

Kupus (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) kao jedan od pokazatelja mogućeg onečišćenja okoliša metalima i metaloidima u istočnoj Hrvatskoj

Cabbage (Brassica oleracea var. Capitata) as one of the indicators of possible environmental pollution by metals and metalloids in Eastern Croatia

Dragana Jurić, Dinko Puntarić, Vlatka Gvozdić, Domagoj Vidosavljević, Zdenko Lončarić, Ada Puntarić, Eda Puntarić, Ida Puntarić, Siniša Šijanović, Marina Vidosavljević*

Sažetak

Svrha: Nakon biomonitoringa (serum, kosa, urin) lokalnog stanovništva, te okolišnog monitoringa putem uzoraka tla, vode i jestivog samoniklog bilja istočne Hrvatske, u okviru istraživanja opterećenosti metalima i metaloidima, kao mogućoj posljedici ratnih zbivanja, s područja gdje je poljoprivredna djelatnost ponovo saživjela, izuzimani su uzorci kupusa (zelja), odličnog indikatora taloženja teških metala i metaloida u okolišu.

Cilj istraživanja: Hipoteza studije je da su na području istočne Hrvatske, u područjima izloženim borbenim djelovanjima, u okolišu i populaciji, prisutne povećane koncentracije metala i metaloida povezanih s ratnim djelovanjima u odnosu na područja koja su bila pošteđena ratnih djelovanja. Cilj je bio utvrditi postoje li razlike u koncentracijama metala i metaloida uspoređujući lokacije visokog inteziteta borbenih djelovanja (LVIBD) s lokacijama niskog inteziteta borbenih djelovanja (LNIBD). Osim toga pokušala se utvrditi moguća međusobna povezanost kontaminacije s metalima u tlu i kod ljudi, te postoji li podudarnost po pitanju mogućih „vrućih točaka“, mjesta značajno opterećenih metalima.

Materijal i metode: Ukupno je s 14 lokacija izuzeto 14 uzoraka kupusa i to 12 uzoraka s lokacija visokog inteziteta borbenih djelovanja (LVIBD), te dva uzorka s lokacija niskog inteziteta borbenih djelovanja (LNIBD) sa 14 lokacija. Koncentracije 20 metala i metaloida (Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Li, Mg, Ni, Pb, Sb, Si, Sr, U, V i Zn), koji se koriste u vojne svrhe, utvrđivane su postupkom induktivno suspregnute plazme i spektrometrije masa ICP-MS.

Rezultati: Koncentracije metala obuhvaćane Pravilnikom (As, Cd, Hg i Pb) bile su unutar MDK na svim lokacijama, dok za ostale istraživane elemente nije uočena razlika između LVIBD i LNIBD ($p = 0,78$; Mann-Whitney U test). Koncentracije metala i metaloida u kupusu nisu značajno korelirale s koncentracijama u uzorcima tla, osim u slučaju Cd, gdje je uočena slaba do umjerena korelacija (Pearsonov koeficijent tlo /kupus = $-0,57$; $p = 0,031$; $p < 0,05$). Analizom glavnih komponenti (PCA) utvrđen je kompaktan središnji klaster (roj), te dva klastera s lokacija Dopsin i Dalj u kojima su koncentracije svih elemenata, osim Hg, bile nešto više.

Zaključci: I kupus kao indikator onečišćenja okoliša metalima ukazuje da ukupna opterećenost metalima u istočnoj Hrvatskoj nakon Domovinskog rata nije visoka. Ipak, na primjeru kupusa potvrđeno je mjesto Dalj kao „vruća točka“, sukladno ranije utvrđenim pozitivnim korelacijama Al, Fe, Mg i Ni na istoj lokaciji u kosi, tlu i maslačku, te B, Cu, Si, Sr i Zn u serumu, urinu i vodi, što ukazuje na mogući isti izvor i mehanizam prenošenja metala..

Ključne riječi: kupus, tlo, metali, metaloidi, Domovinski rat

Zavod za javno zdravstvo Brodsko-posavske županije, Slavonski Brod (Dragana Jurić, dipl. san. ing.); Hrvatsko katoličko sveučilište, Zagreb (prof. dr. sc. Dinko Puntarić, dr. med.); Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Osijek, Odjel za kemiju (doc. dr. sc. Vlatka Gvozdić, dipl. ing. kem.), Medicinski fakultet (dr. sc. Domagoj Vidosavljević, dr. med., prof. dr. sc. Siniša Šijanović, dr. med.), Poljoprivredni fakultet (prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, dipl. ing.); Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagreb (Ada Puntarić, studentica); Hrvatska agencija za zaštitu okoliša i prirode, Zagreb (Eda Puntarić, mag. oecol.); Dom zdravlja Zagrebačke županije, Samobor (Ida Puntarić, dr. med.); Opća bolnica Vinkovci (Marina Vidosavljević, dr. med.)

Adresa za dopisivanje / Correspondence address: Prof. dr. sc. Dinko Puntarić, dr. med., Hrvatsko katoličko sveučilište, Ilica 242, 10000 Zagreb, E-mail: dinko.puntaric2@gmail.com

Primljeno/Received 2016-01-22; Ispravljeno/Revised 2016-07-26; Prihvaćeno/Accepted 2016-09-07.

Summary

Purpose: Within the framework of research on metal and metalloid presence, as a possible consequence of the war, the areas in Eastern Croatia where agricultural activity reestablished biomonitoring (serum, hair, urine) of the local population and environmental monitoring through samples of soil, water and edible wild plants was conducted and samples of cabbage, an indicator for heavy metals and metalloids in the environment, were collected.

Aim: The hypothesis of the study is that in areas of Eastern Croatia exposed to combat operations, such as the environment and population, the presence of increased concentrations of metals and metalloids is associated with war activities in relation to the areas that were spared from war. The goal was to determine whether there are differences in the concentrations of metals and metalloids comparing locations of high intensity combat action (HICA) with locations of low intensity combat action (LICA). Besides this, the attempt was to determine the possible interconnection of contamination with metals in the soil and in humans, and whether there was a coincidence in terms of potential "hot spots", places significantly loaded with metals.

Materials and Methods: A total of 14 sites included 14 samples of cabbage, where 12 samples from locations of high intensity combat action (HICA) and two (2) samples from locations of low intensity combat action (LICA). The concentrations of 20 metals and metalloids (Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Li, Mg, Ni, Pb, Sb, Si, Sr, In, V, and Zn), which are used for military purposes, were determined by inductive procedure of restrained plasma mass spectrometry ICP-MS.

Results: The concentration of metals covered by Regulations (As, Cd, Hg and Pb) were within the MRL on all locations, while in the other investigated elements there was no difference between HICA and LICA ($p = 0.78$; Mann-Whitney U test). The concentration of metals and metalloids in cabbage was not significantly correlated with the concentration in the soil samples, except in the case of Cd, where the negative correlation (Pearson coefficient soil /cabbage = -0.57 ; $p = 0.031$; $p < 0.05$) was observed. The principal component analysis (PCA) determined a compact central cluster, and two clusters on locations Dopsin and Dalj, where the concentration of all the elements, except for Hg, was higher.

Conclusions: Even cabbage, as an indicator of environmental contamination with metals, indicates that after the war the total load of metal in Eastern Croatia is not high. However, the cabbage also confirmed the locality of Dalj as a "hot spot", accordingly to previously established positive correlations of Al, Fe, Mg and Ni in hair, soil and dandelion, and B, Cu, Si, Sr and Zn correlations in serum, urine and water in that same location, indicating a possible common source and mechanism of transferring metals.

Key words: cabbage, soil, metals, metalloids, Homeland War

Med Jad 2017;47(1-2):39-48

Uvod

Domovinski rat započeo je 1991. godine, napadom na Vukovar, a u istočnoj Slavoniji je i završio 1998. godine, mirnom reintegracijom.¹⁻⁵ Posljedice na okoliš i ljudsko zdravlje nisu dovoljno istražene, a još uvijek brojna minska polja i dalje su prisutna opasnost.⁶⁻⁹ To je rezultiralo dugotrajnim, za sada nesagledivim posljedicama.¹⁰⁻¹² Uz ostalo, neka istraživanja upozoravaju na povišenu učestalost malignih bolesti u poslijeratnom razdoblju, u Hrvatskoj i u susjednim zemljama zahvaćenim ratom.¹³⁻¹⁵

Opterećenost okoliša metalima i metaloidima u istočnoj Hrvatskoj i mogući učinak na zdravlje stanovništva tek se počela sustavno istraživati. Tako su primjerice rađene analize voda u tom području, a dostupni su i prvi rezultati analiza tla.^{8,16,17} U usporedbi s uzorcima tla s lokacija niskih intenziteta borbenih aktivnosti (LNIBD), uzorci tla s lokacija intenzivnih borbenih djelovanja (LVIBD) imali su više koncentracije As, Hg i Pb od one dopuštene nacionalnim zakonodavstvom za organski uzgoj, kao

i više koncentracije Hg, čak i od maksimalno dopuštenih vrijednosti za poljoprivrednu djelatnost općenito⁸. Objavljeni su i prvi rezultati biomonitoringa (serum, urin, kosa) lokalnog stanovništva, koji sugeriraju da postoje razlike, ovisno o stupnju izloženosti ratnim sredstvima.^{7,9,16} Utvrđena je i "vruća" točka u okolini mosta na Dunavu kod Erduta, gdje su utvrđene povišene koncentracije Al, Fe, Ni i Mg u biološkim uzorcima (kosi) i okolišu.⁹ Nešto slično ustvrdilo je i istraživanje kod divljih životinja toga područja, osobito kod starijih primjeraka jelena, što sugerira na prisutnu kontaminaciju i dugotrajnu izloženost putem okoliša.¹⁸ S druge strane, objavljena su tek dva istraživanja koncentracije i moguć utjecaj metala u povrću na području Zagreba i okolice.^{19,20}

Tradicija uzgoja povrća u i oko naseljenih mjesta u Hrvatskoj, a osobito u istočnoj Hrvatskoj je raširena, jer ima izrazitu prednost zbog plodnog zemljišta, blizine tržišta, ali i zbog uzgoja za vlastitu uporabu. Povrće ima značajnu ulogu u ljudskoj prehrani, s obzirom na to da predstavlja značajan izvor antioksidansa, poput vitamina C, E, karote-

noida, flavonoida i tanina.^{21,22} Zeleno lisnato povrće (kupusnjače) je od posebnog interesa za biološko praćenje taloženja teških metala i metaloida u okruženju, jer ima veći stupanj unosa i transpiracije u odnosu na drugo povrće.²³ Stoga su biljke iz porodice *Brassicaceae*, poput špinata (*Spinacea oleracea*), salate (*Lactuca sativa*), endivije (*Cichorium endivia*) pa i kupusa (*Brassica oleracea* var. *capitata*) uspješno korištene za kontrolu bioakumulacije teških metala u povrtnjacima industrijskih i stambenih područja.²⁴⁻²⁶

Istraživanja o koncentraciji metala i metaloida u zelenom lisnatom povrću na ratom pogođenim područjima, dosada nisu provedena, osobito ne u Hrvatskoj nakon Domovinskog rata. Hipoteza studije je da su na području istočne Hrvatske, u područjima izloženim borbenim djelovanjima, u okolišu i populaciji, prisutne povećane koncentracije metala i metaloida povezanih s ratnim djelovanjima u odnosu na područja koja su bila pošteđena od ratnih djelovanja. Glavni cilj ovoga istraživanja bio je na područjima povratka prognanika u istočnoj Slavoniji, gdje je uz ostalo uspostavljen i uzgoj povrća, utvrditi razine metaloida i metala u uzorcima kupusa.

Lokacije uzorkovanja podijeljena su na one s intenzivnim borbenim djelovanjima (LVIBD) i lokacije niskog intenziteta borbenih djelovanja, ili uz njihovo potpuno odsustvo (LNIBD). Rezultate se, osim po kriteriju izloženosti ratnim zbivanjima, željelo usporediti s analizama uzoraka tla s istih lokacija, te utvrditi postoje li neke nove tzv. "vruće točke", dakle mjesta značajnije opterećena metalima.

Materijali i metode

Lokacije uzorkovanja

Uzorkovanje je provedeno na 14 lokacija, tijekom srpnja 2011. godine (Slika 1). Obuhvatilo je sljedeća naselja: Čelije dva uzorka, Dalj jedan uzorak, Vladislavci tri uzorka, Čepin dva uzorka, Dopsin dva uzorka, Hrastin jedan, te Ernestinovo jedan uzorak. Sva spomenuta mjesta su bez industrije, s poljoprivredom i stočarstvom kao osnovnom (jedinom) djelatnošću, koja su tijekom Domovinskog rata bila izložena intenzivnim ratnim djelovanjima (LVIBD), te u potpunosti ili dijelom okupirana.



Slika 1. Područje uzorkovanja kupusa u istočnoj Slavoniji 2011. godine (Osijek je na 45°32'S i 18°44'E)

Figure 1 Area sampling of cabbage in Eastern Slavonia in 2011 (Osijek on 45°32'N and 18°44'E)

Za kontrolnu skupinu su uzeta mjesta Potnjane kod Đakova jedan uzorak i selo Draž u Baranji jedan uzorak, gdje nije bilo intezivnijih ratnih djelovanja (LNIBD), a koja po kriterijima populacije, poljoprivredne djelatnosti odgovaraju ispitivanoj skupini. Zbog opasnosti od minsko-eksplozivnih sredstava, čak i nakon mirne reintegracije, i u okolnostima dostupnih sredstava, te tek dijelom uspostavljenog uzgoja povrća kod i oko kuća povratnika, odabran je ovaj ograničeni broj lokacija i uzoraka.

Načelo uzorkovanja bilo je: jedan uzorak je uzet s mjesta izravno izloženoga djelovanju pješačkog ili topničkog streljiva ili je bilo uz postojeće minsko polje, jedan uzorak uzet je iz centra naselja (obično oko crkve ili škole) i/ili treći uzorak, koji je ako je uopće uzet, bio izuzet na poljoprivrednom zemljištu na rubu naselja. U kontrolnoj skupini jedan uzorak je uzet iz središta naselja.

Prikupljanje podataka i analiza

Za potrebe uzorkovanja izuzeto je 100 g listova kupusa koji su pakirani u spremnike i poslani na daljnju analizu. Listovi su isprani destiliranom vodom. Digestija je napravljena pomoću HNO₃ i H₂O₂ u mikrovalnoj pećnici.

Koncentracije elemenata su određene izravnim mjerenjem na ICP-MS i izražene su u mg/kg biljne tvari. Svi uzorci su analizirani korištenjem postupka detekcije elemenata uređajem suspregnute plazme i spektrometrije masa. ICP-MS (ICP-MS, ELAN KRS-e, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA). Radni uvjeti ICP-MS su: RF snaga, W 1300, protoka plina plazme 15L/min, sporednog protoka plina 1 L/min, protoka plina raspršivača, 0,93-0,98 L/min, peristaltičke pumpe brzine 1 mL/min. Instrument je kalibriran nakon svakog 12-og uzorka, vanjskim standardom ("71-Element Group Multi Element Standard Solution", Inorganic Ventures, USA), uz primjenu internih standarda s elementima Y, In, Tb i Bi (Inorganic Ventures, USA). Interkalibracija (međunarodna laboratorijska provjera) provedena je u suradnji s IFA Tulln (*Department of the University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna in cooperation with the Vienna University of Technology and the University of Veterinary Medicine*). Analitičke metode bile su validirane standardnim referentnim materijalima (*ICP Multi Element Standard Solution X CertiPUR for Surface Water Testin*, Merck, Germany), te standardnim uzorcima ("*Trace Elements Urine Blank*" i "*Trace Elements Urine*", SERO AS, Norway).²⁷⁻³⁰

Iako su metodom ICP-MS utvrđene vrijednosti svih 66 elemenata, pregledom literature za njih 20 je utvrđena povezanost s borbenim sredstvima i ratnim djelovanjima (Al, As, Ba, B, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Li, Mg, Ni, Pb, Sb, Sn, Sr, U, V, Zn).³¹⁻³⁵

Statistička analiza

Zbog malog broja uzoraka i nenormalne raspodjele podataka, korišten je neparametrijski Mann-Whitney U test i analiza Pearsonovih koeficijenata putem Statistica 7.0 programskog paketa Statsoft Inc. Tulsa, Oklahoma, USA. Primjenjena razina statističke značajnosti bila je $p < 0,05$. Korištena je i Analiza glavnih komponenti (Principal Component Analysis-PCA), kojom se nastojalo istražiti odnose između promatranih varijabli (metala i metaloida) i lokacija uzorkovanja (mjesta).³⁶⁻³⁸

Rezultati

Prosječne vrijednosti koncentracija istraživanih elemenata za oba istraživana područja (lokacije visokog inteziteta borbenih djelovanja (LVIBD) i lokacije niskog inteziteta borbenih djelovanja (LNIBD)), minimalne i maksimalne koncentracije, vrijednosti standardnih odstupanja, kao i rezultati Mann Whitney U testa, te MDK vrijednosti za metale obuhvaćene Pravilnikom o toksinima, metalima, metaloidima, te drugim štetnim tvarima koje se mogu nalaziti u hrani,³⁹ prikazane su u Tablici 1. Sve srednje koncentracije metala obuhvaćenih Pravilnikom o toksinima, metalima, metaloidima, te drugim štetnim tvarima koje se mogu nalaziti u hrani (Cd, Pb, As i Hg) bile su unutar ili ispod maksimalno dozvoljenih koncentracija (MDK), dok se za ostale istraživane elemente, za koje ne postoji ni preporuka, nije uočila razlika između LVIBD i LNIBD ($p = 0,78$; Mann-Whitney U test).

Pearsonov koeficijent korelacije nije pokazao signifikantnu korelaciju između koncentracije elemenata u povrću i tlu, što smo utvrdili prethodnim istraživanjem,⁸ osim za Cd, za koji je utvrđena slaba do umjerena korelacija između koncentracija u tlu i kupusu. (Pearson's r Cd (tlo)/(kupus) = -0,57; $p = 0.031$) (Tablica 2)

Slika 2 daje PCA prikaz objekata (mjesta) i varijabli (elemente) prikazanih u ravnini definiranoj glavnim komponentama. Dva klastera (roja) objekata mogu se razlikovati: više kompaktan središnji klaster, koji se nalazi s desne strane, te dva člana klastera objekata (lokacija) nalaze se u raznim smjerovima od ovog središnjeg klastera, i nalaze se s lijeve strane.

Tablica 1. Prikaz koncentracija (srednja vrijednost, medijan, minimum, maksimum) metala i metaloida, te MDK vrijednosti u 14 uzoraka kupusa s područja Istočne Hrvatske (µg/kg)

Table 1 Concentration (mean, median, minimum, maximum) of metals and metalloids, and maximally allowed concentrations (MAC) in 14 samples of cabbage from Eastern Croatia (µg/kg)

Element	Medijan Median		Minimum Minimum		Maksimum Maximum		MDK# MAC (µg/kg)
	LVIBD**	LNIBD*	LVIBD**	LNIBD*	LVIBD**	LNIBD*	
Al	11584,8	19944,0	2895,4	12546,5	91285,9	27341,4	-
As	28,2	17,2	2,9	10,8	67,7	23,8	300
B	3903,3	4269,9	1010,8	2801,4	8048,1	5738,5	-
Ba	2347,0	2433,5	688,2	1617,3	7301,5	3249,7	-
Cd	16,3	15,3	3,0	14,2	44,8	16,4	200
Co	17,9	17,3	2,1	14,7	34,2	20,0	-
Cr	121,4	75,5	45,4	69,8	404,6	81,1	-
Cu	572,5	1208,6	159,2	1156,4	2835,4	1260,8	-
Fe	21805,8	26040,6	6450,0	25548,5	85984,0	26532,7	-
Hg	0,02	0,02	0,02	0,02	2,7	0,02	50
Li	92,1	106,7	9,7	50,0	189,9	163,4	-
Mg (mg/kg)	674,2	670,6	70,7	580,1	1205,6	761,2	-
Ni	104,9	143,5	15,9	81,5	351,0	205,5	-
Pb	21,7	19,2	8,2	14,8	65,2	23,6	300
Sb	0,02	0,02	0,02	0,02	2,2	0,02	-
Si	27,6	38,3	4,3	32,4	79,7	44,2	-
Sr	5894,7	5471,2	1597,6	4504,6	10819,1	6437,8	-
U	1,2	1,4	0,02	0,8	2,9	2,0	-
V	52,8	38,7	10,7	37,6	149,4	39,8	-
Zn	4187,5	3254,1	1856,6	2900,1	9059,4	3608,2	-

**LVIBD – uzorci s područja visokog inteziteta borbenih djelovanja / locations with high intensity combat action – HICA

* LNIBD – uzorci s područja niskog inteziteta borbenih djelovanja / locations with low-intensity combat action – LICA

+ p = 0,78; Mann-Whitney U test

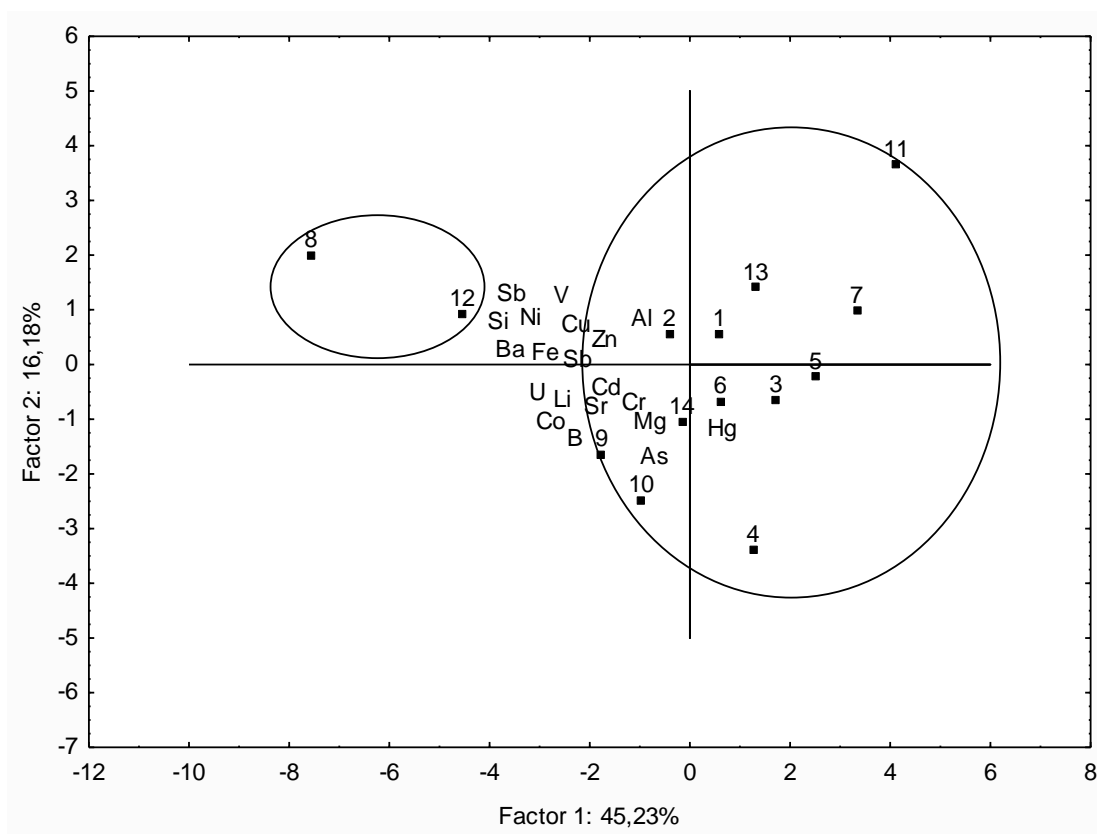
MDK#MAC – maksimalno dopuštene koncentracije / maximum allowed concentration³⁹

Tablica 2. Pearsonov koeficijent korelacije između metala i metaloida u kupusu i tlu s područja istočne Hrvatske

Table 2 Pearson's correlation coefficient between the metal and metalloid in cabbage and soil from eastern Croatia

Element	Pearsonov koeficijent kupus/tlo Pearson's cabbage/soil coefficient	p
Al	-0,160	0,583
As	-0,330	0,250
B	0,150	0,600
Ba	-0,180	0,540
Cd	-0,570	0,031
Co	-0,400	0,160
Cu	-0,240	0,400
Cr	-0,300	0,470

Element	Pearsonov koeficijent kupus/tlo <i>Pearson's cabbage/soil coefficient</i>	<i>p</i>
Fe	-0,009	0,970
Hg	-0,120	0,660
Li	-0,450	0,100
Mg	-0,280	0,330
Ni	0,178	0,540
P	-0,220	0,410
Pb	0,054	0,860
Si	-0,180	0,530
Sr	-0,110	0,710
Sb	0,012	0,960
U	0,360	0,270
V	-0,10	0,720
Zn	0,230	0,440



- 1-12: Lokacije visokog inteziteta borbenih djelovanja (LVIBD) / *Locations with high intensity combat action – (HICA)*:
 1. Čepin vodotoranj/watertower, 2. Čepin centar/centre, 3. Vladislavci poljoprivredno/agriculture, 4. Vladislavci centar/centre, 5. Vladislavci “ratno”/war, 6. Hrastin centar/centre, 7. Dopsin centar/centre, 8. Dopsin poljoprivredno/agriculture, 9. Ernestinovo centar/centre, 10. Čelije “ratno”/war, 11. Čelije centar/centre, 12. Dalj centar/centre;
- 13-14: Lokacije niskog inteziteta borbenih djelovanja (LNIBD) / *Locations with low-intensity combat action – (LICA)*:
 13. Potnjane centar/centre, 14. Draž naselje/locality

Slika 2. Prikaz analize glavnih komponenta (PCA) metala i metaloida u kupusu na lokacijama visokog (LVIBD) i niskog (LNIBD) inteziteta borbenih djelovanja u istočnoj Hrvatskoj
 Figure 2 The principal component analysis (PCA) of metals and metalloids in cabbage at locations of higher (HICA) and lower (LICA) intensity of combat activities in Eastern Croatia

Središnji klaster sadrži većinu mjesta i zato definira zajedničke uvjete, normalnu i najčešću razinu kontaminacije, tj opterećenja kupusa metalima. Dva klastera obuhvaćaju mjesta 8 i 12. To su mjesta Dopsin (8 = Dopsin poljoprivredno zemljište LVIBD) i Dalj (12 = Dalj centar, LVIBD) u kojima su koncentracije svih utvrđivanih elemenata, osim Hg, (Al, As, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Ni, Pb, Sb, Si, Sr, U, V, Zn) bile nešto više.

Rasprava

Po prvi puta su u istočnoj Slavoniji, nakon Domovinskoga rata, u kupusu, kao dobrom indikatoru opterećenja okoliša metalima, istraživane koncentracije metala i metaloida koji se posredno ili neposredno koriste u ratnim sredstvima (oružju, streljivu, gorivu, uniformama itd...). Željelo se utvrditi jesu li na područjima intezivnih borbenih djelovanja i dalje pristune potencijalno opasne koncentracije metala i metaloida koje bi mogle ugroziti zdravlje ljudi i stanje okoliša, mogu li se rezultati povezivati s već provedenim istraživanjima toga područja putem biomonitoringa stanovnika (serum, kosa, urin), te monitoringa okoliša putem analiza tla i jestivog samonikolj bilja, te vode.

Sve izmjerene vrijednosti ispitivanih elemenata obuhvaćenih Pravilnikom (As, Cd, Hg i Pb) u kupusu su bile u skladu s maksimalno dozvoljenim koncentracijama (MDK) za tu vrstu namirnica.³⁹ Uspoređujući izmjerene vrijednosti arsena, olova, žive i kadmija sa sličnim istraživanjem na zelenom lisatom povrću iz vrtova na području grada Zagreba, utvrdili smo da su izmjerene vrijednosti arsena u Čepinu, Dalju i Hrastinu dvostruko veće od izmjerenih u Zagrebu, što se, uz ostalo, može tumačiti prirodno prisutnom većom koncentracijom As u okolišu u istočnoj Hrvatskoj.²⁰ Općenito, vrijednosti olova izmjerene u Dopsinu bile su tri, a u Dalju pet puta veće u odnosu na izmjerene u Zagrebu, što ukazuje na nešto veću opterećenost olovom tih dviju lokacija, kao moguće posljedice rata. Tome u prilog govori i činjenica da su vrijednosti olova i antimona (Pb i Sb) na ratom pogođenim područjima poput Dalja i Čepina više od izmjerenih na ostalim ispitivanim lokacijama, pri čemu izmjerena vrijednost antimona na području Dalja znatno premašuje sve druge izmjerene vrijednosti na drugim lokacijama, što također sugerira na veću opterećenost Dalja i tim metalom. Kod toga, kao što je poznato, promet i industrijska aktivnost u Zagrebu višestruko nadmašuju sve istraživane i uspoređivane lokacije u istočnoj Hrvatskoj.²⁰

Vitale i suradnici su analizirali metale u uzorcima zelja (kupusa) i krumpira na više različitih područja

Hrvatske, uključujući i Slavoniju, podijelivši uzorkovano područje na ratno i mirnodopsko.⁴⁰ Dobiveni rezultati su slični izmjerena u našem istraživanju, uz izmjerenu veću vrijednost olova u uzorcima s ratnih područja u odnosu na mirnodopska područja. U istom radu su izračunali okvirnu potrošnju i unos olova, kadmija, bakra i cinka preko kupusa. Tako je procijenjena potrošnja od 11,7 kg kupusa po glavi stanovnika Hrvatske, uz prosječni tjedni unos od 0,005 mg olova, 0,002 mg kadmija i dnevni unos od 0,07 mg cinka i 0,01 mg bakra po osobi, što je svakako prihvatljivo i ne govori o značajnom utjecaju ratnih zbivanja na okoliš.⁴⁰

Kadmij, živa i olovo su elementi koji se najčešće povezuju sa zdravstvenim rizicima.^{19,20,41} Povrće koje se uzgaja u gradskim i prigradskim područjima je dobar pokazatelj onečišćenja okoliša.^{19,20,23,25,42} Neki od njih, poput zelene salate, blitve i špinata imaju izrazito visok stupanj nakupljanja metala. Osim njih, zelje, crveni kupus, rotkvica i repa također imaju srednje do visoke razine akumulacije metala.⁴³

Naše rezultate uspoređivali smo s drugim objavljenim radovima i uočili neke sličnosti. Izmjerene su niže vrijednosti olova i kadmija u odnosu na povrće u Sydneyu⁴⁴ ili u Švedskoj.⁴⁵ Izmjerene vrijednosti arsena u povrću slične su onima izmjerena u nekim zemljama EU-a.⁴⁶ Harmanescu i suradnici analizirali su povrće uzgojeno na lokacijama starih rudnika u Banatu (Rumunjska), uz upozorenje da sigurnost konzumacije hrane varira ovisno o pojedinim lokacijama, zbog visokih vrijednosti cinka i mangana na ispitivanim lokacijama.⁴⁷

U usporedbi s nekim udaljenijim zemljama, sve izmjerene vrijednosti olova, kadmija i cinka u Hrvatskoj, u povrću i tlu, bez obzira na ratna djelovanja, znatno su niža nego u Ugandi.⁴⁸ Boamponsem i suradnici analizirali su sadržaj teških metala u mrkvi, salati i zelju zalijevanih otpadnom vodom i pitkom vodom na lokaciji u Gani i zaključili, da iako su koncentracije metala u otpadnoj vodi bile povišene, i iako su izmjerene vrijednosti kadmija, željeza i mangana u takvih biljaka bile više, one svejedno nisu prelazile maksimalne dozvoljene koncentracije.⁴⁹ Do sličnog su zaključka došli i Rapheal i suradnici u analizi povrća na području Nigerije, koje je bilo zalijeivano vodom iz rijeke Benue.⁵⁰ Nabulo i suradnici su promatrali učinak ispiranja povrća uzgojenog na onečišćenim tlima u Ugandi i zaključili da već i samo pranje povrća u pitkoj vodi smanjuje koncentraciju kadmija, nikla i cinka.⁵¹

Upravo radovi o metalima u povrću, u ovom slučaju u kupusu (zelju), izuzetno su rijetki, a osobito o metalima i metaloidima koji nisu obuhvaćeni

pravilnicima. Kabata je u svojoj knjizi, u više izdanja, pokušala objediniti sve što je objavljeno u svijetu o metalima i metaloidima u zraku, vodi, tlu i povrću i na neki način ta knjiga se smatra "enciklopedijskim" uratkom na tom području.⁵² Uspoređujući 14 od 20 metala i metaloida koje smo mi istraživali, a o kojima su nađeni podaci u njezinoj knjizi, proizlazi da su u našem istraživanju utvrđene više vrijednosti Al i Cd, slične koncentracije As i Cr, slične ili nešto niže koncentracije Sr, te niže ili puno niže koncentracije B, Ba, Cu, Li, Ni, Pb, Sb, U i Zn.⁵² Treba pri tom naglasiti da se jedino naši podaci odnose na ratom zahvaćena područja, što govori o kompleksnosti istraživane materije i o potrebi uspostavljanja referalnih vrijednosti, a što do sada nije učinjeno.

Iako je neosporna veza između metala i metaloida iz tla s onima u biljkama, ona ovisi o nizu čimbenika, kao što su pH tla, prisutnost mikroorganizama, duljini i opsegu kontaminacije, metabolizmu biljaka itd. U tom kontekstu radi se o složenom međuodnosu jednih prema drugima, a ponekad je teško pronaći čak i njihovu međusobnu povezanost.^{19,53} Pokušavali smo utvrditi povezanost koncentracija metala u tlu i kupusu i utvrdili tek slabu do umjerenu korelaciju za Cd, dok za druge istraživane metale nije bilo nikakve opipljive korelacije (Tablica 2). Ovo također govori o neznatnom utjecaju rata i o relativno kratkoj i neznatnoj kontaminaciji metalima, a osobito Cd, jer je poznato da dugotrajna prisutnost metala u tlu dovodi do resorpcije metala u biljku putem korijena, uz prisutnu pozitivnu korelaciju metala u oba medija (tlu i biljci).^{19,53}

Analizom glavnih komponenti (PCA), uz kompaktan središnji klaster, uočena su dva klastera na lokacijama Dopsin i Dalj, na kojima su, osim već opisanog povišenog Pb i Sb (u Dalju) bile povišene koncentracije svih elemenata osim Hg. Na taj način na primjeru kupusa utvrđeno je mjesto Dopsin kao mjesto viših koncentracija svih utvrđivanih „ratnih“ metala osim Hg, a ponovo je potvrđeno mjesto Dalj kao "vruća točka", sukladno ranije utvrđenim pozitivnim korelacijama Al, Fe, Mg i Ni na istoj lokaciji u kosi, tlu i maslačku, te B, Cu, Si, Sr i Zn u serumu, urinu i vodi, što ukazuje na mogući isti izvor i mehanizam prenošenja metala.^{8,9,54,55}

Osnovna slabost, odnosno ograničenje, rada predstavlja mali broj uzoraka, zbog čega treba biti oprezan pri izvođenju zaključaka. Novo veće istraživanje koje će obuhvatiti i do sada "neistražena područja" poput Vukovara, Vinkovaca, Slavonskog Broda i okolice, a koje slijedi, učvrstiti će naše spoznaje o stanju okoliša u istočnoj Slavoniji nakon Domovinskog rata.

Zaključak

Usprkos potvrđenoj "vrućoj točki" u mjestu Dalj i kupus kao indikator onečišćenja okoliša metalima ukazuje da ukupna opterećenost metalima u Istočnoj Hrvatskoj nakon Domovinskog rata nije visoka, no potreban je stalni monitoring toga područja.

Literatura

1. Butković-Soldo S, Brkić K, Puntarić D, Petrovićki Ž. Medical corps support to brigade actions during an attack including river crossing. *Mil Med.* 1995;160:408-11.
2. Puntarić D, Brkić K. Formation and organization of military medical service at the East Slavonia Front in the 1991/92 war in Croatia. *Mil Med.* 1995;160:412-6.
3. Soldo S, Puntarić D, Petrovićki Ž, Prgomet D. Injuries caused by antipersonnel mines in Croatian Army soldiers on the East Slavonia Front during the 1991-1992 war in Croatia. *Mil Med.* 1999;164:141-4.
4. Puntarić D, Soldo S, Prgomet D, Vodopija R. Type, severity, location, and timing of battle casualties in a Croatian Army brigade during an offensive action in 1992. *Croat Med J.* 1999;40:88-92.
5. Puntarić D, Heim I. Morbidity of Croatian Army soldiers in the Osijek Military District in the period July 1, 1991 – September 1, 1993. *Croat Med J.* 1995;36:55-60.
6. Puntarić D, Krajcar D, Bošnjir J, et al. Sanitation of the liberated territories in Croatia after the Storm Campaign – an example of the Lika-Senj County. *Mil Med.* 1997;162:333.
7. Jergović M, Miškulin M, Puntarić D, Gmajnić R, Milas J, Sipos L. Cross-sectional Biomonitoring of metals in adult populations in post-war Eastern Croatia: differences between areas of moderate and heavy combat. *Croat Med J.* 2010;51:451-60.
8. Vidosavljević D, Puntarić D, Gvozdić V, et al. Soil contamination as a possible long term consequence of war in Croatia. *Acta Agriculture Scandinavica-Soil&Plant Science.* 2013;63:322-9.
9. Vidosavljević D, Puntarić D, Gvozdić V, Jergović M, Jurčev-Savičević A, Puntarić I, et al. Trace metals in the environment and population as possible long term consequence of war in Osijek-Baranja County, Croatia. *Coll Antropoll.* 2014;38:925-32.
10. Tanner M. Croatia - A nation forged in war. New Haven/ London: Yale University Press, 1997.
11. Domazet Lošo D. Hrvatski Domovinski rat 1991.-1995.: strateški pogled. Zagreb: Udruga Hrvatski Identitet i Prosperitet-ogranak Matice Hrvatske, 2010.

12. Marcikić M, Marušić A. The civilian massacre in Dalj on 1 August 1991. *Liječ Vjesn.* 1991;113:202-5.
13. Ebling B, Kovačić L, Ebling Z, et al. Present state and possibilities for improvement of cancer prevention and early detection in the Osijek-Baranya county. *Coll Antropol.* 2005;29:169-78.
14. Obralić N, Gavrankapetanović F, Dizdarević Z, al. The number of malignant neoplasm in Sarajevo region during the period 1998-2002. *Med Arh.* 2004;58:275-8.
15. Petrović B, Kocić B, Filipović S, Rančić N., Filipović A. Epidemiology of breast cancer in the city of Niš, Serbia. *J BUON* 2003;8:147-50.
16. Čurković M. Prisutnost i mogući zdravstveni utjecaj rijetkih elemenata u vodi za piće i biološkim tkivima ruralnog stanovništva istočne Hrvatske. Doktorska disertacija. Medicinski fakultet Osijek, 2010.
17. Gvozdić V, Brana J, Orešković K, et al. A. Analysis and assessment of available water sources in Eastern Croatia. *Revue Roumaine de Chimie* 2015. (in press)
18. Lazarus M, Vicković I, Šoštarić B, Blanuša M. Heavy metal levels in tissues of red deer (*Cervus elaphus*) from Eastern Croatia. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2005;56:233-40.
19. Bošnjir J, Puntarić D. Lead concentration in Brassicas from Zagreb home gardens. *Croat Med J.* 1997;38:143-6.
20. Puntarić D, Vidosavljević D, Gvozdić V, Puntarić E, Puntarić I, Bošnjir J, et al. Heavy metals and metalloids content in vegetables and soil collected from the gardens of Zagreb, Croatia. *Coll Antropol.* 2013;37:957-64.
21. Van Acker S, Van den Berg Dj, Tromp MN et al. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med.* 1996;20:331-42.
22. Dasgupta N, De B. Antioxidant activity of some leafy vegetables of India: A comparative study. *Food Chemistry.* 2007;101:471-4.
23. Khan S, Farooq R, Shahbaz S, Khan MA, Sadique M. Health risk assessment of heavy metals for population via consumption of vegetables. *World Applied Sciences Journal.* 2009;6:1602-6.
24. Christ R. Bioindikation mit höheren Pflanzen zur Luftüberwachung von Werkarealen. *Staub Reinhaltung der Luft.* 1992;52:415-8
25. Voutsas D, Grimanis A, Samara C. Trace elements in vegetables grown in an industrial area in relation to soil and air particulate matter. *Environ Pollut* 1996;94:325-35.
26. Uwah EI, Ndahi NP, Ogugbuaja VO. Study of the levels of some agricultural pollutants in soils, and water leaf (*Talinum Triangulare*) obtained in Maiduguri, Nigeria. *J Appl Sci Environ Sanit.* 2009;4:71-8.
27. Brouwers EE, Tibben M, Rosing H, Schellens JH, Beijnen JH. The application of inductively coupled plasma mass spectrometry in clinical pharmacological oncology research. *Mass Spectrum Rev.* 2008;27:67-100.
28. Thomas R. A Beginner's Guide to ICP-MS. Part III: The Plasma Source. *Spectroscopy.* 2001;16:26-30.
29. Thomas R. A Beginner's Guide to ICP-MS. Part I. *Spectroscopy.* 2001;16:38-42.
30. ELAN DRC-e Hardware Guide. Perkin Elmer/MDS Sciex Instruments, 2005.
31. Gulson BL, Palmer JM, Bryce A. Changes in blood lead of a recreational shooter. *Sci Total Environ.* 2002;293:143-50.
32. Tripathi RK, Sherertz PC, Llewellyn GC, Armstrong CW. Lead exposure in outdoor firearm instructors. *Am J Public Health.* 1991;81:753-5.
33. Bordeleau G, Martel R, Ampleman G, Thiboutot S. Environmental impacts of training activities at an air weapons range. *J Environ Qual.* 2008;37:308-17.
34. Biggeri A, Lagazio C, Catelan D, Pirastu R, Casson F, Terracini B. Report on health status of residents in areas with industrial, mining or military sites in Sardinia, Italy. *Epidemiol Prev.* 2006;30(Suppl 1):5-95.
35. Missiaen T, Söderström M, Popescu I, Vanninen P. Evaluation of a chemical munition dumpsite in the Baltic Sea based on geophysical and chemical investigation. *Sci Total Environ.* 2010;408:3536-53.
36. Jolliffe, I. Principal Component Analysis. *Encyclopedia of Statistics in Behavioral Science.* University of Aberdeen, UK, 2005.
37. Abdi H, Williams L. Principal component analysis. *WIREs Comp Stat.* 2010;2:433-59.
38. Gvozdić V, Tomišić V, Butorac V, Simeon V. Association of nitrate ion with metal cations in aqueous solution: a UV-Vis spectrometric and factor-analytical study. *Croat Chem Acta.* 2009;82:553-8.
39. Republika Hrvatska. Pravilnik o toksinima, metalima, metaloidima te drugim štetnim tvarima koje se mogu nalaziti u hrani. *Narodne Novine.* 2005;16.
40. Vitale D, Vedrina Dragojević I, Šebečić B, Validžić K. Assessment of toxic and potentially toxic elements in potato and cabbage grown in different locations in Croatia. *Deutsche Lebensmittel Rundschau.* 2007;103:424-30.
41. Chaney RL. Health risks associated with toxic metals in municipal sludge. In: Bitton G, Damro BL, Davidson GT, Davidson JM, eds. *Sludge - Health Risks of Land Application.* Ann Arbor Sci Publ Miami. 1980:59-83.
42. Hršak V, Ilijanić Lj, Nikolić T, Fiedler TS. Lead quantities in yew (*Taxus baccata* L.) leaves in the greater Zagreb area. *Nat Croat.* 2003;2:109-22.
43. Puschenreiter M, Horak O. Low-cost agricultural measures to reduce heavy metal transfer into the food chain-a review. *Plant Soil Environ.* 2005;51:1-11.
44. Kachenko A, Singh B. Heavy metals contamination of home grown vegetables near metal smelter in NSW. Third Australian New Zealand Soils Conference, 5-9 December 2004, University of Sydney, Australia.

45. Jorhem L, Engman J. Uptake of lead by vegetables grown in contaminated soil. *Common Soil Sci Plant Anal.* 2000;31:2403–11.
46. Harmens H. Air pollution and Vegetation. The International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Natural Vegetation and Crops Annual Report 2004/2005.
47. Harmanescu M, Alda LM, Bordean DM, Gogoasa I, Gergen I. Heavy metals health risk assessment for population via consumption of vegetables grown in old mining areas; a case study: Banat County, Romania. *Chem Centr J.* 2011;5:64.
48. Nabulo G, Oryem-Origa H, Diamond M. Assessment of lead, cadmium and zinc contamination of roadside soils, surface films and vegetables in Kampala City, Uganda. *Environ Res.* 2006;101:42-52.
49. Boamponsem GA, Kumi M, Debrah I. Heavy metals accumulation in cabbage, lettuce and carrot irrigated with wastewater from Nagodi, Ghana. *Int J Sci Tech Res.* 2012;11: 124-9.
50. Rapheal O, Adebayo K. Assessment of trace heavy metal contamination of some selected vegetables irrigated with water from River Benue within Makurdi Metropolis, Nigeria. *Adv Appl Sci Res.* 2011:590-601.
51. Nabulo G, Young SD, Black CR. Assessing risk to human health from tropical leafy vegetables grown on contaminated urban soils. *Sci Tot Environ.* 2010;408:5338-51.
52. Kabata Pendias A. Trace Elements in Soils and Plants, 4th ed. Boca Rata: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011.
53. Romić M, Romić D. Heavy metals distribution in agricultural top soils in urban area. *Environ Geol.* 2003;43:795-805.
54. Vidosavljević D. Metali i metaloidi u populaciji, vodi i tlu Istočne Hrvatske kao moguća posljedica dugotrajnih ratnih djelovanja. Doktorska disertacija, Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek, 2014.
55. Puntarić D, Vidosavljević D, Gvozdić V, Mayer D, Puntarić E, Puntarić I. Metali i metaloidi u populaciji, bilju, tlu i vodi Istočne Hrvatske kao moguća posljedica ratnih djelovanja. 3. Hrvatski epidemiološki kongres s međunarodnim sudjelovanjem. Knjiga sažetaka, 2015:28.