. *Natural Product Communications*, 6(1), 1934578X1100600128.
- Sharopov, F., Braun, M. S., Gulmurodov, I., Khalifaev, D., Isupov, S., & Wink, M. (2015). Antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of essential oils of selected aromatic plants from Tajikistan. *Foods*, 4(4), 645-653.
- Shatar, S., Bodoev, N., Zhgizhgitzhapova, S. V., Altanceceg, S., & Namzalov, B. B. (2006). Essential oils plants of the pool of the river Selenga. *Ulan-Ude, Buryat State University Publishing Department*, 103-105.

- Shekari, M., Sendi, J. J., Etebari, K., Zibae, A., & Shadparvar, A. (2008). Effects of *Artemisia annua* L.(Asteracea) on nutritional physiology and enzyme activities of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Mull.(Coleoptera: Chrysomellidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *91*(1), 66-74.
- Siddiqui, M. W., Bansal, V., & Prasad, K. (Eds.). (2017). *Plant Secondary Metabolites, Volume Two: Stimulation, Extraction, and Utilization*. CRC Press.
- Singh, H. P., Kaur, S., Mittal, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2010). In vitro screening of essential oil from young and mature leaves of *Artemisia scoparia* compared to its major constituents for free radical scavenging activity. *Food and Chemical Toxicology*, *48*(4), 1040-1044.
- Singh, H. P., Kaur, S., Mittal, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2009b). Essential oil of *Artemisia scoparia* inhibits plant growth by generating reactive oxygen species and causing oxidative damage. *Journal of Chemical Ecology*, *35*(2), 154-162.
- Singh, H. P., Kaur, S., Mittal, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2008). Phytotoxicity of major constituents of the volatile oil from leaves of *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *63*(9-10), 663-666.
- Singh, H. P., Mittal, S., Kaur, S., Batish, D. R., & Kohli, R. K. (2009a). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from residues of *Artemisia scoparia*. *Food Chemistry*, *114*(2), 642-645.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178). Academic press.
- Skowrya, M., Gallego, M. G., Segovia, F., & Almajano, M. P. (2014). Antioxidant properties of *Artemisia annua* extracts in model food emulsions. *Antioxidants*, *3*(1), 116-128.
- Soares, L. B., Tucci, E. C., Gonçalves, E., Felício, R. C., & Felício, J. D. (2015). Acaricide and fungicide effects of the *Artemisia vulgaris* essential oil. *Annual Research & Review in Biology*, *5*(4), 285-292.
- Sommer, S., Buraczewska, I., & Kruszewski, M. (2020). Micronucleus assay: the state of art, and future directions. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(4), 1534.

- Song, Y., Desta, K. T., Kim, G. S., Lee, S. J., Lee, W. S., Kim, Y. H., ... & Shin, S. C. (2016). Polyphenolic profile and antioxidant effects of various parts of *Artemisia annua* L. *Biomedical Chromatography*, 30(4), 588-595.
- Sørensen N. A. (1961). Structural patterns of polyacetylenic compounds isolated from the plant family Compositae. *Pure and Applied Chemistry*, 2(3-4), 569-586.
- Soylu, E. M., Yiğitbaş, H., Tok, F. M., Soyulu, S., Kurt, Ş., Baysal, Ö., & Kaya, A. D. (2005). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia annua* L. against foliar and soil-borne fungal pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 112(3), 229-239.
- Stojanović, G., Palić, R., Mitrović, J., & Đoković, D. (2000). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia lobelii* All. *Journal of Essential Oil Research*, 12(5), 621-624.
- Strzelecka, M., Bzowska, M., Koziel, J., Szuba, B., Dubiel, O., Rivera Nunez, D., ... & Bereta, J. (2005). Anti-inflammatory effects of extracts from some traditional Mediterranean diet plants. *Journal of Physiology and Pharmacology. Supplement*, 56(1), 139-156.
- Suberu, J. O., Gorka, A. P., Jacobs, L., Roepe, P. D., Sullivan, N., Barker, G. C., & Lapkin, A. A. (2013). Correction: Anti-plasmodial polyvalent interactions in *Artemisia annua* L. aqueous extract—possible synergistic and resistance mechanisms. *PloS One*, 8(11).
- Sultan, M. H., Zuwail, A. A., Moni, S. S., Alshahrani, S., Alqahtani, S. S., Madkhali, O., & Elmobark, M. E. (2020). Bioactive principles and potentiality of hot methanolic extract of the leaves from *Artemisia absinthium* L “in vitro cytotoxicity against human MCF-7 breast cancer cells, antibacterial study and wound healing activity”. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(15), 1711-1721.
- Szopa, A., Pajor, J., Klin, P., Rzepiela, A., Elansary, H. O., Al-Mana, F. A., ... & Ekiert, H. (2020). *Artemisia absinthium* L.-Importance in the history of medicine, the latest advances in phytochemistry and therapeutical, cosmetological and culinary uses. *Plants*, 9(9), 1063.

- Taherkhani, M., Rustaiyan, A., Rasooli, I., & Taherkhani, T. (2013). Chemical composition, antimicrobial activity, antioxidant and total phenolic content within the leaves essential oil of *Artemisia absinthium* L. growing wild in Iran. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(2), 30-36.
- Tajadod, G., Mazooji, A., Salimpour, F., Samadi, N., & Taheri, P. (2012). The essential oil composition of *Artemisia vulgaris* L. *Iran. Annals of Biological Research*, 3(1), 385-389.
- Tajehmiri, A., Issapour, F., Moslem, M. N., Lakeh, M. T., & Kolavani, M. H. (2014). *In vitro* antimicrobial activity of *Artemisia annua* leaf extracts against pathogenic bacteria. *Advanced Studies in Biology*, 6(3), 93-97.
- Tariku, Y., Hymete, A., Hailu, A., & Rohloff, J. (2011). *In vitro* evaluation of antileishmanial activity and toxicity of essential oils of *Artemisia absinthium* and *Echinops kebericho*. *Chemistry & Biodiversity*, 8(4), 614-623.
- Tawfeek, M. E., Ali, H. M., Akrami, M., & Salem, M. Z. (2021). Potential insecticidal activity of four essential oils against the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.)(Coleoptera: Curculionidae). *BioResources*, 16(4), 7767-7783.
- Thangjam, N. M., Taijong, J., & Kumar, A. (2020). Phytochemical and pharmacological activities of methanol extract of *Artemisia vulgaris* L. leaves. *Clinical Phytoscience*, 6(1), 1-8.
- Thao, N. T. P., Thuy, N. T., Hoi, T. M., Thai, T. H., Muselli, A., Bighelli, A., ... & Casanova, J. (2004). *Artemisia vulgaris* L. from Vietnam: Chemical variability and composition of the oil along the vegetative life of the plant. *Journal of Essential Oil Research*, 16(4), 358-361.
- Thompson, M. (2012). *Handbook of inductively coupled plasma spectrometry*. Springer Science & Business Media.
- Thomsen, V., Schatzlein, D., & Mercurio, D. (2003). Limits of detection in spectroscopy. *Spectroscopy*, 18(12), 112-114.
- Tian, M., & Row, K. H. (2011). Separation of four bioactive compounds from *Herba artemisiae scopariae* by HPLC with ionic liquid-based silica column. *Journal of Analytical Chemistry*, 66(6), 580-585.

- Trendafilova, A., Todorova, M., Genova, V., Peter, S., Wolfram, E., Danova, K., & Evstatieva, L. (2018). Phenolic profile of *Artemisia alba* Turra. *Chemistry & Biodiversity*, 15(7), e1800109.
- Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K., Khanuja, S. P. S., & Kumar, S. (2000). Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*, 93(1), 43-47.
- Truong, T. X. (2020). Determining the content of toxic elements (Pb, Cd, and As) in herbal plants collected from different sites in northern Vietnam. *Journal of Vietnamese Environment*, 12(2), 70-77.
- Tucker, A. O., Maciarelo, M. J., & Sturtz, G. (1993). The essential oils of *Artemisia* 'Powis Castle' and its putative parents, *A. absinthium* and *A. arborescens*. *Journal of Essential Oil Research*, 5(3), 239-242.
- Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Gargano, M. L., Venturella, G., & La Bella, S. (2014). Plant genetic resources and traditional knowledge on medicinal use of wild shrub and herbaceous plant species in the Etna Regional Park (Eastern Sicily, Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 155(2), 1362-1381.
- Tzenkova, R., Kamenarska, Z., Draganov, A., & Atanassov, A. (2010). Composition of *Artemisia annua* essential oil obtained from species growing wild in Bulgaria. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 24(2), 1833-1835.
- Ugur, B., Chen, K., & Bellen, H. J. (2016). *Drosophila* tools and assays for the study of human diseases. *Disease models & mechanisms*, 9(3), 235-244.
- Vajs, V., Trifunović, S., Janačković, P. T., Soković, M., Milpsavljevic, S., & Tešević, V. (2004). Antifungal activity of davanone-type sesquiterpenes from *Artemisia lobelii* var. *conescens*. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 69(11), 969-972.
- Valdés, A. F., Martínez, J. M., Lizama, R. S., Vermeersch, M., Cos, P., & Maes, L. (2008). *In vitro* anti-microbial activity of the Cuban medicinal plants *Simarouba glauca* DC, *Melaleuca leucadendron* L and *Artemisia absinthium* L. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103(6), 615-618.

- Verdian, R. M., Sadat, E. E., Haji, A. A., Fazeli, M. R., & Pirali, H. M. (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia annua* L. essential oil from Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 7(4), 58-62.
- Vidić, D., Čopra-Janićijević, A., Miloš, M., & Maksimović, M. (2018). Effects of different methods of isolation on volatile composition of *Artemisia annua* L. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 9604183.
- Vieira, T. M., Dias, H. J., Medeiros, T. C., Grundmann, C. O., Groppo, M., Heleno, V. C., ... & Silva, E. O. (2017). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* Asteraceae leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(1), 123-131.
- Wang, B., Sui, J., Yu, Z., & Zhu, L. (2011). Screening the hemostatic active fraction of *Artemisia annua* L. *in-vitro*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(1), 57-62.
- Wang, J., Zhu, F., Zhou, X. M., Niu, C. Y., & Lei, C. L. (2006). Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 42(3), 339-347.
- Wani, H., Shah, S. A., & Banday, J. A. (2014). Chemical composition and antioxidant activity of the leaf essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Kashmir, India. *Australian Journal of Pharmacy*, 3(2), 90-94.
- Warne, R. T. (2014). A primer on multivariate analysis of variance (MANOVA) for behavioral scientists. *Practical Assessment, Research & Evaluation*, 19.
- Watson, R. R., & Preedy, V. R. (Eds.). (2008). *Botanical medicine in clinical practice*. CABI.
- Whelan, L. C., & Ryan, M. F. (2004). Effects of the polyacetylene capillin on human tumour cell lines. *Anticancer Research*, 24(4), 2281-2286.
- Willcox, M. (2009). *Artemisia* species: from traditional medicines to modern antimalarials- and back again. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 15(2), 101-109.
- Williams, J. D., Campbell, M. A., Jaskolka, M. C., & Xie, T. (2013). *Artemisia vulgaris* L. chemotypes. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 1265-1269.

- Williams, J. D., Saleh, A. M., & Acharya, D. N. (2012). Composition of the essential oil of wild growing *Artemisia vulgaris* from Erie, Pennsylvania. *Natural Product Communications*, 7(5), 637-640.
- Woodrow, C. J., Haynes, R. K., & Krishna, S. (2005). Artemisinin. *Postgraduate Medical Journal*, 81(952), 71-78.
- World reference base for soil resources 2014, update 2015: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps, FAO UN <https://www.fao.org/3/i3794en/I3794en.pdf>
- Wright, C. W. (2001). *Artemisia*. CRC Press.
- Wypych, G. (2020). *Handbook of Antioxidants*. Elsevier.
- Xianfei, X., Xiaoqiang, C., Shunying, Z., & Guolin, Z. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Chaenomeles speciosa* from China. *Food Chemistry*, 100(4), 1312-1315.
- XLSTAT, X. [Computer software] (2021). Data analysis and statistical solution for Microsoft Excel. *New York, USA: Addinsoft*, 2021.
- Yahagi, T., Yakura, N., Matsuzaki, K., & Kitanaka, S. (2014). Inhibitory effect of chemical constituents from *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. on triglyceride accumulation in 3T3-L1 cells and nitric oxide production in RAW 264.7 cells. *Journal of Natural Medicines*, 68(2), 414-420.
- Yano, K. (1983). Insect antifeeding phenylacetylenes from growing buds of *Artemisia capillaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(3), 667-668.
- Yao, L., & Bo, H. (2016). Essential Oil Composition of *Artemisia scoparia* Waldst. & Kitag from Qinghai-Tibetan Plateau of China. *Journal of Analytical Sciences, Methods and Instrumentation*, 6(1), 1-5.
- Yashina, O. G., & Vereshchagin, L. I. (1978). Natural and synthetic acetylenic antimycotics. *Russian Chemical Reviews*, 47(3), 307-317.
- Yildirim, B., Kumlay, A. M., Ekici, K., & Rezaeieh, K. A. P. (2016). Chemical constituents and antibacterial activities of essential oils of common mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) from eastern Anatolia Flora. *Ponte*, 72(9), 159-169.

- Zheng, G. Q. (1994). Cytotoxic terpenoids and flavonoids from *Artemisia annua*. *Planta Medica*, 60(01), 54-57.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.
- Zibae, A., & Bandani, A. (2010). A study on the toxicity of a medicinal plant, *Artemisia annua* L. (Asteracea) extracts to the sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). *Journal of Plant Protection Research*, 50(1):79–85.
- zu Biesen, C. M. (2010). The rise to prominence of *Artemisia annua* L.–the transformation of a Chinese plant to a global pharmaceutical. *African Sociological Review/Revue Africaine de Sociologie*, 14(2), 24-46.

WEB izvori

<https://www.shutterstock.com/g/danolsen> by Dan Olsen, Shutterstock

(<https://www.shutterstock.com/image-photo/live-foods-aquarium-fish-fresh-hatched-1667467591>)

https://pixabay.com/users/sam_mino-107736/ by Sam_Mino, Pixabay

(<https://pixabay.com/photos/fly-insect-wings-compound-eyes-6510044/>)

Biografija sa bibliografijom

Jovana D. Ickovski, rođena je 07. 01. 1985. u Nišu. Osnovnu školu „Ratko Vukićević” završila je u Nišu, sa odličnim uspehom, kao nosilac „Vukove diplome”.

Gimnaziju „Svetozar Marković” završila je u Nišu, sa odličnim uspehom, kao nosilac „Vukove diplome”.

Diplomske akademske studije na Departmanu za hemiju upisala je školske 2004/05. god. na Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta u Nišu. Studije je završila školske 2010/11. god. sa prosečnom ocenom 8,76.

Diplomski rad na temu „Ukupni fenoli i antioksidativna/antiradikalna aktivnost meda” odbranila je sa ocenom 10.

Doktorske akademske studije na Departmanu za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu upisala je školske 2017/18. god. i položila sve planom i programom predviđene ispite sa prosečnom ocenom 10,00.

Od 2018.-2019. god. je bila angažovana na projektu OI 172047 „Prirodni proizvodi biljaka i lišajeva: izolovanje, identifikacija, biološka aktivnost i primena” kao istraživač-saradnik. Od januara 2020. godine angažovana je na Prirodno-matematičkom fakultetu u Nišu kao istraživač-saradnik na osnovu ugovora o finansiranju naučnoistraživačkog rada NIO, broj 451-03-9/2021-14/200124 i broj 451-03-9/2022-14/200124..

Angažovana je na projektu „Antioksidantna aktivnost biljaka, gljiva, lišajeva i komercijalnih proizvoda“ (broj 0-13-18) Srpske akademije nauka i umetnosti ogranka SANU u Nišu od 2021. godine.

Kao student doktorskih studija bila je angažovana u svojstvu saradnika za izvođenje vežbi na predmetima: Biohemija, Dinamička biohemija i Hemija prirodnih proizvoda u periodu od 2013. do 2022. godine. Učestvovala je u izradi četiri master rada studenata.

Aktivno je učestvovala u aktivnostima promocije Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Nišu na festivalima nauke (22) širom Srbije:

- *Nauk nije Bauk 9, Festival nauke, Niš, 31.03.-01.04.2017.*
- *Bez muke do nauke 5, Festival nauke, Žitorađa, 10.05.2017.*
- *Timočki naučni tornado, Festival nauke, Knjaževac, 03.06.2017.*
- *Naučni kamion, Evropski festival nauke, Leskovac, 07.-11.06.2017.*
- *Noć istraživača, Evropski festival nauke, Niš, 29.09.2017.*
- *Nauk nije Bauk 10, Festival nauke, Niš, 30.-31.03.2018.*
- *Bez muke do nauke 6, Festival nauke, Žitorađa, 09.05.2018.*
- *Školski festival nauke, Osnovna škola „Stefan Nemanja“, Niš, 05.06.2018.*
- *Noć istraživača, Evropski festival nauke, Niš, 28.09.2018.*
- *Timočki naučni tornado, Festival nauke, Knjaževac, 29.09.2018.*
- *Naučni klub, Centar za stručno usavršavanje u obrazovanju, Leskovac, 04.02.2019.*
- *Bez muke do nauke 7, Festival nauke, Žitorađa, 08.05.2019.*
- *Školski festival nauke i smotra istraživačkih radova, Osnovna škola „Vojislav Ilić Mlađi“, Hum, 05.06.2018.*
- *Nauk nije Bauk 11, Festival nauke, Niš, 24.-25.05.2019.*
- *Školski festival nauke, Osnovna škola „Stefan Nemanja“, Niš, 05.06.2019.*
- *Noć istraživača, Evropski festival nauke, Niš, 27.09.2019.*
- *Novogodišnja laboratorijska žurka, "Dan otvorenih vrata" za đake srednjih škola iz Niša u okviru aktivnosti Komisije za promociju Departmana za hemiju*

- *Noć istraživača, Evropski festival nauke, Niš, 27.-28.11.2020.*
- *Nauk nije Bauk 12, Festival nauke, Niš, 14.-20.12.2020.*
- *Nedelja hemije, Regionalni centar, Niš, 28.05.2021. Učesnik radionice „Dodaj svetu malo boje“.*
- *Noć istraživača, Evropski festival nauke, Centar za stručno usavršavanje u obrazovanju, Leskovac, 24.09.2021.*
- *Nauk nije Bauk 13, Festival nauke, Niš, 24.-26.12.2021.*

Član je komisija za promociju Departmana za hemiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Nišu za školsku 2019/2020, 2020/2021 i 2021/2022.

Doprinos akademskoj zajednici dala je kroz učešće u komisijama na takmičenjima (12) iz hemije:

- *Primatijada Albena, Bugarska, 28.04.-02.05.2016.*
- *Republičko takmičenje iz hemije za učenike srednjih škola, Niš, 13.05.-15.05.2016.*
- *Primatijada Čanj, Crna Gora, 28.04.-03.05.2017.*
- *Regionalno takmičenje iz hemije za talente, učenike osnovnih i srednjih škola – Regionalni centar za talente, Niš, 06.05.2017.*
- *Primatijada Budva, Crna Gora, 27.04.-02.05.2018.*
- *Sмотра istraživačkih radova, Osnovna škola „Vojislav Ilić Mlađi“, Hum, 05.06.2018.*
- *Regionalno takmičenje iz hemije za talente, učenike osnovnih i srednjih škola – Regionalni centar za talente, Niš, 12.05.2018.*
- *Primatijada Zlatni Pjasci, Bugarska, 30.04.-05.05.2019.*
- *Regionalno takmičenje iz hemije za talente, učenike osnovnih i srednjih škola – Regionalni centar za talente, Niš, 11.05.2019.*
- *Regionalno takmičenje iz hemije za talente, učenike osnovnih i srednjih škola – Regionalni centar za talente, Niš, jun 2020.*
- *Regionalno takmičenje iz hemije za talente, učenike osnovnih i srednjih škola – Regionalni centar za talente, Niš, 08.05.2021.*
- *Regionalno takmičenje iz hemije za talente, učenike osnovnih i srednjih škola – Regionalni centar za talente, Niš, 07.05.2022.*

Dobitnica je nagrade „*Young Scientist Fellowship award*“ na Konferenciji „*International Symposium on Essential Oils (ISEO) 2018*“.

Dobitnica je povelje Prirodno-matematičkog fakulteta kao autor sa najviše objavljenih radova u kategoriji istraživača u 2020. godini.

Dobitnica je povelje Prirodno-matematičkog fakulteta kao najcitiraniji autor u kategoriji istraživača u 2020. godini.

Publikovala je 14 radova *in extenso*, od toga 10 u naučnim časopisima međunarodnog značaja (5 radova u časopisima kategorije M22 i 5 radova u časopisima kategorije M23), a 4 rada je objavila u naučnim časopisima nacionalnog značaja. Sa 12 saopštenja učestvovala je u radu međunarodnih i nacionalnih naučnih skupova. Radovi su, prema podacima koje je moguće dobiti sa indeksne baze SCOPUS (12. 5. 2022.), do sada citirani 79 puta (bez autocitata), *h*-indeks 3.

Radovi objavljeni u naučnim časopisima međunarodnog značaja

M22 – rad u istaknutom međunarodnom časopisu

1. Jelena P. Stojanović, Gordana S. Stojanović, Zorica Z. Stojanović-Radić, Bojan K. Zlatković, Jovana D. Ickovski, Ivana G. Zlatanović, Snežana Č. Jovanović, Zorica S. Mitić, Essential oils of six *Achillea* species: chemical profiles, antimicrobial potential and toxicity toward *Crustaceans*, *Chem. Bio.*, **2022**, 19(3).
2. Miroslava Stanković, Jovana D. Ickovski, Radomir B. Ljupković, Gordana S. Stojanović, The Effects of *Artemisia* Methanol Extracts and Ferulic Acid, Rutin, Rosmarinic Acid, and Quercetin on Micronucleus Distribution on Human Lymphocytes, *Nat. Prod. Res.*, **2021**, 1-4.
3. Zorica S. Mitić, Zorica Stojanović-Radić, Vladimir J. Cvetković, Snežana Č. Jovanović, Marina Dimitrijević, Jovana D Ickovski, Nikola Jovanović, Tatjana Mihajilov-Krstev, Gordana S. Stojanović, *Pseudotsuga menziesii* (Pinaceae): Volatile profiles, antimicrobial activity and toxicological evaluation of its essential oil, *Chem. Biodivers.* **2021**, 18, e2100424.
4. Jelena Stamenković, Goran Petrović, Olga Jovanović, Jovana Ickovski, Ivan Palić, Gordana Stojanović, Chemical composition of the essential oils and headspace volatiles of *Ferulago sylvatica* (Besser) Reichenb. from Serbia, *Nat. Prod. Res.*, **2020**, 34, 1947-1950.
5. Milan Mitić, Sonja Janković, Pavle Mašković, Biljana Arsić, Jelena Mitić, Jovana Ickovski, Kinetic models of the extraction of vanillic acid from pumpkin seeds, *Open Chem.*, **2020**, 18, 22-30.

M23 – rad u međunarodnom časopisu

1. Jovana D Ickovski, Olga P Jovanović, Bojan K Zlatković, Milan M Đorđević, Katarina D Stepić, Radomir B Ljupković, Gordana S Stojanović, Variations in the composition of essential oils of selected *Artemisia* species as a function of soil type. *J. Serb. Chem. Soc.*, **2021**, 86(12), 1259–1269.
2. Jovana Ickovski, Jovana Pavlović, Milan Mitić, Ivan Palić, Danijela Kostić, Goran Petrović, Gordana Stojanović, Furofuran lignans of *Artemisia* genus: Isolation, biosynthesis and biological activity, *J. Serb. Chem. Soc.*, **2020**, 85, 575-600.
3. Jovana Ickovski, Katarina Stepić, Gordana Stojanović, Composition of essential oils and headspace constituents of *Artemisia annua* L. and *A. scoparia* Waldst. et Kit. *J. Serb. Chem. Soc.*, **2020**, 85, 1-11.
4. Gordana Stojanović, Jovana Ickovski, Aleksandra Đorđević, Goran Petrović, Katarina Stepić, Ivan Palić, Jelena Stamenković, The first report on chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit. extracts, *Nat. Prod. Commun.*, **2020**, 15(3):1-7.

5. Danijela Kostić, Danica Dimitrijević, Gordana Stojanović, Ivan Palić, Aleksandra Đorđević, and Jovana Ickovski, Xanthine Oxidase: Isolation, Assays of Activity, and Inhibition, *Journal of Chemistry*, **2015**, vol. 2015, 8 pages

Radovi objavljeni u časopisima van SCI liste

M24-rad u nacionalnom časopisu međunarodnog značaja

1. Katarina Stepić, Danijela Kostić, Jovana Ickovski, Ivan Palić, Gordana Stojanović, Toxicity of essential oils - a brief overview of bioassays, *Advanced technologies*, **2020**, 9(2), 71-78
2. Katarina Stepić, Radomir Ljupković, Jovana Ickovski, Aleksandra Zarubica, A short review of titania-graphene oxide based composites as a photocatalysts, *Advanced Technologies*, **2021**, 10(2), 51-60.

M53-rad u nacionalnom časopisu

1. Ivan Palić, Jovana Ickovski, Aleksandra Đorđević, Violeta Mitić, Vesna Stankov-Jovanović, Gordana Stojanović, Antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and solvent extracts of *Mentha pulegium* L., *Facta universitatis - Series: Physics, Chemistry and Technology*, **2015**, 13(2), 109-119.

M54-rad u domaćem naučnom časopisu koji se prvi put kategorizuje

1. Jovana D. Ickovski, Milan N. Mitić, Milan B. Stojković, Gordana S. Stojanović, Comparative analysis of HPLC profiles and antioxidant activity of *Artemisia alba* Turra from two habitats in Serbia, *Chemia Naissensis*, **2020**, 3(2), 89-95.

Radovi objavljeni u zbornicima međunarodnih naučnih skupova

M34 – saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu

1. Jovana Ickovski, Katarina Stepić, Goran Petrović, Aleksandra Đorđević, Ivan Palić, Gordana Stojanović, Chemical composition and antimicrobial activity of diethyl ether and ethyl acetate extracts of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit., In: Programme and *Book of Abstracts of the 13th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions*, Stara planina, Serbia, June 20-23, **2019**.
2. Stepić Katarina, Ickovski Jovana, Palić Ivan, Đorđević Aleksandra, Ljupković Radomir, Stojanović Gordana, Chemical composition of *Satureja kitaibelii* Wierzb. ex Heuff. essential oils from Serbia during different stages of vegetative development, In: Programme and *Book of Abstracts of the 13th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions*, Stara planina, Serbia, June 20-23, **2019**.
3. Jovana Ickovski, Katarina Stepić, Ivan Palić, Gordana Stojanović, Differences in the volatile profile of *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. after a prolonged storage period, *Book of abstracts of the 49th International Symposium on Essential Oils (ISEO2018)*, *Facta Universitatis - Series: Physics, Chemistry and Technology*, Vol. 16, No 1, Special Issue, 2018, p.1, Niš, Serbia, September 13-16, **2018**, PP86.
4. Jovana Ickovski, Katarina Stepić, Milan Stojković, Ivan Palić, Gordana Stojanović, Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia alba*

- Turra, *Book of abstracts of the 49th International Symposium on Essential Oils (ISEO2018)*, *Facta Universitatis*, Series: **Physics, Chemistry and Technology**, Vol. 16, No 1, Special Issue, 2018, p.1, Niš, Serbia, September 13-16, **2018**, PP87.
5. Jovana Ickovski, Ivan Palić, Aleksandra Đorđević, Goran Petrović, Radomir Ljupković, Ivana Zlatanović, HPLC profile of methanolic extract of *Cynara scolymus* L., In: *Programme and Book of Abstracts of the 12th Symposium on the Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions*, Kopaonik, Serbia, June 16-19, **2016**.
 6. Jovana D. Ickovski, Ivan R. Palić, Aleksandra S. Đorđević, Violeta D. Mitić, Vesna P. Stankov Jovanović, Gordana S. Stojanović, Antimicrobial activity of various extracts of *Mentha pulegium* L., In: *Programme and Book of Abstracts of the 2nd International Conference on Natural Products Utilization: From plants to pharmacy shelf*, Plovdiv, Bulgaria, October 14-17, **2015**, PP-88.
 7. Jovana D. Ickovski, Ivan R. Palić, Aleksandra S. Đorđević, Violeta D. Mitić, Vesna P. Stankov Jovanović, Gordana S. Stojanović, Antioxidant activities of various extracts of *Mentha pulegium* L., In: *Programme and Book of Abstracts of the 2nd International Conference on Natural Products Utilization: From plants to pharmacy shelf*, Plovdiv, Bulgaria, October 14-17, **2015**, PP-88.
 8. Jovana D. Ickovski, Ivan R. Palić, Aleksandra S. Đorđević, Vesna P. Stankov Jovanović, Violeta D. Mitić, Gordana S. Stojanović, Antimicrobial activities of various extracts of *Origanum heracleoticum* L., In: *Programme and Book of Abstracts of the 23rd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia*, Ohrid, Macedonia, October 8-11, **2014**, BC-001.
 9. Jovana D. Ickovski, Ivan R. Palić, Aleksandra S. Đorđević, Vesna P. Stankov Jovanović, Violeta D. Mitić, Gordana S. Stojanović, Antioxidant activities of various extracts of *Origanum heracleoticum* L., In: *Programme and Book of Abstracts of the 23rd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia*, Ohrid, Macedonia, October 8-11, **2014**, BC-002.

M64 – radovi na skupovima nacionalnog značaja štampani u izvodu

1. Aleksandra Đorđević, Jelena Lazarević, Ivan Palić, Jovana Ickovski, Gordana Stojanović, Antimicrobial activity of *Hypericum rumeliacum* boiss. essential oil, In: *Programme and Book of Abstracts of the 13th Symposium on Novel Technologies and Economic Development*, Leskovac, Serbia, October 18-19, **2019**, PHCE-2.
2. Jovana D. Ickovski, Katarina D. Stepić, Ivan R. Palić, Gordana S. Stojanović, Chemical composition of hexane extract of *Artemisia scoparia* Waldst. et Kit., In: *Programme and Book of Abstracts of the 6th Conference of Young Chemists of Serbia*, Belgrade, Serbia, October 27th, **2018**, HA05 PE 3.
3. Jovana D. Ickovski, Ivan R. Palić, Aleksandra S. Đorđević, Gordana S. Stojanović, Chemical composition of *Senecio vernalis* Waldst. et Kit essential oil, In: *Programme and Book of Abstracts of the 3rd Conference of Young Chemists of Serbia*, Belgrade, Serbia, October 24th, **2015**, HA P-08.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

Hemijski sastav, antioksidativna i toksična aktivnost odabranih biljnih vrsta roda *Artemisia* L.

која је одбрањена на Природно - математичком факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и 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, 18. 05. 2022

Потпис аутора дисертације:



(Јована Д. Ицковски)

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ЕЛЕКТРОНСКОГ И ШТАМПАНОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Наслов дисертације:

**Hemijski sastav, antioksidativna i toksična aktivnost odabranih biljnih
vrsta roda *Artemisia* L.**

Изјављујем да је електронски облик моје докторске дисертације, коју сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу**, истоветан штампаном облику.

У Нишу, 18. 05. 2022

Потпис аутора дисертације:



(Јована Д. Ицковски)

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

Hemijski sastav, antioksidativna i toksična aktivnost odabranih biljnih vrsta roda *Artemisia* L.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, 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 (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

У Нишу, 18. 05. 2022

Потпис аутора дисертације:



(Јована Д. Ицковски)