

**UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO**

BARBARA BEDNJANIČ

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ FARMACIJE

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

BARBARA BEDNJANIČ

**PRIMERJAVA VSEBNOSTI POLIFENOLOV V RAZLIČNIH
VZORCIH LUBJA NAVADNE JELKE (*ABIES ALBA* MILL.)**

**COMPARISON OF POLYPHENOL CONTENT IN DIFFERENT
SILVER FIR (*ABIES ALBA* MILL.) BARK SAMPLES**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo na Katedri za farmacevtsko biologijo pod mentorstvom prof. dr. Sama Krefta, mag. farm., in somentorstvom asist. dr. Nine Kočever Glavač, mag. farm.

ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujem mentorju prof. dr. Samu Kreftu, mag. farm., in somentorici asist. dr. Nini Kočever Glavač, mag. farm., za strokovno pomoč in nasvete pri izdelavi diplomske naloge. Najlepša hvala tudi staršem, bratu in Roku za vso podporo.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo izdelala samostojno pod mentorstvom prof. dr. Sama Krefta, mag. farm., in somentorstvom asist. dr. Nine Kočever Glavač, mag. farm.

Barbara Bednjanič

Predsednik komisije: prof. dr. Danijel Kikelj, mag. farm.

Član komisije: asist. dr. Jurij Trontelj, mag. farm.

Ljubljana, 2011

KAZALO VSEBINE

KAZALO VSEBINE	I
POVZETEK.....	VI
SEZNAM OKRAJŠAV	VII
1 UVOD	1
1.1 NAVADNA JELKA (<i>ABIES ALBA</i> MILL.)	1
1.2 FENOLNE SPOJINE KOT ANTIOKSIDANTI	3
1.2.1 Flavonoidi.....	4
1.2.2 Čreslovine (tanini)	7
1.3 IZVLEČKI LUBJA IGLAVCEV	10
1.3.1 Vpliv različnih dejavnikov na vsebnost polifenolnih spojin	13
2 NAMEN DELA.....	14
3 MATERIALI IN METODE	15
3.1 MATERIALI	15
3.1.1 Vzorci	15
3.1.2 Reagenti.....	15
3.1.3 Aparature in laboratorijska oprema	15
3.2 METODE.....	16
3.2.1 Pridobivanje vzorcev lubja navadne jelke	16
3.2.2 Priprava vzorcev in ekstrakcija.....	16
3.2.3 HPLC	17
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	19
4.1 DNEVNA PONOVLJIVOST METODE	21
4.2 DELEŽ POSAMEZNEGA DELA LUBJA	22

4.3	VPLIV RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA VSEBNOST DOLOČENIH SPOJIN V LUBJU NAVADNE JELKE	23
4.3.1	Vpliv dela lubja	23
4.3.2	Vpliv nadmorske višine	27
4.3.3	Vpliv premera dreves.....	28
4.3.4	Vpliv časa	34
4.3.5	Vpliv skladiščenja posekanega drevesa.....	38
5	SKLEP.....	41
6	LITERATURA	42
7	PRILOGA	44

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Znanstvena klasifikacija navadne jelke	1
Preglednica II: Seznam spojin v lubju različnih vrst jelk	12
Preglednica III: Gradientno spreminjanje mobilnih faz	18
Preglednica IV: Vzorci lubja navadne jelke, ki smo jih uporabili pri praktičnem delu. Navedeno je rastišče navadne jelke, njena nadmorska višine ter premer drevesa.	19
Preglednica V: RSD površin pod krivuljo vzorca s Pohorja (premer 20cm). Analize so potekale znotraj enega dneva v treh ponovitvah.	21
Preglednica VI: Delež posameznega dela lubja jelke iz različnih lokacij glede na celotno maso vzorca lubja	22
Preglednica VII: Povprečen delež lubja posameznega dela lubja	22
Preglednica VIII: Površina kromatografskega vrha i v vzorcih iz različnih krajev in različnih delov lubja	26
Preglednica IX: Koeficient korelacije med nadmorsko višino rastišča in površino posameznega kromatografskega vrha v vzorcih iz notranjega in srednjega dela lubja.....	27
Preglednica X: Koeficient korelacije med premerom drevesa in površino posameznega kromatografskega vrha v vzorcih iz notranjega in srednjega dela lubja	29
Preglednica XI: Legenda oznak na preglednicah v prilogi.....	44
Preglednica XII: Podatki za notranje dele lubja navadne jelke	45
Preglednica XIII: Podatki za srednje dele lubja navadne jelke	47
Preglednica XIV: Podatki za zunanje dele lubja navadne jelke	49
Preglednica XV: Podatki za lubje jelk iz Spodnjega Gruškovja; premera jelk 48 cm in 64 cm	50
Preglednica XVI: Podatki za lubje iz Žage Štern	51

KAZALO SLIK

Slika 1: Navadna jelka (<i>Abies alba</i> Mill.)	2
Slika 2: 2-fenildihidrobenezopiran	4

Slika 3: Flavonoidi kot derivati različnih struktur	5
Slika 4: Struktura različnih antocianidinov	8
Slika 5: Katehin in epikatehin	8
Slika 6: Strukture procianidinov tipa A in B	9
Slika 7: Lubje navadne jelke. Prikazani so notranji, srednji in zunanji del lubja.....	17
Slika 8: Kromatogram, na katerem so označeni kromatografski vrhovi, ki smo jih spremljali pri vseh vzorcih. Lubje nabrano v Slovenskih Konjicah, notranji del.	20
Slika 9: Kromatogram izvlečka lubja navadne jelke, Dolenjske toplice, premer 63 cm. Prikazani so notranji (črna barva), srednji (roza barva) in zunanji del (modra barva).....	23
Slika 10: Vpliv dela lubja na površino posameznega kromatografskega vrha. Lubje navadne jelke iz Dolenjskih Toplic, premera 63 cm.	25
Slika 11: Vpliv dela lubja na površino posameznega kromatografskega vrha. Lubje navadne jelke iz Trebnjega, premera 64 cm.	25
Slika 12: Vpliv dela lubja na površino posameznega kromatografskega vrha. Lubje navadne jelke iz Dolenje vasi, premera 90 cm.	25
Slika 13: Vpliv dela lubja na površino posameznega kromatografskega vrha. Lubje navadne jelke iz Slovenskih Konjic, premera 61 cm.....	26
Slika 14: Površina kromatografskega vrha m v odvisnosti od nadmorske višine. Prikazani so podatki za notranji in srednji del lubja.....	28
Slika 15: Površina kromatografskih vrhov c+d v odvisnosti od nadmorske višine. Prikazani so podatki za notranji in srednji del lubja.....	28
Slika 16: Površina kromatografskega vrha n v odvisnosti od premera jelke. Prikazani so podatki za notranji in srednji del lubja.	29
Slika 17: Površina kromatografskega vrha l v odvisnosti od premera jelke. Prikazani so podatki za notranji in srednji del lubja.	30
Slika 18: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Dolenjskih Toplicah.....	31
Slika 19: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Dolenjskih Toplicah.	31
Slika 20: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Dragomerju.	32

Slika 21: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Dragomerju.....	32
Slika 22: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Ložu.	33
Slika 23: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Ložu.....	34
Slika 24: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 48 cm.	35
Slika 25: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 48 cm.	36
Slika 26: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v zunanjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 48 cm.	36
Slika 27: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 64 cm.	37
Slika 28: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 64 cm.	37
Slika 29: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v zunanjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 64 cm.	38
Slika 30: Primerjava kromatogramov notranjih delov lubja navadne jelke. Prikazane so jelka 1 (črna barva), jelka 2 (zelena barva) in jelka 3 (modra barva).....	39
Slika 31: Vpliv skladiščenja posekanih navadnih jelk na površino posameznega kromatografskega vrha. Prikazani so notranji deli jelke 1 (modra barva), jelke 2 (rdeča barva) in jelke 3 (zelena barva).	39
Slika 32: Vpliv skladiščenja posekanih navadnih jelk na površino posameznega kromatografskega vrha. Prikazani so srednji deli jelke 1 (modra barva), jelke 2 (rdeča barva) in jelke 3 (zelena barva).	40

POVZETEK

S širitvijo rastlinstva in posledičnim povečanjem deleža kisika v atmosferi se je pojavila potreba po obrambi pred škodljivimi vplivi kisika. Pojav antioksidantov predstavlja nujno evolucijsko prilagoditev organizmov na pojav kisika na našem planetu. Največ antioksidantov najdemo v rastlinah, ki predstavljajo nezamenljiv vir antioksidantov tudi za človeka in živali, zato jih večinoma tudi izoliramo iz rastlinskih delov. Zaradi visoke vsebnosti polifenolov in njihovega antioksidativnega delovanja je v zadnjih letih čedalje več raziskav posvečenih izolaciji in karakterizaciji le-teh v različnih drevesnih vrstah. Na tržišču je na voljo prehransko dopolnilo Pycnogenol®; gre za izvleček iz skorje obmorskega bora (*Pinus maritima* Mill.), ki mu pripisujejo močne antioksidativne lastnosti. V njem se nahajajo flavonoidi, predvsem proantocianidnega tipa. Na Fakulteti za farmacijo potekajo raziskave, ki kažejo, da podobne zmesi polifenolov najdemo tudi v nekaterih drugih iglavcih (kot je navadna jelka) in da so lahko enakovreden nadomestek Pycnogenolu®.

Namen diplomske naloge je bilo proučevanje vpliva različnih dejavnikov na vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke (*Abies alba* Mill.). Vzorce lubja smo nabrali v različnih delih Slovenije ter analizirali njihove izvlečke s pomočjo tekočinske kromatografije visoke ločljivosti. Izbrali smo si nekaj kromatografskih vrhov, ki so se v znatni meri pojavljali v vseh kromatogramih, in primerjali njihove površine med različnimi kraji. Nadalje smo proučevali vsebnost polifenolov v odvisnosti od dela lubja, nadmorske višine, premera dreves in obdobja nabiranja. Ugotavljali smo tudi vpliv skladiščenja posekanega drevesa na vsebnost polifenolnih spojin v lubju.

Ugotovili smo, da je vsebnost polifenolnih spojin najmanjša v zunanem delu lubja, v srednjem in notranjem pa je večja. Pri proučevanju vpliva nadmorske višine smo izračunali koeficient korelacije med nadmorsko višino in površino posameznega kromatografskega vrha in ugotovili, da v večini primerov (83,34 %) obstaja negativna korelacija. Enako smo naredili tudi pri vplivu premera dreves, kjer se je prav tako izkazalo, da prevladuje negativna korelacija (66,67 %). Skladiščenje navadne jelke je pomembno vplivalo na vsebnost polifenolnih spojin v lubju, saj se s staranjem lubja vsebnost le-teh zmanjšuje.

SEZNAM OKRAJŠAV

HPLC – (angl.: *high-performance liquid chromatography*) tekočinska kromatografija visoke ločljivosti

MeCN – acetonitril

MF – mobilna faza

m – meter

nm.v. – nadmorska višina

RSD – relativna standardna deviacija

R_t – retencijski čas

T – temperatura

TFA – trifluoroocetna kislina

1 UVOD

1.1 NAVADNA JELKA (*ABIES ALBA* MILL.)

Navadna jelka spada v družino borovk (Pinaceae); predstavniki te družine so še smreka, bor, macesen in cedra. Borovke so po večini vednozeleni drevesa z igličastimi listi. Razširjene so po vsej severni polobli, na južni pa so redkejšje (1). Znanstvena klasifikacija navadne jelke je podana v preglednici I.

Preglednica I: Znanstvena klasifikacija navadne jelke (2)

<u>Kraljestvo</u>	Plantae (rastline)
<u>Deblo</u>	Pinophyta (iglavci)
<u>Razred</u>	Pinopsida
<u>Red</u>	Pinales (borovci)
<u>Družina</u>	Pinaceae (borovke)
<u>Rod</u>	<i>Abies</i>
<u>Vrsta</u>	<i>A. alba</i>

Navadna ali bela jelka (*Abies alba* Mill.) je srednje- in južnoevropska gorska vrsta. Je tretja najpogostejša drevesna vrsta v Sloveniji (takoj za smreko in bukvijo), ki se pojavlja na okoli 30 % površine njenih gozdov, obilneje (z deležem lesne zaloge nad 25 %) pa se pojavlja na 8 % površine. Njen delež po gozdnogospodarskih območjih močno variira, obilneje raste na dinarskem območju in delu predalpskega fitogeografskega območja. Jelke skoraj ne najdemo v murskosoboškem in sežanskem območju. Pri nas uspeva od kolinskega do alpskega pasu, ki sega od 100 do 2000 m nadmorske višine (nm.v.), najpogosteje pa v višinskem pasu od 600 do 1200 m nm.v.

Jelka najbolje uspeva na rastiščih z dovolj zračne in talne vlage ter zelo dobro prenaša senco; prednost jelke pred drugimi drevesnimi vrstami je prav njena sencozdržnost. Omejujoči dejavniki njenega pojavljanja so lahko zimski mraz, pozni spomladanski mraz, suša in poletna vročina (3, 4).

Prva velika izkoriščanja gozdov v velikih gozdnih območjih (predvsem zaradi glažut in železarstva) in druge rabe so znatno spremenili naravno podobo gozdov in povzročili nazadovanje jelke. Delež jelke v Sloveniji upada, leta 1947 je bil 19,4 %, sedaj je le še 7,5 %.

Navadna jelka (slika 1) je do 50 m visoko drevo s sprva stožčasto, na vrhu pa sploščeno krošnjo. Deblo je ravno, veje in vejice rastejo vodoravno. Iglice so dolge 15–30 mm in so razvrščene večinoma dvoredno na poganjkih. Na zgornji strani so bleščeče temno zelene, na spodnji strani pa sta dve beli progi. Storži so pokončni, zelenorjavi, dolgi 10–15 cm in razpadejo na drevesu. Skorja je pri mladem drevesu gladka, belosiva ter s smolnimi kanali, kasneje pa postane razpokana in hrapava (5, 6).



Slika 1: Navadna jelka (Abies alba Mill.) (7)

Iz različnih vrst borovcev pridobivamo eterično olje terpentin. V skorjo naredimo zarezo, nato pa pod njo pritrdimo posodo, v katero se nateka terpentin oz. balzam borovcev; gre za zmes eteričnega olja in smole. Nato ga podvržejo destilaciji z vodno paro in pri tem dobijo terpentinovo eterično olje, zaostane pa smola – kolofonij, ki jo uporabljamo kot depilacijsko sredstvo ali za mazanje loka pri godalih. Očiščeno terpentinovo olje sestavljajo pretežno monoterpenski ogljikovodiki: α - in β -pineni, uporabljamo pa ga kot ekspektorans in rubefacient (1, 8).

1.2 FENOLNE SPOJINE KOT ANTIOKSIDANTI

Fenolne spojine so strukturno zelo raznolika skupina spojin, zato je njihova opredelitev relativno težavna. Osnovni strukturni element v fenolih je prisotnost vsaj enega aromatskega obroča, substituiranega z vsaj eno hidroksilno skupino, ki je prosta ali pa tvori eter, ester ali glikozid. Vendar je takšna kemijska definicija fenolov nezadostna za karakterizacijo rastlinskih fenolov, saj vključuje tudi sekundarne metabolite s podobnimi strukturnimi elementi, ki pa očitno pripadajo drugim fitokemijskim skupinam (npr. mnogi alkaloidi in terpeni imajo v strukturi aromatski obroč in fenolno hidroksilno skupino). Zato je za natančno definicijo te skupine potreben biosintezni kriterij.

Samo rastline in mikroorganizmi so sposobni biosinteze aromatskega obroča oziroma fenolnih spojin (živalski organizmi morajo v večini primerov ta strukturni element pridobiti s hrano).

Rastlinski fenoli nastajajo po dveh poteh aromatizacije:

- najbolj pogosta pot je preko šikimate (šikimske kisline), ki vodi od monosaharidov do aromatskih aminokislin (fenilalanina, tirozina), ki se nato deaminirajo do cimetine kisline in njenih številnih derivatov (benzojske kisline, acetofenonov, lignanov, ligninov in kumarinov),
- druga pot se začne z acetatom in vodi do poli- β -ketoestrov različnih dolžin, ki nato ciklizirajo (Claisenova ali aldolna kondenzacija) in tvorijo produkte, ki so pogosto večciklični (kromoni, izokumarini, orcinoli, depsidi, depsidoni, ksantoni in kinoni).

Spojine, ki nastanejo po prvi poti uvrščamo med šikimate, spojine, ki nastanejo po drugi poti pa med poliketide.

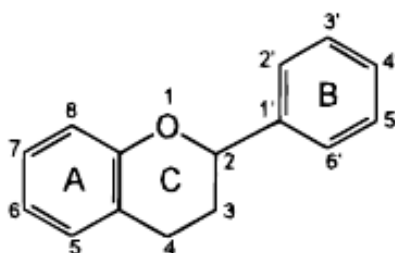
Strukturna raznolikost fenolov je posledica tega dvojnega biosinteznega izvora in se še poveča zaradi pogostega kombiniranja šikimatne in acetatne poti pri sintezi določenih fenolov (flavonoidov, stilbenov, pironov, ksantonov). V sintezno pot se redko lahko vključi tudi tretji elementarni sinton – mevalonat, kar povzroči nastanek mešanih derivatov šikimske kisline in mevalonata (določenih kinonov, furano- in piranokumarinov) oziroma nastanek mešanih spojin iz acetata in mevalonata (kanabinoidov). V zelo redkih primerih pri tvorbi ene strukture sodelujejo vsi trije prekurzorji, npr. pri nastanku rotenoidov.

Za rastlinske fenole so dolgo mislili, da so odpadni produkt primarnega metabolizma. V preteklih tridesetih letih se je ta pogled zamenjal z mnenjem, da igrajo eno izmed ključnih vlog v normalnem delovanju rastlin. Rastlinski fenoli so v glavnem udeleženi v zaščito pred ultravijoličnim sevanjem, rastlino branijo pred patogeni, zajedavci in plenilci, dajejo pa ji tudi barvo. Biomedicinske raziskave so razkrile, da lahko uporabljamo fenole zaradi njihovih antioksidativnih lastnosti in zmožnosti odstranjevanja radikalov tudi kot prehranska dopolnila, saj igrajo veliko vlogo v preprečevanju mnogih kroničnih bolezni. Pomembnejše antioksidativno delovanje izkazujejo predvsem fenolne kisline, flavonoidi in tanini (9, 10).

1.2.1 Flavonoidi

Flavonoidi so razširjeni rastlinski pigmenti v cvetovih, plodovih in včasih tudi v listih. Rumeni flavonoidi so avroni, halkoni in nekateri flavonoli, rdeči, modri ali škrlatni pa so antocianini. Četudi niso vsi neposredno vidni, lahko prispevajo k obarvanju kot sopigmenti. Njihove vloge v rastlinah so različne: privlačijo opraševalce, ščitijo pred škodljivimi insekti, virusi in glivicami, zavirajo delovanje različnih encimov ter vplivajo na oksidacijske in redukcijske procese v celici. Flavonoidi so prisotni povsod v listni kutikuli in epidermalnih celicah lista, kjer zagotavljajo zaščito pred škodljivimi učinki ultravijoličnega sevanja. Najpomembnejši viri flavonoidov so sadje, zelenjava, listi zelenega čaja, rdeče vino in zdravilne rastline (ginko, glog, pegasti badelj, šentjanževka, arnika).

Vsi flavonoidi imajo enak biosintezni izvor, zato so njihove strukture zelo podobne. Skupen jim je osnovni strukturni skelet 2-fenildihidrobenzopiran oz. 2-fenilkroman, ki ga prikazuje slika 2.

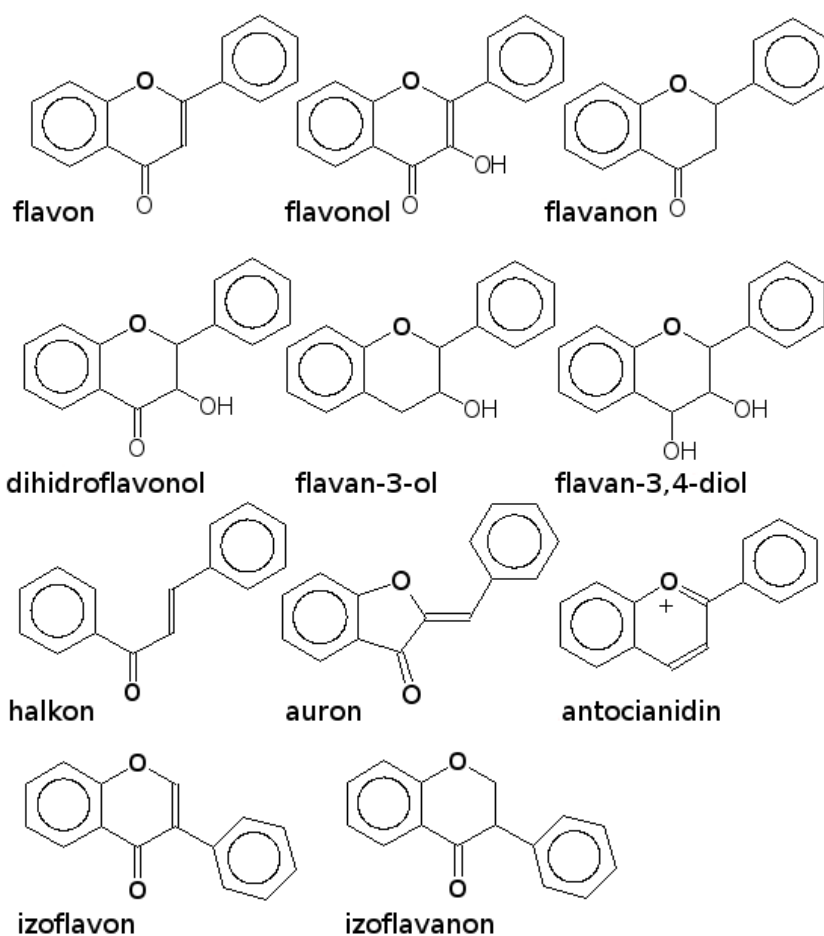


Slika 2: 2-fenildihidrobenzopiran (11)

Med seboj se razlikujejo v oksidacijski stopnji piranovega obroča, ta se lahko tudi odpre in nazaj ciklizira v furanov obroč. Flavonoidi so derivati naslednjih struktur:

- 2-fenilbenzopirolija (antocianidini),
- 2-fenilkromona (flavoni, flavonoli in njihovi dimeri, flavanoni, dihidroflavonoli),
- 3-fenilkromona (izoflavoni, izoflavanoni),
- 2-fenilkromana (flavani, flavan-3-oli, flavan-3,4-dioli),
- halkoni in dihidrohalkoni (piranski obroč odprt),
- avroni (furanski obroč namesto piranskega).

Osnovne strukture nekaterih flavonoidov so prikazane na sliki 3.



Slika 3: Flavonoidi kot derivati različnih struktur (11)

Flavonoidi se nahajajo v rastlinah pogosto v obliki glikozidov. Zaradi glikoziliranja so vodotopni in se kopičijo v vakuolah. Sladkorna komponenta je lahko mono-, di- ali trisaharid, ki vsebuje molekule glukoze, galaktoze, aloze, arabinoze, apioze, ramnoze, ksiloze, glukuronske ali galakturonske kisline. Navadno gre za *O*-glikozide, pri čemer je

največkrat glikozilirana hidroksilna skupina aglikona na mestih 3 ali 7. Precej manj pogosti so C-glikozidi, pri katerih nastane vez med sladkorno komponento in ogljikom na mestih 6 ali 8. Flavonoidi, ki se nahajajo v listni kutikuli, so skoraj vedno v obliki aglikona, še bolj lipofilne pa jih dela delna ali popolna metilacija njihovih OH skupin.

Flavonoidi se kemijsko razlikujejo in imajo tudi širok spekter bioloških učinkov. Izkazujejo pozitivne učinke pri številnih obolenjih, kot so kardiovaskularne motnje, hiperholesterolemija, hipertenzija, sladkorna bolezen, astma in alergije, vnetje, rakava in revmatska obolenja. Večina farmakoloških lastnosti je dokazana v poskusih *in vitro*, obstaja pa zelo malo kliničnih podatkov o učinkovitosti izoliranih spojin *in vivo* (9, 12, 13).

Največji interes je posvečen njihovim antioksidativnim lastnostim.

Antioksidativno delovanje flavonoidov je večplastno:

- Flavonoidi inhibirajo encime, ki sodelujejo pri nastanku superoksidnih anionov, kot sta ksantin-oksidadza in protein-kinaza-C. Prav tako inhibirajo ciklooksigenazo, lipoksigenazo, mikrosomalno oksigenazo, glutathion-S-transferazo, mitohondrijsko sukcin-oksidadzo in NADH-oksidadzo, ki so vključene v nastajanje reaktivnih kisikovih spojin.
- Številni flavonoidi učinkovito kelirajo kovine, ki igrajo pomembno vlogo v kisikovem metabolizmu.
- Zaradi nizkega redoks potenciala so flavonoidi termodinamično sposobni reducirati radikale, kot so superoksidni, peroksilni, alkoksilni in hidroksilni radikali. V reakciji se vodikov atom flavonoida poveže z radikalom. Pri tem nastane bolj stabilen aroksilni radikal (radikal flavonoida), ki lahko nato reagira z drugim radikalom, kar vzpostavi stabilno kinonsko strukturo (14).

Obseg absorpcije navadno ne preseže nekaj odstotkov zaužitega odmerka, kar so določili z merjenjem krvnih koncentracij flavonoidov in njihovih konjugatov. Pomemben dejavnik, ki vpliva na biološko uporabnost, je sestava hrane. Na flavonoide se lahko vežejo proteini, kar zmanjša njihovo biološko uporabnost; nasprotno jo alkohol poveča (v poskusu so dokazali večjo absorpcijo fenolov iz rdečega vina v primerjavi z rdečim vinom brez alkohola). Novejši podatki govorijo tudi o izboljšani absorpciji v prisotnosti maščob.

Majhen del flavonoidov, ki se absorbira v črevesne celice, se tam delno metabolizira v glukuronide in sulfate. Kasneje jih metabolizirajo še jetrni encimi, kar povzroči nastanek bolj polarnih konjugatov, ki se izločijo z urinom ali vrnejo v dvanajstnik preko žolčnika.

Večina zaužitih flavonoidov pa se ne absorbira, ampak jih razgradi prebavna mikroflora. Bakterijski encimi katalizirajo različne reakcije, ki vključujejo hidrolizo, odpiranje heterocikličnega obroča, dehidroksilacijo in dekarboksilacijo. Nastanejo različne fenolne kisline, odvisno od strukture izvirnega flavonoida. Tudi te kisline se lahko absorbirajo, se v jetrih *O*-metilirajo, nato pa sprostijo v obtok. Njihova kateholna struktura jim omogoča približno enako sposobnost odstranjevanja radikalov, kot so jih imele njihove izhodne spojine. Ker te fenolne kisline predstavljajo 30–60 % zaužitih flavonoidov, lahko znatno prispevajo k skupnemu antioksidativnemu učinku (14).

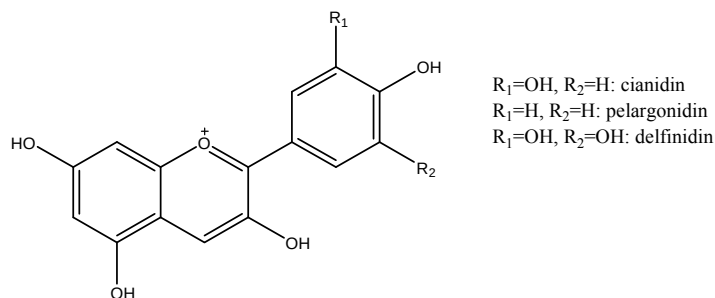
1.2.2 Čreslovine (tanini)

Zgodovinsko gledano so droge s tanini pomembne zaradi njihovih strojilnih lastnosti, saj lahko spremenijo živalske kože v odporen material – usnje. Dandanes za ta namen uporabljamo anorganske spojine, nekatere tanine pa še vedno za strojenje specifičnih vrst usnja. Strojilni učinek je posledica tvorbe kovalentnih vezi med čreslovinami in kolagenskimi vlakni v koži, kar poveča odpornost kože oz. usnja na vodo, toploto in mehansko obrabo. Čreslovine obarjajo celulozo, pektine in beljakovine. Zaradi tega imajo trpek okus in adstringentni učinek.

V višjih rastlinah razlikujemo med dvema skupinama taninov, ki se ločita po strukturi in biosinteznem izvoru: hidrolizirajoči in kondenzirani tanini.

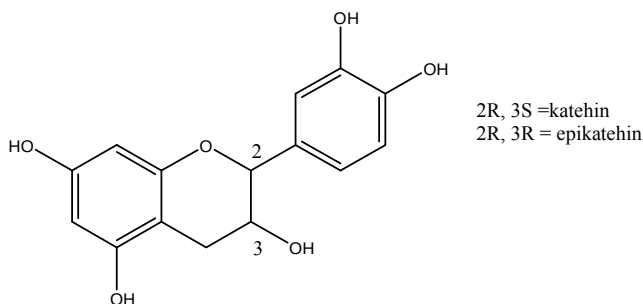
Hidrolizirajoči tanini so estri sladkorja (ali sorodnega poliola) in različnega števila fenolnih kislin. Sladkor je najpogostejše glukoza. Fenolna kislina je v primeru galotaninov galna kislina, v primeru elagotaninov pa heksahidroksidifenska kislina ali njen oksidiran derivat dehidroheksahidroksidifenska kislina. Po hidrolizi estrskih vezi dobimo posamezne sestavine: sladkor in fenolne kisline.

Kondenzirani tanini ali **proantocianidini** so polimeri flavanov. Sestavljeni so iz flavan-3-olskih enot, ki so med seboj povezane s C-C vezmi, najpogosteje na mestih C4-C8 ali C4-C6. Glede na to, kakšen antocianidin nastane pri kisli hidrolizi polimera ob segrevanju (cianidin, delfinidin, pelargonidin), jih delimo v procianidine, prodelfinidine in propelargonidine (slika 4).



Slika 4: Struktura različnih antocianidinov (15)

Najpogostejši kondenzirani tanini so procianidini, ki so polimeri katehina in/ali epikatehina (slika 5). Imenujemo jih tudi katehinski tanini.



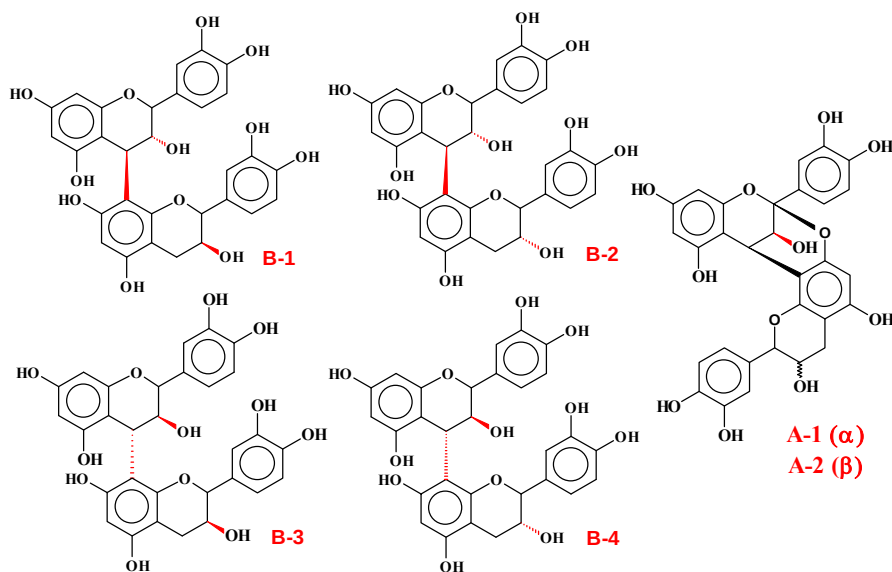
Slika 5: Katehin in epikatehin (9)

Dimerne procianidine ločimo na procianidine tipa A in tipa B (slika 6).

Procianidini tipa A: mednje uvrščamo A-1 in A-2 dimere, ki so povezani z dvema vezema med C4-C8 in C2-O-C7. Pri A-1 dimerih sta obe vezi v α -konfiguraciji, pri A-2 dimerih pa v β -konfiguraciji.

Procianidini tipa B: najpreprostejši dimeri so procianidini tipa B-1, B-2, B-3 in B-4. Sestavljeni so lahko iz dveh enot (2R,3S)-(+)- katehina, (2R,3R)-(-)- epikatehina ali ene enote vsakega. Vez med enotama je C4-C8 in je lahko v α -konfiguraciji (B-3 in B-4) ali β -konfiguraciji (B-1 in B-2). Ti procianidini se pojavljajo v prosti obliki in so splošno razširjeni.

Oligomeri nastajajo s postopnim dodajanjem flavonoidnih enot, polimeri pa vsebujejo vse do 50 enot.



Slika 6: Strukture procianidinov tipa A in B (9)

Taninske droge delujejo adstringentno. Pri zunanji uporabi tanini koagulirajo povrhnjico, s čimer zaščitijo notranje plasti kože. Imajo vazokonstriktorni učinek pri malih površinskih ranah. Uporabljajo se v primeru površinskih opeklin, saj omejijo izgubo tekočine in zmanjšajo vpliv dejavnikov okolja na poškodbo. Notranje jih uporabljamo kot antidiaroičke. Ne glede na način vnosa pa izkazujejo antiseptične učinke, kar je ugodno pri zdravljenju infekcijske driske in dermatitisa.

Pomembno je njihovo antioksidativno delovanje. Mnogi tanini inhibirajo lipidno peroksidacijo v mitohondrijih podganjih hepatocitov. *In vitro* so odstranjevalci radikalov in inhibitorji tvorbe superoksidnih ionov, nekateri tudi inhibirajo lipoksigenazo, ne pa ciklooksigenaze. Antioksidativni flavanoli in proantocianidini iz grozdnega soka in vina so verjetno glavni nosilci preventivnega učinka pri nastanku kardiovaskularnih bolezni, ki jih povzroči zmerno in redno uživanje vina (francoski paradoks).

Tanini lahko inhibirajo tudi angiotenzin-konvertazo ter aktivacijo hialuronidaze in glukoziltransferaze pri mikroorganizmih, ki sodelujejo pri nastanku kariesa. Nekateri inhibirajo topoizomerase in protein-kinazo-C.

Antioksidativna aktivnost je predvsem značilnost hidrolizirajočih taninov, medtem ko se za kondenzirane predvidevajo tudi antialergijski, antihipertenzivni in antikarcenogeni učinki (9, 16, 17).

Zaradi velikosti taninskih molekul je za njihov prehod preko intestinalnega epitelija ponavadi potrebna predhodna razgradnja na manjše komponente. Absorbirajo se lahko le procianidinski dimeri ali trimeri. Zaradi različne stopnje polimerizacije je težko predvideti antioksidativno aktivnost *in vivo* glede na *in vitro* poskuse. Ker proantocianidini v človeški prehrani v glavnem sestojijo iz (+)-katehinskih in (-)-epikatehinskih podenot, domnevajo, da so glavni razgradni produkti katehini, ki so odgovorni za terapevtske učinke proantocianidinov. Raziskave so pokazale, da se proantocianidinski oligomeri iz 3 do 6 enot v gastričnem okolju razgrajujejo 3,5 ure do katehinskih dimerov in prostih katehinov. Ker je povprečen čas praznjenja želodca pri človeku 30–90 minut, predvidevajo, da je vpliv kislinske hidrolize manjši od vpliva nadaljnjega metabolizma (18).

1.3 IZVLEČKI LUBJA IGLAVCEV

V borovcih je na splošno največja vsebnost fenolov in največja antioksidativna aktivnost v nezrelih storžih, sledijo pa iglice, zreli storži, lubje, stari storži in nazadnje les. Ker masa lubja pri borovcih predstavlja 10–15 % celotne mase drevesa, je lubje najprimernejši kandidat za izdelavo rastlinskih pripravkov na industrijski ravni (19, 20).

Pycnogenol® (piknogenol) je izvleček lubja francoskega obmorskega bora (*Pinus maritima* Mill.). Njegove kemijske sestave še niso povsem pojasnili, dokazano pa je, da vsebuje monomerne fenolne spojine (katehin, epikatehin, taksifolin) in kondenzirane tanine (procianidine). Flavonoidni procianidini so sestavljeni iz dveh do sedmih enot katehina ali epikatehina. Vsebuje tudi fenolne kisline (kavno, ferulno in p-hidrobenzojsko kislina) in glikozilacijske produkte flavanolov ali fenolnih kislin.

Učinki kombinacije so večji kot učinki posameznih komponent, kar nakazuje na sinergizem med učinkovinami. Deluje predvsem antioksidativno, izkazuje pa tudi protivnetne učinke. Pozitivne učinke ima na kardiovaskularni sistem; raziskave so pokazale, da je piknogenol povezan z zmanjšanjem agregacije trombocitov, zmanjšanjem LDL-holesterola, povečanjem HDL-holesterola in uravnavanjem hipertenzije (deluje kot

vazorelaksant in inhibitor angiotenzin-konvertaze). Pri bolnikih s sladkorno boleznijo tipa 2 so dokazali znižano koncentracijo glukoze v krvi na tešče in po obroku, pa tudi manjšo koncentracijo glikoziliranega hemoglobina. Najpogostejša indikacija za uporabo piknogenola je kronična venska insuficienca.

Za piknogenol so dokazali relativno visoko biološko uporabnost (46 % zaužitega katehina so dokazali v urinu v obliki glukoronidov in sulfatov) v primerjavi s flavonoidi nasploh, kjer je nizka biološka uporabnost glavni problem primerjave *in vitro* ter *in vivo* poskusov (21, 22, 23).

Na Fakulteti za farmacijo potekajo raziskave, ki kažejo, da podobne zmesi polifenolov najdemo tudi v nekaterih drugih iglavcih (kot je navadna jelka) in da so enakovreden nadomestek piknogenolu. Patentirana zmes polifenolnih spojin iz lubja navadne jelke se imenuje **Abigenol**[®]. Raziskav o podrobnejši sestavi lubja navadne jelke še ni. Glede na dosedanje raziskave, ki so se izvedle na Katedri za farmacevtsko biologijo, sklepamo da gre za polifenolne spojine.

Polifenoli so dobro zastopani tudi v skorji in grčah macesnov. Pri analizi različnih vrst macesna (*Larix spp.*) so ugotovili, da sta v vseh prevladujoči polifenolni komponenti flavonoida taksifolin (dihidrokvercetin) in aromadendrin (dihidrokemferol, 3,5,7,4'-tetrahidroksiflavanon), v manjši meri pa se pojavljata tudi kvercetin (3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavanon) in kemferol (3,5,7,4'-tetrahidroksiflavanon). Iz skorje sibirskega macesna (*Larix sibirica* Ledeb.) so ekstrahirali lariksinol, epiafzelehin, katehin ter epikatehin.

Iz grč evropskega macesna (*Larix decidua* Mill.) so prav tako ekstrahirali polifenolne komponente, med katerimi je bilo v izvlečku okoli 40 % lignanov (prevladujejo izolaricirezinol, laricirezinol in sekoizolaricirezinol), 18 % oligolignanov in 17 % flavonoidov. Grče iglavcev vsebujejo v povprečju 20–100-krat večjo koncentracijo polifenolov kot jedrovina. Za navadno smreko je značilna visoka vsebnost hidroksimatairezinola, ki je pri številnih poskusih pokazal antikancerogeno in antimikrobno delovanje. V jelkah *Abies lasiocarpa* in *Abies balsamea* je prevladujoča spojina sekoizolaricirezinol, vsebujejo pa tudi precej višjih lignanov oz. oligolignanov. V

grčah rdečega bora je glavni lignan nortrakelogenin, poleg tega pa je tudi precej stilbenov. V grčah macesnov pa prevladujeta sekoizolaricirezinol in laricirezinol (24).

Lubje različnih vrst jelk vsebuje številne triterpene, flavonoide in lignane, v manjši meri pa so prisotni steroidi (25). Preglednica II prikazuje vsebnost le-teh v posameznih vrstah jelk.

Preglednica II: Seznam spojin v lubju različnih vrst jelk (25)

Spojina	Skupina spojin	Vrsta jelke
Abiesolidinska kislina	triterpen	<i>A. sachalinensis</i> (sahalinska jelka)
Abieslakton	triterpen	<i>A. veitchii</i> (Veitcheva jelka)
Neoabieslakton	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
(24S)-3-okso-9 β -lanost-7-en-24,25-diol	triterpen	<i>A. sachalinensis</i> (sahalinska jelka)
(23R)-3 β -hidroksi-9 β -lanosta-7,24-dien-26,23-olid	triterpen	<i>A. firma</i> (japonska jelka), <i>A. veitchii</i> (Veitcheva jelka)
(23R)-3-okso-9 β -lanosta-7,24-dien-26,23-olid	triterpen	<i>A. firma</i> (japonska jelka), <i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Metil (23R,25R)-3,4-seko-9 β -lanosta-4(28),7-dien-26,23-olid-3-olat	triterpen	<i>A. sachalinensis</i> (sahalinska jelka)
(23R,25R)-3,4-seko-17,14-friedo-9 β -lanosta-4(28),6,8(14)-trien-26,23-olid-3-ojska kislina	triterpen	<i>A. sachalinensis</i> (sahalinska jelka)
(23R)-3 α ,11 α -dihidroksi-7-oksolanosta-8,24-dien-26,23-olid	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
(23R)-1 α ,3 α ,11 α -trihidroksi-7-oksolanosta-8,24-dien-26,23-olid	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Spiromarienonol A	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Spiromarienonol B	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
3 α -hidroksigamaceran-21-on	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Gamaceran-3,21-dion	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Gamaceran-3 β ,21 α -diol	triterpen	<i>A. veitchii</i> (Veitcheva jelka), <i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Gamaceran-3 α ,21 β -diol	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Hopan-3 α ,22-diol	triterpen	<i>A. veitchii</i> (veitcheva jelka), <i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Hopan-3 β ,22-diol	triterpen	<i>A. mariesii</i> (Mariesova jelka)
Veitchiolid	triterpen	<i>A. veitchii</i> (Veitcheva jelka)
β -sitosterol	steroid	<i>A. firma</i> (japonska jelka)
Kampesterol	steroid	<i>A. firma</i> (japonska jelka)

1.3.1 Vpliv različnih dejavnikov na vsebnost polifenolnih spojin

Pinus maritima Mill., iz katerega pridobivajo piknogenol, so poskušali gojiti tudi v Koreji in na Iberskem polotoku, vendar izvleček flavonoidov teh dreves ne izkazuje istih učinkov kot piknogenol, saj je sestava flavonoidov drugačna, s tem pa tudi terapevtski učinek. Komercialno uspešni piknogenol pridobivajo le iz *Pinus maritima* Mill., ki raste v Biskajskem zalivu v Gaskonji v Franciji, kar nakazuje na velik pomen okoljskih dejavnikov na sestavo flavonoidov (20, 21).

Več raziskav je pokazalo spremembo v sestavi flavonoidov v rastlinskih listih po povečani izpostavitvi svetlobi ali ultravijoličnem sevanju. Dokazali so tudi aktivacijo genov za biosintezo flavonoidov po izpostavljenosti ultravijoličnim žarkom. Splošno tudi velja, da tropske rastline in rastline, ki rastejo na visokih nadmorskih višinah, vsebujejo več flavonoidov (10). V kvantitativni fitokemijski analizi šestih vrst šentjanževke, ki raste v Sloveniji, so odkrili močno pozitivno korelacijo med nadmorsko višino rastišča in vsebnostjo rutina, šibko pozitivno za hiperozid ter negativno korelacijo za kvercetin (26).

V literaturi ni podatkov za vpliv starosti drevesa na vsebnost fenolnih spojin v lubju. Znano pa je, da se v storžih borovcev vsebnost fenolov s starostjo zmanjšuje (19). Enako velja za liste topola, kjer je vsebnost fenolnih spojin v mladih listih trikrat večja kot v starih (27).

2 NAMEN DELA

Namen našega dela bo proučiti vpliv različnih dejavnikov na vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke (*Abies alba* Mill.). Proučevali bomo vpliv naslednjih dejavnikov:

- dela lubja (notranjega, srednjega in zunanjega dela),
- nadmorske višine rastišča,
- premera dreves,
- letnega časa ob nabiranju,
- skladiščenja posekanega drevesa.

Vzorci lubja bomo nabrali v različnih delih Slovenije, jih posušili, ločili na notranji, srednji in zunanji del ter izvedli ekstrakcijo. Sledila bo analiza vzorcev s tekočinsko kromatografijo visoke ločljivosti (HPLC).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

3.1.1 Vzorci

V poskusih smo uporabili posušeno lubje navadne jelke (*Abies alba* Mill.), ki smo ga nabrali na različnih lokacijah v Sloveniji (celoten seznam v poglavju 4 *Rezultati in razprava*). Večino vzorcev smo nabrali ročno ter sušili v senci in na prepihu, manjši del vzorcev pa smo dobili z Žage Štern (Rače).

3.1.2 Reagenti

Topila za ekstrakcijo

- prečiščena voda (Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani)

Topila za mobilne faze

- prečiščena voda (Fakulteta za farmacijo, Univerza v Ljubljani)
- acetonitril (J. T. Baker, Nizozemska)
- trifluoroocetna kislina (Carlo Erba, Italija)

Ostali

- metanol (Fluka, Švica in Sigma-Aldrich, Nemčija)
- aceton (Carlo Erba, Italija)

3.1.3 Aparature in laboratorijska oprema

Homogeniziranje

Mlinček Blender 8010EB model HGBTWT (Waring Commercial, ZDA)

Tehtanje

Analizna tehtnica Kern ALS 120-4, Kern & Sohn GmbH (Balingen, Nemčija)

Analizna tehtnica Metter PC 2000 (Zürich, Švica)

Ekstrakcija

Plastične epruvete, 14 ml, TPP (Transdingen, Švica)

Plastične epruvete, 50 ml, TPP (Transdingen, Švica)

Kuhalnik Končar (Slovenija)

Centrifugiranje

Centrifuga Centric 200R, Tehnica (Železniki, Slovenija)

Centrifuga Centric 400R, Tehnica (Železniki, Slovenija)

HPLC

Sistem UFCL XR Shimadzu 20AD XR

Detektor Diode Array SPD-M20A

Kolona Phenomenex Kinetex RP-18 100 × 4,6 mm

Računalniški program LC Solution Shimadzu 1.24 SP1

3.2 METODE

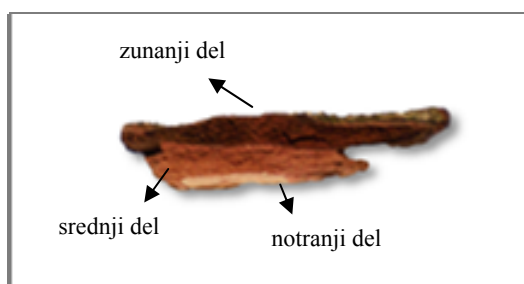
3.2.1 Pridobivanje vzorcev lubja navadne jelke

Vzorci smo odvezali iz živih dreves v prsni višini (1,3 m nad tlemi), v času od meseca maja do julija. Za odvzem vzorcev smo uporabili sekuro, s pomočjo tračnega metra pa smo izmerili premer vsakega drevesa. Nabrano lubje velikosti približno 15×15 cm smo posušili v senci in na prepihu. Po 7–10 dneh sušenja smo pripravili izvleček lubja navadne jelke.

3.2.2 Priprava vzorcev in ekstrakcija

Posušeno lubje smo ločili na tri plasti, zunanjo, srednjo in notranjo (slika 7) ter vsako uprašili. Mejo med zunanjo in srednjo plastjo smo določili na mestu, kjer pride do nenadne spremembe barve iz temno rjave v svetlejšo rjavo; tudi mejo med srednjo in notranjo plastjo smo določili glede na spremembo barve. Zunanja plast je predstavljala terciarno skorjo (debeline cca 5 do 12 mm), srednja plast je bila sekundarna skorja (debeline 5 do 12 mm), notranja plast pa je bilo 1 do 2 mm debelo območje ob kambiju. Pri zunanji in srednji plasti smo za uprašitev lubja uporabili mlinček, notranji del pa smo strli ročno v terilnici, saj ga je bilo količinsko precej manj. V plastične epruvete z volumnom 50 mL smo

natehtali po 1 g posamezne zdrobljene plasti lubja in dodali 10 mL vrele prečiščene vode. Vsebino epruvet smo nato 30 minut segrevali v vodni kopeli pri 100 °C. Med segrevanjem smo vsebino večkrat ročno premešali. Po končanem segrevanju smo epruvete ohladili na sobno temperaturo. Vzorce smo nato centrifugirali v plastičnih epruvetah volumna 50 mL 3 minute pri 1000 obratih na minuto, supernatant odpipetirali v čiste plastične epruvete volumna 1,5 mL, usedlino pa zavrgli. Supernatant smo še enkrat centrifugirali 3 minute pri 15.000 obratih na minuto, nato pa odpipetirali novi supernatant v čiste epruvete. Vsebino smo filtrirali preko filtrov Millex-GN (z velikostjo por 0,20 µm) v označene vial in vzorce analizirali s HPLC.



Slika 7: Lubje navadne jelke. Prikazani so notranji, srednji in zunanji del lubja.

3.2.3 HPLC

HPLC je ena izmed najpogostejše uporabljenih analiznih separacijskih tehnik, ki temelji na ločevanju in detekciji spojin v tekoči fazi. Ločevanje komponent vzorca se odvija zaradi porazdeljevanja molekul med dvema fazama, stacionarno in mobilno fazo. Razlog za priljubljenost metode je njena občutljivost, primernost za ločevanje nehlapnih in termolabilnih spojin ter njena vsesplošna uporabnost pri spojinah z velikim pomenom v industriji in znanosti.

Glede na relativno polarnost mobilne in stacionarne faze ločimo med reverznofazno in normalnofazno kromatografijo. V začetku razvoja tekočinske kromatografije so uporabljali močno polarne stacionarne faze (vodo ali trietilenglikol, adsorbiran na delce silicijevega dioksida) in nepolarna topila (heksan, izopropileter); v tem primeru se prva eluira najmanj polarna komponenta, ker je najbolj topna v mobilni fazi. Govorimo o normalnofazni kromatografiji. Pri klasični reverznofazni kromatografiji je stacionarna faza nepolarna

(organosiloksanska porozna površina; to je nosilec iz silikagela s kovalentno vezanimi alkilnimi skupinami), mobilna faza pa polarna (voda, metanol, acetonitril). Tukaj se najprej eluira najbolj polarna komponenta, zmanjšanje polarnosti mobilne faze, kar dosežemo s povečanjem deleža organskega topila (metanola, acetonitrila), pa skrajša retencijske čase (28, 29).

Dejavniki, ki so bili ves čas analize nespremenjeni

- mobilna faza A: 0,1 % TFA/H₂O
- mobilna faza B: 0,1 % TFA/MeCN
- trajanje analize: 15 min
- pretok: 2 mL/min
- valovna dolžina detekcije: 280 nm
- frekvenca zajemanja podatkov: 12,5 Hz oz. 80 msec
- kolona: Phenomenex Kinetex RP-18 100 × 4,6 mm (delci so sestavljeni iz 1,9 µm trdnega silikagelnega jedra, ki ga obdaja 0,35 µm plast silikagela v sol-gel stanju, ki tvori porozno lupino; na te delce so nato vezane C18 alkilne verige)
- volumen injiciranja: 20 µL
- temperatura: 40° C

V preglednici III prikazujemo gradientno spreminjanje deleža mobilne faze B med analizo.

Preglednica III: Gradientno spreminjanje mobilnih faz

Čas (min)	0–1	1–10	10–10,01	10,01–12	12–12,01	12,01–15
Gradient (% B)	5	5–30	30–100	100	100–5	5

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

V poskusih smo uporabili lubje navadne jelke (*Abies Alba* Mill.), ki smo ga nabrali ročno na različnih lokacijah v Sloveniji (preglednica IV). Tri vzorce smo pridobili na Žagi Štern.

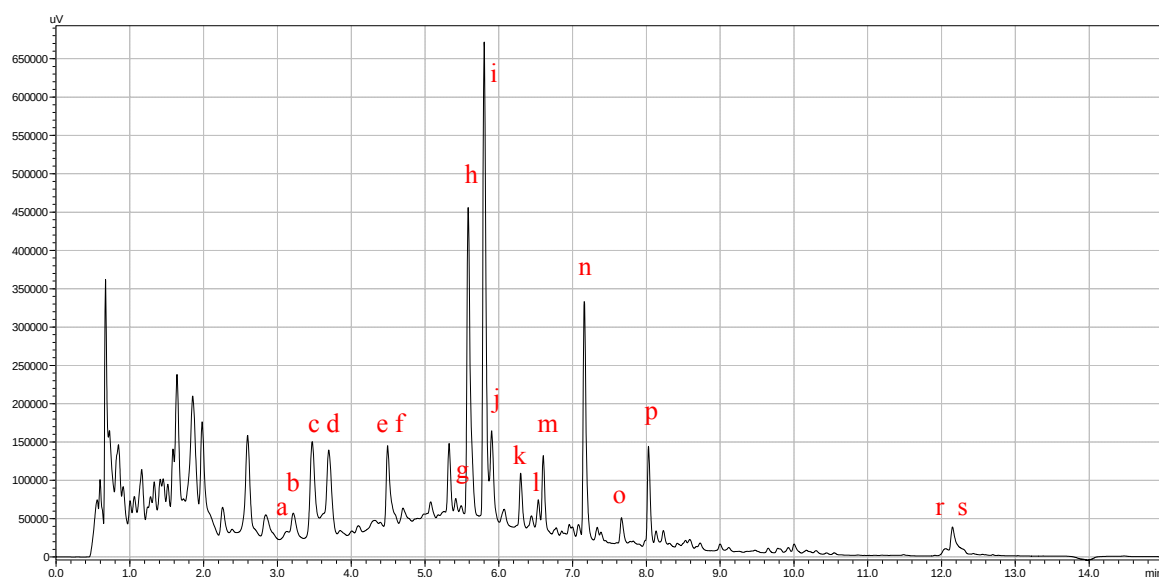
Preglednica IV: Vzorci lubja navadne jelke, ki smo jih uporabili pri praktičnem delu. Navedeno je rastišče navadne jelke, njena nadmorska višina ter premer drevesa.

Rastišče	Nadmorska višina (m)	Premer drevesa (cm)
Dolenjske Toplice	180	42
Dolenjske Toplice	190	63
Metlika	150	41
Trebnje	300	64
Pohorje (dom Jelka)	1000	57
Pohorje (dom Planika)	880	20
Slovenske Konjice	560	61
Celje	240	40
Trojane	540	60
Črmošnjice pri Semiču	420	48
Dolenja vas	460	90
Zaplana	660	82
Idrija	340	24
Dragomer	310	38
Dragomer	320	52
Davški slapovi	860	55
Snežnik	740	58
Lož	580	45
Lož	600	80
Lovrenc	480	50
Spodnje Gruškovje	360	48
Spodnje Gruškovje	360	64

Vzorci lubja iz Žage Štern:

- **jelka 1** s premerom **90 cm**, skladiščena **8** tednov na žagi,
- **jelka 2** s premerom **110 cm**, skladiščena **8** tednov na žagi,
- **jelka 3** s premerom **80 cm**, skladiščena **5** tednov na žagi.

Vse našteje vzorce lubja navadne jelke smo razdelili na tri plasti (zunanjo, srednjo in notranjo) ter analizirali vodni izvleček vsake plasti. Izbrali smo si osemnajst kromatografskih vrhov, ki se v znatni meri pojavljajo v vseh kromatogramih (v nadaljevanju poimenovani: *a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o, p, r, s*) in primerjali njihove površine (vsebnosti) med vzorci iz različnih krajev. Izbrali smo kromatografske vrhove z retencijskimi časi (R_t) med 3. in 12. minuto. Zaradi slabe ločljivosti kromatografskih vrhov v začetnem delu kromatograma (do 3. minute) nismo mogli določiti vrhov, ki bi se pojavljali pri več vzorcih.



Slika 8: Kromatogram, na katerem so označeni kromatografski vrhovi, ki smo jih spremljali pri vseh vzorcih. Lubje nabrano v Slovenskih Konjicah, notranji del.

Splošna HPLC-metoda, s katero bi lahko ločili vse flavonoide iz poljubnega vzorca, ne obstaja; celo za ločevanje znotraj posamezne skupine (flavoni, flavonoli, antocianini ...) je potrebno optimizirati več dejavnikov, npr. stacionarno fazo, topila in njihove gradiente.

Za analizo ločevanje flavonoidov najpogosteje uporabljamo stacionarno fazo reverznofaznega tipa, ponavadi z alkilnimi verigami dolžine osmih ali osemnajstih ogljikovih atomov. Znotraj posamezne skupine flavonoidov se glikozidi eluirajo pred svojimi aglikoni, znotraj aglikonov pa se prej eluirajo tisti, ki imajo več hidroksilnih skupin (bolj polarni). Reverznofazne kolone so sposobne ločitve oligomerov z isto stopnjo polimerizacije, težava pa se pojavi pri določanju le-te, saj se oligomeri ne eluirajo po vrsti glede na stopnjo polimerizacije. Prav tako ni možno ločevanje višjih oligomernih

proantocianidinov ($\geq$ tetramerov), ker se s stopnjo polimerizacije poveča tudi število možnih izomerov; retencijski časi izomerov se prekrivajo, zato se oligomeri ($>$ trimeri) eluirajo hkrati kot velik neločen kromatografski vrh. Zato je kvantifikacija oligomernih proantocianidinov netočna, saj lahko upoštevamo le ločene kromatografske vrhove, ki odgovarjajo dimerom in trimerom (30).

4.1 DNEVNA PONOVLJIVOST METODE

Gre za natančnost metode znotraj kratkega časovnega obdobja (znotraj enega dne). S pomočjo računalniškega programa smo določili površine pod kromatografskimi vrhovi, nato pa izračunali relativno standardno deviacijo (RSD) teh podatkov (preglednica V).

Preglednica V: RSD površin pod krivuljo vzorca s Pohorja (premer 20cm). Analize so potekale znotraj enega dneva v treh ponovitvah.

rastišče	Pohorje										
premer	20 cm										
meritev	1.			2.			3.				
krom. vrh	Rt (min)	AUC (mAU×min)	h (mm)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	h (mm)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	h (mm)	AUC _{povp.} (mAU×min)	RSD (%)
a											
b	3111,00	86.761	19.045	3.288	123.428	26.723	3.143	125.568	25.745	111.919	19,49
c	3.339	7.798	2.274	3.540	8.640	1.577	3.387	4.586	1.083	7.008	30,53
d	3.575	133.977	33.905	3.764	198.572	52.020	3.665	193.237	48.872	175.262	20,46
e											
f	4.444	120.102	36.152	4.594	165.888	55.142	4.536	167.016	52.661	151.002	17,73
g	5.473	4.131	1.900	5.561	6.177	2.811	5.534	6.608	3.016	5.639	23,47
h	5.583	280.939	98.169	5.661	396.024	141.753	5.637	400.339	141.744	359.101	18,86
i	5.796	550.492	215.802	5.842	820.209	321.639	5.822	823.776	321.243	731.492	21,43
j	5.893	65.349	27.109	5.944	113.335	45.525	5.924	115.222	47.164	97.969	28,85
k	6.305	162.208	57.538	6.334	234.236	83.044	6.319	237.261	83.382	211.235	20,11
l	6.546	119.612	46.968	6.575	177.063	71.282	6.560	177.183	70.218	157.953	21,02
m	6.619	71.581	32.160	6.647	102.729	46.779	6.633	105.189	47.336	93.166	20,11
n	7.153	616.302	251.595	7.172	898.164	361.234	7.159	899.820	364.895	804.762	20,28
o	7.680	202.554	70.347	7.697	299.509	104.450	7.685	299.692	104.899	267.252	20,97
p	8.025	168.722	60.727	8.039	248.205	89.796	8.028	247.808	89.321	221.578	20,66
r				12.230	16.781	5.251	12.194	32.376	9.224		
s	12.259	297.146	38.860	12.309	136.014	30.664	12.284	126.610	29.097	202.976	40,21

Pri analiznih metodah za proučevanje razlik med vzorci iz narave je zaželeno, da je RSD podatkov, pridobljenih v enem dnevu, manjša od 10 %. Metoda daje slabo ponovljivost, kar bomo upoštevali pri interpretaciji rezultatov.

4.2 DELEŽ POSAMEZNEGA DELA LUBJA

Zanimalo nas je, kolikšen delež glede na celotno maso lubja predstavlja posamezna plast. V ta namen smo stehali deset različnih vzorcev lubja, vsakega razdelili na tri plasti ter vsako stehali. Rezultati so prikazani v preglednici VI.

Preglednica VI: Delež posameznega dela lubja jelke iz različnih lokacij glede na celotno maso vzorca lubja

Rastišče; premer	Masa lubja (g)	Del lubja	Masa plasti (g)	Delež (%)
Lož; 45 cm	5,40	zunanj	1,94	36,6
		sredina	3,04	57,4
		notranj	0,32	6,0
Lož; 80 cm	5,71	zunanj	2,06	36,1
		sredina	2,80	49,0
		notranj	0,85	14,9
Snežnik; 58 cm	6,22	zunanj	2,23	35,9
		sredina	3,50	56,3
		notranj	0,49	7,9
Pohorje; 57 cm	3,68	zunanj	1,50	40,8
		sredina	1,83	49,7
		notranj	0,35	9,5
Trebnje; 64 cm	6,41	zunanj	3,08	48,0
		sredina	2,92	45,7
		notranj	0,40	6,2
Dolenjske Toplice; 63 cm	5,25	zunanj	2,58	49,1
		sredina	2,44	46,5
		notranj	0,23	4,4
Slovenske Konjice; 61 cm	7,22	zunanj	3,57	49,4
		sredina	3,34	46,3
		notranj	0,31	4,3
Davški slapovi; 55 cm	2,95	zunanj	1,48	50,2
		sredina	1,26	42,7
		notranj	0,21	7,1
Dragomer; 38 cm	2,61	zunanj	1,20	46,0
		sredina	1,29	49,4
		notranj	0,12	4,6
Dragomer; 52 cm	4,58	zunanj	1,52	33,2
		sredina	2,85	62,2
		notranj	0,21	4,6

Iz podatkov v preglednici VI smo izračunali povprečje deležev notranjega, srednjega in zunanjega dela lubja navadne jelke. Podatki so prikazani v preglednici VII.

Preglednica VII: Povprečen delež lubja posameznega dela lubja

Del lubja	Povprečen delež lubja (%)	Maksimalen delež (%)	Minimalen delež (%)
zunanj	42,53	50,2	33,2
srednj	50,52	62,2	42,7
notranj	6,95	14,9	4,3

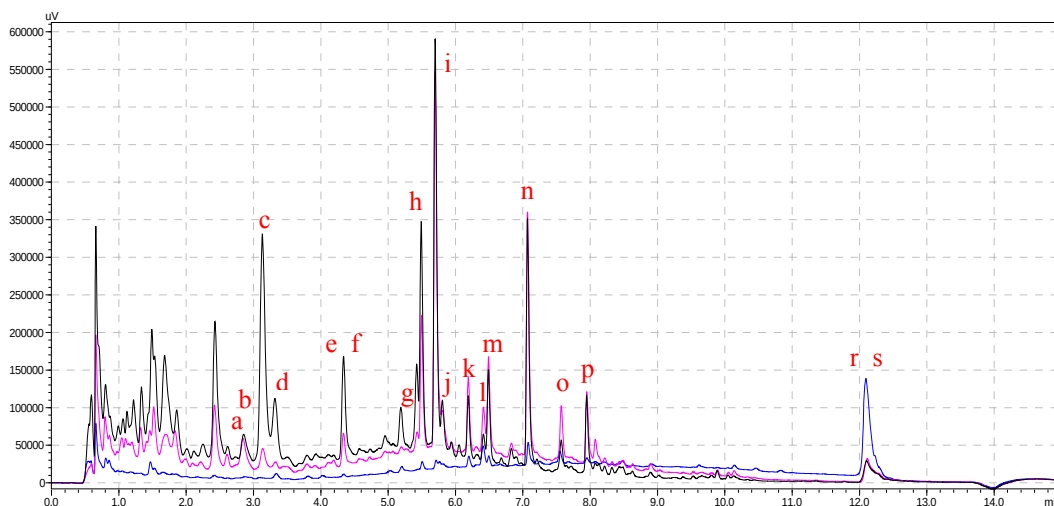
Iz preglednice VII je razvidno, da največji delež lubja predstavlja srednji del (50,52 %), sledi zunanji del (42,53 %), izrazito najmanjši delež pa ima notranji del (6,95 %).

4.3 VPLIV RAZLIČNIH DEJAVNIKOV NA VSEBNOST DOLOČENIH SPOJIN V LUBJU NAVADNE JELKE

4.3.1 Vpliv dela lubja

Zanimal nas je vpliv dela lubja (notranjega, srednjega in zunanjega) na vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke. Na podlagi predhodnih raziskav, ki so bile izvedene na Katedri za farmacevtsko biologijo, lahko sklepamo, da gre za polifenolne spojine. Ta vpliv smo ugotavljali na lubju jelke, nabrane na naslednjih lokacijah: Dolenjske Toplice, Trebnje, Dolenja vas in Slovenske Konjice.

Iz slike 9 je razvidno, da je vsebnost polifenolnih spojin najmanjša v zunanjem delu lubja navadne jelke. V srednjem in notranjem delu lubja je vsebnost večja – in sicer za kromatografski vrh *h* pri Rt 5,5 minut 17,2-krat večja v srednjem in 25,8-krat večja v notranjem delu.



Slika 9: Kromatogram izvlečka lubja navadne jelke, Dolenjske toplice, premer 63 cm. Prikazani so notranji (črna barva), srednji (roza barva) in zunanji del (modra barva).

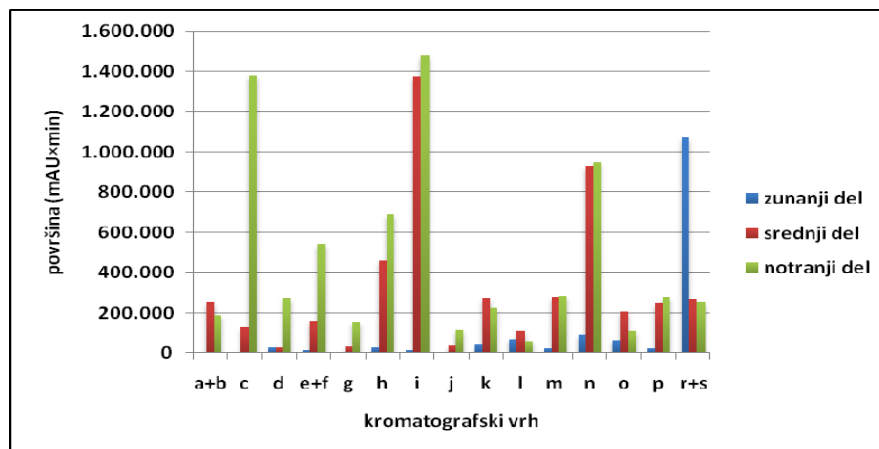
Površine izbranih kromatografskih vrhov s slike 9 smo zaradi boljše preglednosti prikazali s pomočjo histograma. Enako smo naredili tudi s tremi drugimi kromatogrami, ki

prikazujejo vzorce lubja iz Trebnjega, Dolenje vasi in Slovenskih Konjic; ustrezni histogrami so predstavljeni v nadaljevanju (slike 10, 11, 12, 13).

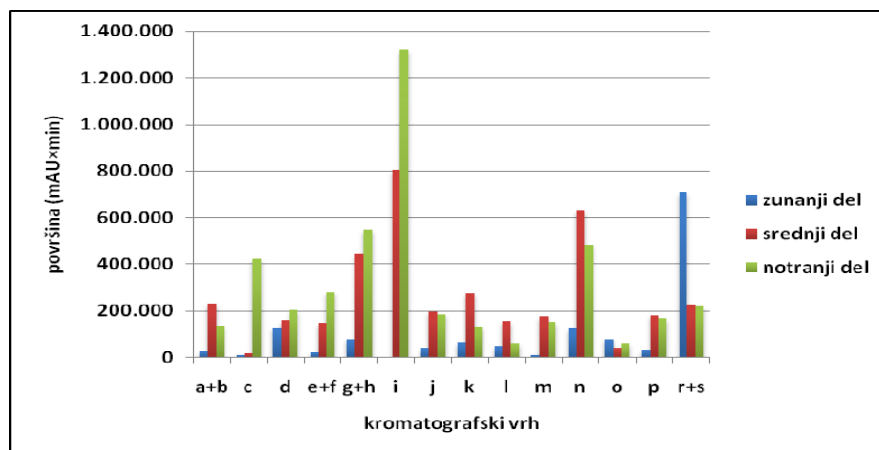
Slike 10, 11, 12, 13 nam prikazujejo vpliv dela lubja navadne jelke na površino izbranih kromatografskih vrhov v vzorcih iz različnih krajev. Ker so nekatere spojine na kromatogramu slabo ločene, smo površino dveh vrhov obravnavali kot celoto. Za kromatografska vrhova $a+b$ velja, da je njuna površina največja v srednjem delu lubja. Pri vrhu c ugotovimo, da je površina izrazito večja v notranjem delu lubja; pri vseh štirih vzorcih je ta površina vsaj dvakrat večja od površine srednjega dela lubja. Tudi pri kromatografskih vrhovih d , $e+f$, g , h in i ugotovimo največje površine pri notranjem delu. Pri kromatografskem vrhu j se izkaže, da je površina na dveh lokacijah (v Dolenjskih Toplicah in Slovenskih Konjicah) največja v notranjem delu, na drugih dveh lokacijah (v Dolenji vasi in Trebnjem) pa v srednjem delu. Pri kromatografskih vrhovih k in l dobimo največjo površino pri srednjem delu lubja. Pri vrhu m prevladujeta površini notranjega in srednjega dela, ki sta večinoma skoraj enaki. Za kromatografski vrh n ugotovimo, da je na dveh lokacijah (v Dolenji vasi in Trebnjem) največja površina v srednjem delu, na drugih dveh (v Dolenjskih Toplicah in Slovenskih Konjicah) pa v notranjem delu lubja. Pri vrhu o je na treh lokacijah največja površina v srednjem delu lubja, izjemo predstavlja lubje iz Trebnjega, kjer je največja površina v zunanem delu. Kromatografski vrh p ima na dveh lokacijah (v Dolenjskih Toplicah in Slovenskih Konjicah) največjo površino v notranjem delu, na drugih dveh pa v srednjem delu. Vrh $r+s$ je edini, pri katerem ugotovimo največjo površino v zunanem delu lubja; odstopa le vzorec iz Dolenje vasi, kjer je največja površina v srednjem delu.

Polifenolne spojine, ki jih predstavljata kromatografska vrhova $a+b$, so najbolj zastopane v srednjem delu lubja. Spojine, ki odgovarjajo vrhovom c , d , $e+f$, g , h in i , se v največji meri nahajajo v notranjem delu lubja. Pri kromatografskem vrhu j vidimo, da je na dveh lokacijah največja vsebnost spojine v srednjem delu, na drugih dveh lokacijah pa v notranjem delu lubja. Pri vrhovih k , l in o ugotovimo največjo vsebnost v srednjem delu, pri vrhovih m , n in p pa, da je ponekod največja vsebnost spojin v srednjem delu, drugje pa v notranjem delu. Kromatografska vrhova $r+s$ sta edina, ki izkazujeta največjo vsebnost polifenolov v zunanem delu lubja. Najverjetnejši vzrok za največjo vsebnost polifenolnih spojin v notranjem ter srednjem delu lubja je bližina živemu delu drevesa. Zunanji del pa je

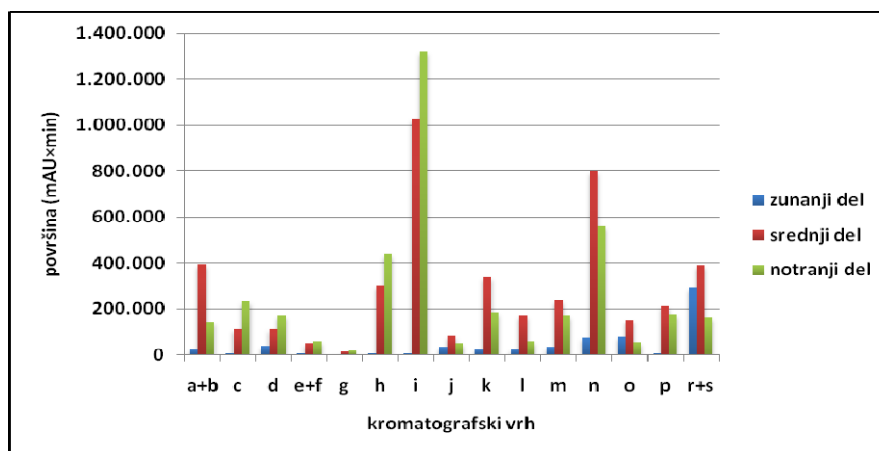
mrtvi del, ki je najdlje in najbolj izpostavljen zunanjim vplivom (kisik), zato tudi vsebuje precej manj polifenolnih spojin.



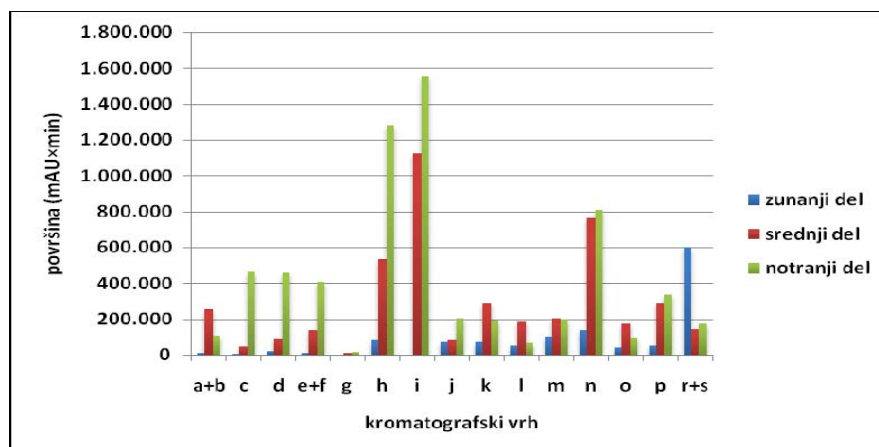
Slika 10: Vpliv dela lubja na površino posameznega kromatografskega vrha. Lubje navadne jelke iz Dolenjskih Toplic, premera 63 cm.



Slika 11: Vpliv dela lubja na površino posameznega kromatografskega vrha. Lubje navadne jelke iz Trebnjega, premera 64 cm.



Slika 12: Vpliv dela lubja na površino posameznega kromatografskega vrha. Lubje navadne jelke iz Dolenje vasi, premera 90 cm.



Slika 13: Vpliv dela lubja na površino posameznega kromatografskega vrha. Lubje navadne jelke iz Slovenskih Konjic, premera 61 cm.

Izbrali smo kromatografski vrh *i* ter med seboj primerjali njegove površine v različnih delih lubja na različnih lokacijah (preglednica VIII).

Preglednica VIII: Površina kromatografskega vrha i v vzorcih iz različnih krajev in različnih delov lubja

Rastišče	Dolenjske Toplice	Trebnje	Dolenja vas	Slovenske Konjice
Površina notranjega dela (mAU×min)	1.481.340	1.320.430	1.319.207	1.557.784
Povprečna površina notranjega dela	1.419.690			
Odstopanje (%)	4,34	6,99	7,08	9,73
Površina srednjega dela (mAU×min)	1.376.110	804.985	1.029.096	1.127.048
Povprečna površina srednjega dela	1.084.309			
Odstopanje (%)	26,9	25,8	5,1	3,9
Površina zunanjega dela (mAU×min)	13.603	2.792	6.008	2.485
Povprečna površina zunanjega dela	6.222			
Odstopanje (%)	118,6	55,1	3,4	60,1

Za notranji del lahko ugotovimo, da ni velikih odstopanj od povprečne površine. Pri srednjem delu od povprečja najbolj odstopata vzorca iz Dolenjskih Toplic in Trebnjega. Pri zunanjem delu pa precej odstopa vzorec iz Dolenjskih Toplic.

4.3.2 Vpliv nadmorske višine

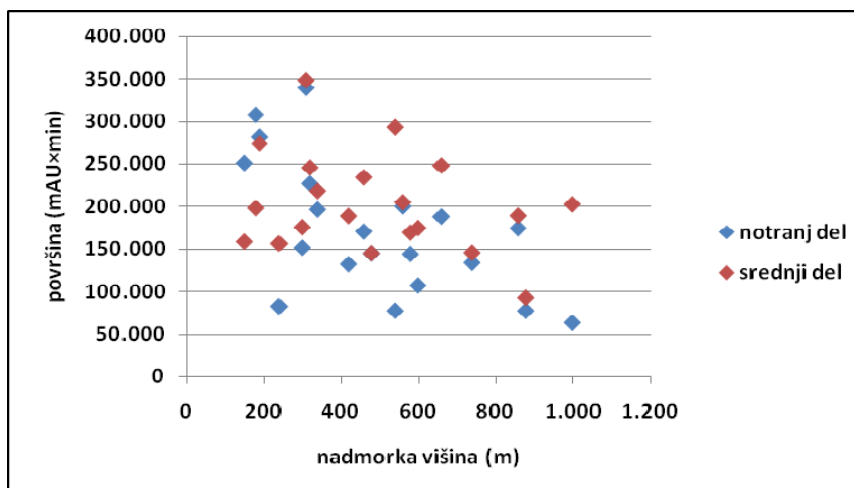
Zanimalo nas je, če obstaja povezava med vsebnostjo polifenolnih spojin v lubju in nadmorsko višino rastišča matičnega drevesa. V ta namen smo izračunali koeficient korelacije med nadmorsko višino rastišča in površino posameznega kromatografskega vrha. Med seboj smo primerjali podatke iz 20 različnih lokacij; podatki so zbrani v preglednici IX.

Preglednica IX: Koeficient korelacije med nadmorsko višino rastišča in površino posameznega kromatografskega vrha v vzorcih iz notranjega in srednjega dela lubja

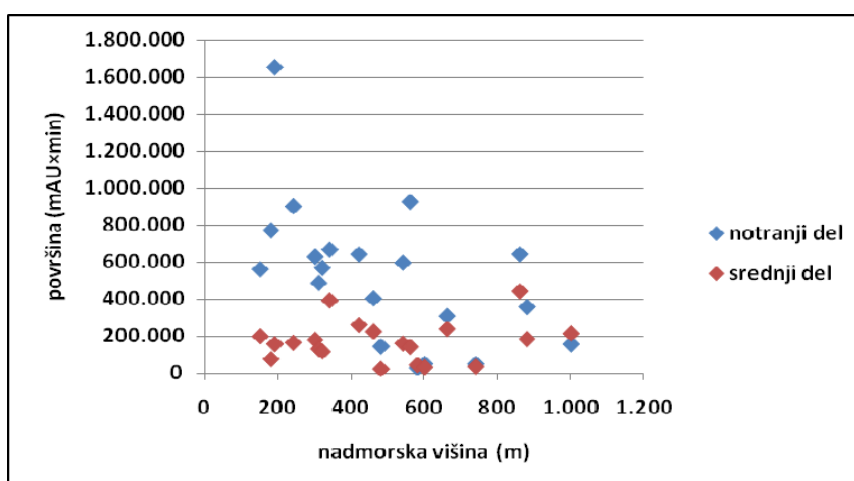
Kromatografski vrh	Koeficient korelacije	
	Notranji del	Srednji del
a + b	-0,084	-0,212
c + d	-0,555	0,148
e + f	-0,001	0,234
g + h	0,097	0,105
i + j	-0,410	-0,069
k	-0,432	-0,209
l	-0,310	-0,211
m	-0,617	-0,289
n	-0,461	-0,041
o	-0,447	-0,262
p	-0,385	-0,013
r + s	-0,190	-0,274

V večini primerov (83,34 %) se je izkazalo, da obstaja negativna korelacija med vsebnostjo polifenolnih spojin ter nadmorsko višino, kar pomeni, da se z nadmorsko višino niža vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke. Ta rezultat je nepričakovan in v nasprotju z literaturnimi podatki, ki povezujejo večjo vsebnost flavonoidov z višjo nadmorsko višino rastišča (10, 26). Pozitivna korelacija se je pojavila pri štirih kromatografskih vrhovih, in sicer pri začetnih.

Moč korelacije je največja pri kromatografskem vrhu *m*, in sicer pri notranjem delu lubja jelke ($r = -0,617$) (slika 14). Tudi pri kromatografskih vrhovih *c+d* se pri notranjem delu izkaže negativna moč korelacije ($r = -0,555$) (slika 15).



Slika 14: Površina kromatografskega vrha m v odvisnosti od nadmorske višine. Prikazani so podatki za notranji in srednji del lubja.



Slika 15: Površina kromatografskih vrhov c+d v odvisnosti od nadmorske višine. Prikazani so podatki za notranji in srednji del lubja.

4.3.3 Vpliv premera dreves

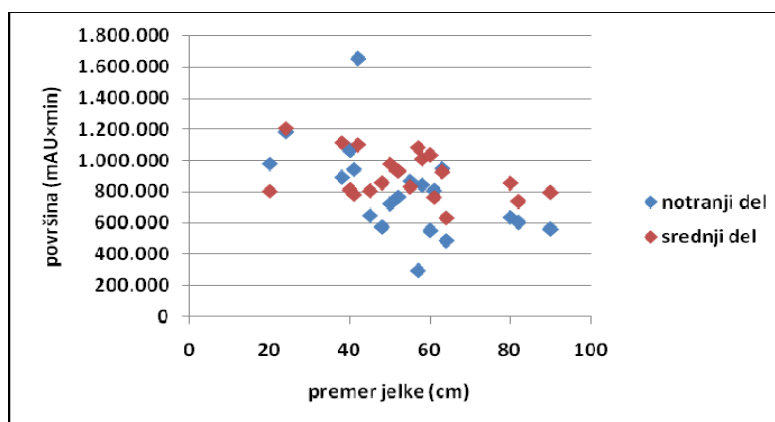
Zanimala nas je povezava med vsebnostjo posameznih polifenolnih spojin v lubju in premerom dreves. V ta namen smo za vsak izbran kromatografski vrh izračunali koeficient korelacije. Med seboj smo primerjali podatke iz 20 različnih lokacij; podatki so zbrani v preglednici X.

Preglednica X: Koeficient korelacije med premerom drevesa in površino posameznega kromatografskega vrha v vzorcih iz notranjega in srednjega dela lubja

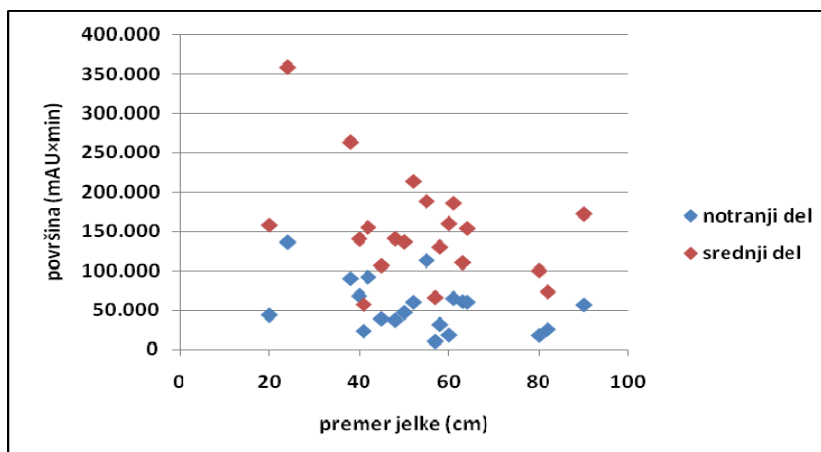
Kromatografski vrh	Koeficient korelacije	
	Notranji del	Srednji del
a + b	-0,139	0,403
c + d	-0,098	-0,121
e + f	-0,088	-0,001
g + h	0,072	0,081
i + j	-0,288	-0,019
k	-0,170	0,266
l	-0,403	-0,409
m	-0,093	0,258
n	-0,548	-0,381
o	-0,405	-0,312
p	-0,158	0,129
r + s	0,068	0,234

V večini primerov (66,67 %) se je izkazala negativna korelacija med vsebnostjo polifenolnih spojin ter premerom dreves, kar pomeni, da se z večanjem premera dreves niža vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke. Pozitivna korelacija se je pokazala pri osmih kromatografskih vrhovih.

Moč korelacije je največja pri kromatografskem vrhu *n*, in sicer pri notranji plasti lubja jelke ($r = -0,548$) (slika 16). Tudi pri kromatografskem vrhu *l* se pri notranjem ($r = -0,403$) in srednjem delu ($r = -0,409$) izkaže dokaj močna negativna korelacija (slika 17).



Slika 16: Površina kromatografskega vrha *n* v odvisnosti od premera jelke. Prikazani so podatki za notranji in srednji del lubja.



Slika 17: Površina kromatografskega vrha 1 v odvisnosti od premera jelke. Prikazani so podatki za notranji in srednji del lubja.

Vpliv premera dreves; ista lokacija

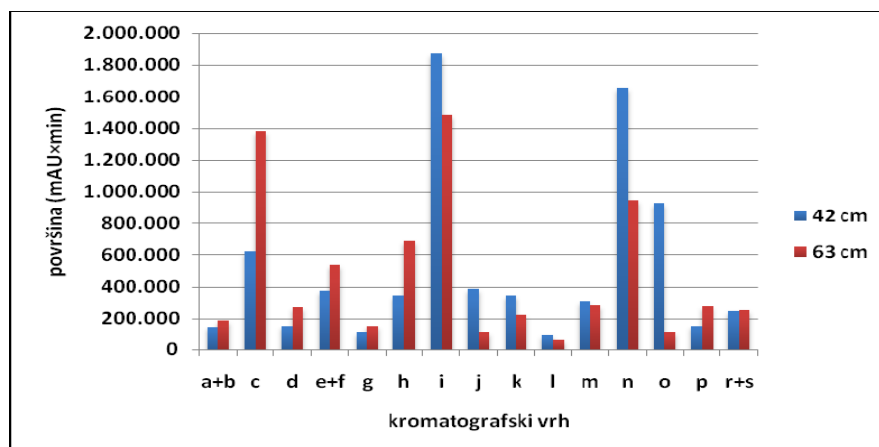
Zanimal nas je tudi vpliv premera dreves na vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke na isti lokaciji. V ta namen smo med seboj primerjali dva vzorca lubja z različnima premeroma, a z istega rastišča. Izbrali smo si tri lokacije: Dolenjske Toplice, Dragomer in Lož.

Dolenjske Toplice

Primerjali smo površine kromatografskih vrhov lubja dveh navadnih jelk z različnima premeroma (42 cm in 63 cm); primerjali smo njun notranji ter srednji del.

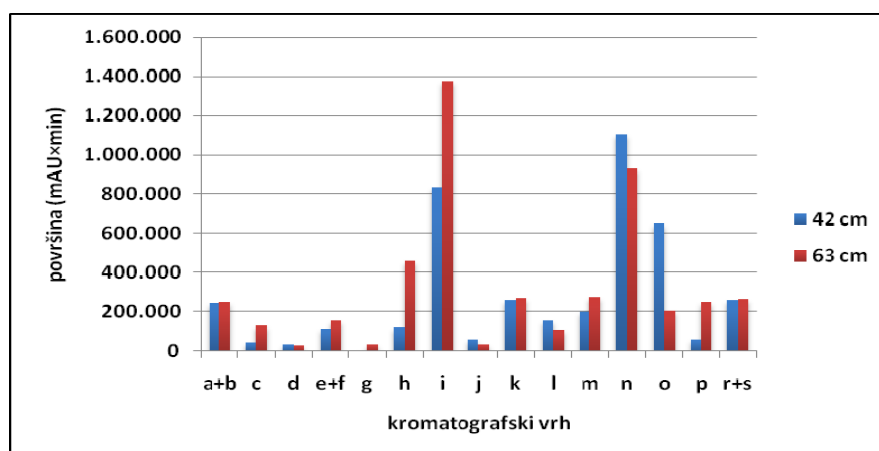
Pri primerjavi notranjih delov lubja (slika 18) ugotovimo, da ima lubje debelejšje jelke (premer 63 cm) večjo površino pod začetnimi kromatografskimi vrhovi ($a+b$, c , d , $e+f$, g in h). Pri kromatografskem vrhu c je ta površina približno dvakrat večja. Za kromatografske vrhove i , j , k , l , m , n in o pa se izkaže, da ima lubje z manjšim premerom (42 cm) večjo površino. Za kromatografska vrhova j in o se izkaže, da je njuna površina za več kot dvakrat večja v lubju jelke z manjšim premerom. Pri kromatografskih vrhovih p ter $r+s$ pa ima večjo površino lubje debelejšje jelke.

Ugotovimo, da ima debelejša jelka (premer 64 cm) večjo vsebnost polifenolnih spojin, ki odgovarjajo vrhovom $a+b$, c , d , $e+f$, g , h , p , $r+s$, pri kromatografskih vrhovih i , j , k , l , m , n , o pa ima tanjša jelka (premer 42 cm) večjo vsebnost omenjenih spojin.



Slika 18: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Dolenjskih Toplicah.

Pri primerjavi srednjih delov lubja (slika 19) opazimo, da ima lubje debelejšje jelke (64 cm) večjo površino pod začetnimi kromatografski vrhovi ($a+b$, c , $e+f$, g , h , i) ter k , m , p in $r+s$. Jelka s premerom 42 cm pa ima večjo površino le pri kromatografskih vrhovih d , j , l , n ter o .

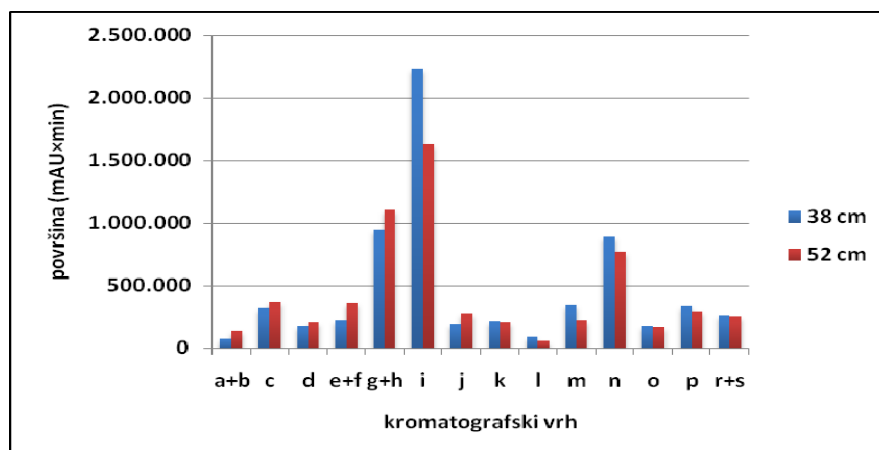


Slika 19: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Dolenjskih Toplicah.

Dragomer

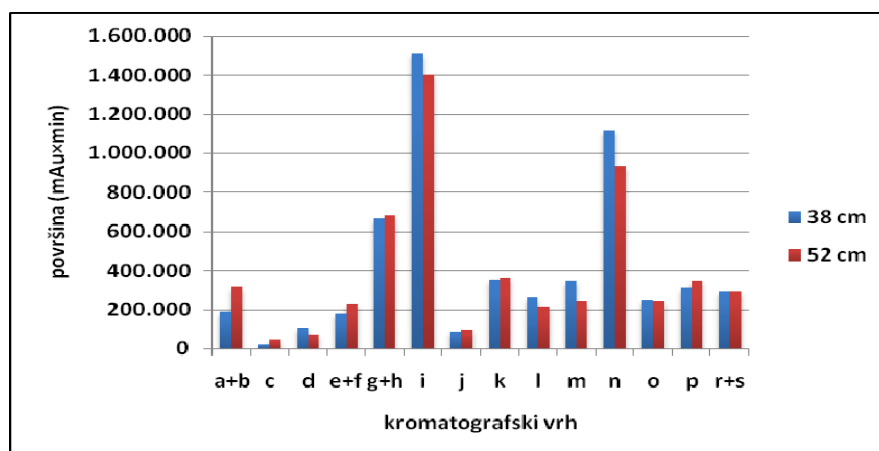
Primerjali smo površine kromatografskih vrhov lubja dveh navadnih jelk z različnima premeroma (38 cm in 52 cm); primerjali smo njun notranji ter srednji del.

Pri primerjavi notranjih delov lubja navadne jelke (slika 20) ugotovimo, da ima debelejša jelka (52 cm) večjo površino pri kromatografskih vrhovih $a+b$, c , d , $e+f$, $g+h$ in j . Ostali vrhovi imajo večje površine pri tanjši jelki (38 cm). Izkaže se, da so razlike v površinah med jelkama majhne, kar je tudi pričakovano, glede na dejstvo, da je razlika v njihovih premerih le 14 cm.



Slika 20: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Dragomerju.

Primerjava srednjih delov lubja (slika 21) pokaže, da ima lubje debelejšje jelke (52 cm) večje površine pod kromatografskimi vrhovi $a+b$, c , $e+f$, $g+h$, j (to se je izkazalo tudi pri notranjem delu istih jelk), k ter p ; pri kromatografskih vrhovih d , i , l , m , n , o , $r+s$ da večje površine vzorec tanjše jelke. Tudi pri srednjem delu lubja se izkaže, da so razlike med vzorcema majhne.

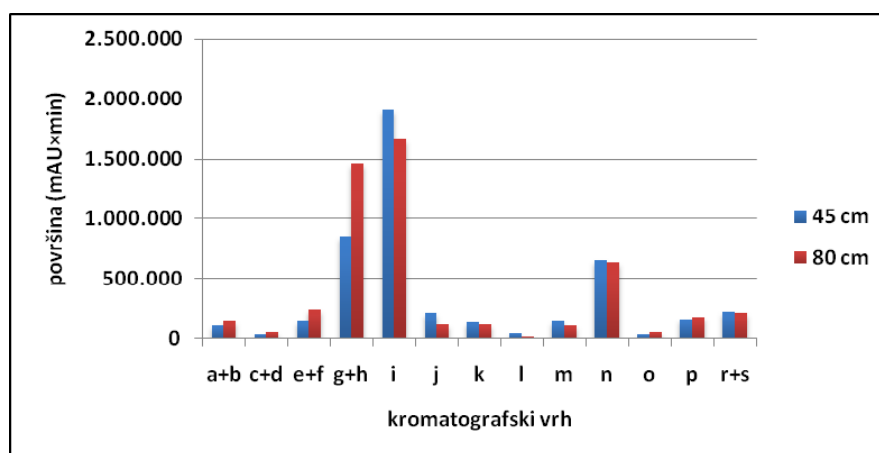


Slika 21: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Dragomerju.

Lož

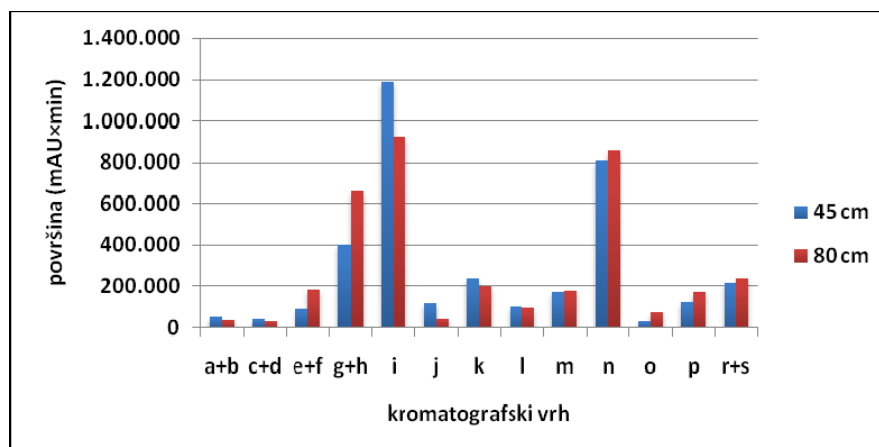
Primerjali smo površine kromatografskih vrhov lubja dveh navadnih jelk z različnima premeroma (45 cm in 80 cm); primerjali smo njun notranji ter srednji del.

Pri primerjavi notranih delov lubja (slika 22) ugotovimo, da ima pri začetnih kromatografskih vrhovih večjo površino debelejša jelka (premer 80 cm); to velja za kromatografske vrhove $a+b$, $c+d$, $e+f$ in $g+h$. Vrhovi i , j , k , l , m , n pa imajo večjo površino pri vzorcu tanjše jelke (premer 38 cm). Pri zadnjih treh kromatografskih vrhovih (o , p , $r+s$) da večje površine zopet vzorec debelejšje jelke.



Slika 22: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Ložu.

Primerjava srednjih delov lubja (slika 23) pokaže, da ima tanjša jelka (premer 38 cm) večje površine pri začetnih dveh kromatografskih vrhovih ($a+b$, $c+d$), pa tudi pri vrhovih i , j , k in l . Vzorec debelejšje jelke da večje površine pri zadnjih vrhovih (m , n , o , p , $r+s$), pred tem pa že pri $e+f$ in $g+h$.



Slika 23: Vpliv premera drevesa na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu lubja navadne jelke. Jelki nabrani v Ložu.

Za notranji del lubja pri vseh treh vzorcih velja, da je pri debelejših jelkah vsebnost spojin, ki odgovarjajo začetnim kromatografskim vrhovom (*a+b*, *c+d*, *e+f*, *g+h*), večja kot pri tanjših. To pomeni, da vsebuje lubje jelke v mladosti večji delež nepolarnih spojin, s staranjem pa tvori vse bolj polarne spojine.

Pri srednjem delu lubja in drugih kromatografskih vrhovih nismo opazili nobene povezave med vsebnostjo polifenolov in debelino dreves.

Pričakovali smo, da bomo največje razlike med vsebnostjo posameznih polifenolov ugotovili pri vzorcih iz Loža, saj se jelki najbolj razlikujeta glede na debelino (80 in 45 cm); podobno smo najmanjše razlike pričakovali pri vzorcih iz Dragomerja, saj sta si bili drevesi po debelini najbližje (38 in 52 cm). Vendar se ni izkazalo tako, saj so razlike v vsebnosti posameznih polifenolov med lubjem dreves iz Loža približno enake, ponekod pa celo manjše kot razlike med lubjem iz Dragomerja.

4.3.4 Vpliv časa

Zanimalo nas je, kako se s časom spreminja vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke. V ta namen smo si na lokaciji Spodnje Gruškovje izbrali dve navadni jelki različnih premerov ter dvakrat odvzeli lubje in ga analizirali.

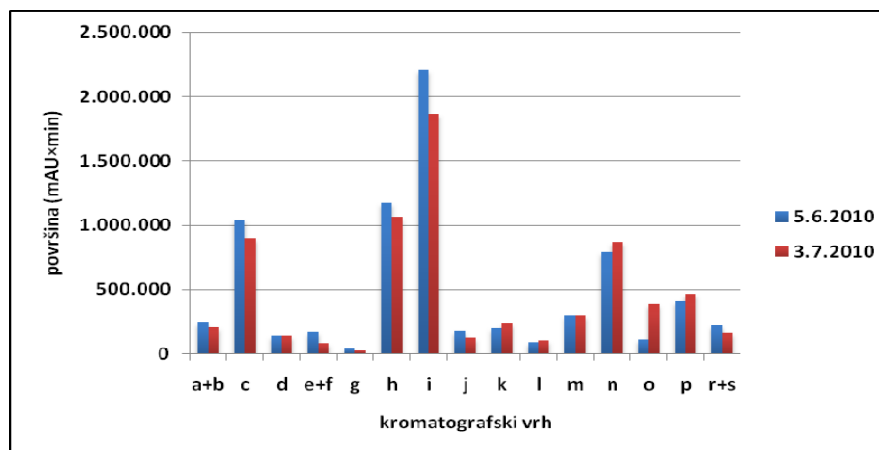
Navadna jelka, premera 48 cm

Prvi odvzem lubja smo izvedli 5.6.2010, drugi odvzem pa 3.7.2010. Po vsakem odvzemu smo lubje posušili ter v roku 7 do 10 dni pripravili vodne izvlečke lubja navadne jelke (notranjega, srednjega in zunanjšega dela) ter jih analizirali.

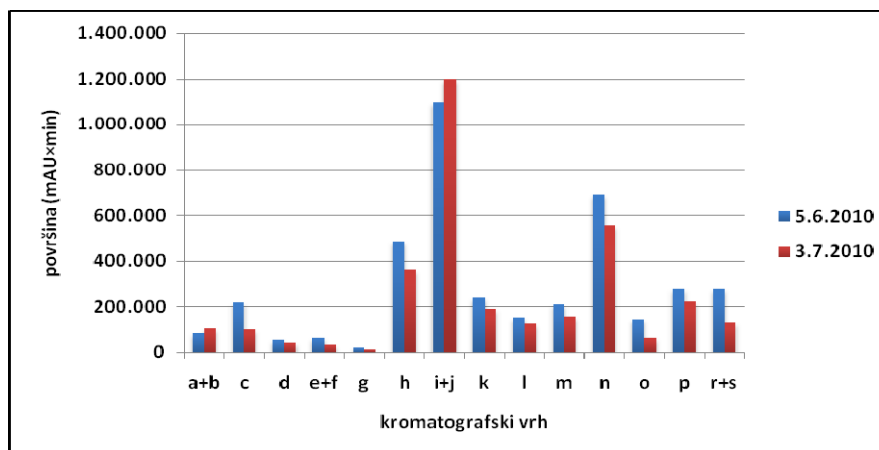
Pri primerjavi notranjih delov lubja navadne jelke (slika 24) smo ugotovili, da so se pri začetnih kromatografskih vrhovih (vključno z *j*) površine pri drugem odvzemu (3.7.2010) zmanjšale glede na prvi odvzem, pri vseh ostalih kromatografskih vrhovih pa so se površine povečale. Razlike so majhne, le pri kromatografskem vrhu *o* opazimo dvakratno povišanje glede na prvi odvzem.

Primerjava srednjih delov lubja (slika 25) nam pokaže, da je prišlo pri drugem odvzemu do rahlega zmanjšanja površin pod kromatografskimi vrhovi v primerjavi s prvim odvzemom. Izjemo predstavljajo le kromatografski vrhovi *a+b* ter *i+j*, kjer je prišlo do povečanja.

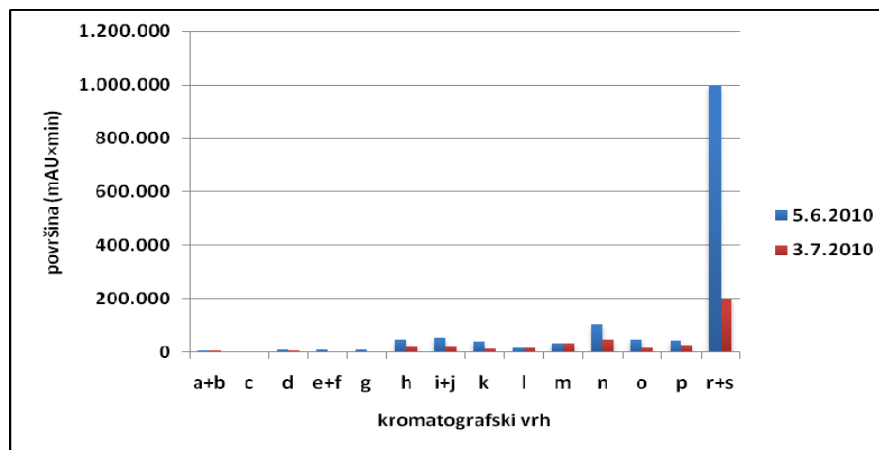
Pri primerjavi zunanjih delov lubja (slika 26) se je površina pod kromatografskimi vrhovi zmanjšala pri skoraj vseh kromatografskih vrhovih. Izjemo predstavljajo le vrhovi *a+b* ter *m*.



Slika 24: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 48 cm.



Slika 25: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 48 cm.



Slika 26: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v zunanjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 48 cm.

Navadna jelka, premera 64 cm

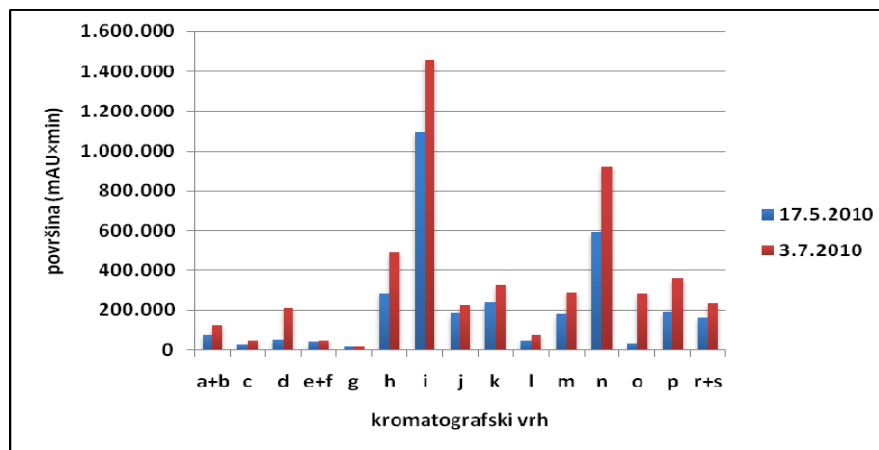
Prvi odvzem lubja smo izvedli 17.5.2010, drugega pa 3.7.2010. Po odvzemu smo lubje posušili ter v roku 7 do 10 dni pripravili vodne izvlečke lubja (notranjega srednjega in zunanjega dela) ter jih analizirali.

Pri primerjavi notranjih delov lubja navadne jelke (slika 27) smo ugotovili, da je med prvim in drugim odvzemom lubja pri vseh opazovanih kromatografskih vrhovih prišlo do zvečanja površine. Do dvakratnega povečanja površine je prišlo pri kromatografskih vrhovih *d* in *o*, pri ostalih kromatografskih vrhovih so razlike manjše.

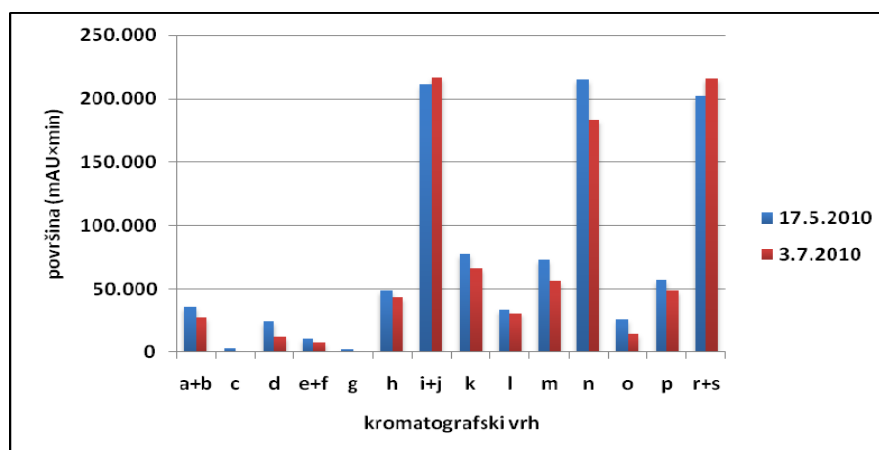
Pri srednjem delu lubja (slika 28) je pri skoraj vseh kromatografskih vrhovih prišlo do zmanjšanja površine, ki pa je zelo majhno. Izjemo predstavljajo le kromatografski vrhovi $i+j$ in $r+s$, kjer je prišlo do rahlega povečanja površin.

Pri primerjavi zunanjih delov lubja (slika 29) niso prikazani začetni kromatografski vrhovi, ker so bile njihove površine izredno majhne. Za prikazane kromatografske vrhove pa velja, da se je njihova površina pri drugem odvzemu vzorca lubja zvečala.

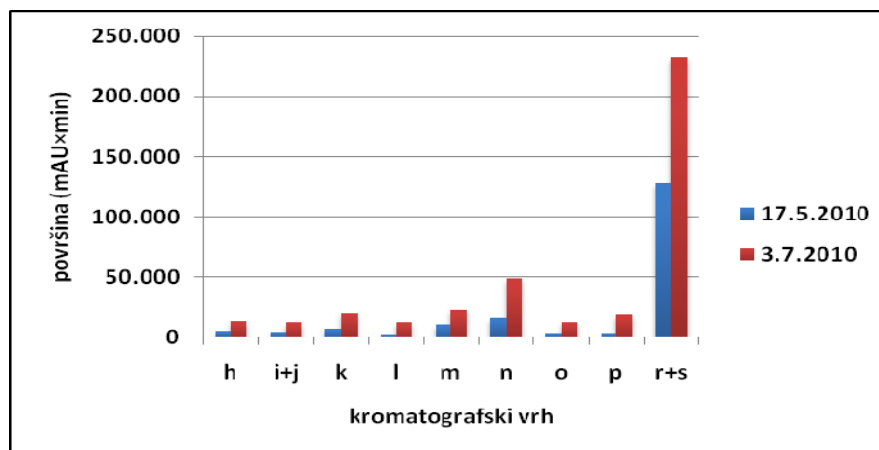
Na splošno lahko ugotovimo, da je prišlo v notranjem in zunanjem delu do rahlega povečanja vsebnosti polifenolnih spojin, v srednjem delu pa do rahlega zmanjšanja.



Slika 27: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v notranjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 64 cm.



Slika 28: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v srednjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 64 cm.



Slika 29: Vpliv časa rasti na površino posameznega kromatografskega vrha v zunanjem delu navadne jelke. Jelka nabrana v Spodnjem Gruškovju na nadmorski višini približno 360 m, premera 64 cm.

Za drevesa je značilno periodično menjavanje obdobj aktivnosti in mirovanja kambija, ki je v splošnem povezano z izmenjevanjem hladnih in toplih obdobj. Delitvena aktivnost kambijevih celic se pri drevesih zmerne pasu začne spomladi in zaključi pozno poleti.

Za notranji del lubja opazovanih dveh jelk lahko na podlagi rezultatov domnevamo, da je aktivnost teh celic največja spomladi in posledično tudi vsebnost polifenolov; ugotovili smo, da se ta aktivnost povečuje od 17.5. do 5.6., nakar pride do rahlega upada. Enako ugotovimo za zunanji del lubja. Pri srednjem delu lubja pa opazimo, da se vsebnost polifenolov v obdobju od 17.5. do 3.7. zmanjša.

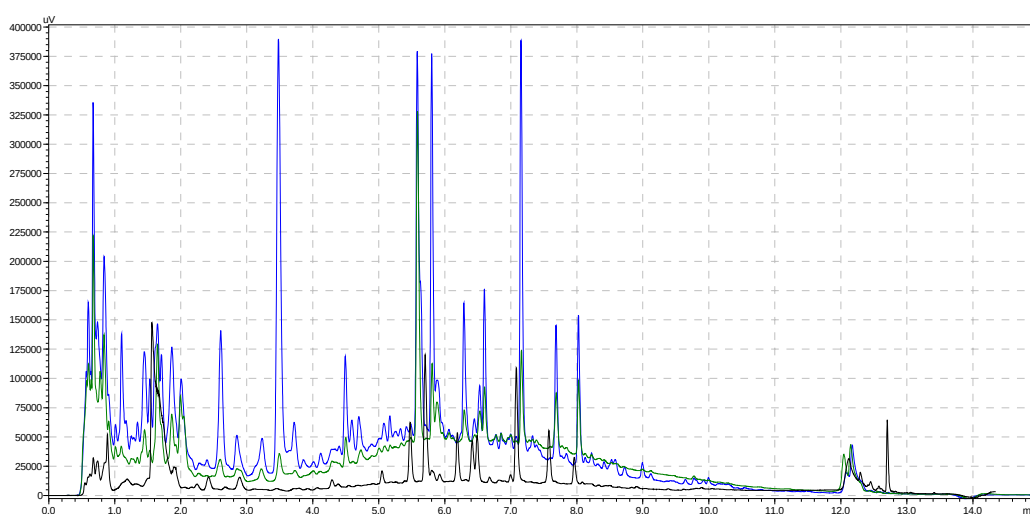
4.3.5 Vpliv skladiščenja posekanega drevesa

Zanimalo nas je, kakšen vpliv ima skladiščenje posekanega drevesa na vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke. V ta namen smo pridobili lubje navadne jelke iz Žage Štern (Rače). Analizirali smo notranji in srednji del lubja treh navadnih jelk:

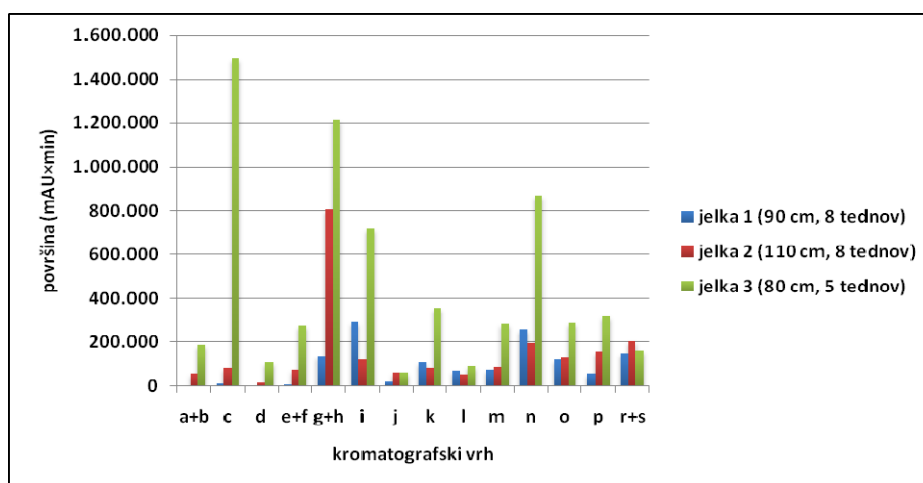
- **jelka 1** s premerom **90 cm**, skladiščena **8** tednov na žagi,
- **jelka 2** s premerom **110 cm**, skladiščena **8** tednov na žagi,
- **jelka 3** s premerom **80 cm**, skladiščena **5** tednov na žagi.

Primerjali smo notranje ter srednje dele teh jelk (slike 30, 31 in 32).

Iz slik 30, 31 je jasno razvidno, da ima izvleček notranjega dela lubja navadne jelke 3 (skladiščene 5 tednov) največjo vsebnost polifenolnih spojin pri skoraj vseh opazovanih kromatografskih vrhovih. Izjemo predstavljajo le vrhovi j in $r+s$. Pri vrhovih $a+b$, c , d , $e+f$, i , k , m in n opazimo pri jelki 3 dvakrat večje površine v primerjavi z ostalima dvema jelkama. Jelki 1 in 2 sta bili obe skladiščeni 8 tednov, razlikujeta se le v premeru drevesa. V podpoglavju 4.2 *Vpliv premera dreves* smo ugotovili, da imajo debelejša drevesa pri nižjih retencijskih časih kromatografske vrhove z večjimi površinami, za kromatografski vrh i pa velja obratno, kar potrdimo tudi v tem primeru. Pri kromatografskih vrhovih $a+b$, c , d , $e+f$, $g+h$ ima jelka 2 (premer 110 cm) večjo površino kot jelka 1 (premer 80 cm).



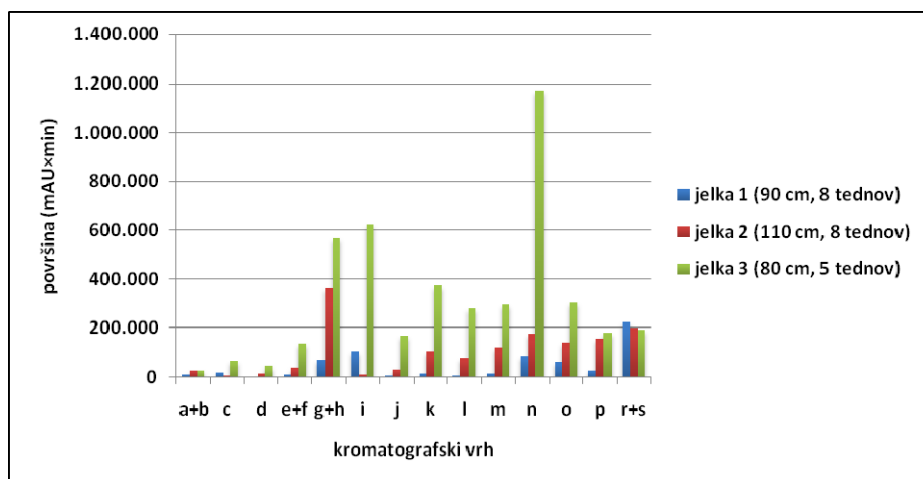
Slika 30: Primerjava kromatogramov notranjih delov lubja navadne jelke. Prikazane so jelka 1 (črna barva), jelka 2 (zelena barva) in jelka 3 (modra barva).



Slika 31: Vpliv skladiščenja posekanih navadnih jelk na površino posameznega kromatografskega vrha. Prikazani so notranji deli jelke 1 (modra barva), jelke 2 (rdeča barva) in jelke 3 (zelena barva).

Iz slike 32 je razvidno, da ima izvleček srednjega dela lubja navadne jelke 3 (skladiščena 5 tednov) največjo vsebnost polifenolnih spojin pri skoraj vseh opazovanih kromatografskih vrhovih. Izjemo predstavlja le kromatografski vrh $r+s$, kjer pa so površine pri vseh treh jelkah precej podobne. Pri kromatografskih vrhovih c , d , $e+f$, i , j , k , l , m , n in o opazimo pri jelki 3 dvakrat večje površine kot pri ostalih dveh jelkah.

Primerjava jelk 1 in 2 pokaže, da ima jelka 2 (premer 110 cm) skoraj pri vseh kromatografskih vrhovih večje površine kot jelka 1 (premer 90 cm), kar pomeni, da ima jelka 2 večjo vsebnost polifenolnih spojin v primerjavi z jelko 1. Izjemo predstavljajo kromatografski vrhovi c , i in $r+s$.



Slika 32: Vpliv skladiščenja posekanih navadnih jelk na površino posameznega kromatografskega vrha. Prikazani so srednji deli jelke 1 (modra barva), jelke 2 (rdeča barva) in jelke 3 (zelena barva).

Iz slik 31 in 32 je razvidno, da smo dobili pri vzorcu jelke 3 (skladiščene 5 tednov) veliko večje površine pod kromatografskimi vrhovi, tako v notranjem kot srednjem delu lubja, kot pa pri jelkah 1 in 2, kar pomeni, da je tudi vsebnost polifenolnih spojin večja. Ugotovili smo, da skladiščenje navadne jelke vpliva na vsebnost polifenolnih spojin v lubju, saj se s staranjem lubja vsebnost polifenolnih spojin zmanjšuje. Najverjetnejši vzroki za to je izpostavljenost debla vremenskim razmeram, razgradnja in encimski procesi v lubju drevesa.

5 SKLEP

1. Med posameznimi deli lubja (notranjim, srednjim in zunanjim delom) se pokažejo razlike v vsebnosti polifenolnih spojin. Začetni kromatografski vrhovi (do 5,6 minute) kažejo na največjo vsebnost polifenolnih spojin v notranjem delu lubja, pri kasnejših vrhovih (od j oz. 5,7 minute naprej) pa je vsebnost v notranjem in srednjem delu približno enaka. Zunanji del lubja vsebuje najmanjši delež polifenolov; izjema so spojine, ki jih predstavljata zadnja vrhova $r+s$, ki se v največji meri nahajajo prav v tem delu lubja.
2. Pri proučevanju vpliva nadmorske višine na vsebnost polifenolnih spojin, smo ugotovili, da v večini primerov (83,34 %) obstaja negativna korelacija med vsebnostjo polifenolnih spojin ter nadmorsko višino, kar pomeni, da se z nadmorsko višino niža vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke.
3. Prav tako smo v večini primerov (66,67 %) dokazali negativno korelacijo med vsebnostjo polifenolnih spojin ter premerom dreves, kar kaže na to, da se z večanjem premera dreves (s staranjem) niža vsebnost polifenolnih spojin v lubju navadne jelke. Pri proučevanju vpliva premera dreves z iste lokacije smo za notranji del ugotovili, da je pri debelejših jelkah vsebnost spojin, ki odgovarjajo začetnim kromatografskim vrhovom ($a+b$, $c+d$, $e+f$, $g+h$), večja kot pri tanjših. Pri drugih delih lubja in drugih kromatografskih vrhovih nismo opazili nobene povezave med vsebnostjo polifenolov in debelino dreves na isti lokaciji.
4. Za notranji del lubja opazovanih dveh jelk (Spodnje Gruškovje 48 cm in 64 cm) lahko domnevamo, da je aktivnost kambijskih celic največja spomladi in posledično tudi vsebnost polifenolov; ugotovili smo, da se ta aktivnost povečuje od 17.5. do 5.6., nakar pride do rahlega upada. Enako ugotovimo za zunanji del lubja. Pri srednjem delu lubja pa opazimo, da se vsebnost polifenolov v obdobju od 17.5. do 3.7. zmanjša.
5. Ugotovili smo, da skladiščenje navadne jelke vpliva na vsebnost polifenolnih spojin v lubju, saj se s staranjem lubja vsebnost polifenolnih spojin zmanjšuje. Vzorec jelke 3 (skladiščene 5 tednov) ima večje površine pod kromatografskimi vrhovi, tako v notranjem in srednjem delu, kot pa jelki 1 in 2 (skladiščeni 8 tednov).

6 LITERATURA

1. Prijatelj N. Farmakognozija, Rastlinske droge, DZS, Ljubljana, 2003: 33-34.
2. Wikipedia. http://sl.wikipedia.org/wiki/Bela_jelka, dostop: december 2010.
3. Dakskobler I, Marinšek A. Pregled jelovih rastišč v Sloveniji. Zbornik gozdarstva in lesarstva 2009; 89: 43-54.
4. Ficko A, Bončina A. Silver fir (*Abies alba* Mill.) distribution in Slovenian forests. Zbornik gozdarstva in lesarstva 2006; 79: 19-35.
5. Bončina A, Ficko A, Klopčič M, Matijašič D, Poljanec A. Gospodarjenje z jelko v Sloveniji. Zbornik gozdarstva in lesarstva 2009; 90: 43-56.
6. Zauner G. Iglavci: spoznavanje in določanje iglavcev v naravi in nasadih, Cankarjeva založba, Ljubljana, 2000: 2-3.
7. *Abies alba*, <http://luirig.altervista.org/cpm/thumbnails3.php>, dostop: december 2010.
8. Petauer T. Leksikon rastlinskih bogastev, 1.izdaja, Tehniška založba Slovenije, Ljubljana, 1993: 11, 438.
9. Bruneton J. Pharmacognosy, Phytochemistry Medicinal Plants, 2nd edition, Lavoisier Publishing, 1999: 223-261, 309-403.
10. Daayf F, Lattanzio V. Recent advances in polyphenol research, volume 1, Wiley-Blackwell, Oxford, 2008: 3, 5-24.
11. Fine AM. Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications. *Altern Med Rev* 2000; 5: 144-151.
12. Galle Toplak K. Zdravilne rastline na Slovenskem, Mladinska knjiga, Ljubljana, 2002: 18-20.
13. Kočevar N, Glavač I, Kreft S. Flavonoidi. *Farm Vest* 2007; 58: 145-148.
14. Pietta PG. Flavonoids as Antioxidants. *J Nat Prod* 2000; 63: 1035-1042.
15. Mazza GJ. Antocyanins and heart health. *Ann Ist Super Sanita* 2007; 43: 369-374.
16. Romani A, Ieri F, Turchetti B, Mulinacci N, Vincieri FF, Buzzini P. Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2006; 41: 415-420.
17. Leite da Silva Porto PA, Laranjinha JAN, Pereira de Freitas VA. Antioxidant protection of low density lipoprotein by procyanidins: structure/activity relationships. *Biochemical Pharmacology* 2003; 66: 947-954.

18. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2002; 13: 572-584.
19. Zulaica-Villagomez H, Peterson DM, Herrin L, Young RA. Antioxidant activity of different components of pine species. *Holzforschung* 2005; 59: 156-162.
20. Ku CS, Jang JP, Mun SP. Exploitation of polyphenol-rich pine barks for potent antioxidant activity. *J Wood Sci* 2007; 53: 524-528.
21. Packer L, Rimbach G, Virgili F. Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, Pycnogenol. *Free Radical Biology & Medicine* 1999; 27: 704-724.
22. Fetrow CW, Avila JR. Professional's handbook of complementary & alternative medicines, 3rd edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2004: 655-656.
23. Zibadi S, Rohdewald PJ, Park D, Watson RR. Reduction of cardiovascular risk factors in subjects with type 2 diabetes by Pycnogenol supplementation. *Nutrition Research* 2008; 28: 315-320.
24. Zule J, Kozjan G. Polifenoli v različnih vrstah macesna (*Larix* spp.). *Zbornik gozdarstva in lesarstva* 2008; 86: 51-58.
25. Yang XW, Li SM, Shen YH, Zhang WD. Phytochemical and Biological Studies of *Abies* Species. *Chemistry & Biodiversity* 2008; 5: 56-81.
26. Umek A, Kreft S, Kartnig T, Heydel B. Quantitative Phytochemical Analyses of Six *Hypericum* Species Growing in Slovenia. *Planta Med* 1999; 65: 388-390.
27. Meyer GA, Montgomery ME. Relationships between leaf age and the food quality of cottonwood foliage for the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Oecologia* 1987; 72: 527-532.
28. Kočevan N, Kreft S, Obermajer N. Identifikacija in karakterizacija bioloških zdravil ter analiza bioloških vzorcev. V: Štrukelj B, Kos J. Biološka zdravila: od gena do učinkovine, 1. izd., Slovensko farmacevtsko društvo, Ljubljana, 2007: 136-183.
29. Skoog DA, Holler FJ, Crouch SR. Principles of instrumental analysis, 5th edition, Saunders College Publishing, USA, 1998: 725-769.
30. Santos-buelga C, Williamson G. Methods in polyphenol analysis, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2003: 92-95, 276.

7 PRILOGA

Preglednica XI: Legenda oznak na preglednicah v prilogi

rastišče	rastišče navadne jelke
premer	premer navadne jelke
krom. vrh	kromatografski vrh
odvzem	datum odvzema lubja
Rt (min)	retencijski čas
AUC (mAU×min)	površina pod krivuljo (površina kromatografskega vrha)
višina (mAU)	višina kromatografskega vrha

Preglednica XII: Podatki za notranje dele lubja navadne jelke

rastišče premer krom. vrh	Dolenjske Toplice 42 cm			Dolenjske Toplice 63 cm			Metlika 41 cm			Trebnje 64 cm			Pohorje 57 cm			Pohorje 20 cm		
	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)
a	do 2.57	12.395.144	5.464	do 2.57	10.863.380	7.191	do 2.56	12.019.979	7.511	do 2.51	7.594.068	3.069	do 2.6	3.287.799	2.229	do 2.6	7.444.988	
b	2.736	19.014	24.474	2.733	7.191	2.469	2.719	7.511	2.321	2.760	11.137	3.069	3.022	19.971	2.229	3.132	100.140	16.805
c	2.861	126.154	24.474	2.853	182.793	33.415	2.856	171.499	32.520	2.890	125.304	21.931	3.022	19.971	2.229	3.132	100.140	16.805
d	3.138	619.344	112.066	3.131	1.380.662	284.654	3.138	145.334	26.269	3.159	424.196	86.226	3.289	126.999	19.484	3.529	266.019	30.056
e	3.316	152.541	37.076	3.317	272.245	61.475	3.310	416.803	89.038	3.342	205.345	47.178	3.491	30.505	5.051	3.644	93.057	27.264
f	4.333	375.184	91.825	4.336	540.845	134.741	4.413	13.830	4.643	4.347	281.420	69.009	4.386	52.836	9.462	4.518	322.706	97.423
g	5.427	110.788	38.931	5.423	151.196	66.528	5.432	23.423	7.417	5.439	41.150	18.159	5.372	10.466	3.015	5.525	9.981	4.730
h	5.501	343.408	131.571	5.489	688.866	254.024	5.498	468.278	166.556	5.507	506.262	184.910	5.486	233.639	76.393	5.627	715.269	231.143
i	5.699	1.875.239	656.482	5.697	1.481.340	527.328	5.704	1.170.669	426.909	5.712	1.320.430	476.966	5.673	402.572	154.987	5.812	1.433.110	530.327
j	5.802	385.316	152.197	5.805	113.027	43.322	5.809	143.541	55.363	5.816	187.740	71.834	5.768	28.043	11.774	5.913	290.662	114.904
k	6.191	343.826	122.303	6.188	226.624	81.099	6.195	185.462	64.591	6.203	134.382	48.542	6.175	70.757	19.886	6.319	136.506	36.476
l	6.420	91.722	39.393	6.414	60.971	26.422	6.414	23.383	10.648	6.431	60.115	26.614	6.396	10.339	4.295	6.558	43.661	19.771
m	6.493	307.767	121.267	6.488	282.108	108.937	6.495	250.963	55.093	6.503	151.298	60.894	6.475	63.031	25.056	6.628	77.016	33.423
n	7.068	1.655.650	563.003	7.069	948.874	324.856	7.072	943.857	333.869	7.085	485.667	154.232	7.009	293.924	108.397	7.157	979.734	384.694
o	7.570	929.831	308.908	7.569	108.176	36.978	7.572	352.383	110.999	7.578	59.806	18.180	7.525	39.478	14.930	7.683	267.646	95.923
p	7.955	154.085	53.024	7.947	277.874	99.821	7.952	219.608	79.405	7.959	165.687	59.956	7.870	48.947	17.416	8.026	219.880	79.784
r													12.038	4.629	1.582	12.164	23.351	6.140
s	12.147	246.760	25.283	12.106	254.928	27.537	12.117	265.343	31.342	12.147	220.539	23.506	12.113	161.517	29.167	12.256	152.082	32.100
rastišče premer krom. vrh	Slovenske Konjice 61 cm			Celje 40 cm			Črmošnice 48 cm			Dolenja vas 90 cm			Zaplana 80 cm			Idrija 24 cm		
	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU·min)	višina (mAU)
a	do 2.77	11.611.906	3.425	do 2.8	9.238.780	7.987	do 2.8	7.800.514	19.403	do 2.82	7.226.579	21.548	do 2.8	8.205.660	2.572	do 2.82	10.446.279	
b	3.127	13.084	27.310	3.130	29.517	7.987	3.266	105.421	19.403	3.272	143.588	21.548	3.209	8.051	2.572	3.212	269.370	38.360
c	3.471	465.668	113.260	3.484	607.094	158.814	3.511	361.885	88.940	3.515	232.198	56.025	3.518	218.396	52.111	3.512	314.131	82.990
d	3.695	460.620	99.510	3.705	294.885	80.025	3.733	280.849	63.933	3.742	172.231	36.301	3.730	92.350	16.294	3.727	354.221	68.675
e				4.501	20.277	7.662	4.507	95.776	34.892	4.511	49.144	18.241	4.511	100.778	33.313			
f	4.493	407.616	103.761	4.596	13.393	5.454	4.603	9.703	4.858	4.613	8.811	4.033	4.613	1.709	1.107	4.509	269.106	78.830
g	5.488	18.489	8.854	5.489	20.726	10.006	5.488	16.497	7.753	5.495	17.034	7.938	5.496	24.553	10.533	5.495	26.913	12.255
h	5.584	1.283.542	397.701	5.595	141.082	59.310	5.583	812.031	257.897	5.592	438.354	142.905	5.590	646.222	226.333	5.590	880.586	280.636
i	5.801	1.557.764	597.028	5.796	2.219.513	806.549	5.797	1.521.734	584.291	5.803	1.319.207	523.920	5.804	1.238.598	483.986	5.806	1.157.319	457.360
j	5.902	203.362	80.341	5.901	442.263	169.010	5.898	173.922	70.335	5.900	50.370	23.385	5.903	202.689	81.764	5.904	137.487	58.091
k	6.295	193.025	70.690	6.297	128.956	39.676	6.287	111.727	38.666	6.290	181.837	66.954	6.290	161.533	61.608	6.295	225.854	80.983
l	6.534	64.764	30.365	6.538	68.170	32.677	6.525	37.104	16.292	6.530	56.494	25.303	6.524	25.656	10.262	6.534	135.853	63.997
m	6.602	200.009	87.953	6.607	82.192	38.097	6.595	131.881	56.223	6.598	170.270	73.691	6.599	187.944	77.333	6.601	196.234	88.048
n	7.158	809.352	304.628	7.161	1.066.165	405.114	7.158	574.649	219.557	7.161	561.100	216.290	7.160	604.546	226.604	7.163	1.184.870	442.824
o	7.662	98.347	32.967	7.668	249.808	82.668	7.652	368.704	129.660	7.659	53.338	18.282	7.657	82.053	27.792	7.664	143.258	53.573
p	8.029	335.343	127.001	8.031	310.171	114.606	8.026	266.954	98.094	8.029	175.783	68.734	8.028	327.100	129.455	8.038	277.239	104.048
r	12.056	17.915	4.163	12.101	7.860	1.962	12.045	13.834	3.818	12.084	9.001	2.007				12.102	9.284	2.868
s	12.147	154.838	31.014	12.173	156.021	30.763	12.129	149.855	30.238	12.151	152.862	30.459	12.123	230.442	36.838	12.173	144.240	29.191

Preglednica XIII: Podatki za srednje dele lubja navadne jelke

rastišče premer krom. vrh	Dolenjske Toplice			Dolenjske Toplice			Metlika			Trebnje			Pohorje			Pohorje		
	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)
a	do 2,6	5,978,190		do 2,55	5,944,659		do 2,6	3,738,498		do 2,58	5,279,937		do 2,68	3,648,704		do 2,7	4,464,766	
b	2,888	243,362	39,176	2,841	251,424	39,988	2,748	2,798	878	2,760	3,588	775						
c	3,167	41,782	5,468	3,137	127,145	26,238	2,889	71,933	14,822	2,871	229,749	43,320	3,090	70,969	14,869		111,919	
d	3,361	32,466	8,682	3,324	28,506	7,513	3,104	25,257	6,306	3,237	18,916	3,426	3,353	45,774	11,021		7,008	
e							4,336	48,814	15,659	3,342	159,351	36,537		166,738	43,150		175,262	
f	4,356	112,525	30,353	4,335	154,584	42,632	4,441	2,991	1,078	4,340	149,768	37,197	4,397	77,715	25,010		151,002	
g	5,449		5,301	5,429	31,789	13,706							5,384	9,781	3,860		5,639	
h	5,516	120,455	44,562	5,495	459,766	166,623	5,500	177,413	57,154	5,503	443,962	155,584	5,497	246,980	81,655		359,101	
i	5,715	832,956	313,007	5,697	1,376,110	482,159				5,709	804,985	299,382	5,688	919,295	364,344		731,492	
j	5,814	58,007	24,546	5,804	35,033	13,447	5,706	713,553	195,500	5,820	195,660	64,007	5,783	111,860	48,961		97,969	
k	6,200	256,977	95,168	6,189	270,670	98,080	6,192	160,622	58,832	6,195	276,364	101,937	6,188	182,905	62,385		211,235	
l	6,427	155,046	63,958	6,415	110,000	45,260	6,410	56,753	22,589	6,423	153,684	64,379	6,414	65,653	25,563		157,953	
m	6,500	198,529	82,161	6,489	274,135	108,089	6,491	159,081	63,375	6,496	175,891	72,736	6,493	202,873	83,550		93,166	
n	7,075	1,102,711	382,236	7,070	929,241	321,508	7,067	782,790	277,185	7,079	633,477	208,463	7,024	1,083,498	388,153		804,762	
o	7,572	648,994	222,109	7,570	205,388	69,669	7,563	175,232	64,829	7,574	39,165	13,973	7,550	260,400	97,653		267,252	
p	7,956	58,057	21,157	7,950	248,825	91,180	7,943	94,589	33,593	7,954	180,425	66,763	7,898	136,490	46,262		221,578	
s	12,092	260,564	30,058	12,116	264,661	29,993	12,130	253,377	29,519	12,152	229,868	25,752	12,092	257,331	36,286		202,976	
rastišče premer krom. vrh	Slovenske Konjice			Celle			Črnašnica			Dolenja vas			Zaplana			Idrija		
	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)
a	do 2,7	5,372,692		do 2,77	4,614,417		do 2,7	6,692,236		do 2,73	7,425,162		do 2,73	5,785,230		do 2,71	5,470,739	
b	3,226	254,074	43,562	3,132	15,212	3,834	3,230	318,477	54,217	3,244	392,640	64,788	3,250	209,815	33,328	3,206	23,089	8,504
c	3,490	47,205	10,818	3,502	102,245	25,820	3,512	51,227	11,697	3,514	112,659	25,536	3,518	40,695	9,653	3,257	9,763	3,119
d	3,726	93,497	18,805	3,655	60,784	9,501	3,732	208,053	45,074	3,751	110,073	24,099	3,730	196,576	37,764	3,528	28,362	8,284
e				4,511	15,429	5,233				4,513	42,625	13,381				3,730	362,660	74,030
f	4,500	138,932	46,958	4,620	1,754	686	4,509	113,150	37,048	4,657	6,283	1,233	4,504	111,887	38,096	4,510	136,846	45,084
g	5,494	10,585	4,609	5,499	8,754	3,722	5,501	9,127	4,106	5,493	13,024	5,906	5,491	9,519	4,368	4,595	13,201	6,047
h	5,589	534,031	192,987	5,604	114,726	26,497	5,589	301,243	91,821	5,588	377,412	139,360	5,588	377,412	139,360	5,593	574,612	199,649
i	5,800	1,127,048	463,416	5,808	872,893	363,259	5,799	1,029,096	448,236	5,799	1,029,096	448,236	5,801	954,000	381,586	5,805	1,216,277	486,750
j	5,891	82,996	28,458	5,903	90,604	24,426	5,812	1,045,581	342,306	5,865	82,561	38,101	5,900	48,436	17,906	5,902	69,285	29,835
k	6,288	289,295	113,880	6,298	166,833	61,796	6,294	207,593	79,509	6,280	338,867	132,144	6,283	294,188	114,974	6,289	274,775	109,593
l	6,531	185,753	82,256	6,540	140,227	60,922	6,536	140,671	57,599	6,523	171,954	76,300	6,524	72,921	27,888	6,531	358,744	151,085
m	6,599	205,252	94,628	6,609	156,850	71,051	6,605	189,142	84,238	6,591	234,504	106,175	6,594	248,294	104,037	6,600	218,505	101,438
n	7,154	765,822	294,061	7,163	814,935	318,272	7,165	858,959	320,208	7,153	797,219	303,760	7,156	740,170	280,740	7,162	1,207,565	451,247
o	7,655	175,315	63,267	7,667	143,502	52,527	7,662	213,785	82,023	7,652	149,952	50,783	7,653	160,124	50,429	7,663	214,318	76,919
p	8,023	292,593	112,606	8,034	194,424	75,318	8,035	135,340	55,576	8,023	211,069	83,111	8,025	370,604	147,488	8,036	251,005	96,576
r	12,092	15,421	4,801	12,063	8,663	2,715	12,086	13,909	3,969				12,055	13,341	3,927	12,051	28,135	8,697
s	12,163	127,749	28,262	12,139	153,340	31,152	12,153	101,785	24,371	12,132	390,601	42,715	12,126	119,872	26,723	12,128	107,638	26,201

rastišče premer krom. vrh	Rt (min) do 3.0	Dragomer 38 cm AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min) do 3.0	Dragomer 52 cm AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min) do 3.0	Davški slapovi 55 cm AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min) do 3.2	Snežnik 58 cm AUC (mAU×min)	višina (mAU)
a	3.503	188.923	41.773	3.508	318.070	61.718	3.532	224.517	54.893	3.670	61.546	13.790
b	3.679	22.011	6.475	3.690	44.425	9.088	3.875	441.010	73.482	/	/	/
c	3.871	108.086	28.901	3.886	70.576	19.307	4.717	208.723	75.398	3.978	33.641	5.980
d	4.709	168.702	57.940	4.718	221.683	77.417	4.816	27.087	9.249	4.776	196.247	69.107
e	4.826	7.395	2.769	4.831	4.559	2.167	5.639	6.466	2.779	5.666	9.832	3.974
f	5.640	2.944	1.585	5.638	4.566	2.078	5.748	555.867	196.226	5.745	445.813	164.493
g	5.744	665.116	228.389	5.743	678.787	248.325	5.936	1.058.126	449.655	6.086	1.343.521	452.804
h	5.929	1.509.916	625.159	5.930	1.402.006	560.970	6.016	82.953	32.080	6.186	110.963	42.630
i	6.003	87.791	34.925	6.024	98.639	40.060	6.391	240.223	93.793	6.536	208.579	78.718
j	6.383	349.252	139.508	6.382	359.128	143.128	6.617	188.192	82.507	6.797	130.064	54.959
k	6.608	263.442	108.075	6.610	213.337	90.312	6.686	189.527	86.041	6.859	146.053	59.322
l	6.681	348.426	148.708	6.679	245.907	108.830	7.246	832.764	321.685	7.358	1.011.622	363.681
m	7.238	1.116.218	420.350	7.238	933.886	363.043	7.754	65.649	24.756	7.870	68.642	25.394
n	7.745	250.687	89.667	7.746	243.633	88.356	8.115	195.698	75.098	8.149	114.749	39.323
o	8.108	312.913	126.082	8.108	344.957	137.707	12.119	69.309	22.262	12.070	62.063	14.123
p	12.135	294.994	39.332	12.140	293.893	39.220				12.194	172.670	43.450
r												
s												

rastišče premer krom. vrh	Rt (min) do 3.2	Lož 45 cm AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min) do 3.2	Lož 80 cm AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min) do 3.2	Lovrenc 50 cm AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min) do 2.7	Trojane 60 cm AUC (mAU×min)	višina (mAU)
a	3.609	52.030	10.016	3.604	36.348	8.727	3.610	24.202	6.069	3.226	209.539	34.814
b	/	/	/	/	/	/	/	/	/	3.492	70.536	16.653
c	3.924	42.281	8.107	3.916	30.296	5.844	3.912	20.878	2.194	3.724	88.129	17.914
d												
e	4.756	92.912	26.923	4.752	182.580	56.370	4.768	105.996	34.081	4.507	107.919	36.965
f	5.642	3.103	1.426	5.726	668.766	241.499	5.650	4.223	1.695	5.501	10.166	4.281
g	5.737	396.519	147.754	5.726	668.766	241.499	5.742	545.976	198.038	5.602	129.032	42.107
h	6.071	1.189.086	407.233	6.062	925.126	324.830	6.067	1.430.567	499.815	5.806	870.132	363.499
i	6.169	122.473	50.277	6.164	42.359	15.394	6.169	98.361	42.473	5.891	28.982	10.271
j	6.523	240.960	92.961	6.515	199.481	77.614	6.523	199.795	78.397	6.293	302.669	115.402
k	6.782	106.220	42.141	6.773	99.911	33.702	6.783	136.451	65.771	6.535	159.860	65.336
l	6.843	169.627	72.489	6.835	174.985	73.359	6.844	145.396	64.420	6.604	293.401	126.308
m	7.343	807.671	290.204	7.333	857.179	319.750	7.345	978.947	364.911	7.159	1.037.015	403.956
n	7.851	31.219	9.946	7.840	77.692	29.762	7.860	25.744	9.519	7.661	188.550	68.302
o	8.138	127.953	48.251	8.129	171.033	63.301	8.142	197.746	72.383	8.031	72.196	27.456
p	12.084	34.218	8.290	12.050	66.800	15.010	12.122	47.774	11.342	12.069	17.567	5.579
r												
s	12.207	181.267	45.207	12.175	173.286	44.359	12.241	179.537	43.584	12.144	128.007	28.561

Preglednica XIV: Podatki za zunanje dele lubja navadne jelke

rastišče premer krom. vrh	Dolenjske Toplice 63 cm			Dolenja vas 90 cm			Trebnje 64 cm			Slovenske Konjice 61 cm		
	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)
a	2.746	1.066	313				2.759	1.956	444	3.107	1.420	387
b	2.874	4.331	1.292	3.295	24.075	3.913	2.881	23.203	4.157	3.266	12.215	2.517
c	3.091	6.534	1.327	3.553	6.515	1.636	3.100	11.148	2.798	3.508	5.083	1.051
d	3.338	28.027	6.546	3.763	38.755	8.758	3.346	128.481	24.534	3.742	22.474	5.285
e				4.517	2.860	1.144						
f	4.340	12.460	3.662	4.627	1.170	392	4.347	21.457	6.729	4.507	13.598	4.985
g	5.443	1.136	579	5.475	1.025	518	5.456	1.885	788	5.476	599	328
h	5.505	26.743	9.996	5.596	6.322	3.341	5.518	76.904	27.051	5.607	80.768	20.663
i	5.712	13.603	6.875	5.811	6.008	3.374	5.726	2.792	1.518	5.826	2.485	1.310
j	5.814	3.075	1.393	5.872	35.039	13.916	5.833	41.018	15.530	5.886	71.346	20.202
k	6.197	40.086	14.175	6.285	27.757	13.146	6.208	65.339	24.784	6.304	71.776	22.539
l	6.410	67.511	23.136	6.525	24.269	10.178	6.431	49.539	18.735	6.545	51.372	21.263
m	6.493	22.126	9.838	6.606	34.537	13.213	6.505	11.922	5.658	6.629	100.799	38.050
n	7.080	89.899	29.552	7.157	76.368	30.865	7.088	123.172	40.561	7.172	136.133	54.062
o	7.550	64.571	16.543	7.678	76.731	21.668	7.558	78.390	27.369	7.697	40.134	16.761
p	7.951	22.636	7.039	8.019	4.741	2.699	7.959	34.028	10.936	8.034	54.317	15.495
r				12.051	269.628	74.174				12.059	584.996	148.699
s	12.096	1.070.550	130.485	12.134	24.652	10.562	12.058	710.500	89.583	12.152	17.717	7.654

Preglednica XV: Podatki za lubje jelk iz Spodnjega Gruškovja; premera jelk 48 cm in 64 cm

SPODNJE GRUŠKOVJE 48 cm																				
del lubja odvzem krom. vrh	NOTRANJ 5.6.2010				SREDNJI 5.6.2010				SREDNJI 3.7.2010				ZUNANJ 5.6.2010				ZUNANJ 3.7.2010			
	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)		
a+b	do 2.6	7.707.613		do 2.7	7.527.419		do 2.6	3.432.912		do 2.7	3.100.071		do 2.7	1.080.791		do 2.7	905.174			
c	3.527	237.682	38.345	3.256	207.442	41.512	3.494	83.841	15.634	3.289	102.394	17.880	3.522	5.997	1461	3.302	5.704	1.061		
d	3.769	1.043.165	273.378	3.506	897.951	218.692	3.774	219.522	59.745	3.529	100.586	24.897	3.792	3.830	1395	3.543	3.494	781		
e	3.965	137.066	40.909	3.739	138.494	32.053	3.975	54.209	16.249	3.763	42.297	12.247	3.989	10.246	3174	3.766	5.913	1.724		
e+f	4.774	172.053	52.059	4.605	81.753	28.088	4.767	64.097	21.391	4.519	32.350	11.911	4.773	11.024	3670	4.735	2.777	886		
g	5.547	38.116	11.110	5.409	21.957	9.947	5.554	20.341	6.442	5.428	12.601	5.601	5.567	8.676	2872	5.433	2.190	1.016		
h	5.752	1.169.090	424.535	5.574	1.063.893	318.228	5.764	485.647	178.224	5.599	361.086	122.053	5.774	46.914	14358	5.608	24.260	6.317		
i	5.938	2.205.817	833.831	5.789	1.865.231	700.536	5.950	1.038.118	438.460				5.963	2.177	1256	5.824	3.879	2.098		
j	6.037	174.885	73.827	5.893	127.839	53.825	6.032	56.905	22.667	5.811	1.199.157	386.833	6.027	53.900	18444	5.884	20.722	6.770		
k	6.401	199.260	77.456	6.280	230.897	75.883	6.404	237.498	94.867	6.294	189.285	74.887	6.405	42.477	16212	6.298	12.978	6.414		
l	6.621	90.856	38.424	6.514	100.778	38.733	6.629	154.654	62.355	6.534	125.764	48.591	6.630	17.943	8447	6.536	15.955	6.498		
m	6.693	298.206	126.927	6.587	301.045	128.136	6.701	210.983	92.416	6.605	155.903	69.665	6.694	35.534	12507	6.622	36.870	13.462		
n	7.246	791.215	310.826	7.148	871.344	337.491	7.254	693.538	273.322	7.165	554.727	219.497	7.255	103.099	42969	7.168	48.941	19.295		
o	7.755	111.751	41.415	7.671	384.012	142.126	7.761	142.715	53.584	7.668	62.318	18.087	7.759	48.800	16742	7.759	17.929			
p	8.107	408.618	163.155	8.015	462.493	183.417	8.118	276.392	109.616	8.031	223.916	88.666	8.114	45.586	12730	8.029	26.749	6.462		
r				12.058	6.497	1.882				12.053	24.426	7.795				12.028	171.246	44.328		
s	12.133	219.527	33.950	12.127	152.274	30.532	12.079	276.257	40.548	12.124	105.634	26.218	12.111	997.077	115201	12.099	29.853	13.017		
SPODNJE GRUŠKOVJE 64 cm																				
del lubja odvzem krom. vrh	NOTRANJ 17.5.2010				SREDNJI 17.5.2010				SREDNJI 3.7.2010				ZUNANJ 17.5.2010				ZUNANJ 3.7.2010			
	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)		
a+b	do 2.6	5.329.121		do 2.8	7.979.565		do 2.7	1.205.854		do 2.7	1.117.065		do 5.2	186.845		do 5.2	707.707			
c	3.041	78.729	12.217	3.262	127.071	17.173	3.150	35.885	3.912	3.294	26.785	1.880	/	/	/	/	/	/		
d	3.259	25.964	5.618	3.525	49.586	12.363	3.384	2.527	462	3.575	803	154	/	/	/	/	/	/		
e	3.540	52.875	14.022	3.740	209.140	44.624	3.611	24.148	3.564	3.759	12.122	1.629	/	/	/	/	/	/		
e+f	4.415	38.661	10.539	4.506	47.206	15.967	4.446	10.587	2.216	4.505	7.530	1.263	/	/	/	/	/	/		
g	5.410	15.275	6.938	5.489	18.071	8.915	5.420	2.171	892	5.493	787	385	/	/	/	/	/	/		
h	5.515	288.737	103.915	5.585	487.614	177.199	5.526	49.230	16.425	5.587	43.769	13.663	5.516	5.380	1.278	5.593	13.104	3.055		
i	5.700	1.094.315	420.702	5.798	1.459.459	576.432	5.718	183.478	71.719	5.805	216.814	62.276	5.713	341	142	5.812	1.233	697		
j	5.800	189.138	75.366	5.897	224.488	95.710	5.812	28.429	10.620	5.805	216.814	62.276	5.804	3.789	1.256	5.870	10.737	4.084		
k	6.197	237.126	63.859	6.284	327.640	103.953	6.209	77.785	26.358	6.283	66.295	24.154	6.207	7.241	2.224	6.287	20.507	7.078		
l	6.435	45.480	18.884	6.523	78.066	31.657	6.447	33.940	14.498	6.527	31.095	13.404	6.442	2.687	1.237	6.528	11.871	5.104		
m	6.508	180.351	73.595	6.594	293.408	125.089	6.517	73.051	30.970	6.595	56.753	25.079	6.511	10.409	4.095	6.612	22.711	8.014		
n	7.042	595.660	222.115	7.153	921.398	360.933	7.051	215.397	85.277	7.159	183.481	72.219	7.049	16.122	5.707	7.159	48.632	19.457		
o	7.569	30.006	10.922	7.678	288.422	114.031	7.581	25.221	9.396	7.683	14.513	5.540	7.577	3.700	1.564	7.682	11.999	5.669		
p	7.906	191.310	71.207	8.021	360.309	140.414	7.912	57.325	21.039	8.025	48.877	19.005	7.911	3.155	1.332	8.022	18.159	4.420		
r	12.070	5.979	1.638							12.065	16.524	5.149	11.988	16.524	5.149	11.988	160.848	45.200		
s	12.144	158.020	29.632	12.168	234.310	35.713	12.115	202.709	32.875	12.106	216.188	36.754	12.135	111.400	26.608	12.099	71.871	23.017		

Preglednica XVI: Podatki za lubje iz Žage Štern

NOTRANJI DEL LUBJA									
premer krom. vrh	žaga, 8 tednov 90 cm			žaga, 8 tednov 110 cm			žaga, 5 tednov 80 cm		
	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)
	do 2.77	2.662.323		do 2.75	6.278.361		do 2.75	10.154.448	
a									
b	3.113	2.774	702	3.220	56.972	10.719	3.231	187.638	30.640
c	3.454	11.626	1.768	3.493	84.644	20.587	3.479	1.493.416	362.655
d	/	/	/	3.729	14.263	4.009	3.718	108.439	29.918
e	4.545	4.052	1.448	4.499	69.219	23.677	4.492	219.571	78.779
f	4.685	3.295	831	4.607	3.855	1.603	4.591	56.203	21.042
g				5.483	20.330	4.860	5.484	16.271	8.000
h	5.474	138.177	50.392	5.585	785.843	281.308	5.582	1.199.013	326.461
i	5.701	291.239	105.724	5.807	121.051	57.327	5.801	716.400	306.252
j	5.802	18.730	5.316	5.881	63.562	19.866	5.885	62.321	17.427
k	6.189	110.364	41.073	6.294	85.144	26.935	6.289	358.159	118.389
l	6.414	70.876	28.572	6.531	52.301	19.575	6.528	93.319	37.596
m	6.489	76.023	31.875	6.602	86.714	39.495	6.599	282.889	121.566
n	7.082	260.899	96.667	7.160	197.171	78.413	7.154	869.279	345.525
o	7.576	122.028	43.789	7.687	133.029	46.519	7.684	287.149	111.712
p	7.961	59.849	22.587	8.026	157.141	63.521	8.024	319.464	125.574
r				12.045	82.589	23.330	12.087	28.350	7.781
s	12.121	149.893	22.900	12.148	123.904	27.936	12.171	134.667	28.752

SREDNJI DEL LUBJA									
premer krom. vrh	žaga, 8 tednov 90 cm			žaga, 8 tednov 110 cm			žaga, 5 tednov 80 cm		
	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)	Rt (min)	AUC (mAU×min)	višina (mAU)
	do 2.77	2.662.323		do 2.7	2.199.085		do 2.7	4.112.559	
a									
b	3.170	13.297	1.348	3.216	26.475	5.657	3.224	28.228	4.873
c	3.469	18.195	2.131	3.484	7.778	1.560	3.492	65.919	15.631
d	/	/	/	3.727	14.037	3.410	3.727	42.512	9.198
e				4.502	26.561	9.881	4.494	131.740	46.182
f	4.484	10.868	1.790	4.611	8.853	2.737	4.607	6.323	2.340
g	5.480	1.704	687	5.493	5.685	1.032	5.493	6.252	2.818
h	5.584	67.483	19.939	5.593	358.779	134.145	5.589	562.603	175.907
i	5.799	105.246	39.557	5.812	10.151	5.398	5.801	623.050	286.042
j	5.893	9.194	3.872	5.879	31.585	12.461	5.871	169.406	77.608
k	6.288	16.550	5.587	6.295	104.890	40.177	6.285	374.446	142.040
l	6.526	6.488	2.746	6.536	77.475	31.527	6.527	283.154	111.323
m	6.597	15.655	6.729	6.605	119.043	52.244	6.598	299.062	134.156
n	7.157	85.205	34.013	7.162	176.585	70.332	7.150	1.171.796	460.861
o	7.655	58.732	21.263	7.689	139.399	53.990	7.681	304.613	115.121
p	8.024	28.493	10.876	8.025	156.034	63.037	8.022	182.099	71.570
r				12.046	72.612	18.713	12.042	75.742	21.835
s	12.158	225.643	37.362	12.153	127.306	28.720	12.138	117.563	27.722