

Accumulation of Lead (Pb) in *Sideritis montana*

**Vesna P. Stankov Jovanović^{1*}, Marija D. Ilić², Marija S. Marković³, Jelena S. Nikolić¹,
Slobodan A. Ćirić¹, Marija V. Dimitrijević⁴, Miloš M. Rajković⁵**

¹University of Niš, Faculty of Sciences and Mathematics, Višegradska 33, 18000 Niš, Serbia

²Specialized veterinary institute, Dimitrija Tucovića 175, 18000 Niš, Serbia

³Institute of Forestry, Kneza Višeslava 3, 11030 Belgrade, Serbia

⁴University of Niš, Faculty of Medicine, Bulevard Zorana Đinđića 81, 18000 Niš

⁵Institute for Medicinal Plants Research "Dr. Josif Pančić", Belgrade, Tadeuša Košćuška 1,
11000 Belgrade, Serbia

***Corresponding author:** Vesna P. Stankov Jovanović, University of Niš, Faculty of Sciences and
Mathematics, Višegradska 33, 18000 Niš, Republic of Serbia, tel. + 381 18 533 015,
e-mail: vesna.stankov-jovanovic@pmf.edu.rs

Abstract: Lead (Pb) contamination remains a global environmental concern due to its potential impact on ecosystems and human health. *Sideritis montana* has gained attention as a potential bioindicator of heavy metal pollution. The research explores the levels of lead in *S. montana* and assesses the risk for safe use of this potentially medicinal plant. This study presents a comprehensive analysis of Pb accumulation in *S. montana* from three different locations. The obtained results indicate variations in the accumulation of Pb by the plant species *S. montana*, which reflects the influence of environmental factors on the accumulation of toxic metals by plants. ICP-OES determined concentrations of Pb for Kravlje (control site), Gornje Polje (near

landfil), and Rgoštanska Čuka (burned habitat) locations were 0.33, 20.62 and 0.35 ppm, respectively. This study underscores the multifaceted role of *Sideritis montana* as a bioindicator. It highlights the need for comprehensive monitoring of Pb contamination in ecosystems where *S. montana* grows.

Keywords: *Sideritis montana*, heavy metals, lead, environmental contamination

INTRODUCTION

Heavy metals accumulation in the environment, particularly near landfill sites, threatens ecosystems and human health. Lead (Pb) is a metallic element recognized for its detrimental impact on human health and the ecosystem. Pb exposure triggers various physiological alterations in plants. Pb toxicity inhibits plant growth and development, reduces biomass production, stunts root and shoot growth, and inhibits flowering and fruiting (Sharma & Dubey, 2005).

Pb-induced damage occurs at the cellular and molecular levels. DNA damage, protein denaturation, and disruption of cellular membranes (Cobbett & Goldsbrough, 2002). Pb interferes with the uptake of essential nutrients such as plant nutrients like calcium, magnesium, and iron (Khalid et al., 2017).

Lead pollution has harmful effects on plant physiology and growth. Understanding Pb toxicity mechanisms is crucial to mitigate its impact on plants and ecosystems, especially for potential medicinal plants like *Sideritis montana*.

The plant species *Sideritis sacrdica* and *Sideritis reiserii*, known under the name „Mountain Tea“, have a rich history of traditional use in various cultures (Stankov Jovanović et al., 2023). According to the same authors, the dried leaves and flowers of these two plant species are commonly used to prepare herbal teas in the treatment of respiratory and gastrointestinal inflammation. Beyond their medicinal applications, *S. sacrdica* and *S. reiserii* have found their way into culinary practices as flavorful teas (González-Paramás, Esteban-Ruano, Santos-Buelga, de Pascual-Teresa, 2017). Their aromatic leaves can be added to salads and used as a spice in cooking (Pljevljakušić et al., 2011).

In Turkey, an infusion of the aerial parts of the plant *Sideritis montana* subsp. *remota* is used against stomach ailments (Bulut, Haznedaroğlu, Doğan, Koyu, Tuzlacı, 2017), while in Greece, *Sideritis montana* subsp. *remota* is used against respiratory tract inflammation and cough (Tsioutsiou et al., 2019).

In Serbia, there is only one species of the genus *Sideritis* – *Sideritis montana* (Диклић, 1974). Still, due to its pro-oxidant properties, it is not used in traditional medicine (Koleva et al., 2003). The tea prepared from its leaves is considered a general health tonic, valued for its potential therapeutic effects (Petrović, Pavkov, Zlatković, Vukojičić, 2013). Miladinović et al. (2012) noted that the essential oil of *S. montana* from the locality Kravlje, near the city of Niš (Serbia), has a high antibacterial potential and should be further studied to apply it. The essential oil of *Sideritis montana* L. subsp. *montana* showed noteworthy inhibition on tumor cells (Venditti et al., 2016).

Tóth et al. (2015) proved that methanol extract prepared from the air-dried flowering aerial parts of *Sideritis montana* has neuronal and smooth muscle effects on *in vitro* tested Guinea-pig ileum. Tóth et al. (2017) isolated and identified new abietane diterpenoids from *Sideritis montana*, and their antiproliferative properties were established, and remarkable activities were detected. Extract from the *S. montana* plant has a high content of polyphenolic compounds, which show strong antioxidant activity (Firuzi, Javidnia, Gholami, Soltani, Miri, 2010), so it can be considered a potential medicinal plant species.

MATERIAL AND METHODS

Samples of *Sideritis montana* plant were collected (the flowering stage) from a designated region in Serbia at three locations (Kravlje – control site, Gornje Polje – near landfill, and Rgoštanska Čuka – burned habitat). Vouchers specimen *S. montana* from different locations, with inventory numbers 13888, 13889 and 3890, were deposited in the herbarium HMN – *Herbarium Moesiacum Niš* of Department of Biology and Ecology, Faculty of Science and Mathematics, University of Niš.

Analytical grade nitric and perchloric acid were used as reagents for the wet digestion of samples. Ultra-scientific ICP multi-element standard solutions of about $20.00 \pm 0.10 \text{ mg L}^{-1}$ were used as a stock solution for calibration.

ICP-OES analysis was conducted to determine the concentrations of Pb in the plant samples. ICP-OES offered high sensitivity and precision in Pb quantification. All analyses were carried out on aniCAP 6000 inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ThermoScientific, Cambridge, United Kingdom), which uses an Echelle optical design and a Charge Injection Device (CID) solid-state-detector.

Plant material, including leaves, stems, and flowers, was carefully collected, cleaned, dried, and ground into a fine powder and prepared following the wet-acid/peroxide digestion method (Dimitrijević, Nikolić, Mitić, Stankov Jovanović, Miladinović, 2023). The method of wet digestion was adopted to enable the measurement of the metal concentrations. The metal content in the plant material was determined after the acidic treatment. First, concentrated HNO₃ was added to the sample and heated up in the open glass to a small volume (until red vapors originating from NO₂ were removed); then digestion was continued with 70% HClO₄ and again evaporated to a low volume. Finally, the solutions were transferred to standard vessels and diluted to a volume of 25 ml (Ilić et al., 2021).

RESULTS

The study highlights the potential risk of Pb contamination in *Sideritis montana*. Consumers of *S. montana* products should be aware of the potential risk of Pb exposure, mainly if sourced from areas with industrial or pollutant activities. Monitoring and safety measures are crucial to mitigate health risks.

The ICP-OES-determined concentrations of Pb for Kravlje (control site), Gornje Polje (near landfill), and Rgoštanska Čuka (burned habitat) were 0.33, 20.62, and 0.35 ppm, respectively (Table 1).

The findings indicated fluctuations in Pb accumulation, demonstrating the influence of environmental factors like soil composition and land usage practices. This study underscores the multifaceted role of *Sideritis montana* as a bioindicator. It highlights the need for comprehensive monitoring of Pb contamination in ecosystems where *S. montana* grows.

Table 1. Concentration of Pb in *Sideritis montana* from various locations in Serbia

<i>Sideritis montana</i>	Kravlje (control site)	Gornje Polje (near Landfill)	Rgoštanska Čuka (burned habitat)
Pb [ppm]	0.33±0.02	20.62±0.02	0.35±0.01

CONCLUSION

This research utilized ICP-OES to determine the lead concentrations in *Sideritis montana*. The results suggest that the plant exhibits varying levels of Pb contamination, with higher concentrations near landfill sites. Ongoing surveillance and safety protocols are crucial for evaluating and addressing potential environmental hazards linked to Pb contamination in *S. montana*. The obtained results provide valuable data on the accumulation of lead in *S. montana* at different sites, including a control site, which is far from potential sources of pollution, and contributes to a better understanding of the complex interactions between environmental pollution by heavy metals, plant ecology, as well as human health considerations in context potential medical applications of this plant species.

Acknowledgements: This research was supported by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Contracts No 451-03-65/2024-03/200124, and 451-03-66/2024-03/200027).

References:

- Bulut, G., Haznedaroğlu, M.Z., Doğan, A., Koyu, H., Tuzlacı, E. (2017). An ethnobotanical study of medicinal plants in Acipayam (Denizli-Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, 10, 64-81. doi: 10.1016/j.hermed.2017.08.001
- Cobbett, C., Goldsbrough, P. (2002). Phytochelatins and metallothioneins: roles in heavy metal detoxification and homeostasis. *Annual review of plant biology*, 53(1), 159-182. doi: 10.1146/annurev.arplant.53.100301.135154

Dimitrijević, M., Nikolić, J., Mitić, V., Stankov Jovanović, V., Miladinović, D. (2023). Determination of Trace Elements in Mushrooms by Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry (ICP-MS): Characterization of the Health Risk. *Analytical Letters*, 56(13), 2201-2214. doi: 10.1080/00032719.2022.2159972

Диклић, Н. (1974). Род *Sideritis* L. У: М. Јосифовић (ур.) *Флора СР Србије 4* (стр. 371-372). Београд, Српска академија наука и уметности, Одељење природно-математичких наука.

Firuzi, O., Javidnia, K., Gholami, M., Soltani, M., Miri, R. (2010). Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of 24 Lamiaceae Species Growing in Iran. *Natural Product Communications*, 5(2), 261- 264.

González-Paramás, A.M., Esteban-Ruano, S., Santos-Buelga, C., de Pascual-Teresa, S. (2017). Rivas-Martinez's bioclimatic law to determine the geographical distribution of *Sideritis* spp. (Lamiaceae) in the Iberian Peninsula. *Phytochemistry Reviews*, 16(6), 1121-1132.

Ilić, M.D., Mitić, V.D., Tošić, S.B., Pavlović, A.N., Marković, M.S., Stojanović, G.S., Stankov Jovanović V.P. (2021). Mineral Composition of Herbaceous Species *Seseli rigidum* and *Seseli pallasii*: a Chemometric Approach. *Acta Chimica Slovenica*, 68, 709-717. doi: 10.17344/acsi.2021.6755

Khalid, S., Shahid, M., Dumat, C., Niazi, N.K., Bibi, I., Gul Bakhat, H.F.S., Abbas, G., Murtaza, B., Javeed, H.M.R. (2017). Influence of groundwater and wastewater irrigation on lead accumulation in soil and vegetables: Implications for health risk assessment and phytoremediation. *International journal of phytoremediation*, 19(11), 1037-1046. doi: 10.1080/15226514.2017.1319330

Koleva, I., Linssen, J.P.H., van Beek, T.A., Evstatieva, L.N., Kortenska, V., Handjieva, N. (2003). Antioxidant activity screening of extracts from *Sideritis* species (Labiatae) grown in

Bulgaria. *Journal of the Science and the Food Agriculture*, 83(8), 809-819. doi: 10.1002/jsfa.1415

Miladinović, D.L., Ilić, B.S., Mihajilov-Krstev, T.M., Nikolić, N.D., Milosavljević, V.N., Nikolić D.M. (2012). Antibacterial potential of the essential oil from *Sideritis montana* L. (Lamiaceae). *Hemijaska industrija*, 66(4), 541-545. doi: 10.2298/HEMIND111003001M

Petrović, S., Pavkov, S., Zlatković, B., Vukojičić, S. (2013). *Sideritis montana* L.: A plant species with significant ethnobotanical history and future pharmaceutical potential. *European Journal of Medicinal Plants*, 3(3), 330-352.

Pljevljakušić, D., Šavikin K., Janković, T., Zdunić, G., Ristić, M., Godjevac, D., Konić-Ristić, A. (2011). Chemical properties of the cultivated *Sideritis raeseri* Boiss. & Heldr. subsp. *raeseri*. *Food Chemistry*, 124(1), 226-233. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.06.023

Sharma, P., Dubey, R.S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian journal of plant physiology*, 17, 35-52. doi: 10.1590/S1677-04202005000100004

Stankov Jovanović, V.P., Ilić, M.D., Marković, M.S., Nikolić, J.S., Ćirić, S.A., Dimitrijević, M.V., Mitić, V.D. (2023). Heavy Metal Accumulation in *Sideritis montana* near Landfill: A Case Study. *Chemia Naissensis*, 6(1), 68-76. doi: 10.46793/ChemN6.1.68SJ

Tóth, B., Bartho, L., Vasas, A., Sándor, Z., Jedlinszki, N., Pinkec, G., Hohmanna, J. (2015). Dual Excitatory and Smooth Muscle-relaxing Effect of *Sideritis montana* Extract on Guinea-pig Ileum. *Natural Product Communications*, 10(3), 487-490.

Tóth, B., Kúsz, N., Forgo, P., Bózsity, N., Zupkó, I., Pinke, G., Hohmann, J., Vasas, A. (2017). Abietane diterpenoids from *Sideritis montana* L. and their antiproliferative activity. *Fitoterapia*, 122, 90-94. doi: 10.1016/j.fitote.2017.08.016

Tsioutsiou, E.E., Giordani P., Hanlidou E., Biagi M., De Feo V., Cornara L. (2019). Ethnobotanical Study of Medicinal Plants Used in Central Macedonia, Greece. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019(1), 1-22. doi: 10.1155/2019/4513792

Venditti, A., Bianco, A., Frezza, C., Serafini, M., Giacomello, G., Giuliani, C., Bramucci, M., Quassinti, L., Lupidi, G., Lucarini, D., Papa, F., Maggi, F. (2016). Secondary Metabolites, Glandular Trichomes and Biological Activity of *Sideritis montana* L. subsp. *montana* from Central Italy. *Chemistry & Biodiversity*, 13, 1380-1390. doi: 10.1002/cbdv.201600082

Акумулација олова у *Sideritis montana*

Весна П. Станков Јовановић^{1*}, Марија Д. Илић², Марија С. Марковић³, Јелена С. Николић¹, Слободан А. Ћирић¹, Марија В. Димитријевић⁴, Милош М. Рајковић⁵

¹Универзитет у Нишу, Природно-математички факултет, Вишеградска 33, 18000 Ниш, Србија

²Ветеринарски специјалистички институт „Ниш“, Димитрија Туцовића 175, 18000 Ниш, Србија

³Институт за шумарство, Београд, Кнеза Вишеслава 3, 11030 Београд, Србија

⁴Универзитет у Нишу, Медицински факултет, Булевар др Зорана Ћинђића 81, Ниш 18000

⁵Институт за проучавање лековитог биља „Др Јосиф Панчић“, Београд, Тадеуша Кошћушка 1, 11000 Београд, Србија

*Аутор за кореспонденцију: Весна П. Станков-Јовановић, Универзитет у Нишу, Природно-математички факултет, Вишеградска 33, 18000 Ниш, Србија, тел. 018 533 015, e-mail: vesna.stankov-jovanovic@pmf.edu.rs

Сажетак: Контаминација оловом (Pb) је предмет глобалне забринутости за животну средину због потенцијалног утицаја на екосистеме и здравље људи. Врста *Sideritis montana* је привукла пажњу као потенцијални биоиндикатор загађења тешким металима. Ова студија се бави истраживањем нивоа олова у врсти *S. montana* и проценом ризика за безбедну употребу ове потенцијално лековите биљке. Истраживање представља свеобухватну анализу акумулације Pb у врсти *S. montana* са три различита локалитета.

Добијени резултати указују на варијације у акумулацији Pb од стране биљне врсте *S. montana*, што одражава утицај фактора животне средине на акумулацију токсичних метала од стране биљака. ICP-OES методом одређене су концентрације Pb у биљкама са локалитета Кравље (контролно место), Горње Поље (близу јаловишта) и Ргоштанска Чука (пожариште) и износиле су 0,33; 20,62 и 0,35 ppm. Ова студија доказује улогу *S. montana* као биоиндикатора и истиче потребу за праћењем контаминације оловом у екосистемима у којима расте *S. montana*.

Кључне речи: *Sideritis montana*, тешки метали, олово, јаловиште

УВОД

Акумулација тешких метала у животној средини, посебно у близини јаловишта, представља потенцијалну претњу и екосистемима и људском здрављу. Олово (Pb) је тешки метал познат по својим штетним утицајима на здравље људи и животну средину. Изложеност олову изазива различите физиолошке промене у биљкама. Токсичност олова инхибира раст и развој биљака, смањује производњу биомасе, успорава раст корена и изданака и инхибира цветање и плодношење (Sharma & Dubey, 2005).

Оштећење изазвано оловом јавља се на ћелијском и молекуларном нивоу, а може бити у виду оштећења ДНК, денатурације протеина и поремећаја ћелијских мембрана (Cobbett & Goldsbrough, 2002). Олово може ометати унос есенцијалних хранљивих супстанци попут калцијума, магнезијума и гвожђа (Khalid et al., 2017).

Загађење оловом има штетне ефекте на физиологију и раст биљака. Разумевање механизма токсичног деловања олова је од кључног значаја за ублажавање његовог утицаја на биљке и екосистеме, посебно за потенцијално лековите биљке као што је *Sideritis montana*.

Биљне врсте *Sideritis scardica* и *Sideritis reiserii*, познате под називом „планински чај“, имају богату историју традиционалне употребе у различитим културама (Stankov Jovanović et al., 2023). Према истим ауторима, осушени листови и цветови ове две биљне врсте се обично користе за припрему биљних чајева, у лечењу упале дисајних путева и гастроинтестиналног тракта. Осим медицинске примене, *S. scardica* и *S. reiserii* су нашле примену у кулинарству као чајеви са укусом (González-Paramás, Esteban-Ruano, Santos-

Buelga, de Pascual-Teresa, 2017). Њихови ароматични листови могу се додавати салатама и користити као зачин у кулинарству (Pljevljakušić et al., 2011).

У Турској се чај надземних делова биљке *S. montana* subsp. *remota* користи против стомачних тегоба (Bulut, Haznedaroğlu, Doğan, Koyu, Tuzlacı, 2017), док се у Грчкој *Sideritis montana* subsp. *remota* користи против упале дисајних путева и кашља (Tsioutsiou et al., 2019).

У Србији постоји само једна врста рода *Sideritis* – *S. montana* (Диклић, 1974), али се због својих прооксидативних својстава не користи у традиционалној медицини (Koleva et al., 2003). Чај припремљен од листова ове врсте може се сматрати окрепљујућим тоником, а цени се због потенцијалних терапијских ефеката (Petrović, Pavkov, Zlatković & Vukojić, 2013). Miladinović et al. (2012) напомињу да етарско уље *S. montana* са локалитета Кравље, у близини града Ниша (Србија) има висок антибактеријски потенцијал и да га треба даље проучавати у циљу његове примене. Етарско уље *Sideritis montana* L. subsp. *montana* је показало значајну инхибицију туморских ћелија (Venditti et al., 2016).

Tóth et al. (2015) су тестирали *in vitro* метанолне екстракте надземних делова биљке *Sideritis montana* на илеуму заморца и доказали значајан ефекат на неуроне и глатке мишиће. Tóth et al. (2017) су изоловали и идентификовали нове дитерпеноиде из *S. montana* и утврдили су њихова антипролиферативна својства. Екстракт биљке *S. montana* има висок садржај полифенолних једињења, која показују јаку антиоксидативну активност (Firuzi, Javidnia, Gholami, Soltani, Miri, 2010), па се може сматрати потенцијално лековитом биљном врстом.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Узорци биљне врсте *Sideritis montana* прикупљени су у фази цветања са три локалитета у Србији: Кравље – контролна локација, Горње Поље – у непосредној близини јаловишта рудника и Ргоштанска Чука – пожариште. Хербаријумски примерци *Sideritis montana* са ових различитих локалитета, са инвентарским бројевима 13888, 13889 и 13890, депоновани су у хербаријуму HMN – *Herbarium Moesiacum Niš*, на Департману за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета у Нишу.

Коришћени су реагенси аналитичке чистоће за дигестију на мокром путу (азотна и перхлорна киселина). За калибрацију је коришћен основни мултиелементни стандардни раствор чија је концентрација метала $20,00 \pm 0,10$ mg/l.

У циљу одређивања концентрације олова у биљном материјалу рађена је ICP-OES анализа. ICP-OES анализа показује високу осетљивост и прецизност у квантификацији олова. Све анализе су рађене на aniCAP 6000 оптичком емисионом спектрометру са индуктивно спрегнутом плазмом (ThermoScientific, Кембриџ, Уједињено Краљевство).

Биљни материјал, укључујући листове, стабљике и цветове, пажљиво је сакупљен, очишћен, осушен и млевен у фини прах и припремљен за анализу применом методе киселинско-пероксидне дигестије на мокром путу (Dimitrijević, Nikolić, Mitić, Stankov Jovanović, Miladinović, 2023). Примењена метода дигестије на мокром путу омогућава одређивање концентрације метала. Након киселинско-пероксидног третмана одређен је садржај метала. Прво је у узорак додата концентрована азотна киселина, и узорак упарен до мале запремине (све док се не уклоне црвене паре које потичу од NO₂); затим је дигестија настављена уз додавање 70% перхлорне киселине и узорци су упарени до мале запремине. На крају, раствори су пребачени у нормалне судове и разблажени до запремине од 25 ml (Ilić et al., 2021).

РЕЗУЛТАТИ

Овим истраживањем наглашава се потенцијални ризик од контаминације *Sideritis montana* оловом. Мониторинг и мере безбедности су кључне за ублажавање здравствених ризика када се *Sideritis montana* разматра у етнофармаколошком смислу. ICP-OES методом утврђене су концентрације олова за локације Кравље (контролно место), Горње Поље (близу јаловишта рудника) и Рготанска Чука (пожариште) и биле су 0,33, 20,62 и 0,35 ppm (табела 1).

Резултати су показали варијације у акумулацији олова од стране *Sideritis montana* са различитих локација, што одражава утицај фактора животне средине као што су састав земљишта и потенцијални извори контаминације земљишта. Ова студија наглашава улогу *Sideritis montana* као биоиндикатора и истиче потребу за константним праћењем концентрација олова у екосистемима у којима расте *Sideritis montana*.

Табела 1. Концентрација олова у *Sideritis montana* са различитих локалитета у Србији

<i>Sideritis montana</i>	Кравље (контролна локација)	Горње Поље (близу депоније)	Ргоштанска Чука (пожариште)
Pb [ppm]	0,33±0,02	20,62±0,02	0,35±0,01

ЗАКЉУЧАК

Ово истраживање је спроведено је применом ICP-OES методе и одређена је концентрација олова у биљци *Sideritis montana*. Резултати сугеришу да биљка показује различите нивое концентрације олова, са очекивано већим концентрацијама у близини јаловишта рудника. Континуирано праћење и мере безбедности су од суштинског значаја за процену и ублажавање потенцијалних еколошких ризика повезаних са контаминацијом олова у биљци *S. montana*. Добијени резултати пружају податке о акумулацији олова у *S. montana* на различитим локалитетима укључујући и контролни локалитет, који је удаљен од потенцијалних извора загађења, што доприноси бољем разумевању сложених интеракција између загађења животне средине тешким металима, екологије биљака, као и разматрања људског здравља у контексту потенцијалне медицинске примене ове биљне врсте.

Захвалница: Истраживање је подржано од Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Уговори бр. 451-03-65/2024-03/200124 и 451-03-66/2024-03/200027).

Примљено / Received on 07.04.2024.

Ревидирано / Revised on 12.04.2024.

Прихваћено / Accepted on 15.04.2024.