

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Alma ČELIGOJ

**ANTIOKSIDATIVNO DELOVANJE KRAŠKEGA
ŠETRAJA (*Satureja montana* L.) IN MATERINE
DUŠICE (*Thymus* spp.)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Alma ČELIGOJ

ANTIOKSIDATIVNO DELOVANJE KRAŠKEGA ŠETRAJA (*Satureja montana* L.) IN MATERINE DUŠICE (*Thymus* spp.)

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WINTER SAVOURY (*Satureja montana* L.) AND WILD THYME (*Thymus* spp.)

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija kmetijstva – agronomija. Opravljeno je bilo na Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko, na Oddelku za agronomijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Raziskava, v kateri smo obravnavali izvlečke narejene iz kraškega šetraja (*Satureja montana* L.) in materine dušice (*Thymus* spp.) v šestih različnih alkoholnih raztopinah ter destilirani vodi, je bila opravljena na Katedri za aplikativno botaniko, ekologijo, fiziologijo rastlin in informatiko ter na Katedri za sadjarstvo, vinogradništvo in vrtnarstvo.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo ja za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Deo BARIČEVIČ.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: izr. prof.dr. Marijana JAKŠE,
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Dea BARIČEVIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franc BATIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora: .11.2013

Diploma je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete.
Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Alma ČELIGOJ

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 633.88:581.5:615.32(043.2)
KG	zdravilne rastline/ustnatice/Lamiaceae/kraški šetraj/ <i>Satureja montana</i> L./materina dušica/ <i>Thymus</i> spp./antioksidanti
AV	ČELIGOJ, Alma
SA	BARIČEVIČ, Dea (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2013
IN	ANTIOKSIDATIVNI POTENCIJAL KRAŠKEGA ŠETRAJA (<i>Satureja montana</i> L.) IN MATERINE DUŠICE (<i>Thymus</i> spp.)
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XIV, 41 str., 20 pregl., 20 sl., 8 pril., 45 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Že dolgo je znano, da mnoge vrste iz družine ustnatic (Lamiaceae) pozitivno učinkujejo na zdravje, kar človek tudi izkorišča sebi v prid. V naši raziskavi smo se zato osredotočili na antioksidativen potencial vrst iz rodov <i>Satureja</i> L. in <i>Thymus</i> L. (Lamiaceae). Z metodo DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) ter TEAC testom smo opravljali meritve antioksidativnega potenciala kraškega šetraja (<i>Satureja montana</i> L.), o katerem še ni dosti znanega ter materine dušice (<i>Thymus</i> spp.), o kateri so bile opravljene že mnoge raziskave. Nabrali smo jih na Krasu, v njihovem naravnem okolju, ter na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete, kjer so bile vzgojene iz semena, pobranega iz narave. Naredili smo ekstrakte s sedmimi različnimi topili, in sicer 100 % , 80 % in 40 % metanol, 96 % , 70 % in 40 % etanol ter deionizirano vodo (dH ₂ O). Zanimalo nas je predvsem, kolikšen vpliv na antioksidativni potencial imajo različne koncentracije topil in okolje, ter kakšna je razlika v antioksidativnem potencialu med vrstama. Končne rezultate smo podali ter ovrednotili s standardno statistično metodo Analiza variance (ANOVA), statistično značilne razlike med obravnavanji pa smo preverili z Duncanovim testom. Testi so pokazali, da je bila odločilnega pomena interakcija različnih koncentracij topil z vsemi ostalimi parametri (rastlinska vrsta, okolje, sejanje s sitom (300µm)), saj so se le tu najbolj izrazile statistično značilne razlike. Antioksidativni potencial se je v največji meri izrazil (glezano prek odstotka inhibicije ali prek TEAC) v izvlečkih, analiziranih z 80 in s 100 % metanolom, medtem ko okolje ni imelo bistvenega vpliva na AOX potencial.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- ND Dn
DC UDK 633.88:581.5:615.32(043.2)
CX health benefits/Lamiaceae/winter savoury/*Satureja montana*/wild thyme/*Thymus* spp./antioxidants
AU ČELIGOJ, Alma
AA BARIČEVIČ, Dea (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY 2013
TY ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WINTER SAVOURY (*Satureja montana* L.)
AND WILD THYME (*Thymus* spp.)
DT Graduation thesis (University studies)
NO XIV, 41p., 20 tab., 20 fig., 8 ann., 45 ref.
LA sl
AL sl/en
AB The health benefits of many species from the Lamiaceae family, used by man for their positive effects, have been known for a long time. For this reason, the research is focused on the antioxidative potential of the *Satureja* L. and *Thymus* L. genera (Lamiaceae). The DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and the TEAC test were used for measuring the antioxidative potential of the *Satureja montana* L., about which there have not been published much information yet, as well as the *Thymus* spp., on which many researches have already been made. The plant species were picked in the Karst region, in their natural environment, and also on the experimental field of the Biotechnical faculty of Ljubljana, where they were grown from seed harvested from nature. The plant extracts were made with seven different solvents, i.e. 100%, 80% and 40% methanol, 96%, 70% and 40% ethanol and deionized(DI) water. The main aim of the research was to find out how different solvent concentrations and the environment influence the antioxidative potential, as well as to find the difference in the antioxidative potential among the plant species themselves. The final results were given and evaluated by the statistical method ANOVA, the typical statistical variations were found by Duncan's test. Tests have shown that the interaction of different solvent concentrations with all other parameters (plant species, the environment, the sieve (300µm)) were of decisive importance as the typical statistical variations were found only there. The antioxidative potential was mostly expressed (according to the percentage of inhibition or the TEAC test) in the extracts analysed by 80 and 100% methanol, while environments didn't have as much influence on antioxidative potential.

KAZALO VSEBINE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO VSEBINE	V
KAZALO PREGLEDNIC	VIII
KAZALO SLIK	X
OKRAJŠAVE	XII
KAZALO PRILOG	XIII
1 UVOD	1
1.1 POVOD ZA DELO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	2
1.3 CILJI RAZISKAVE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 DRUŽINA USTNATIC (Lamiaceae)	3
2.1.1 Rod šetraj (<i>Satureja</i> L.)	3
2.1.1.1 Kraški šetraj (<i>Satureja montana</i> L.)	3
2.1.1.2 Pritlikavi šetraj (<i>Satureja subspicata</i> Vis.)	4
2.1.2 Rod materina dušica (<i>Thymus</i> L.)	4
2.1.2.1 Materina dušica (<i>Thymus</i> spp.)	5
2.2 DPPH METODA	5
2.3 ANTIOKSIDANTI	6
3 MATERIALI IN METODE	7
3.1 ZASNOVA POSKUSA	7
3.2 POTEK POSKUSA	8
3.2.1 Pripomočki in naprave	12

3.2.2	Kemikalije	12
3.2.3	Cilji raziskav	14
3.3	STATISTIČNA ANALIZA IN GRAFIČNA PREDSTAVITEV REZULTATOV	15
4	REZULTATI	16
4.1	ANALIZA REZULTATOV	16
4.1.1	Rezultati statistične metode analize varianc povprečnega odstotka inhibicije prostega radikala DPPH	16
4.1.2	Rezultati Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med topili	18
4.1.3	Rezultati Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med vrstami	18
4.2	STATISTIČNA ANALIZA RAZLIK PO POVPREČNEM ODSTOTKU INHIBICIJE MED VRSTAMI IN OKOLJEM PO POSAMEZNIH TOPILIH	19
4.2.1	Topilo A	19
4.2.2	Topilo C	20
4.2.3	Topilo F	21
4.2.4	Topilo G	22
4.3	STATISTIČNA ANALIZA RAZLIK PO POVPREČNI VREDNOSTI TEAC MED VRSTAMI IN OKOLJEM PO POSAMEZNIH TOPILIH	25
4.3.1	Rezultati statistične metode analize varianc povprečne vrednosti TEAC	25
4.3.2	Rezultati Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med topili	26
4.3.3	Rezultati Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med rastlinskimi vrstami	27
4.4	ANALIZA RAZLIK V ANTIOKSIDATIVNEM POTENCIALU (GLEDANO NA VREDNOST TEAC) MED VRSTAMI IN OKOLJEM PRI POSAMEZNIH TOPILIH	28
4.4.1	Topilo A	29
4.4.2	Topilo C	30

4.4.3	Topilo E	31
4.4.4	Topilo G	32
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	34
5.1	RAZPRAVA	34
5.2	SKLEPI	35
6	POVZETEK	37
7	VIRI	40
ZAHVALA		
PRILOGE		

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1:	Popis vzorcev rastlinskih vrst nabranih v naravem okolju v letu 2009	9
Preglednica 2:	Rastlinski material, naban na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v letu 2009	11
Preglednica 3:	Rezultati statistične metode analize varianc s tremi dejavniki in njihovimi interakcijami glede na povrečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH	17
Preglednica 4:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med topili	18
Preglednica 5:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med tremi rastlinski vrstami	19
Preglednica 6:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 96 % etanolu.	19
Preglednica 7	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 40 % etanolu	20
Preglednica 8:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med okoljema pri 40 % metanolu	21
Preglednica 9:	Po povprečnem odstotku inhibicije prostega radikala DPPH predstavljeni najboljši in najslabši vzorci iz obeh obravnavanih okolij (Lab. polje BF (BF) ter naravna rastišča (N)) tretirani s 40 % metanolom.	22
Preglednica 10:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri dH ₂ O	23
Preglednica 11:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med okoljema pri dH ₂ O	23
Preglednica 12:	Rezultati statistične metode Analize varianc s tremi dejavniki in njihovimi interakcijami glede na povrečno TEAC [mM Troloks/g SS] vrednost.	26
Preglednica 13:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike glede na TEAC [mM Troloks/g SS] vrednost med topili	27
Preglednica 14:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami	27
Preglednica 15:	Pogostost pojava rastlinskih izvlečkov z največjimi vrednostimi povprečja inhibicije prostega radikala DPPH ne glede na topilo	28

Preglednica 16:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 96 % etanolu	29
Preglednica 17:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med okoljema pri 96 % etanolu	30
Preglednica 18:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 40 % etanolu	30
Preglednica 19:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 80 % metanolu.	31
Preglednica 20:	Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri dH ₂ O	32

9KAZALO SLIK

Slika 1:	Reakcija redukcije DPPH	6
Slika 2:	Kraški šetraj (<i>Satureja montana</i> L.) v naravnem okolju; nabiranje rastlin oz. rastlinskega materiala; <i>Thymus</i> spp.	7
Slika 3:	Lokacije v naravi (N), kjer smo nabirali vzorce kraškega šetraja (<i>Satureja montana</i> L.) in materine dušice (<i>Thymus</i> spp.)	8
Slika 4:	Mletje rastlinskega materiala z vodno hlajenim mlinčkom, rastlinski material, ter spravilo vzorcev v zatemnjene stekleničke do nadaljnje obdelave	9
slika 5:	Molekula Troloksa	12
Slika 6:	Priprava izvlečkov	13
Slika 7:	Vzorci po opravljenih meritvah na spektrofotometru	14
Slika 8:	Umeritvena krivulja za Troloks	16
Slika 9:	Grafikoni statistične analize varianc opravljene s tremi dejavniki in njihovimi interakcijami glede na povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH	17
Slika 10:	Analize razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 96 % etanolu	19
Slika 11:	Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 40 % etanolu	20
Slika 12:	Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 40 % metanolu	21
Slika 13:	Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri dH ₂ O	22
Slika 14:	Grafikoni statistične analize varianc opravljene s tremi dejavniki in njihovimi interakcijami glede na povprečno TEAC [mM Troloks/g SS] vrednost	24
Slika 15:	Grafikona prikazujeta po 21 odbranih vzorcev po % inhibicije	26
Slika 16:	Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 96 % etanolu	29
Slika 17:	Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS med vrstami in okoljem pri 40 % etanolu	30

- Slika 18: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS med vrstami in okoljem pri 80 % metanolu] 31
- Slika 19: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS med vrstami in okoljem pri dH₂O] 32
- Slika 20: Grafikona prikazujeta po 21 odbranih vzorcev po TEAC [mM Troloks/g SS] 33

OKRAJŠAVE

AOX potencial	antioksidativni potencial
BF	Biotehniška fakulteta
Lab. polje	laboratorijsko polje
N	naravno okolje
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
IC ₅₀	koncentracija učinkovitosti
SS	suha snov
TEAC	Troloksu ekvivalentno antioksidativno delovanje
dH ₂ O	destilirana voda
INHIB	inhibicija
DNK	Deoksiribonukleinska kislina
vz	vzorec
Topilo A	96 % etanol
Topilo B	70 % etanol
Topilo C	40 % etanol
topilo D	100 % metanol
Topilo E	80 % metanol
Topilo F	40 % metanol
Topilo G	destilirana voda

KAZALO PRILOG

- PRILOGA A: SEZNAM VSEH RASTLINSKIH IZVLEČKOV TER NJIHOVIH IZRAČUNOV
- PRILOGA B: OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU INHIBICIJE PROSTEGA RADIKALA DPPH PRI TOPILU B (70 % ETANOL)
- Priloga B1: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 70 % etanolu
- Priloga B2: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 70 % etanolu
- PRILOGA C: OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU INHIBICIJE PROSTEGA RADIKALA DPPH PRI TOPILU D (100 % METANOL)
- Priloga C1: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 100 % metanolu
- Priloga C2: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 100 % metanolu
- PRILOGA D: OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU INHIBICIJE PROSTEGA RADIKALA DPPH PRI TOPILU E (80 % METANOL)
- Priloga D1: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 80 % metanolu
- Priloga D2: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 80 % metanolu
- PRILOGA E: OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU VREDNOSTI TEAC [MM TROLOKS/G SS] PRI TOPILU B (70 % ETANOL)
- Priloga E1: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 70 % etanolu
- Priloga E2: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 70 % etanolu
- PRILOGA F: OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU VREDNOSTI TEAC [MM TROLOKS/G SS] PRI TOPILU D (100 % METANOL)
- Priloga F1: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 100 % metanolu
- Priloga F2: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 100 % metanolu

PRILOGA G: OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU VREDNOSTI
TEAC [MM TROLOKS/G SS] PRI TOPILU F (40 % METANOL)

Priloga G1: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 40 % metanolu

Priloga G2: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 40 % metanolu

PRILOGA H: STATISTIČNE OBRAVNAVE METODE ANALIZE VARIANC
ANOVA S STATISTIČNO ZNAČILNIMI RAZLIKAMI

Priloga H1: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 96 % etanolu

Priloga H2: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 40 % etanolu

Priloga H3: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 40 % metanolu

Priloga H4: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri dH₂O

Priloga H5: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 96 % etanolu

Priloga H6: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 40 % etanolu

Priloga H7: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 80 % metanolu

Priloga H8: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri dH₂O

1 UVOD

1.1 POVOD ZA DELO

Že dolgo so znane zdravilne učinkovine vrst iz družine ustnatic (Lamiaceae). Mednje štejemo predvsem antimikrobne, antioksidativne in antibakterijske lastnosti, ki se z novejšo tehnologijo lažje dokazujejo in uveljavljajo v najrazličnejših oblikah rastlinskih pripravkov na svetovnem tržišču. V tradicionalni medicini pa te rastline ter pripravke iz njih, kot so čaji, med in drugi, že tisočletja uporabljajo za zdravljenje bronhialnih bolezni, diareje, mišičnih krčev.

Rodova *Thymus* L. in *Satureja* L. (Lamiaceae) sta v svetu zastopana predvsem v aridnih, skalnatih in sončnih območjih. Pri nas je rod *Satureja* L. pogost predvsem na območju Krasa, kjer prevladujeta predvsem vrsti kraški šetraj (*Satureja montana* L.) in pritlikavi šetraj (*Satureja subspicata* Vis.), medtem ko je rod *Thymus* L. zastopan po celotnem ozemlju Republike Slovenije, kjer so razmere za pojavljanje in rast tega rodu ugodne. Zaradi številnosti in hkrati podobnosti v morfologiji in razraščanju rastlinskih vrst rodu *Thymus* L., nismo nabirali le posamičnih rastlinskih vrst, temveč več vrst skupaj ter uporabili v ta namen uveljavljen termin *Thymus* spp. Velja pa omeniti, da je bila nabранa pretežno vrsta *Thymus pulegioides* L. ali polajeva materina dušica. Ta je tudi prevladujoča na kraškem območju.

Polgrmičasti trajnici z olesenelim spodnjim delom stebelca, *Satureja montana* L. in *Thymus* spp. se uporabljata v slovenski kulinariki kot začimbi za različne omake, juhe, mesne jedi in slaščice, posušeni listi in cvetovi pa kot čajni pripravki. Zaradi velikih vsebnosti eteričnih olj in njihovih učinkovin, ki delujejo antioksidativno, antimikrobnno, antiparazitsko, antibakterijsko in repellentno za škodljive organizme, se njuna raba in uporaba povečujeta. Kot nekatere pomembnejše biološko aktivne substance naj omenim fenolni spojini karvakol in timol, ki sodita med najpomembnejši sestavini eteričnega olja, sledijo pa ostale učinkovine kot so flavonoidi (flavoni, flavonoli) terpeni (triterpeni, seskviterpeni), ester kavne kisline (rožmarinska kislina), tanini in številne druge (Mastelić in Jerković, 2003; Klemenčič, 2010).

Antioksidanti so snovi, ki lovijo ter vežejo nase proste radikale (peroksidi, hidroperoksidi in drugi), povzročitelje oksidativnega stresa (Prakash in sod., 2001). Največkrat so te snovi sekundarni metaboliti iz skupine fenil propanoidov. Najdemo jih lahko v primarnih virih kot so žita, sadje, zelenjave kot tudi v najrazličnejših alternativnih pripravkih kot so čaji, med, olja, vino, itd., vse bolj pa se uveljavljajo tudi v sodobnem samozdravljenju v obliki prehranskih dopolnil, izvlečkov in rastlinskih zdravil.

Oksidativni stres je definiran kot 'neravnovesje med oksidanti in antioksidanti v korist oksidantom'. Posledično temu mu strokovnjaki pripisujejo predvsem vzrok staranja in najrazličnejše bolezni pri ljudeh (Katalinic in sod., 2006), ki nastanejo zaradi poškodb, povzročenih z oksidacijo nukleinskih kislin, lipidov, proteinov, molekule DNK.

1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Ko govorimo o antioksidativnem potencialu kraškega šetraja in materine dušice ugotovimo, da je to področje še dokaj neraziskano. Da bi izvedeli kaj več o antioksidativnem potencialu prej omenjenih rastlin, smo se poslužili testa DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) in primerjali antioksidativno delovanje metanolnih in etanolnih ekstraktov *Saturejae herba* in *Thymi herba*. Nekatere rastline so bile nabrane na naravnih rastiščih, nekatere pa gojene na Laboratorijskem polju (Lab. polju) Biotehniške fakultete (BF).

Delovne hipoteze:

- ✓ materina dušica ima boljše antioksidativno delovanje kot šetraj,
- ✓ antioksidativno delovanje je odvisno od načina priprave ekstraktov,
- ✓ okolje, v katerem rastlina uspeva, ima velik vpliv na njen antioksidativno delovanje,
- ✓ od 10-ih naključno odbranih vzorcev, ki niso bili presejani s 300 µm sitom pričakujemo drugačne končne rezultate.

1.3 CILJI RAZISKAVE

Dokazati in izmeriti želimo antioksidativni potencial pri šetraju in materini dušici, ter pri slednji dokazati večji antioksidativni potencial. Predvidevamo tudi, da imajo rastline iz naravnih rastišč večji antioksidativni potencial kot tiste, gojene na laboratorijskem polju BF in da se različni genski viri med seboj ne razlikujejo po antioksidativnem delovanju, tako pri materini dušici kot tudi šetraju.

2 PREGLED OBJAV

2.1 DRUŽINA USTNATIC (Lamiaceae)

Družina ustnatic šteje med 200 in 250 rodov, ter med 3200 in 6500 vrst rastlin. Značilne so po njihovi aromatični sestavi, vretenčastih socvetijih in povečini štirioglatih steblih. Razširjene so po celem svetu, vendar je njihova pogostost pojavljanja večja v subtropskih ter zmernotoplih območjih od Sredozemlja do savan (Dorman in sod., 2004).

Ugotovljeno je že, da slovijo vrste iz družine ustnatic po protivnetnih, antioksidativnih, antibakterijskih, antimikrobnih in protivirusnih lastnostih (Dorman in sod., 2004). Prav zaradi velike vsebnosti polifenolov in posledično tudi vira antioksidativnega potenciala uvrščajo ustnatice med rastline z mnogimi opravljenimi raziskavami (Fecka in Turek, 2008). Med najbolj aromatične vrste ustnatic uvrščamo rodove *Origanum* L., *Satureja* L., *Thymus* L.

2.1.1 Rod šetraj (*Satureja* L.)

Ta rod uvrščamo v družino ustnatic (Lamiaceae), združuje pa preko 30 vrst (v svetu skupno okoli 200 (Marin in sod., 2010)), ki izvirajo iz vzhodnega območja Sredozemlja.

Rod *Satureja* L. je poznan po veliki variabilnosti, četudi gre za polimorfizem in kmetijske razlike znotraj ene same populacije. Sicer se variabilnost še posebej izraža pri populacijah iz oddaljenih habitatov (Čavar in sod., 2008).

So trajne polgrmičate rastline, ki uspevajo v aridnih, kamnitih in sončnih predelih. Mnogi predstavniki tega rodu so poznani po svojih aromatičnih in medicinskih lastnostih (Čavar in sod., 2008). Uporabljajo se v kuhinji kot začimbni dodatek najrazličnejšim jedem (juham, enolončnicam, maslenih namazih, omakam (Zavatti in sod., 2011; Mastelić in Jerković, 2003) ali kot čaji (Oke in sod., 2009; Zavatti in sod., 2011).

2.1.1.1 Kraški šetraj (*Satureja montana* L.)

Kraški šetraj je trajnica, poznana tudi pod angleškim imenom »Winter savory«, je zimzelen polgrm, ki zraste v višino 20 do 30 cm. Najdemo ga v južnem delu Europe, od koder tudi izvira, razširjen pa je predvsem na sredozemskem območju (Zavatti in sod., 2011).

Okroglo steblo je poraščeno s trihomimi in pri tleh olesenelo. Sijoči, gladki, dober centimeter do dva dolgi, podolgovati temno zeleni listi so nameščeni navzkrižno. Cveti belo ali bledo vijoličasto v obdobju od julija do septembra (Zavatti in sod., 2011). Aroma eteričnega olja kraškega šetraja deluje kot repellent za škodljivce, samo eterično olje ali izvlečki kraškega šetraja pa imajo dokazano antibakterijsko (velja tako za Gram-negativne kot tudi Gram-positivne bakterije) in antioksidativno delovanje. Pozitivno delovanje je bilo dokazano tudi pri zdravljenju nekaterih vrst rakavih obolenj, Anti-HIV 1, prezgodnje ejakulacije (Zavatti in sod., 2011).

Šetraji sodijo med najboljše medonosne rastline, njihov med pa ima velik sloves kot naravno zdravilo za zdravljenje bronhitisa (Mastelić in Jerković, 2003). Sekundarni metaboliti kot so flavonoidi, steroidi, eterična olja in tanini vrst znotraj tega rodu pa se že dolgo uporabljajo v tradicionalni medicini (Bezić in sod., 2009). Kot glavni sestavini, ki

predstavljata kar 42-60 odstotni delež eteričnega olja sta izomerni fenolni spojini timol (5-metil-2-(1-metiletil fenol)), z največjo vsebnostjo v začetku junija in karvakol (2-hidroksi-4-izopropil-1-metilbenzen), z največjo vsebnostjo v mesecu septembru, v času cvetenja.

2.1.1.2 Pritlikavi šetraj (*Satureja subspicata* Vis.)

Po pogostnosti je pritlikavi šetraj dokaj redka in neraziskana vrsta (Bezić in sod., 2009), z veliko vsebnostjo fenolnih spojin in seskviterpenov v eteričnem olju (Ćavar in sod., 2008). Njeno rastišče je razprostrto vse od Italije (okolica Trsta), slovenskega Krasa, vzdolž jadranske obale na Hrvaškem, Bosne in Hercegovine, Črne Gore, Makedonije do severnega predela Albanije (Bezić in sod., 2009).

Spada med trajnice. Od kraškega šetraja ga najlažje ločimo po robatem štirobrem golem steblu in vijoličasti barvi cvetov (Redžić in sod., 2006). Vsako pomlad brsti iz pri tleh olesenelih vejic ali požene nove poganjke iz podzemnih delov rastline. Listi so bolj bleščeči kot pri kraškem šetraju. Cveti v začetku jeseni, največkrat še v mesecu oktobru (Skočibušić in sod., 2006).

Eterično olje pritlikavega šetraja, ki vsebuje monoterpinska fenola kot sta karvakol in timol, deluje antimikrobično. Omenjene spojine, ki podaljšujejo rok trajanja proizvodov, uvrščajo med potencialne sestavine izdelkov prehrambene in farmacevtske industrije (Dunkić in sod., 2007).

2.1.2 Rod materina dušica (*Thymus* L.)

Številne aromatične in zdravilne lastnosti uvrščajo rod *Thymus* L. v sam svetovni vrh zaželenih in uporabljenih rastlin, v vsestranski uporabi, bodisi kot čaj, začimbo ali v zdravstvene namene (Imelouane in sod., 2009). Rod *Thymus* L. obsega okoli 300 vrst trajnih in polgrmovnih zelišč (Vardar-Ünlü in sod., 2003), katere najdemo po večini v Sredozemlju, severnem predelu afriške celine ter južnem delu Grenlandije. Samo v Turčiji lahko najdemo 38 vrst in 64 taksonov (Sunar in sod., 2009). Nedavne študije dokazujejo antimikrobne, antibakterijske in antioksidativne lastnosti (Sunar in sod., 2009) teh na pogled drobnih rastlinic.

Eterična olja in pripravke iz izvlečkov materine dušiceso izkoriščali že pred tisoči leti v alternativni medicini in terapijah za zdravljenje astme, arterioskleroze, bronhitisa, kašla, diareje in revmatizma (Simon in sod., 1984) ali kot dodatek jedem (Imelouane in sod., 2009). Sodobne študije pa so potrdile in dokazale veliko vsebnost antimikrobnih, protivirusnih, protiparazitskih, spazmolitičnih in antioksidativnih učinkovin.

2.1.2.1 Materina dušica ali *Thymus* spp.

Najbolje uspeva v dobro odcednih, suhih tleh na sončnih lokacijah.

Liste, ki so običajno prisotni v mešanici še nekaterih drugih začimb, uporabljajo v kulinariki kot dodatek k mesnim jedem, omakam, juham, sirom, školjkam, idr. (Simon in sod., 1984). Prav tako kot šetraj se tudi materina dušica uporablja kot zeliščni čaj, insekticid in aroma (Sunar in sod., 2009).

Eterična olja materine dušice vsebujejo v večini primerov večji delež karvakola kot timola (Fecka in Turek, 2008). Med biološko aktivne sestavine, prisotne v materini dušici, sodijo še kavna kislina in njeni oligomeri (rožmarinska kislina), flavoni, flavanoli, monoterpeni glikozidi, diterpeni, triterpeni, steroli in mnoge druge (Fecka in Turek, 2008).

V Sloveniji je poznanih nekaj vrst divjega timijana oz. materine dušice: *Thymus alpestris* Tausch ali planinska materina dušica, *Thymus alpigenus* Kerner ali alpska materina dušica, *Thymus balcanus* Borb. ali balkanska materina dušica, *Thymus polytrichus* Kerner ali dlakava materina dušica, *Thymus praecox* Opiz. ali rana materina dušica, *Thymus longicaulis* Presl. ali dolgostebelna materina dušica, *Thymus pulegioides* L ali polajeva materina dušica, *Thymus serpyllum* L. ali poljska materina dušica, *Thymus montanus* W. et Kit. ali gorska materina dušica, *Thymus vulgaris* L. ali vrtna materina dušica, *Thymus illyricus* Ronn. ali ilirska materina dušica itd. (Martinčič in Sušnik, 1984).

2.2 DPPH METODA

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) metodo, ki je namenjena določanju antioksidacijskega potenciala, je pred več kot 50-imi leti prvi predstavil Marsden Blois, takrat zaposlen na Univerzi Stanford v Veliki Britaniji (Molyneux, 2004). Z njo interpretiramo učinkovito koncentracijo antioksidanta (EC_{50} oz. IC_{50}), ki je potrebna za redukcijo 50 % obarvanosti (absorance) DPPH-radikala (DPPH \bullet). Manjše vrednosti IC_{50} pomenijo večji antioksidativni potencial (Molyneux, 2004).

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH \bullet) je stabilen prosti radikal z neparnim valenčnim elektronom na mostu dušikovega atoma (Sharma in Bhat., 2009) in je v metanolni ali etanolni raztopini močno vijolično obravan. Njegova formula je $C_{18}H_{12}N_5O_6$, molarna masa, $M=394,33$ (Molyneux, 2004).

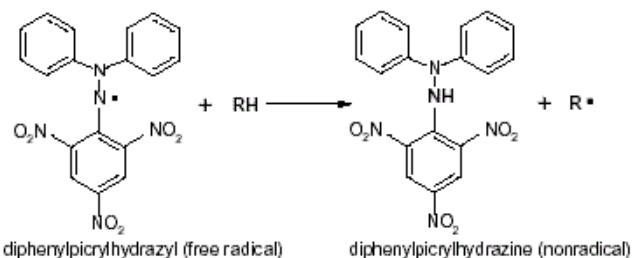
Deluje na principu redukcije prostega valenčnega elektrona na dušikovi molekuli, ki v raztopini s substanco, ki lahko donira vodikov atom, preide v redukcijsko obliko, kar opazimo kot spremembo vijoličaste barve v bledo rumeno (Molyneux, 2004).

Osnovna reakcija se glasi (Brand-Williams in sod., 1995):



DPPH molekula s prostim elektronskim parom (\bullet) reagira z antioksidantom (A), pri tem poteče reakcija redukcije. DPPH nima več prostega elektronskega para zaradi sprejema vodikovega atoma (H), antioksidant pa je oksidiran. Pri poteku reakcije opazimo to kot spremembo prehoda barve iz temno vijolične v rumeno.

1,1-difenil-2-pikrilhidrazilni radikal (DPPH \bullet) reagira z veliko aktivnimi molekulami kot so askorbinska kislina, hidrokinoni, glutationi, aromatični amini, α -tokoferoli, aromatičnimi polihidroksidi, po drugi strani pa ne reagira v prisotnosti proteinov z monohidričnimi fenoli (npr. steroli), enostavnimi sladkorji (npr. glukozo), purini in piramidini. Prav tako so lahko reakcije motene v prisotnosti anorganskih ionov z majhnim valenčnim stanjem (Molyneux, 2004). Svetloba, kisik ter pH reakcijske raztopine vplivajo na absorbanco DPPH-ja (Sharma in Bhat, 2009) in s tem na sam potek reakcije.



Slika 1: Reakcija redukcije DPPH (Obrazložitev pri formuli 1) (Laboratory..., 2013)

Inhibicijo prostega radikala, DPPH, izraženo v odstotkih (%) izračunamo:

$$I\% = [(A_{slepi}/A_{vzorca})/A_{slepi}] * 100 \quad \dots(2)$$

Kjer je I inhibicija, podana v odstotkih in A kot absorbanca. V našem primeru imamo absorbanco slepega vzorca, A_{slepi} (vsebuje topilo ter DPPH, ne pa tudi rastlinskega vzorca) in predstavlja t.i. kontrolo vzorca, A_{vzorec} pa nam poda absorbanco reagiranega ekstrakta (Orhan in sod., 2009).

Da bi pojasnili aktivnost fenolov kot substanc, ki vplivajo na stabilnost disperzije maščobnih kislin, lipidov, lipoproteinov idr. v smislu preprečevanja reakcije oksidacije, je bilo izvedenih že veliko raziskav. Dosedanje ugotovitve pa kažejo na dognanja, da imajo posamezni polifenoli specifično zmožnost inhibicije oksidacij (Rice-Evans in sod., 1996). Nekatere med njimi so kelacija kovinskega iona, lovljenje prostih radikalov (z antioksidanti, ki imajo sposobnost donacije vodikovega elektrona) ali inaktivacije kisikovih spojin (Rice-Evans in sod., 1996; Rice-Evans in sod., 1997) idr.

2.3 ANTIOKSIDANTI

Antioksidativna hipoteza pravi da 'kot lahko antioksidanti preprečijo škodo povzročeno s strani oksidantov, lahko povečan prehranski vnos antioksidantov prav tako zmanjša možnost nastanka kroničnih obolenj' (Stanner in sod., 2004).

Dokazano je, da igrajo prosti radikali pomembno vlogo v patogenih in fizikalnih procesih kot so staranje, rakava obolenja (Berg in sod., 2000) in bolezni srca (Buričová in Réblová., 2008).

Glavna značilnost t.i. antioksidantov je sposobnost lovljenja in vezave prostih radikalov, ki lahko oksidirajo nukleinske kisline, proteine, lipide, ter na ta način preprečijo degenerativne bolezni. S tem, ko antioksidativne spojine, kot so fenolne kisline, polifenoli, flavonoidi idr. vežejo proste radikale kot so peroksidi, hidroperoksidi, lipidni peroksidi, kar vodi do inhibicije oksidacij, posledično pa tudi do preprečevanja degenerativnih bolezni (Prakash in sod., 2001).

Antioksidativne spojine rastlinskega izvora, posebno fenoli kot so karnozol, timol, karnozolna kislina, hidroksitirozol, derivati galne kisline, tanini, rožmarinska kislina in številni drugi, postajajo zaradi antioksidativnega potenciala vedno aktualnejši z vidika prehranskega uživanja (Halliwell in sod., 1995). Te spojine lahko v obliki naravnih virov zaužijemo s konzumacijo sadja, zelenjave, žitaric, čajnih pripravkov, vin ter nekaterih začimb (Buričová in Réblová, 2008), v našem primeru rastlinskih vrst iz družine ustnatic (Lamiaceae).

3 MATERIALI IN METODE

3.1 ZASNOVA POSKUSA

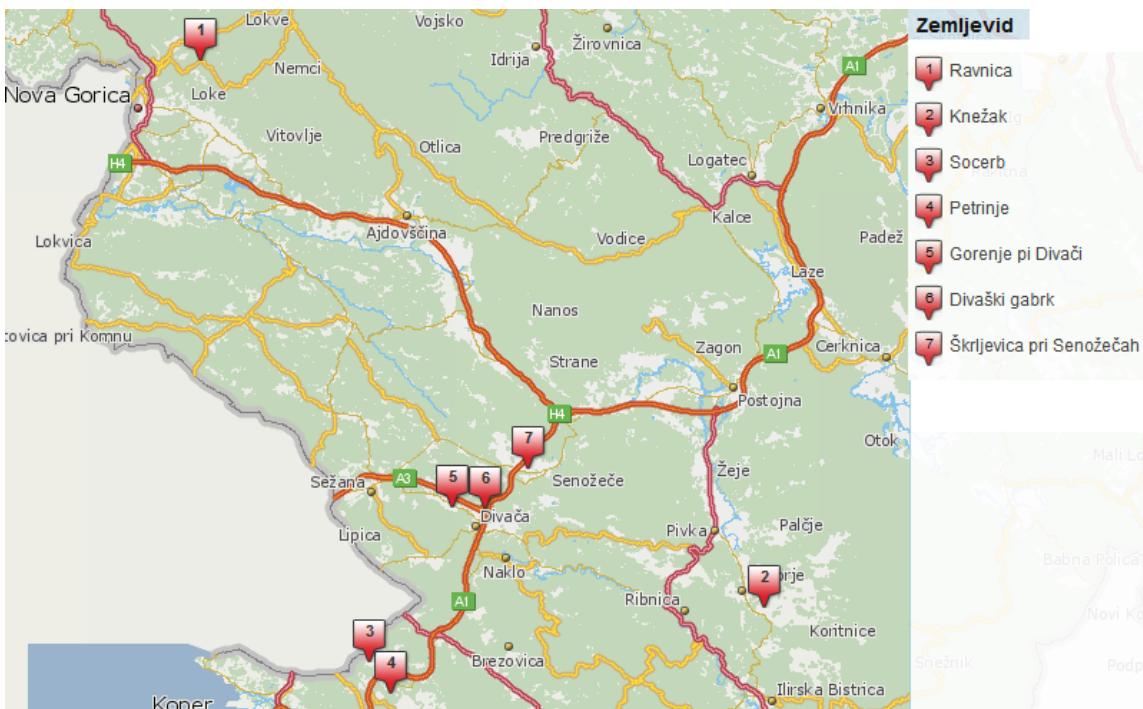
Seznam materiala:

- ✓ papirnate vrečke volumna 5l
- ✓ vrtnarske škarje
- ✓ sušilnik
- ✓ zatemnjene stekleničke z navojnim pokrovčkom
- ✓ vodno hlajeni mlinček (Analisenmühle, A 10, Storüng)
- ✓ 300 µm sito
- ✓ zaščitna maska

Na lokacijah Petrinje, Divača, Senožeče, Socerb, laboratorijsko polje Biotehniške fakultete, Ravnica (okolica Nove Gorice) in Knežak smo v letu 2009 nabirali rastlinske vzorce v obdobju od julija do prve polovice septembra ter v maju in juniju leta 2010, vedno v suhem in sončnem vremenu. Večina rastlin je bila nabranih v času polnega cvetenja, z izjemo nabranih rastlin v času tvorbe semena, ki so bile posejane na Lab. polju BF v letu 2008.



Slika 2 (od leve proti desni): Kraški šetraj (*Satureja montana* L.) v naravnem okolju; nabiranje rastlin oz. rastlinskega materiala; *Thymus* spp.



Slika 3: Lokacije v naravi, kjer smo nabirali vzorce kraškega šetraja (*Satureja montana* L.) in materine dušice (*Thymus* spp.) (Zemljevid,...2013).

3.2 POTEK POSKUSA

Na vsaki lokaciji smo nabrali po 3 vzorce iz populacije na širšem območju, ki je obsegalo približno 2500 m^2 . Na lokaciji Ravnica sta bila nabранa dva vzorca ter v Knežaku eden, vendar pa na širšem območju, saj tam šetraj le ni tako močno razširjen in razširjen kot na ostalih lokacijah v notranosti Krasa.

Vzorce smo shranili v papirnatih vrečkah ter tako preprečili tvorbo plesni in gnitje vzorcev, kar bi vodilo do hidrolize snovi v rastlinah. Vzorce smo stehtali ter sušili pri 40°C v sušilniku do konstantne mase. Količino vode v vzorcu smo izračunali kot razliko v masi sveže nabranega in suhega vzorca. Vzorce smo shranili v suhem in temnem prostoru pri sobni temperaturi, vselej v enakih papirnatih vrečkah, kjer so obstale do nadaljnje obdelave. V spomladanskem času, v maju in začetku junija, se je opravilo še eno nabiranje materine dušice (*Thymus* spp.) v času cvetenja, na območju Divače, Ravnice, Lab polja BF ter Knežaka. Rastline smo pripravili za analize na enak način kot prvo serijo vzorcev. Sledila je prva faza dela v laboratoriju, pri zasenčenih oknih in sobni temperaturi. Vsak vzorec smo zdobili na manjše koščke ter zmleli v mlinčku, hlajenem z vodo in ga stehtali. Zmlete vzorce smo nato še presejali na situ (velikost $300\mu\text{m}$), jih ponovno stehtali, nato pa shranili v stekleničke iz temnega stekla. Med vsemi vzorci smo jih deset naključno izbrali, jih razpolovili ter polovico njihove mase presejali, ostalo polovico pa ne.

Tako pripravljeni vzorce smo shranili v omaro, temo, pri sobni temperaturi.



Slika 4 (od leve proti desni): Mletje rastlinskega materiala z vodno hlajenim mlinčkom, rastlinski material, hranjenje vzorcev v zatemnjenih stekleničkah do nadaljnje obdelave.

Preglednica 1: Popis vzorcev rastlinskih vrst nabranih v naravnem okolju v letu 2009 (nadaljevanje na strani 10)

Rastlinska vrsta		AKCESIJA	datum nabiranja	nabrani vzorci
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 25 Socerb	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
			6.8.2009	C
			10.9.2009	II-A
			10.9.2009	II-B
			10.9.2009	II-C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 27 Socerb	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
			6.8.2009	C
			10.9.2009	II-A
			10.9.2009	II-B
			10.9.2009	II-C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 28 Socerb	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
			6.8.2009	C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 30 Socerb	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
			6.8.2009	C
			10.9.2009	II-A
			10.9.2009	II-B
			10.9.2009	II-C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 32 Divača	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 35 Petrinje	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
			6.8.2009	C

se nadaljuje...

nadaljevanje

Rastlinska vrsta		AKCESIJA	datum nabiranja	nabrani vzorci
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 35 Petrinje	10.9.2009	II-A
			10.9.2009	II-B
			10.9.2009	II-C
Pritlikavi šetraj	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39 Petrinje	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
			6.8.2009	C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 46 Senožeče	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
			6.8.2009	C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	N 47 Divača	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
			6.8.2009	C
Pritlikavi šetraj	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39 Petrinje	6.8.2009	A
			6.8.2009	B
Materina dušica	<i>Thymus</i> spp.	N 32	6.8.2009	A
	<i>Thymus</i> spp.			
	<i>Thymus</i> spp.	N 48	6.8.2009	A
	<i>Thymus</i> spp.			
	<i>Thymus</i> spp.	N 51A Ravnica	5.7.2009	A
	<i>Thymus</i> spp.			
	<i>Thymus</i> spp.			
	<i>Thymus</i> spp.	N 48 Divača	6.8.2009	A
	<i>Thymus</i> spp.			B
	<i>Thymus</i> spp.			C
	<i>Thymus</i> spp.	N 50 Knežak	15.5.2010	A
	<i>Thymus</i> spp.			
	<i>Thymus</i> spp.	N 51A Ravnica	23.5.2010	A
	<i>Thymus</i> spp.			
	<i>Thymus</i> spp.	N 48 Divača	25.5.2010	A
	<i>Thymus</i> spp.			

Preglednica 2: Rastlinski material, nabran na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete v letu 2009.

Rastlinska vrsta		AKCESIJA	datum nabiranja	nabrani vzorci
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25	30.7.2009	A
			30.7.2009	B
			30.7.2009	C
			30.7.2009	D
			30.7.2009	E
			30.7.2009	F
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27	7.8.2009	A
			7.8.2009	B
			7.8.2009	C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28	29.7.2009	A
			29.7.2009	B
			29.7.2009	C
			29.7.2009	D
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30	29.7.2009	A
			29.7.2009	B
			29.7.2009	C
			29.7.2009	D
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35	7.8.2009	A
			7.8.2009	B
			7.8.2009	C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	BF 39	7.8.2009	A
			7.8.2009	B
			7.8.2009	C
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46	30.7.2009	A
			30.7.2009	B
			30.7.2009	C
			30.7.2009	D
			30.7.2009	E
			30.7.2009	F
			30.7.2009	G
Kraški šetraj	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47	7.8.2009	A
			7.8.2009	B
			7.8.2009	C
Pritlikavi šetraj	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39	29.7.2009	A
			29.7.2009	B

Legenda:

 Odbrani in obravnavani vzorci, zaradi velike količine nabranega materiala nismo obravnavali vseh nabranih vzorcev populacije

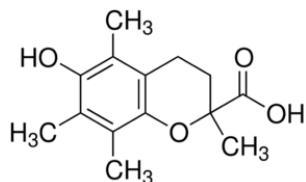
Sledila je 2. faza laboratorijskega dela.

3.2.1 Pripravočki in naprave

- ✓ merilni valj (V= 500ml)
- ✓ pipete
- ✓ 0,45µm membranski filtri za filtriranje supernatanta
- ✓ centrifugirke
- ✓ parafilm
- ✓ viale oz. analitske stekleničke
- ✓ stojala za viale
- ✓ digitalna mikrotehnica
- ✓ ultrazvočna kopel
- ✓ centrifuga
- ✓ spektrofotometer
- ✓ mikroplošče (96 lukenj, volumna 300µl)
- ✓ zamrzovalna omara

3.2.2 Kemikalije

- ✓ dH₂O (destilirana voda)
- ✓ metanol (100 %, 80 % in 40 %)
- ✓ etanol (96 %, 70 %, 40 %)
- ✓ 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)
- ✓ Troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametikroman-2-karboksilna kislina)



slika 5: Molekula Troloksa (Sigma...,2013)

V centrifugirko smo odtehtali po 5 g vsakega vzorca, ga prelili s 5 ml topila, prekrili s parafilmom, postavili na stresalnik oz. v našem primeru v ultrazvočno kopel (UZ kopel) za 15 min, nato pa še na centrifugo za 10 min pri 5000 obratih. Temu je sledil odvzem supernatanta, nato pa smo istemu vzorcu še enkrat prilili 5 ml topila, dali v UZ kopel za 15 min nato pa še na centrifugo za 10 min/5000 obr. Pri emulzijah, pridobljenih z manj koncentriranimi topili (40 % etanol in metanol ter deionizirani vodi) smo čas centrifugiranja povečali na 20 min, saj je bilo oteženo filtriranje supernatanta zaradi velikega deleža ostankov vzorcev (predvsem ostankov dlačic in olesenelih delov stebelc, ki so prešli skozi 300 µm sito). Supernatante smo shranili v za to namenjene analitske stekleničke oz. viale, le-te pa smo postavili v zamrzovalno omaro pri temperaturi -20°C, kjer so ostali shranjeni do nadaljnje obdelave.

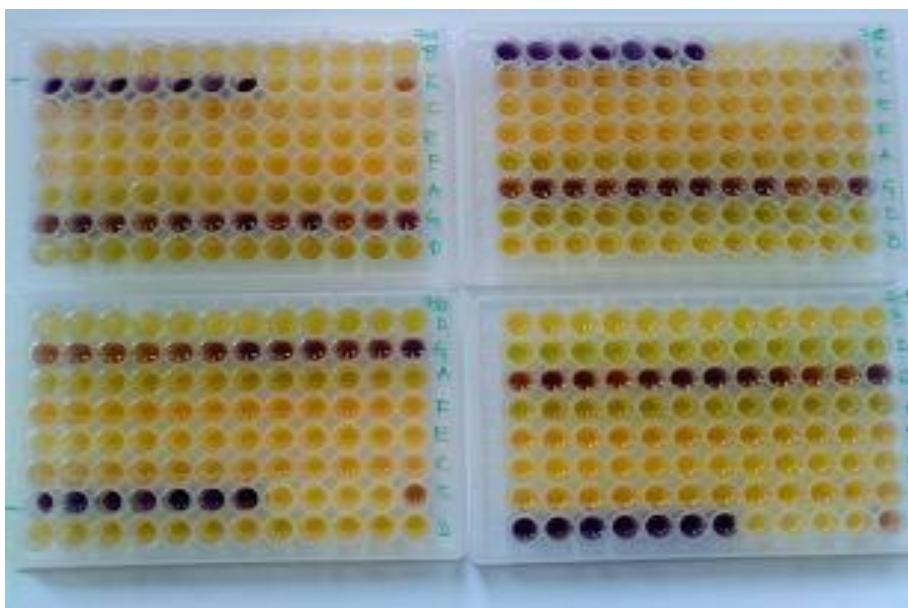
Sledila je zadnja, 3. faza laboratorijskega dela: priprava mikrotiterskih plošč s preparati ter meritve na spektrofotometru.



Slika 6: Priprava izvlečkov (od leve proti desni): analitske stekleničke z rastlinskimi vzorci ($V=50\text{ml}$); zatehtani rastlinski material (0,5g) v označenih centrifugirkah; viale in centrifugirke; odvzet supernatant iz centrifugirk (sledilo je filtriranje v viale).

Pripravili smo 0,04 % metanolno raztopino DPPH ter pet različnih koncentracij Troloksa (v vlogi standarda) iz založne raztopine 1mg/ml Troloksa (TEAC). Na 96-luknjičasto mikrotitersko ploščo smo nanesli 50 μl vzorca in 100 μl topila, oz. 150 μl kontrolnega vzorca (vsebuje le topilo brez rastlinskega ekstrakta), vsem vzorcem pa nato dodali po 100 μl 0,04 % metanolne raztopine DPPH. Ena vrstica na mikrotiterski plošči je bila uporabljena za t.i. slepe vzorce (topilo brez vzorca z DPPH-jem) ter kontrolne vzorce oz. vzorce s standardom v različnih koncentracijah izražene kot TEAC (Troloksu ekvivalentno antioksidativno delovanje) z raztopino DPPH. Na vsaki plošči je bilo tako hkrati v stolpcih po 12 vzorcev v vseh 7-ih različnih topilih (v vrsticah), ena vrstica je pripadala že prej omenjenim slepim vzorcem ter petim raztopinam različnih koncentracij standarda.

Koncentracijski raztopini Troloksa in DPPH-ja smo vsak dan pripravljali sveži, pred in po vsaki uporabi (nanosu na mikrotitersko ploščo) pa hranili pri -20°C v zamrzovalni omari, skupaj z uporabljenimi vzorci, zaradi čim boljše optimizacije poskusa. Vse meritve smo opravljali v 4-ih ponovitvah. Inkubacija mikrotiterskih plošč je potekala pri sobni temperaturi. Absorbanco smo pomerili po 30 min inkubacije pri 520 nm na spektrofotometru (Spektrofotometer MRX; Dynex Technologies, Virginia, ZDA).



Slika 7: Prikaz vzorcev po opravljenih meritvah na spektrofotometru. Parametri: A-96 % etanol, B-70 % etanol, C-40 % etanol, D-100 % metanol, E-80 % metanol, F-40 % metanol, G-deionizirana voda (dH₂O), K-kontrola (z vsemi sedmimi topili) in vzorci z vsebovanim standardom (TEAC test).

3.2.3 Cilji raziskav

Zanimal nas je antioksidativni potencial šetraja in materine dušice, pri čemer smo predvidevali, da ima materina dušica večji antioksidativni potencial. Predvidevali smo, da bomo zaznali razliko v antioksidativnem potencialu med rastlinami, vzetimi iz narave in rastlinami, vzgojenimi na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete.

Prav tako smo primerjali med seboj vzorce, ki so bili razpolovljeni (del vzorca je bil presejan, drugi pa ne) ter razsodili ali sejanje vpliva na pripravo vzorcev in s tem na boljše rezultate v smislu izmerjene absorbance in če, v kolikšni meri. Rezultate smo podali v odstotkih.

Poskus je zajemal 7 različnih koncentracij topil:

- ✓ 100 % (top. D), 80 % (top. E) in 40 % (top. F) metanol,
- ✓ 96 % (top. A), 70 % (top. B) in 40 % (top. C) etanol,
- ✓ destilirano vodo (dH₂O) (top. G).

Zanimalo nas je, kolikšen vpliv ima topilo na vzorce. Zaradi topnosti oziroma netopnosti fenolov v vodi in z vodo redčenima alkoholoma (metanol in etanol) lahko pri večjih koncentracijah topil metanola in etanola pričakujemo večjo topnost fenolov, saj le-te po kemijski strukturi uvrščamo med polarne snovi tako nekatere fenole kot tudi dana topila. DPPH reagent najbolje deluje s čistim metanolom in etanolom. Zato pričakujemo najboljše končne rezultate v obliki zmanjšane absorbance pri vzorcih narejenih s 100 % in 80 % metanolom. Dokazano je že, da snovi kot so voda, aceton, idr. motijo reakcijo z DPPH

radikalom. Ta ima v našem primeru funkcijo pokazatelja, da je reakcija potekla oz. je molekula oddala prosti valenčni elektron. Slednje opazimo kot prehod barve iz intenzivno vijolično obarvane raztopine DPPH-ja v rumeno obarvanost. Rezultate tolmačimo z IC₅₀ vrednostjo, definirano kot izgubo 50 %obarvanosti DPPH-ja od reakciji s koncentracijo substrata (Molyneux, 2004). Za primerjavo dobljenih podatkov smo uporabili t.i. TEAC metodo (Trolokušu ekvivalentno antioksidativno delovanje).

3.3 STATISTIČNA ANALIZA IN GRAFIČNA PREDSTAVITEV REZULTATOV

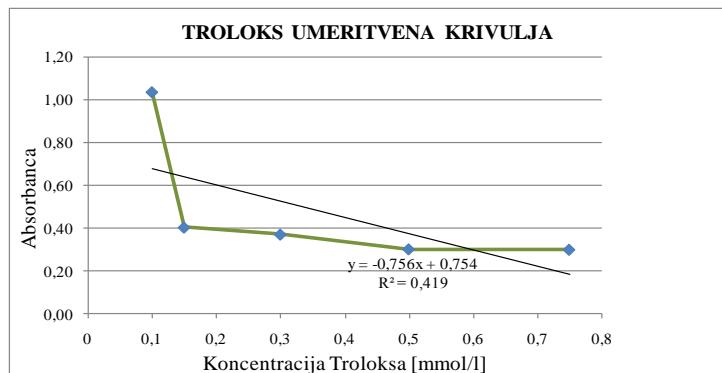
Rezultate smo podali s klasično statistično metodo analize variance (ANOVA), statistično značilne razlike med obravnavanji pa z Duncanovim testom ($p \leq 0,05$). Analize smo naredili v programu R 2.15.2 (R Core Team, 2012). Zanimala sta nas predvsem odstotek inhibicije prostega radikala, DPPH v interakcijah med različnimi parametri ter kakšno je Trolokušu ekvivalentno antioksidativno delovanje preizkušanih vzorcev.

Statistično značilne razlike med obravnavanji so v preglednici 3 in 12 označene z zvezdico oz. zvezdicami (večje ko je število zvezdic, bolj statistično značilno je obravnavanje). V preglednicah 4 do 8, preglednicah 10, 11, 13 in 14 ter preglednicah 16 do 20 so statistično značilne razlike med obravnavanji označene z različnimi črkami v stolpcu »Skupina«.

4 REZULTATI

4.1 ANALIZA REZULTATOV

Po končanem poskusu smo ugotovili statistično značilne razlike med nekaterimi topili v interakciji z rastlinskimi vrstami ali okoljem in interakcije med vsemi tremi dejavniki.



Slika 8: Podana je umeritvena krivulja za Troloks. Abcisna os zajema milimolarne vrednosti, ki so bile preračunane glede na zahtevano koncentracijo Troloksa. Kot rezultat smo podali povprečje vsot meritev koncentracij s posameznih plošč. Založna raztopina je bila 1 mg/ml Troloksa. Kot topilo smo uporabili 100 % metanol. Ordinata podaja vrednosti povprečjih absorbanc s posameznih plošč. V točki, kjer je koncentracija Troloksa najmanjša, doseže absorbanca največjo vrednost ter obratno.

4.1.1 Rezultati statistične metode analize varianc povprečnega odstotka inhibicije prostega radikala DPPH

Slika 9 nam prikazuje grafično podane rezultate statistične metode analize varianc (ANOVA). V obravnavanja so bili vključeni štirje različni dejavniki (okolje, topilo, rastlinska vrsta ter dejavnik, ki je zajemal 10 naključno izbranih rastlinskih vzorcev (presejani in nepresejani) ter njihove medsebojne interakcije, s katerimi smo izražali odstotek inhibicije prostega radikala DPPH (kasneje pa TEAC vrednost).

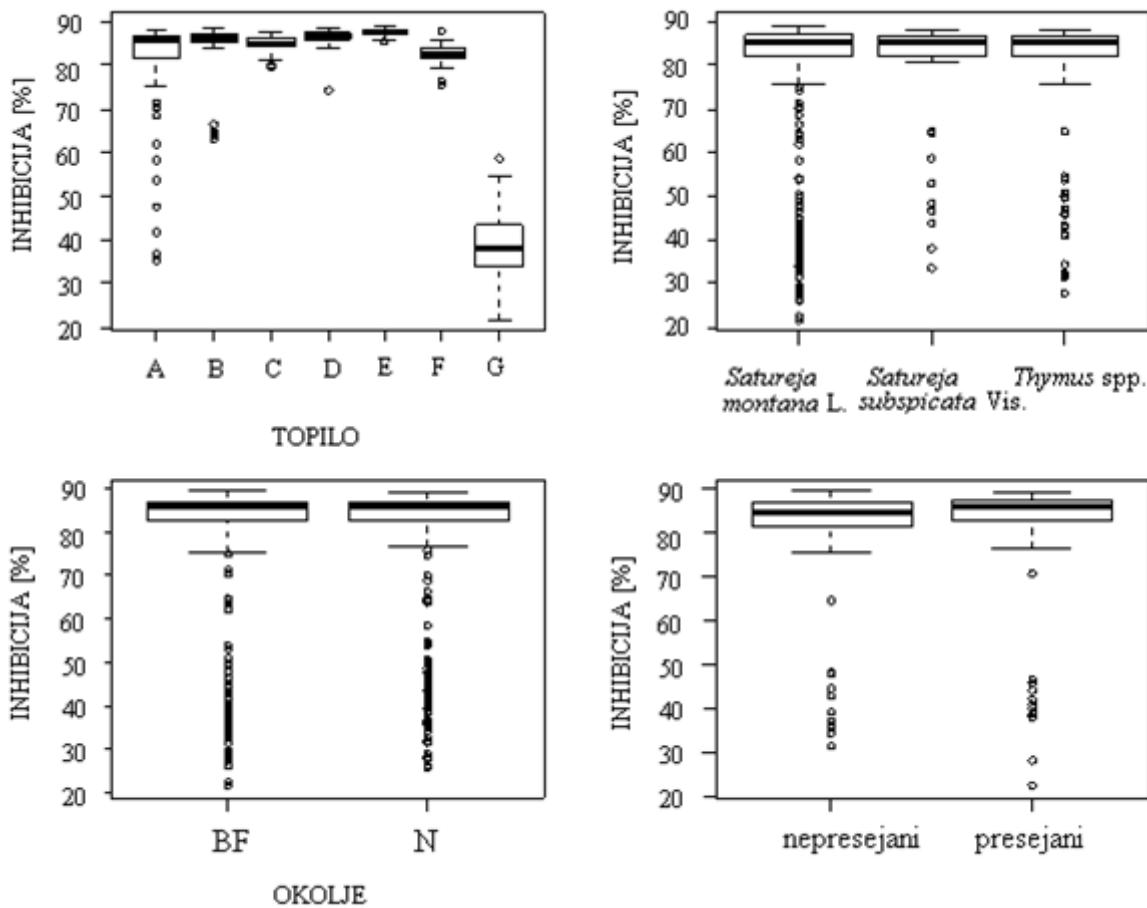
Grafikon zgoraj levo prikazuje odstotek inhibicije prostega radikala DPPH kot podan rezultat med topilom in rastlinsko vrsto; grafikon spodaj levo prikazuje odstotek inhibicije prostega radikala DPPH kot rezultat podan med okoljem in rastlinsko vrsto; grafikon zgoraj desno nam prikazuje interakcijo med rastlinskimi vrstami; grafikon spodaj desno pa interakcijo med desetimi rastlinskimi vrstami, ki so bile ob koncu prve faze obdelave vzorcev razpolovljene, nato pa smo polovico mase vzorcev presejali s 300 µm sitom, polovico pa ne.

Iz grafičnih prikazov in sledečih preglednic (v nadaljevanju) analize varianc smo razbrali statistično značilne razlike v inhibiciji prostega radikala DPPH med parametri kot so bili:

- ✓ različna topila,
- ✓ vrste rastlin,
- ✓ interakcije med topili in okoljem ter
- ✓ topili in rastlinskimi vrstami.

Pri obravnavanjih, kjer so se izrazile statistično značilne razlike, smo analizo variance nadaljevali s t.i. Duncan-ovim testom. Obravnavanja, kjer statistično značilnih razlik ni

bilo, smo podali v poglavju Priloge. Prav tako pa smo med priloge priložili preglednice ANOVE posameznih obravnavanj po topilih.



Slika 9: Grafikoni statistične analize varianc opravljene s tremi dejavniki in njihovimi interakcijami glede na povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH.

Med različnimi okolji in interakcijah med okolji in rastlinskimi vrstami ter topili, okolji in rastlinskimi vrstami, statistično značilnih razlik v povprečnih vrednostih inhibicije prostega radikala DPPH, ni bilo.

Preglednica 3: Rezultati statistične metode Analize varianc s tremi dejavniki in njihovimi interakcijami glede na povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH.

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
TOPILO	6	183053	30509	1	< 2e-16 ***
OKOLJE	1	7	7	0,235	0,627819
VRSTA	2	239	119	4	0,014524 *
TOPILO:OKOLJE	6	688	115	4	0,000487 ***
TOPILO:VRSTA	12	1849	154	5	5,61e-09 ***
OKOLJE:VRSTA	2	1	1	0,024	0,976221
TOPILO:OKOLJE:VRSTA	12	194	16	0,578	0,861115

* računalniški prikaz statistično značilnih razlik pri uporabi statistične metode analize varianc (ANOVA). Več zvezdic skupaj (*) pri določenih obravnavanjih pomeni večje statistično značilne razlike ter obratno.

4.1.2 Rezultati Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med topili

Med rastlinskimi izvlečki narejenimi z 80 % in s 100 % metanolom, 40 % in 70 % etanolom ter med rastlinskimi izvlečki narejenimi z 40 % metanolom in 96 % etanolom ni bilo statistično značilnih razlik v odstotku inhibicije prostega radikala DPPH, medtem ko se je izrazila statistično značilna razlika med vodo in vsemi ostalimi topili. Povprečni odstotek inhibicije prostega radikala v vodnem mediju je bil znatno manjši, kot je bil pri vseh ostalih topilih. Dobavljeni rezultat je bil pričakovani, glede na ugotovljeno dejstvo, da vodni medij moti oz. negativno vpliva na samo delovanje DPPH radikala (Molyneux, 2004). Prav tako se je izrazila statistično značilna razlika med skupino a (kjer so skupaj v skupini rastlinski izvlečki narejeni z 80 % metanolom in s 100 % metanolom) in skupino b (skupaj v skupini so rastlinski izvlečki narejeni s 40 % etanolom in 70 % etanolom) ter skupino c (skupaj v skupini so rastlinski izvlečki narejeni s 96 % etanolom in 40 % metanolom). Vzorec je zajemal skupno 651 vzorcev v 7-ih različnih koncentracijah topil. Največji odstotek inhibicije prostega radikala DPPH se je izrazil pri 80 % in 100 % metanolu, medtem ko je bil najmanjši odstotek inhibicije pri dH₂O.

Preglednica 4: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med topili

TOP.	INHIB [%]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost [%]	Največja vrednost [%]	Skupina *	Obravnavanje	Povprečne vrednosti inhibicije [%]	
A	81,635	1,06	99	35,073	88,379		a	E	87,57
B	84,728	0,611	99	63,244	88,911		a	D	86,65
C	85,102	0,16	99	79,881	87,687		b	C	85,1
D	86,651	0,164	99	74,436	88,768		b	B	84,73
E	87,569	0,08	99	85,35	89,237		c	F	82,73
F	82,73	0,192	99	75,629	87,822		c	A	81,63
G	38,611	0,771	99	21,592	58,634		d	G	38,61

4.1.3 Rezultati Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med vrstami

Statistično značilna razlika v antioksidativnem potencialu, interpretiranim z izračunanimi povprečnimi vrednostmi odstotka inhibicije prostega radikala DPPH, se je izrazila med rastlinskima vrstama kraškim šetrajem in pritlikavim šetrajem, ter med kraškim šetrajem in materino dušico, medtem ko statističnih razlik v antioksidativnem potencialu ni bilo med pritlikavim šetrajem in materino dušico. Večji antioksidativni potencial se je izrazil pri kraškem šetraju, kot pri ostalih dveh vrstah.

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

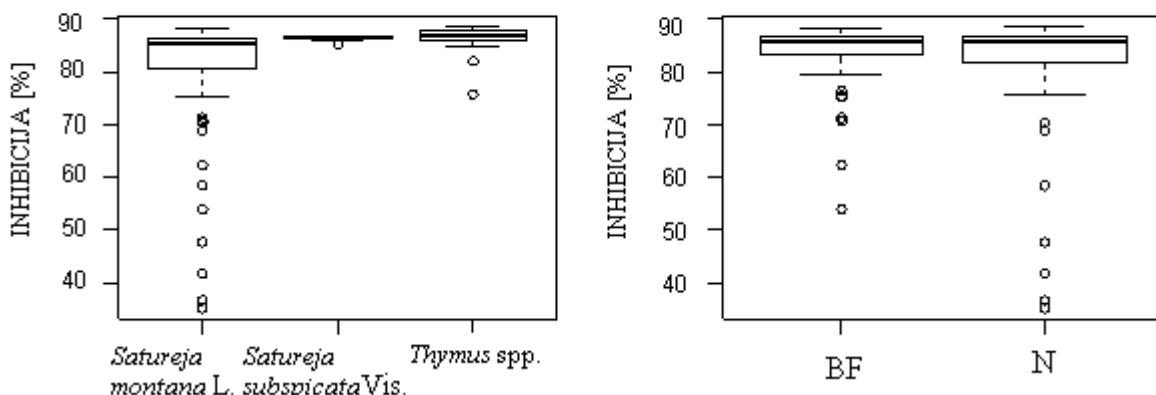
Preglednica 5: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med tremi rastlinskimi vrstami

RASTLINSKA VRSTA	INHIB [%]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost [%]	Največja vrednost [%]	Skupina *	Povprečne vrednosti inhibicije [%]
Kraški šetraj	77,853	0,775	525	21,592	89,237	b	77,85
Pritlikavi šetraj	79,074	2,098	49	33,515	88,458	a	79,07
Materina dušica	79,058	1,424	119	27,729	88,403	a	79,06

4.2 STATISTIČNA ANALIZA RAZLIK PO POVPREČNEM ODSTOTKU INHIBICIJE PROSTEGLA DPPH RADIKALA MED VRSTAMI IN OKOLJEM PO POSAMEZNIH TOPILIH

4.2.1 Topilo A (96 % etanol)

TOPILO A



Slika 10: Analize razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 96 % etanolu

Preglednica 6: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 96 % etanolom

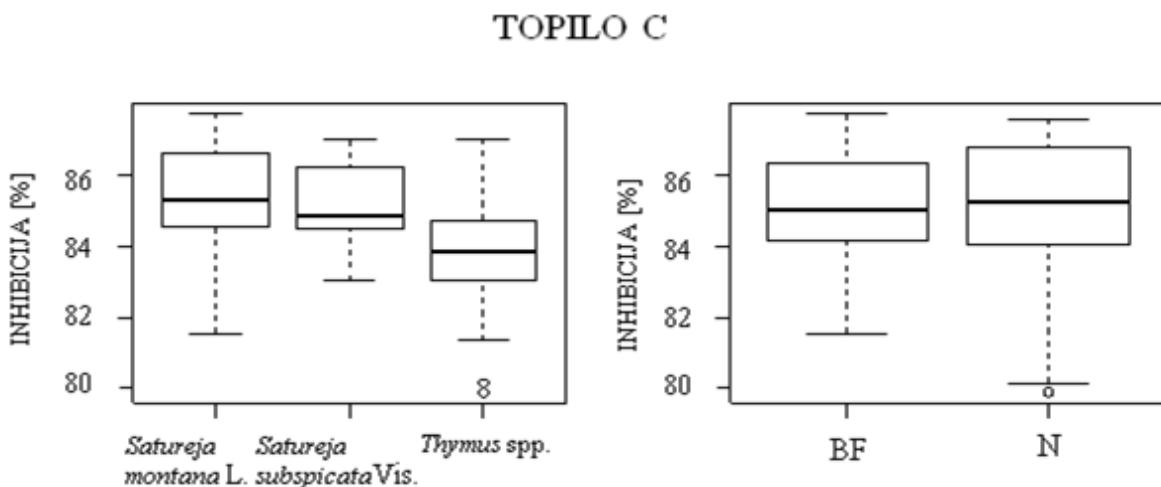
RASTLINSKA VRSTA	INHIB [%]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost [%]	Največja vrednost [%]	Skupina *	Povprečne vrednosti inhibicije [%]
Kraški šetraj	80,241	1,352	75	35,073	88,22	b	80,24
Pritlikavi šetraj	86,265	0,208	7	85,207	86,797	a	86,26
Materina dušica	85,879	0,743	17	75,637	88,379	a	85,88

Iz grafikona levo zgoraj lahko razberemo, da kraški šetraj, nekoliko odstopa v povprečnih vrednostih inhibicije prostega radikala DPPH od ostalih dveh vrst, opazna je statistično značilna razlika. Povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH je meril pri 96 % etanolu 81,6 %. Glede na številne osamelce (povprečnih vrednosti odstotka inhibicije prostega radikala DPPH), ki so se pokazali pri kraškem šetraju, bi lahko predpostavili skupno večji odstotek povprečne vrednosti inhibicije prostega radikala DPPH v primeru neprisotnosti oz. odsotnosti teh osamelcev. Vzrok pojava osamelcev ni znan.

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

Po opravljenem Duncan-ovem testu razlik, v povprečnih vrednostih inhibicije prostega radikala DPPH med rastlinskimi vrstami in topilom A, oz. 96 % etanolom, je le ta pokazal statistično značilno razliko med kraškim šetrajem in ostalima dvema vrstama. Med vrstama pritlikavim šetrajem in materino dušico ni bilo statistično značilnih razlik v povprečnih vrednostih inhibicije prostega radikala DPPH (preglednica 6).

4.2.2 Topilo C (40 % etanol)



Slika 11: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 40 % etanolu

Preglednica 7: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 40 % etanolu

RASTLINSKA VRSTA	INHIB [%]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost [%]	Največja vrednost [%]	Skupina *	Povprečne vrednosti inhibicije [%]
Kraški šetraj	85,428	0,158	75	81,527	87,687	a	85,43
Pritlikavi šetraj	85,18	0,521	7	83,042	86,797	a	85,18
Materina dušica	83,629	0,444	17	79,881	87,027	b	83,63

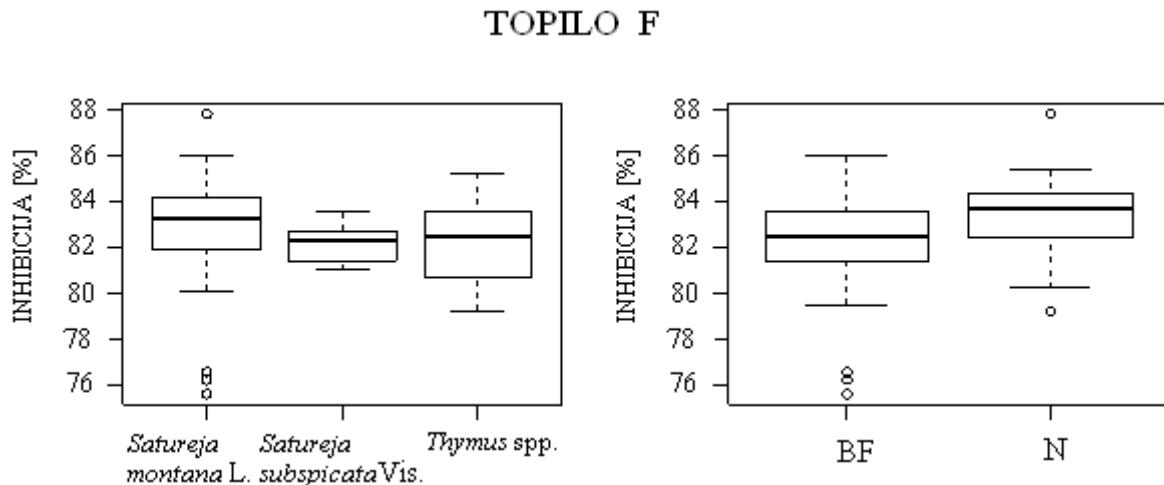
Pri ekstraktih, tretiranih s 40 % etanolom smo najmanjšo absorbanco ($0,387 \pm 0,046$) izmerili pri kraškem šetraju, vzorcu 35IIA, ki je bil nabran v mesecu septembra 2009. Največjo absorbanco ($0,633 \pm 0,195$) pa pri vzorcu N51. Gre za vzorec materine dušice, nabran v Ravnici meseca maja, 2010. Ko govorimo o absorbanci v korelaciji z inhibicijo prostega radikala DPPH sta si obratno sorazmerna, kar pomeni, da manjša kot je vrednost absorbance, večji je odstotek inhibicije prostega radikala DPPH in s tem antioksidativni potencial.

Pri statistični obdelavi podatkov z ANOVA, je test pokazal statistično značilne razlike v povprečni vrednosti inhibicije prostega radikala DPPH med rastlinskimi vrstami (glej slika 11). Zato smo naredili še Duncanov test za razlike med samimi rastlinskimi vrstami, ki je pokazal, da statistično značilne razlike v povprečnih vrednostih inhibicije prostega radikala

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

DPPH obstajajo med materino dušico in vrstama kraškim in pritlikavim šetrajem, med katerima pa ni bilo statistično značilnih razlik (preglednica 7).

4.2.3 Topilo F (40 % metanol)



Slika 12: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 40 % metanolu

Preglednica 8: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med okoljema pri 40 % metanolu

OKOLJE	INHIB [%]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost [%]	Največja vrednost [%]	Skupina *	Povprečne vrednosti inhibicije [%]
BF	82,288	0,262	57	75,629	85,978	b	82,29
N	83,329	0,256	42	79,277	87,822	a	83,33

Analiza varianc ANOVA je pokazala, da je pri tretiranju vzorcev s topilom F (40 % metanolom), prišlo do statistično značilnih razlik med različnimi okoljema (gojenim in naravnim) pri izračunih povprečne vrednosti odstotka inhibicije prostega radikala DPPH (slika 12), zato smo se poslužili še Duncan-ovega testa za boljši vpogled med same razlike (preglednica 8). Pri topilu F smo največje povprečje absorbance ($0,767 \pm 0,122$) izmerili in izračunali pri vzorcu 35C. Gre za vzorec kraškega šetrja, nabranega na Lab. Polju BF, 7.8.2009. Vzorec z najmanjšo povprečno absorbanco ($0,383 \pm 0,073$) je bil nabran 6.8.2009 v bližini Senožeč - vzorec 46A (kraški šetraj). Na sliki 12 levo ga lahko opazimo kot osamelca na vrhu grafiko

V preglednici 9 so izpisani trije najboljši in trije najslabši vzorci iz obeh okolij v smislu izračunanega povprečnega odstotka inhibicije prostega radikala DPPH ne glede na rastlinsko vrsto.

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

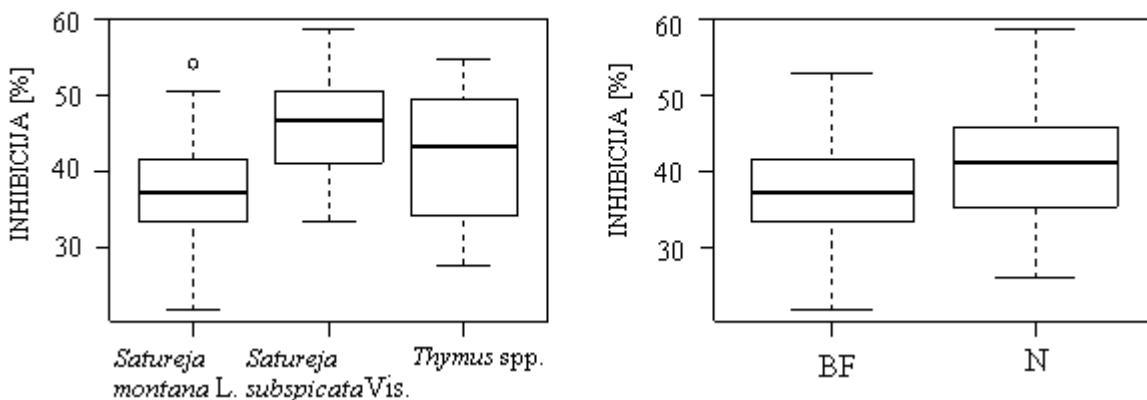
Preglednica 9: Po povprečnem odstotku inhibicije prostega radikala DPPH predstavljeni najboljši in najslabši vzorci iz obeh obravnavanih okolij (Lab. polje BF (BF) ter naravna rastišča (N)) tretirani s 40 % metanolom

Vrsta rastline	Okolje	Vzorec	Povprečne vrednosti absorbance	SD	Povprečni odstotek inhibicije [%]	Povprečne vrednosti TEAC
Vzorci z največjim odstotkom inhibicije [%]						
Kraški šetraj	BF	BF 35C	0,767	0,122	75,629	12,718
Kraški šetraj	BF	BF 35A	0,747	0,093	76,249	12,340
Kraški šetraj	BF	BF 35B	0,737	0,158	76,575	12,142
Materina dušica	N	NT 32B	0,652	0,208	79,277	10,498
Materina dušica	N	N 51 '10	0,620	0,035	80,295	9,879
Materina dušica	N	NT 32 '10	0,614	0,085	80,493	9,758
Vzorci z najmanjšim odstotkom inhibicije [%]						
Kraški šetraj	BF	BF 46C	0,480	0,025	84,730	7,181
Materina dušica	BF	BF 36A	0,470	0,057	85,048	6,987
Kraški šetraj	BF	BF 35IIA	0,441	0,090	85,978	6,422
Kraški šetraj	N	N 46C	0,463	0,059	85,287	6,842
Kraški šetraj	N	N 27A	0,459	0,052	85,422	6,760
Kraški šetraj	N	N 46A	0,383	0,073	87,822	5,300

Pri topilu F (40 % metanolom) so bili vzorci dokaj izenačeni, predvsem ni bilo osamelcev kot v nekaterih drugih primerih. Glede na velik povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH in majhno povprečno TEAC vrednost (mM Troloks/gSS) lahko sklepamo na velik antioksidativni potencial praktično pri vseh rastlinskih vzorcih v obravnavanju.

4.2.4 Topilo G (destilirana voda)

TOPILO G



Slika 13: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri dH₂O

Preglednica 10: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri dH₂O

RASTLINSKA VRSTA	INHIB [%]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost [%]	Največja vrednost [%]	Skupina *	Povprečne vrednosti inhibicije [%]
Kraški šetraj	37,004	0,775	75	21,592	54,230	a	46,01
Pritlikavi šetraj	46,014	3,226	7	33,515	58,635	a	42,65
Materina dušica	42,654	2,051	17	27,729	54,691	b	37,00

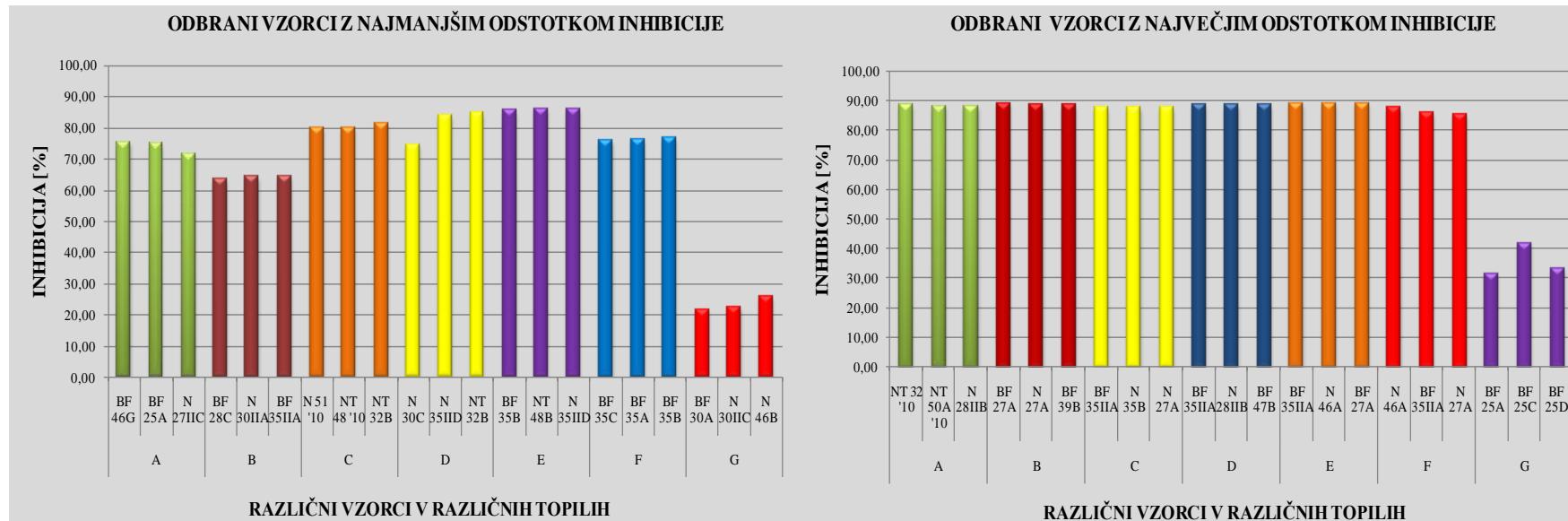
Preglednica 11: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med okoljema pri dH₂O

OKOLJE	INHIB [%]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost [%]	Največja vrednost [%]	Skupina *	Povprečne vrednosti inhibicije [%]
N	40,516	1,252	42	25,964	58,634	a	40,52
BF	37,208	0,938	57	21,592	53,014	b	37,21

Pri obravnavanih vzorcih tretiranih s topilom G (dH₂O) so bile vrednosti izpisanih rezultatov absorbance s spektrofotometra drastično manjše kot pri vseh ostalih obravnavanih topilih (slika 13). Razloge zato lahko iščemo v netopnosti antioksidantov v vodi kot polarnem mediju primerjalno z nepolarnimi topili (alkoholi, estri, metilni etri). Statistično značilne razlike so se tu pokazale tako med obravnavanimi okolji kot tudi med vrstami, zato smo izvedli Duncanov test za oba dejavnika (preglednici 10 in 11). Med vrstami se je izrazila statistično značilna razlika v povprečnem odstotku inhibicije prostega radikala DPPH med materino dušico ter kraškim in pritlikavim šetrajem. Med slednjima ni bilo statistično značilnih razlik v povprečnem odstotku inhibicije prostega radikala DPPH. V vodnem mediju narejeni izvlečki so dali najboljše rezultate izvlečki pritlikavega šetraja, saj največji povprečni odstotek inhibicije sega do 58,6 % (vz. 39A, nabran 6.8.2009 v okolici Petrinj), ter najmanjši ne pade pod 33 % (vz. 39C, nabran 29.7.2009 na Lab. polju BF). Pri ostalih dveh rastlinskih vrstah pa je povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH pri materini dušici največji pri 54,7 % (vz. 48B, nabran 6.8.2009 v okolici Divače), kraškem šetraju pa 54,2 % (vz. 46A, nabran 6.8.2009 v bližini Senožeč). Najmanjšo povprečno vrednost inhibicije prostega radikala DPPH pri materini dušici smo zabeležili pri 27,7 % (vz. 32, nabran 3.6.2010 v okolici Ravnice), pri kraškem šetraju pa celo še nižje, pri 21,5% (vz. 30A, nabran 29.7.2009 na Lab. polju BF).

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

Čeligoj A. Antioksidativno delovanje kraškega šetraja ... in materine dušice (*Thymus* spp.).
Dipl. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2013



Legenda:					
A	96%	etanol	F	40%	metanol
B	70%	etanol	G	dH ₂ O	destilirana voda
C	40%	etanol			
D	100%	metanol	N	naravno rastišče	
E	80%	metanol	BF	laboratorijsko polje BF	

Slika 14: Grafikona prikazujeta po 21 odbranih vzorcev po odstotku inhibicije. Odbira je slonela na naslednjih kriterijih:

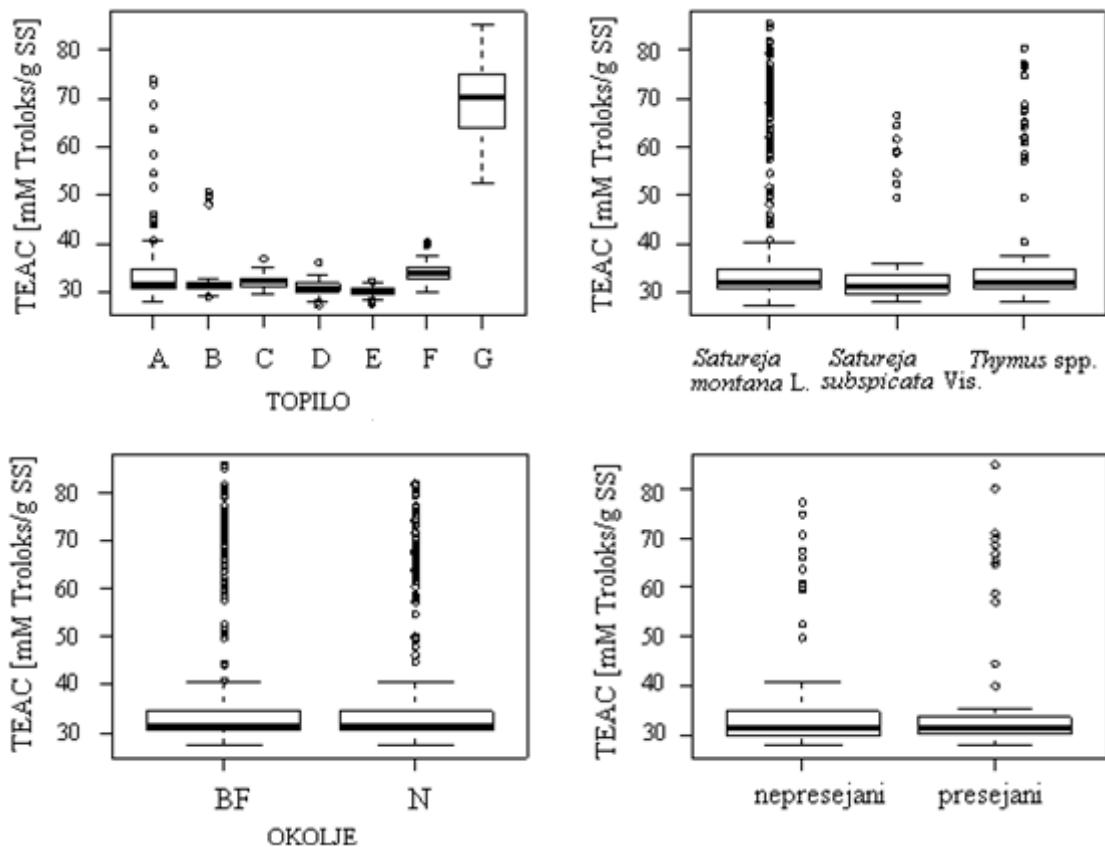
- ✓ Pri grafikonu levo, so bili odbrani po trije vzorci z najmanjšim odstotkom inhibicije pri vsakem topilu posebej. Skupno 21 vzorcev. Če se je kakšen vzorec pri določenem topilu ponovil, je to zgolj slučajnost oz. pokazatelj majhne antioksidativne potencialnosti obravnavanega vzorca.
- ✓ Pri grafikonu desno so bili odbrani po po trije vzorci z največjim odstotkom inhibicije pri vsakem topilu posebej. Skupno 21 vzorcev. Če se je kakšen vzorec pri določenem topilu ponovil, je to zgolj slučajnost oz. pokazatelj velike antioksidativne potencialnosti obravnavanega vzorca.

4.3 STATISTIČNA ANALIZA RAZLIK PO POVPREČNI VREDNOSTI TEAC MED VRSTAMI IN OKOLJEM PO POSAMEZNIH TOPILIH

Tolmačenje rezultatov povprečnih vrednosti TEAC (Troloksu ekvivalentno antioksidativno delovanje) je ravno nasprotno tolmačenju rezultatov povprečnih vrednosti odstotkov inhibicije prostega radikala DPPH, saj manjše kot je povprečje TEAC pri danem vzorcu, večji antioksidativni potencial naj bi ta vzorec imel. Pri opazovanju 96-mikrotiterskih ploščic smo to opazili kot močnejše razbarvanje iz vijolične barve, ki nam jo je dala raztopina DPPH-ja, v intenzivnejšo rumeno barvo. Večja kot je bila koncentracija Troloksa, v bolj rumeno se je raztopina razbarvala.

4.3.1 Rezultati statistične metode analize varianc povprečne vrednosti TEAC

Na sliki 15 (spodaj) so predstavljeni širje grafikoni, narejeni z različnimi interakcijami. Na grafikonu zgoraj levo so bile obravnavane rastlinske vrste v interakcijah z različnimi okolji ter topili. Tu so se tudi pokazale statistično značilne razlike v povprečnih TEAC vrednostih, katere smo podrobneje obdelali z Duncan-ovim testom (preglednica 13). Na grafikonu levo spodaj je bila opravljena interakcija med rastlinskimi vrstami v različnih okoljih, kjer se niso pokazale statistično značilne razlike v povprečnih TEAC vrednostih, zato pa so se razlike izrazile med vrstami v različnih okoljih (slika desno zgoraj). Tudi slednje smo podrobneje obdelali z Duncan-ovim testom (preglednica 14). Na zadnjem grafikonu, spodaj desno, je bila opravljena analiza varianc, izražena v primerjavi s povprečno TEAC vrednostjo, za deset naključno izbranih vzorcev, ki so bili ob koncu prve faze obdelave vzorcev razpolovljeni, nato pa smo polovico mase vzorcev presejali s 300 μm sitom, polovico pa ne. Statistično značilnih razlik pri tem obravnavanju ni bilo.



Slika 15: Grafikoni statistične analize varianc opravljene s tremi dejavniki in njihovimi interakcijami glede na povprečno TEAC [mM Troloks/g SS] vrednost.

Preglednica 12: Rezultati statistične metode Analize varianc s tremi dejavniki in njihovimi interakcijami glede na povprečno TEAC [mM Troloks/g SS] vrednost.

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
TOPILO	6	119700	19950	902	< 2e-16 ***
OKOLJE	1	51	51	2,326	0,127696
VRSTA	2	351	175	8	0,000396 ***
TOPILO:OKOLJE	6	372	62	3	0,010579 *
TOPILO:VRSTA	12	1556	130	6	1,01e-09 ***
OKOLJE:VRSTA	2	20	10	0,448	0,639271
TOPILO:OKOLJE:VRSTA	12	137	11	0,515	0,905906

4.3.2 Rezultati Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med topili

Duncan-ov test je pokazal, da obstajajo statistično značilne razlike med topili v interakciji z rastlinskimi vrstami (preglednica 13) glede na TEAC med 96 % etanolom (topilo A) in vsemi ostalimi topili. Med topilom B (70 % etanol) in topilom C (40 % etanol) ni statistično značilne razlike v izračunani povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS], sta

* računalniški prikaz statistično značilnih razlik pri uporabi statistične metode analize varianc (ANOVA). Več zvezdic skupaj (*) pri določenih obravnavanjih pomeni večje statistično značilne razlike ter obratno.

pa zato skupaj statistično značilna v primerjavi z vsemi ostalimi topili. Tu bile povprečne vrednosti TEAC (z izjemo rezultatov pri top. A) največje, kar se izraža kot slabši AOX potencial. Prav tako ni statistično značilne razlike v izračunani povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med topilom D (100 % metanol) in topilom E (80 % metanol), pri slednjem pa ni statistično značilne razlike s topilom F (40 % metanol). Med 100 % metanolom in 40 % metanolom obstaja statistično značilna razlika v izračunani povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS]. Prav tako ni statistično značilne razlike med topilom F in topilom G (dH₂O), se pa zato dH₂O statistično razlikuje od vseh ostalih topil. Iz preglednice lahko razberemo, da se je največji antioksidativni potencial izrazil pri topilih D in E (100 % (27,248 mM/g SS) in 80% (27,626 mM/g SS) metanol), najmanjši pa pri dH₂O (52,420mM/g SS).

Preglednica 13: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike glede na TEAC [mM Troloks/g SS] vrednost med topili.

TOP.	TEAC [mM Troloks/g SS]	Standardna napaka	Št. vzor.	Najmanjša vrednost TEAC	Največja vrednost TEAC	Skupina *	Obravnav.	Povprečne vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS]
A	34,999	0,902	99	28,031	74,219	a	G	69,69
B	32,42	0,5226	99	28,906	50,716	b	A	35
C	32,065	0,137	99	29,562	36,837	b	F	34,01
D	30,835	0,139	99	27,248	36,048	c	B	32,42
E	30,095	0,096	99	27,626	32,275	cd	C	32,07
F	34,011	0,1901	99	30,206	40,385	de	D	30,84
G	69,694	0,7549	99	52,42	85,464	e	E	30,09

4.3.3 Rezultati Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med rastlinskimi vrstami glede na TEAC [mM Troloks/g SS] vrednost

Med rastlinskimi vrstami je Duncan-ov test prav tako potrdil statistično značilne razlike med kraškim šetrajem in pritlikavim šetrajem ter materino dušico. Med slednjima ni bilo statistično značilnih razlik. Največji antioksidativni potencial se je izrazil pri pritlikavem šetraju, najmanjši pa pri kraškem šetraju (preglednica 14).

Preglednica 14: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami

RASTLINSKA VRSTA	TEAC [mM Troloks/g SS]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost TEAC	Največja vrednost TEAC	Skupina *	Povprečne vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS]
Kraški šetraj	38,038	0,636	525	27,248	85,464	b	38,04
Pritlikavi šetraj	35,597	1,560	49	27,958	66,784	a	37,26
Materina dušica	37,256	1,175	119	27,752	80,345	a	35,60

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

Preglednica 15: Pogostost pojava rastlinskih izvlečkov z največjimi vrednostmi povprečnega odstotka inhibicije prostega radikala DPPH ne glede na topilo.

Rastlinska vrsta	vzorec	A	B	C	D	E	F	G
Kraški šetraj	BF 35IIA	x	x		x		x	x
Materina dušica	BF 36A	x	x		x		x	x
Kraški šetraj	N 35B		x	x	x	x		
Kraški šetraj	N 46A	x		x	x	x	x	x
Kraški šetraj	N 28IIB	x	x	x	x	x		
Kraški šetraj	BF 27A	x	x	x	x	x		
Kraški šetraj	N 30IID	x	x		x	x		
Kraški šetraj	N 35IIB	x	x		x		x	
Kraški šetraj	N 50A			x	x		x	x

Legenda:		
A	96 %	etanol
B	70 %	etanol
C	40 %	etanol
D	100 %	metanol
E	80 %	metanol
F	40 %	metanol
G	dH ₂ O	destilirana voda
N		naravno rastišče
BF		laboratorijsko polje BF

V preglednici zgoraj so izločeni vzorci, ki so ustrezali naslednjima pogojem:

- ✓ so bili odbrani med prvimi 15-imi izvlečki, ki so imeli največje povprečne vrednosti inhibicije prostega radikala DPPH,
- ✓ njihova pogostost pojava je bila najmanj v 4 različnih topilih.

Kot vidimo iz preglednice 15, so se prav vsi vzorci pojavili med 15-imi najboljšimi izvlečki narejenimi s 100 % metanolom, sledita topila A in B.

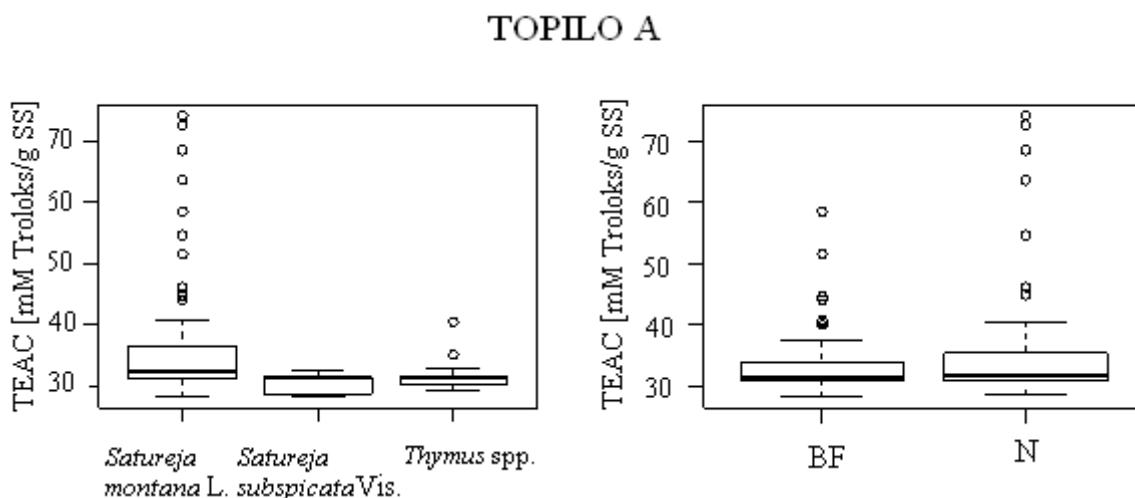
4.4 ANALIZA RAZLIK V ANTIOKSIDATIVNEM POTENCIALU (GLEDANO NA VREDNOST TEAC) MED VRSTAMI IN OKOLJEM PRI POSAMEZNIH TOPILIH

Test Analize variance (ANOVA) je bil opravljen s topilom A, ki je zajemal dejavnike kot so rastlinske vrste, okolje ter interakcije med njimi. Z vsemi nadaljnimi topili bo sledil enak postopek, saj nas zanima vrednost TEAC [mM Troloks/g SS] v korelaciji s posameznimi topili.

Iz slike 16 lahko razberemo, da obstajajo statistično značilne razlike med rastlinskimi vrstami in med okoljem ($p \leq 0,05$) (v AOX potencialu!). Obravnavo teh podatkov smo razširili s t.i. Duncan-ovim testom. Med interakcijo okolje - rastlinska vrsta do statistično

značilnih razlik ni prišlo. Tako kot prej pri interpretaciji rezultatov odstotkov inhibicije, imamo tudi pri tem poglavju na grafikonih izrisane določene osamelce katerih vzrok ni znan.

4.4.1 Topilo A (96 % etanol)



Slika 16: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 96 % etanolu.

Z uporabo Duncan-ovega testa smo ugotovili, da so bile statistično značilne razlike (v AOX potencialu) med vrsto kraški šetraj in med vrstama pritlikavim šetrajem in materino dušico, pri slednjih dveh statistično značilnih razlik ni bilo. Največja povprečna vrednost TEAC (in s tem najmanjši AOX potencial) se je izrazila pri vzorcu kraškega šetraja 25 (74,218 mM Troloks/g SS), nabranem 30.7.2009 v okolini Socerba. Skrajno na vrhu levega grafikona ga lahko tudi opazimo kot osamelca. Najmanjšo povprečno vrednost TEAC (28,031 mM Troloks/g SS) pa smo izračunali pri vzorcu kraškega šetraja 47 C, nabranem 7.8.2009 na Lab. polju Biotehniške fakultete. Tudi ta vzorec lahko prav tako označimo za osamelca orisanega pod ostalimi vrednostmi.

Preglednica 16: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 96 % etanolu.

RASTLINSKA VRSTA	TEAC [mM Troloks/g SS]	Standar dna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost TEAC	Največja vrednost TEAC	Skupina *	Povprečne vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS]
Kraški šetraj	36,195	1,148	75	28,031	74,218	a	36,20
Pritlikavi šetraj	0,293	0,626	7	28,349	32,394	b	30,29
Materina dušica	31,657	0,641	17	29,012	40,378	b	31,66

V preglednici 16 smo v obravnavanje z Duncan-ovim testom vzeli parametra okolje ter ju primerjali med sabo. Test je pokazal, da statistične razlike med okljema obstajajo. Večji AOX potencial so imeli vzorci gojenih rastlin (TEAC=33,54 mM Troloks/g SS). V

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

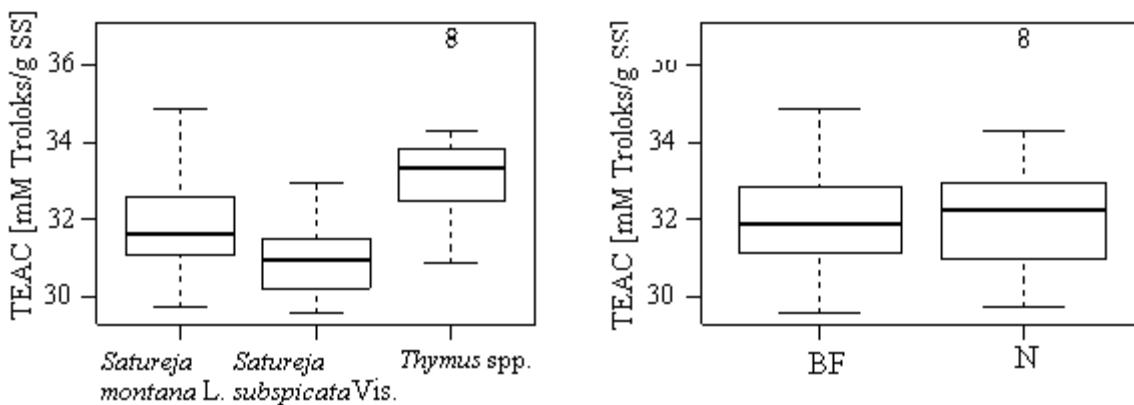
primeru obeh okolij pa najdemo kar nekaj osamelcev (posebno pri rastlinskih vrstah nabranih na naravnih rastiščih). Vzrok za njihov pojav ni znan.

Preglednica 17: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med okoljem pri 96 % etanolu.

OKOLJE	TEAC [mM Troloks/g SS]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost TEAC	Največja vrednost TEAC	Skupina *	Povprečne vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS]
N	36,984	1,853	42	28,534	74,218	a	36,98
BF	33,536	0,728	57	28,031	58,521	b	33,54

4.4.2 Topilo C (40 % etanol)

TOPILO C



Slika 17: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 40 % etanolu.

Pri interpretiranju rezultatov meritev vzorcev, ekstrahiranih s topilom C (40% etanol) se je izrazila statistično značilna razlika med vrstami. V primeru obravnavanih okolij statističnih razlik ni bilo, kar lahko razberemo tudi s slike 17. Na podlagi izraženih statistično značilnih razlik med vrstami smo opravili tudi Duncanov test (preglednica 18). Test je pokazal razliko med materino dušico ter kraškim in pritlikavim šetrajem, med slednjima se razlike niso izrazile. Najmanjšo povprečno vrednost TEAC (29,562 mM Troloks/g SS) smo izračunali vzorcu 39B (pritlikavi šetraj, nabran 29.7.2009 na Lab. polju BF). Največjo vrednost TEAC in s tem posledično najmanjši AOX potencial smo izračunali na podlagi opravljenih meritev, pri vzorcu 35B z vrednostjo TEAC= 33,932 mM Troloks/g SS. Slednji vzorec je bil prav tako nabran na *ex situ* rastišču, 7.8.2009.

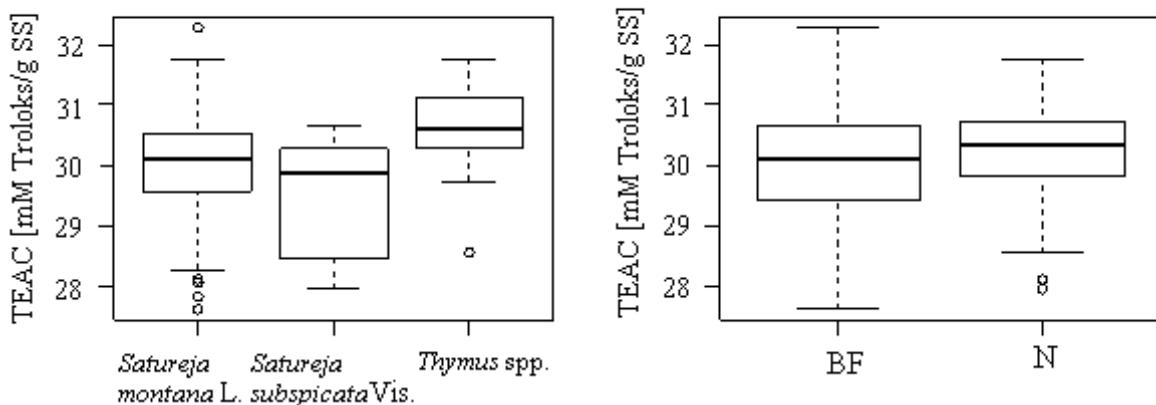
Preglednica 18: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 40 % etanolu.

RASTLINSKA VRSTA	TEAC [mM Troloks/g SS]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost TEAC	Največja vrednost TEAC	Skupina *	Povprečne vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS]
Kraški šetraj	31,844	0,129	75	29,748	34,881	b	31,84
Pritlikavi šetraj	30,995	0,444	7	29,562	32,951	b	30,99
Materina dušica	33,481	0,367	17	30,875	36,837	a	33,48

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

4.4.3 Topilo E (80 % metanol)

TOPILO E



Slika 18: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 80 % metanolu.

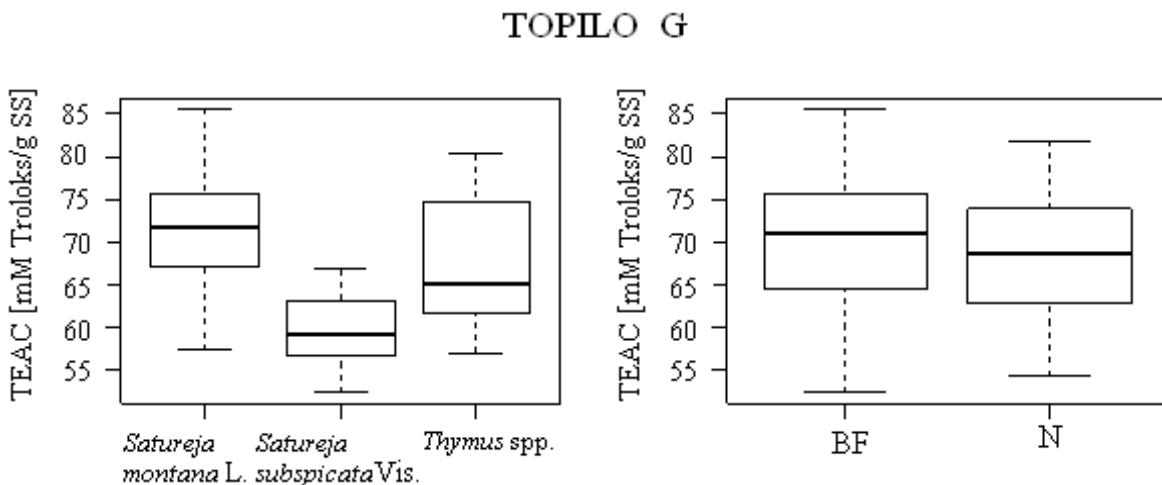
Preglednica 19: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri 80 % metanolu.

RASTLINSKA VRSTA	TEAC [mM Troloks/g SS]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjša vrednost TEAC	Največja vrednost TEAC	Skupina *	Povprečne vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS]
Materina dušica	30,595	0,184	17	28,574	31,771	a	30,59
Kraški šetraj	30,043	0,108	75	27,626	32,275	ab	30,04
Pritlikavi šetraj	29,429	0,422	7	27,958	30,670	b	29,43

Statistična funkcija ANOVA je pokazala pri interakciji topila E statistično značilne razlike med rastlinskimi vrstami, medtem ko jih med okolji ni bilo (slika 18). Do statistično značilnih razlik ni prišlo med kraškim šetrajem in materino dušico, ter med obema vrstama šetrajev. Med materino dušico in pritlikavim šetrajem smo zabeležili statistično značilno razliko (Duncan test, preglednica 19).

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

4.4.4 Topilo G (destilirana voda)



Slika 19: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri dH₂O.

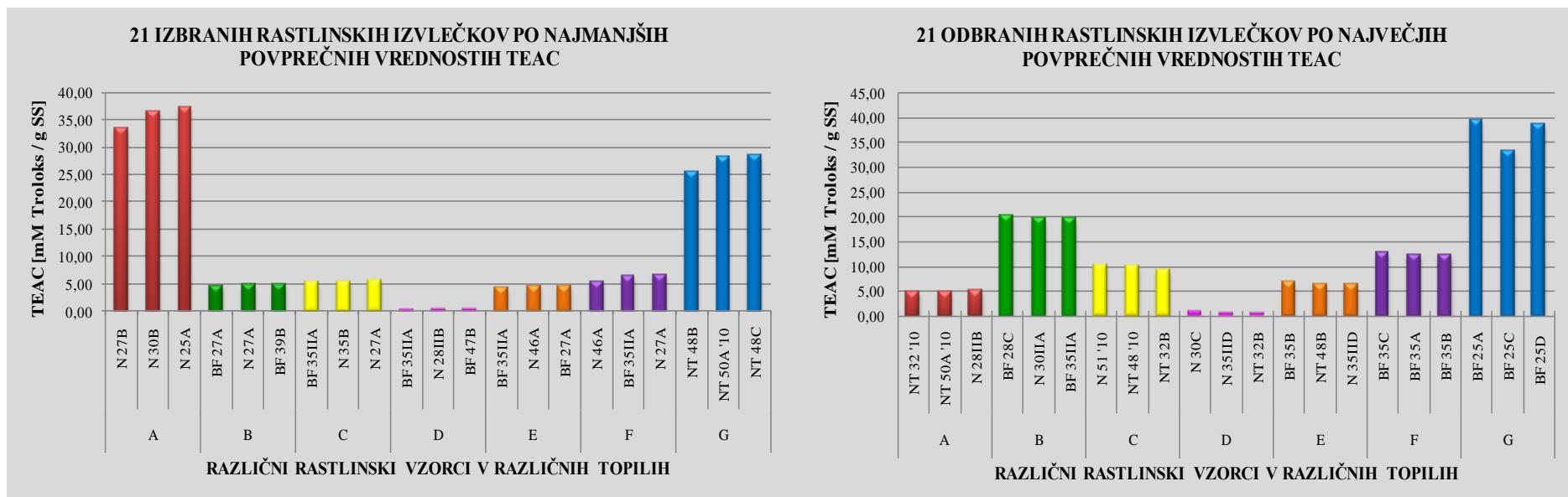
Preglednica 20: Rezultati opravljenega Duncan-ovega testa za statistično značilne razlike med posameznimi rastlinskimi vrstami pri dH₂O.

RASTLINSKA VRSTA	TEAC [mM Troloks/g SS]	Standardna napaka	Št. vzorcev	Najmanjsa vrednost TEAC	Največja vrednost TEAC	Skupina *	Povprečne vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS]
Kraški šetrnj	71,197	0,793	75	57,420	85,464	a	71,20
Materina dušica	67,168	1,822	17	57,036	80,345	a	67,17
Pritlikavi šetrnj	59,723	1,942	7	52,420	66,784	b	59,72

V nasprotju z dobljenimi majhnimi vrednostimi pri statistični analizi odstotka inhibicije v primeru topila G (dH₂O), so bile tu vrednosti po pričakovanjih znatno večje. Zaradi že prej omenjenih topnih oz. netopnih snovi v vodi, je temu primerno tudi povprečna TEAC vrednost. Največjo vrednost (85,464 mM Troloks/g SS) prispeva vzorec kraškega šetraja 30A, nabran na gojenem rastišču. Nasprotno temu pa smo zabeležili najmanjšo povprečno vrednost TEAC (52,420 mM Troloks/g SS) in hkrati največji antioksidativni potencial pri pritlikavemu šetraju, vz. 39B, nabranemu 7.8.2009 prav tako na gojenem rastišču Biotehniške fakultete. Metoda analize varianc je tudi pokazala statistično značilne razlike med vrstami, nakar smo se poslužili Duncan-ovega testa. Med materino dušico in kraškim šetrjem ni bilo statistično značilnih razlik, med njima skupaj in pritlikavim šetrjem pa se je izrazila statistično značilna razlika. Duncanov test je tudi izračunal srednjo vrednost TEAC, najmanjšo prav pri pritlikavem šetraju, kar potrdi njegov večji antioksidativni potencial v primerjavi z ostalima dvema vrstama. Iz vsega zgoraj omenjenega lahko sklepamo, da vsebuje pritlikavi šetrnj več v vodi topnih antioksidantov kot pa ostali dve obravnavani vrsti.

* enake črke v stolpcu Skupina označujejo obravnavanja, med katerimi ni statistično značilnih razlik (Duncanov test, $p \leq 0,05$)

Čeligoj A. Antioksidativno delovanje kraškega šetrja ... in materine dušice (*Thymus* spp.).
Dipl. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2013



Legenda:					
A	96 %	etanol	F	40 %	metanol
B	70 %	etanol	G	dH ₂ O	destilirana voda
C	40 %	etanol			
D	100 %	metanol	N	naravno rastišče	
E	80 %	metanol	BF	laboratorijsko polje BF	

Slika 20: Grafikona prikazujeta po 21 odbranih vzorcev po TEAC [mM Troloks/g SS]. Odbira je slonela na naslednjih kriterijih:

- ✓ pri grafikonu levo, so bili odbrani po trije vzorci s povprečno najmanjšo vrednostjo TEAC pri vsakem topilu posebej. Skupno 21 vzorcev. Če se je kakšen vzorec pri določenem topilu ponovil, je to zgolj slučajnost oz. pokazatelj velike antioksidativne potencialnosti obravnavanega vzorca.
- ✓ pri grafikonu desno so bili odbrani po trije vzorci z povprečno največjo vrednostjo TEAC pri vsakem topilu posebej. Skupno 21 vzorcev. Če se je kakšen vzorec pri določenem topilu ponovil, je to zgolj slučajnost oz. pokazatelj majhne antioksidativne potencialnosti obravnavanega vzorca.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

Raziskave v okviru diplomskega dela so pokazale, da se je največji antioksidativni potencial izrazil pri izvlečkih, tretiranih z 80 in s 100 % metanolom, najmanjši pa pri vodnih izvlečkih. Topilo je imelo torej velik vpliv na izražen antioksidativni potencial. Pri tem lahko sklepamo na polarnost oz. nepolarnost antioksidativnih učinkov glede na interakcijo z danim topilom. Odstotek inhibicije rastlinskih izvlečkov je upadal po vrstnem redu obravnavanj s topili: 80 % metanol > 100 % metanol > 40 % etanol > 70 % etanol > 40 % metanol > 96 % etanol > dH₂O.

Pri 96 % etanolu, je bil največji odstotek inhibicije (88,4 %) izračunan pri vzorcu materine dušice N 32. Vzorec z najmanjšim povprečnim odstotkom inhibicije prostega radikala DPPH tretiran s topilom A je bil vzorec N 25A, kraški šetraj. Meril je 35,1 %. Prav tako je bila pri tem vzorcu največja izračunana povprečna TEAC vrednost in sicer 74,218 mM Troloks/g SS. Najmanjša povprečna TEAC vrednost je bila izračunana vzorcu BF 47C (28,031 mM Troloks/g SS).

Pri 70 % etanolu, topilu B, smo največji odstotek inhibicije prostega radikala DPPH izračunali pri vzorcu kraškega šetraja BF 27A (88,9 %) ter najmanjši odstotek inhibicije prostega radikala DPPH pri vzorcu kraškega šetraja BF 28C (63,2 %). Pri tem istem vzorcu smo izračunali tudi največjo povprečno TEAC vrednost (50,716 mM Troloks/g SS). Najmanjša povprečna TEAC vrednost smo izračunali vzorcu kraškega šetraja BF 47A in sicer 28,906 mM Troloks/g SS.

Vzorcu BF 35IIA (*Satureja montana* L.) smo izračunali največji odstotek inhibicije prostega radikala DPPH (87,7 %). Najmanjši odstotek inhibicije prostega radikala DPPH (79,9 %) in hkrati največjo povprečno vrednost TEAC (36,837 mM Troloks/g SS) pa smo izračunali pri vzorcu materine dušice N 51'10 pri tretiraju celotne serije rastlinskih vzorcev s 40 % etanolom (topilom C). Pri obravnavanju z istim topilom smo izračunali povprečno najmanjšo TEAC vrednost vzorcu pritlikavega šetraja BF 39B in sicer 29,562 mM Troloks/g SS.

Med vsemi vzorci tretiranimi s topilom D oz. 100 % metanolom smo največjo povprečno izračunano vrednost inhibicije prostega radikala DPPH zabeleželi pri vzorcu kraškega šetraja BF 35IIA (88,8 %), najmanjšo pa pri vzorcu kraškega šetraja N 30C (74,4 %). Pri slednjem vzorcu je bila izračunana tudi največja povprečna TEAC vrednost (36,0 mM Troloks/g SS), najmanjše povprečje TEAC vrednoti pa smo zabeležili pri vzorcu kraškega šetraja BF 47B (27,248 mM Troloks/g SS).

Pri topilu E, oz. 80 % metanolu smo najmanjšo TEAC vrednost izračunali pri vzorcu kraškega šetraja BF 47C (27,626 mM Troloks/g SS), največjo pa pri izvlečku iste vrste, pri vzorcu BF 35B (32,275 mM Troloks/g SS). Največji odstotek inhibicije prostega radikala DPPH smo izračunali pri izvlečku kraškega šetraja BF 35IIA (89,2 %), najmanjši odstotek inhibicije pa že pri prej omenjenem vzorcu BF 35B z vrednostjo 85,4 %.

Pri s topilom F (40 % metanolom) narejenih izvlečkih smo izračunali največjo povprečno vrednost TEAC 40,385 mM Troloks/g SS in hkrati najmanjšo vrednost povprečja inhibicije

prostega radikala DPPH (75,6 %) pri izvlečku kraškega šetraja BF 35C. Najmanjšo povprečno TEAC vrednost smo izračunali pri vzorcu kraškega šetraja BF 47A (30,206 mM Troloks/g SS), največji odstotek inhibicije prostega radikala DPPH pa pri vzorcu iste vrste N 46A, in sicer 87,8 %.

Pri vodnih ekstrakcijah (dH₂O), je največji odstotek inhibicije prostega radikala DPPH imel izvleček pritlikavega šetraja N 39A (58,6 %), najmanjšega pa izvleček kraškega šetraja BF 30A (21,6 %), ki je hkrati imel tudi največjo TEAC vrednost (85,464 mM Troloks/g SS), najmanjšo povprečno TEAC vrednost smo izračunali pri izvlečku pritlikavega šetraja BF 39B (52,420 mM Troloks/g SS).

V svetu je bilo izvedeno že dosti različnih raziskav o antioksidativnem potencialu rastlinskih vrst iz družine ustnatic, med njimi tudi proučevanje rodov *Satureja* L. in *Thymus* L. Velikokrat je uporabljena tudi metoda DPPH saj je nezahtevna in ne potrebuje posebnih priprav za uspešno izvajanje poskusa (Wojdyło in sod., 2007). Res pa je, da obstaja tudi kar nekaj različnih metod priprav in merjenja AOX potenciala.

Pri preučevanju AOX potenciala rastlinskih vrst iz rodov *Satureja* L. in *Thymus* L. uporabljajo v večini raziskav organski topili kot sta metanol (največkrat v 100 % in 80 % koncentraciji) in etanol (največkrat kot 96 %) (Mariutti in sod., 2008, Wojdyło in sod., 2007; Buričová in Réblová, 2008). V znanstvene namene pa se lahko za pripravljanje rastlinskih izvlečkov uporablja tudi druga organska topila kot na primer etil acetat, diklorometan, kloroform (Orhan in sod., 2009). Za pripravo vodnih izvlečkov se velikokrat uporablja destilirano vodo pri temperaturi 98°C (Katalinic in sod., 2006; Sefidkon in sod., 2006; Buričová in Réblová, 2008), v kateri nato različno dolgo tretirajo pripravljen rastlinski material, v večini primerov posušen in zmlet. Način priprave naših izvlečkov smo povzeli po metodi Kušar (2005). Strokovnih člankov, ki opisujejo obravnavo izvedbe enake metode dela nisem našla.

5.2 SKLEPI

Pri končanih statističnih analizah smo ugotovili slednje:

Zavržemo hipotezo o boljšem antioksidativnem delovanju materine dušice, saj se je v večini primerov izkazalo, da je bilo antioksidativno delovanje, v petih od skupno sedmih topil, kraškega šetraja večje, le pri vodni ekstrakciji je bilo najboljše delovanje pritlikavega šetraja. Materina dušica je dosegla največjo vrednost le pri 96 % etanolu (88,4 % inh. oz. 4,961 mM Troloks/g SS). Kljub temu, je materina dušica pokazala velik antioksidacijski potencial saj razlika, od najboljših potencialnih vzorcev kraškega šetraja, ni nikjer presegala 2,5 % inhibicije prostega radikala DPPH.

Antioksidativno delovanje je odvisno od priprave vzorcev, kar potrjujeta tudi Buričová in Réblová (2008), saj smo ugotovili, da se je v različnih koncentracijah topil različno izražalo. Koliko, in če sploh, je na končne rezultate vplival čas hranjenja posušenega rastlinskega materiala preden smo začeli s pripravo izvlečkov ter kasneje hranjenje na ledu do časa opravljanja meritev na spektrofotometru pa ni znano. Ugotovili smo, da se je najbolje izrazil antioksidativni potencial pri izvlečkih obravnavanimi s 100 % in z 80 % metanolom.

V obravnavanja smo imeli vključene rastlinske vzorce iz dveh različnih okolij. Gojeno (laboratorijsko polje Biotehniške fakultete) ter naravno (širom Krasa, zajeto od Knežaka pri Ilirski Bistrici, preko Kozine, Socerba, Divače, Senožeč do Ravnice, kjer se začenja Trnovski gozd). Bistvenih razlik v antioksidativnem potencialu med rastišči ni bilo, z izjemama pri interakcijah s topiloma A in G, kjer naravno okolje nekoliko izstopa.

Med 10-imi naključno izbranimi vzorci, katerih masa je bila takoj po fazi mletja razpolovljena ter nato polovica presejana in polovica ne, ni pokazala statistično značilnih razlik. Vzorci so približno enako reagirali glede na TEAC z vsemi topili. Za potrditev te domneve priporočam večji statistični vzorec. V primeru potrditve lahko potem sklepamo, da ni potrebno presejati že na fino zmletih vzorcev.

6 POVZETEK

V naši raziskavi smo se osredotočili na antioksidativno sposobnost kraškega šetraja (*Satureja montana* L.) in materine dušice (*Thymus* spp.), ki obe spadata v veliko družino ustnatic (Lamiaceae). Njihovo pozitivno antioksidativno delovanje je potrdilo že mnogo avtorjev (Buričová in Réblová, 2008).

Delo je potekalo v več fazah: nabiranje vzorcev in sušenje, mletje nadzemnih rastlinskih delov ter sejanje tako pripravljenih vzorcev. Nato je sledila faza priprave različnih etanolnih, metanolnih ter vodnih izvlečkov. Kot sklepna faza je bila priprava vzorcev na mikrotiterske plošče z reagentom DPPH s hkratno pripravo slepih ter kontrolnih (TEAC metoda) vzorcev. Vzorce smo pustili v temi na sobni temperaturi za 30 min ter jim nato izmerili absorbanco s spektrofotometrom. Poskus smo izvajali v 4 ponovitvah. Dobljene rezultate smo nato statistično obdelali z metodo Analiza variance (ANOVA), statistično značilne rezultate za razlike med njimi pa z Duncan-ovim testom. Rezultate smo podali v odstotkih inhibicije prostega radikala DPPH ter kot TEAC (mM Troloks/g SS) in na ta način interpretirali antioksidativni potencial. Večji kot je bil odstotek inhibicije prostega radikala DPPH, manjša je bila absorbanca (A) določenega vzorca in večji antioksidativni potencial je izvleček imel. Pri TEAC metodi je bila interpretacija ravno obratna. Pri petih različnih koncentracijah Troloksa iz 1mg/ml založne raztopine smo naredili umeritveno krivuljo. Pri tem smo upoštevali povprečje vseh 33 narejenih mikrotiterskih plošč. Pri višjih koncentracijah Troloksa je bilo razbarvanje (uporaba reagenta DPPH) iz vijolične v rumeno barvo intenzivneje kot pri nizkih koncentracijah. Rezultate TEAC-a interpretiramo kot podano stopnjo absorbance, ki narašča ob manjši vsebnosti antioksidantov v izvlečku.

Raziskava diplomskega dela se je začela spomladi leta 2009 na Krasu, kjer smo del rastlinskega materiala nabrali, del pa smo ga nabrali na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. Tu so bile leto poprej (l. 2008) posajene sadike, vzgojene iz semen iz narave z enakih lokacij rastišč, kjer smo tudi mi nabirali rastlinski material. Pri tem smo si pomagali z zabeleženimi koordinatami GPS. Med vzorci kraškega šetraja se je znašlo tudi nekaj vzorcev pritlikavega šetraja (*Satureja subspicata* Vis.), ki smo ga v nadaljevanju prav tako vzeli v obravnavo ter ga primerjali z že prej omenjenima vrstama. Laboratorijski del protokola je nato potekal na Katedri za Aplikativno botaniko ter na Katedri za Sadjarstvo in vinogradništvo agronomskega oddelka Biotehniške fakultete, kjer je potekala zadnja faza laboratorijske raziskave.

Pojav prostih radikalov ter njihovih reakcij je nekaj vsakdanjega v našem življenju, vendar povzročajo v prekomerni količini (s t.i. oksidativnim stresom) neravnovesje med antioksidativnim obrambnim sistemom v našem telesu ter prekomerno tvorbo prostih radikalov (Wong in sod., 2006). Kot posledica tega nastopijo (pato)fiziološki procesi kot so staranje, rakava obolenja (Berg in sod., 2000), pojav bolezni srca in ožilja, nevrodegenerativne bolezni (Boudet, 2007).

Vnos antioksidantov s prehrano igra zato pomembno vlogo v zaščiti našega organizma proti prostim radikalom (Buričová in Réblová, 2008). Temu posledično se je povečalo tudi zanimanje v iskanju novih (in hkrati že starih) virov antioksidativnih substanc predvsem v aromatičnih zeliščih ter začimbah (Mariutti in sod., 2008). Antioksidante najdemo tudi v sadju in zelenjavi, raznih semenih, žitih, jagodičevju, vinu, čaju, oljčnem olju itd. (Boskou,

2006), zato se je v zadnjih letih povečala težnja po naravnih, ekoloških izdelkih. Na učinkovitost antioksidantov pa poleg njihove kemische strukture vpliva še koncentracija, temperatura, svetloba, vrsta izvlečka ter fizično stanje rastlinskega materiala (Mariutti in sod., 2008). Mnoge vrste iz družine ustnatic so znane po tem, da imajo sposobnost tvorbe mnogih sekundarnih metabolitov, fitokemičnih snovi med katerimi najdemo aglikone in glikozide (Kosar in sod., 2005).

Glede na dobljene rezultate naše raziskave lahko potrdimo prisotnost antioksidativnega potenciala, ne pa tudi, katere snovi so prisotne v izvlečkih. Rastlinski vzorci iz dveh različnih okolij (Lab. polje BF in naravno okolje) se niso bistveno razlikovali v AOX potencialu. Iz tega lahko sklepamo, da kultivirane rastline, kljub temu da se jim za obstoj ni potrebno bojevati z drugimi rastlinskimi vrstami za prostor in naravo kot tako, tvorijo še vedno zadovoljivo količino antioksidativnih substanc. S kultiviranjem divjih rastlin pa lahko človek prepreči njihovo morebitno ogroženost ter jih navsezadnje laže izkorisča v vsakršne namene (Bouzidi in sod., 2013).

Največji antioksidativni potencial se je izrazil pri izvlečkih, kjer sta bili kot topili za ekstrakcijo uporabljeni 80 % in 100 % metanol. Pri tem lahko sklepamo, da so reagirale v glavnem polarne molekule, saj je bilo tudi topilo polarno, 80 % in 100 % metanol, ki pa se lepo mešata z organskimi snovmi/topili. S tem namenom smo lahko kot reagenta uporabili DPPH, saj deluje (samo) v organskih topilih (metanol, še posebej pa etanol). Poleg tega je DPPH metoda priporočena kot lahka in natančna metoda za opravljanje meritve antioksidativnega potenciala (Katalinic in sod., 2006). Njeni slabi lastnosti pa sta, da je neselektivna (Görög, 2008), zaradi česar ne pride v poštev ob morebitnih nadaljnjih raziskavah ter v primeru potrebe po interpretaciji hidrofilnih antioksidantov oz. lahko privede do pomembnih omejitev samih raziskav (Wojdylo in sod., 2007). V našem primeru smo za analize pripravljene vodne izvlečke ob pripravi na meritve s spektrofotometrom DPPH raztopino naredili s 100 % metanolom. Za primerjavo rezultatov meritve s t.i. standardom smo uporabili Troloks, oz. TEAC test (Trolox equivalent antioxidant capacity), ki je definiran kot koncentracija Troloksa, ki je enakovredna antioksidativnemu potencialu 1 mM koncentracije spojine, katero raziskujemo.

Na podlagi dejstev opisanih zgoraj, lahko skromne rezultate vodnih izvlečkov tolmačimo na podlagi ugotovitev Sefidkona in sod. (2006), ki so opravljali vodne izvlečke s prekuhavanjem le teh. V njihovem primeru so se tako izločila eterična olja, za katera je znana prisotnost velike vsebnosti antioksidantov (Sefidkon in sod. 2006). V našem primeru vodni izvlečki niso vsebovali eteričnih olj, se je pa zato izpostavil del vodotopnih antioksidantov, kot je npr. rožmarinska kislina (Stibilj, 2006), ki je nato lahko reagirala z molekulo DPPH zaradi prisotnosti metanola, v kateri je bil reagent DPPH raztopljen.

Dobljene in izpostavljene osamelce pri interpretaciji težko razložimo, posebno če številke močno odstopajo od vseh ostalih vzorcev. Del problema si lahko poskušamo razložiti s spremembami v koncentracijah fenolov, ki varirajo tekom rastnega obdobja in starosti rastline. Predvsem vplivajo na to sezonske spremembe kot so suša, količina padavin in izpostavljenost soncu na nekem območju. Po nabiranju in vzorčenju rastlinskih ostankov pa lahko prihaja do sprememb v vsebnosti fenolnih spojin, predvsem oksidacije tekom skladiščenja rastlinskega materiala (Teissedre in Waterhouse, 2000). Del problema lahko

pripišemo morebitnim napakam, ki so se pojavljale ob sami izvedbi laboratorijskih faz dela, vendar je pomembno izpostaviti dejstvo, da so bili vsi vzorci obravnavani enako.

Trenutna osredotočenost je na naravne antioksidante, posebno rastlinske polifenole. V interesu so raziskave antioksidativnih sposobnosti zelišč, posebno tistih, ki jih uporablajo v tradicionalni medicini (Katalinic in sod., 2006).

Antioksidativni potencial je mogoče raziskovati na več načinov. V preteklosti so bile že obravnavane različne metode ter razne kombinacije pristopov. Opravljanje meritev antioksidativnega potenciala, posebno, kjer nastopa veliko biološko-kemičnih snovi, za katere domnevajo, da imajo antioksidativen potencial, so morebiti multifunkcionalne ali le aktivne v kompleksnem sistemu, ne morejo biti obravnavane le z enim testom, eno metodo. Vpliv na končne rezultate postane velikokrat preveč variabilen, zaradi česar se priporoča izvajanje več različnih metod, seveda vse dokler ne bo stopila v uporabo neka t.i. splošna metoda, ki bo zajela vse zahtevane parametre v obravnavo (Antolovich in sod., 2002).

7 VIRI

- Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., McDonald S., Robards K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. *The Analyst*, 127: 183–198
- Berg van den R., Haenen G.R.M.M., Berg van den H., Vijgh van der W., Bast A. 2000. The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related avonoids using the Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chemistry*, 70: 391-395
- Bezić N., Šamanić I., Dunkić V., Besendorfer V., Puizina J. 2009. Essential oil composition and internal transcribed spacer (its) sequence variability of four South-Croatian *Satureja* species (Lamiaceae). *Molecules*, 14:925-938
- Boskou D. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 505–512
- Boudet A. M., 2007. Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, 68: 2722–2735
- Bouzidi E. L., Jamali C. A., Bekkouche K., Hassani L., Wohlmuth H., Leach D., Abbad A. 2013. Chemical composition, antioxidant activities of essential oils obtained from wild thyme and cultivated morrocan *Thymus* species. *Industrial Crops and Products*, 43: 450-456
- Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 28: 25-30
- Buričová L., Réblová Z. 2008. Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants. *Czech Journal Food Science*, 26, 2: 132–138
- Ćavar S., Maksimović M., Šolić M. E., Jerković-Mujkić A., Bešta R. 2008. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. *Food Chemistry*, 111, 3: 648–653
- Dorman H.J., Bachmayer O., Kosar M., Hiltunen R. 2004. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected Lamiaceae species grown in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 762–770
- Dunkić V., Bežić N., Ljubešić N., Bočina I. 2007. Glandular hair ultrastructure and essential oils in *Satureja subspicata* Vis. ssp. *subspicata* and ssp. *liburnica* Šilić. 2007. *Acta biologica Cracoviensia, Series Botanica*, 49, 2: 45-51
- Fecka I., Turek S. 2008. Determination of polyphenolic compounds in commercial herbal drugs and spices from Lamiaceae: thyme, wild thyme and sweet majoram by chromatographic techniques. *Food Chemistry*, 108: 1039-1053
- Görög S. 2008. Drug safety, drug quality, drug analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48: 247-253
- Halliwell B., Aeschbach R., Löliger J., Aruoma O.I. 1995. The Characterization of Antioxidants. *Food Chemistry Toxic*, 33,7: 601-617
- Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K., Bachiriel A. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from eastern Morocco. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 2: 1560–8530
- Katalinic V., Milos M., Kulisić T., Jukic M. 2006. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chemistry*, 94: 550-557

- Klemenčič J. 2010. Hruške za zdravje – pomen sekundarnih metabolitov. Diplomski projekt. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 16 str.
- Kosar M., Dorman H.J.D., Hiltunen R., 2005. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. Food Chemistry, 91: 525–533
- Kušar A. 2005. Uvajanje avtohtonih populacij bratinskega košutnika (*Gentiana lutea* L. subsp. *sympyandra* Murb.), pridelovanje v Sloveniji in analiza učinkovin pridelane droge: doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 95 str.
- Laboratory of molecular electrochemistry, (LEM) Department of chemistry I.F.M.Universita degli studi di Torino, Alma universitas taurunensis
http://lem.ch.unito.it/didattica/infochimica/2007_Polifenoli_Vino/loghi/DPPH.gif (25.9.2013)
- Marin M., Jasnić N., Lakušić D., Duletić-Laušević S., Ascensao L. 2010. The micromorphological, histochemical and confocal analysis of *Satureja subspicata* bartl. Ex vis. Glandular trichomes. Archives of Biological Science Belgrade, 62,4: 1143-1149
- Mariutti L. R. B., Mattos Barreto de G. P., Bragagnolo N., Mercadante A.Z. 2008. Free radical scavenging activity of ethanolic extracts from herbs and spices commercialized in Brazil. Brazilian Archives of Biology and Technology, 51, 6: 1225-1232
- Martinčič A., Sušnik F. 1984. Mala flora Slovenije. Praprotnice in semenke. Ljubljana, Državna založba Slovenije: 793 str.
- Mastelić J., Jerković I. 2003. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of free and glycoconjugated aroma compounds of seasonally collected *Satureja montana* L. Food Chemistry, 80: 135–140
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songkranakarin. Journal of Science and Technology, 26, 2: 211-219
- Oke F., Aslim B., Ozturk S., Altundag S. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. Food Chemistry, 112: 874–879
- Orhan I., Senol F.S., Gulpinar A.R., Kartal M., Sekeroglu N., Deveci M., Kan Y., Sener B. 2009. Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Cyclotrichium niveum*, *Thymus praecox* subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*, *Echinacea purpurea* and *E. pallida*. Food and Chemical Toxicology, 47: 1304–1310
- Prakash A., Rigelhof F., Miller E., 2001. Medallion labs, Plymouth Ave North, Minneapolis, Minnesota.
<http://www.medallionlabs.com> (20.09.2013)
- Redžić S., Tuka M., Pajević A. 2006. Research into microscopic structure and essential oils of endemic medicinal plant species *Satureja subspicata* Bartl. Ex.Vis. (Lamiaceae). Bosnian Journal of Basic Medical Sciences, 6, 2: 25-31
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity realationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine, 20, 7: 933-956
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science, 2, 4: 152-159

- Sefidkon, F., Abbasi, K., Bakhshi, G., 2006. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. Food Chemistry, 99: 19–23.
- Sharma O. P., Bhat T. K. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. Food Chemistry, 113: 1202–1205
- Sigma- Aldrich, Customer Support, Product Safety and Technical Service.
<http://www.sigmaaldrich.com/slovakia.html> (15.09.2013)
- Simon, J. E., Chadwick, A. F., Craker, L. E. 1984. Herbs. An Indexed bibliography, 1971-1980: 770 str.
- Skočibušić M., Bezić N., Dunkic V. 2006. Phytochemical composition and antimicrobial activities of the essential oils from *Satureja subspicata* Vis. growing in Croatia. Food Chemistry, 96, 1: 20–28
- Stanner S. A. Hughes J., Kelly C.N.M., Buttriss J. 2004. A review of the epidemiological evidence for the ‘antioxidant Hypothesis’. Public Health Nutrition, 7, 3: 407–422
- Stibilj R. 2006. Vpliv antioksidantov v ekstraktih rožmarina in zelenega čaja na senzorične lastnosti soka rdeče pomaranče. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 48 str.
- Sunar S., Aksakal O., Yildirim N., Agar G., Gulluce M., Sahin F. 2009. Genetic diversity and relationships detected by FAME and RAPD analysis among *Thymus* species growing in eastern Anatolia region of Turkey. Roman Biotechnological Letters, 14, 2: 4313-4318
- Teissedre, P. L., Waterhouse, A. L. 2000. Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48: 3801-3805
- Vardar-Ünlü G., Candan F., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M., Sokmen M., Donmez E., Tepe B., 2003. Antibacterial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey var. *pectinatus* (Lamiaceae). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51: 63–67
- Wojdyło A., Oszmiański J., Czemerys R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 herbs. Food chemistry, 105: 940-949
- Wong S. P., Leong L. P., Koh W. J.H. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. Food Chemistry, 99, 4: 775-783
- Zavatti M., Zanolli P., Benellia A., Rivasic M., Baraldid C., Baraldic M. 2011. Experimental study on *Satureja montana* L. as a treatment for premature ejaculation. Journal of Ethnopharmacology, 133: 629–633
- Zemljevid 2013. Najdi si.
<http://zemljevid.najdi.si/maps/location/indexMap.jsp> (23.09.2013)

ZAHVALA

Rada bi se zahvalila vsem članom Katedre za Aplikativno botaniko, fiziologijo rastin in informatiko ter Katedre za Sadjarstvo, vidnogradništvo in vrtnarstvo, za vso pomoč, ki sem je bila deležna pri nastajanju diplomske naloge, še posebej gre zahvala prof. dr. Francu Batiču in dr. Klemnu Elerju.

Iskrena Hvala mentorici prof. dr. Dei Baričevič.

Zahvala gre tudi vsem ostalim profesorjem, asistentom in strokovnim sodelavcem ostalih kateder, ki so kakorkoli pripomogli k hitrejšemu zaključku študija.

Rada bi se zahvalila družini ter prijateljem Andreji, Marku, Primožu, Maši, Katji in vsem ostalim tako za moralno in strokovno pomoč. Stati z njimi ob strani postane vsak dan sončen!

Diplomsko delo posvečam hčerki Meti!

PRILOGA A

Seznam vseh rastlinskih izvlečkov ter njihovih izračunov

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Preseg.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25A	101	BF	ne	0,785	0,475	75,056	13,066
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25C	53	BF	ne	0,443	0,012	85,915	6,460
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25D	54	BF	ne	0,608	0,310	80,660	9,657
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25E	55	BF	ne	0,414	0,034	86,853	5,890
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	4	BF	da	0,531	0,220	83,106	8,169
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	2	BF	da	0,656	0,294	79,150	10,575
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	67	BF	ne	0,405	0,054	87,123	5,725
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27B	68	BF	ne	0,464	0,025	85,255	6,862
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27C	69	BF	ne	0,433	0,021	86,240	6,262
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28A	49	BF	ne	0,460	0,026	85,366	6,794
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28B	50	BF	ne	0,406	0,016	87,099	5,740
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28C	51	BF	ne	0,423	0,025	86,543	6,078
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28D	52	BF	ne	0,517	0,169	83,570	7,887
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30A	44	BF	ne	0,513	0,120	83,689	7,814
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30B	45	BF	ne	0,473	0,065	84,953	7,045
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30C	46	BF	ne	0,423	0,038	86,543	6,078
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30D	47	BF	ne	0,407	0,049	87,059	5,764
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	5	BF	da	0,495	0,176	84,272	7,460
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	3	BF	da	0,506	0,046	83,927	7,669
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	64	BF	ne	0,469	0,038	85,088	6,963
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35B	65	BF	ne	0,611	0,261	80,565	9,715
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35C	66	BF	ne	0,495	0,132	84,261	7,466
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	6	BF	da	0,593	0,139	81,153	9,357
A	<i>Thymus</i> spp.L.	BF 36A	21	BF	ne	0,393	0,017	87,520	5,484
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	83	BF	ne	0,415	0,043	86,797	5,924
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	84	BF	ne	0,418	0,023	86,725	5,967
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	61	BF	ne	0,427	0,018	86,415	6,156
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	62	BF	ne	0,430	0,045	86,336	6,204
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39C	63	BF	ne	0,443	0,045	85,915	6,460
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	8	BF	da	0,417	0,061	86,741	5,957
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46A	80	BF	ne	0,426	0,025	86,447	6,136
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46C	99	BF	ne	1,450	0,079	53,888	25,943
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25A	101	BF	ne	0,785	0,475	75,056	13,066
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25C	53	BF	ne	0,443	0,012	85,915	6,460
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25D	54	BF	ne	0,608	0,310	80,660	9,657
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25E	55	BF	ne	0,414	0,034	86,853	5,890
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	4	BF	da	0,531	0,220	83,106	8,169
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	2	BF	da	0,656	0,294	79,150	10,575
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	67	BF	ne	0,405	0,054	87,123	5,725
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27B	68	BF	ne	0,464	0,025	85,255	6,862
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27C	69	BF	ne	0,433	0,021	86,240	6,262
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28A	49	BF	ne	0,460	0,026	85,366	6,794
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28B	50	BF	ne	0,406	0,016	87,099	5,740
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28C	51	BF	ne	0,423	0,025	86,543	6,078
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28D	52	BF	ne	0,517	0,169	83,570	7,887
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30A	44	BF	ne	0,513	0,120	83,689	7,814
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30B	45	BF	ne	0,473	0,065	84,953	7,045
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30C	46	BF	ne	0,423	0,038	86,543	6,078
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30D	47	BF	ne	0,407	0,049	87,059	5,764
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	5	BF	da	0,495	0,176	84,272	7,460

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	3	BF	da	0,506	0,046	83,927	7,669
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	64	BF	ne	0,469	0,038	85,088	6,963
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35B	65	BF	ne	0,611	0,261	80,565	9,715
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35C	66	BF	ne	0,495	0,132	84,261	7,466
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	6	BF	da	0,593	0,139	81,153	9,357
A	<i>Thymus</i> spp.L.	BF 36A	21	BF	ne	0,393	0,017	87,520	5,484
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	83	BF	ne	0,415	0,043	86,797	5,924
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	84	BF	ne	0,418	0,023	86,725	5,967
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	61	BF	ne	0,427	0,018	86,415	6,156
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	62	BF	ne	0,430	0,045	86,336	6,204
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39C	63	BF	ne	0,443	0,045	85,915	6,460
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	8	BF	da	0,417	0,061	86,741	5,957
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46A	80	BF	ne	0,426	0,025	86,447	6,136
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46C	99	BF	ne	1,450	0,079	53,888	25,943
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46F	81	BF	ne	0,405	0,028	87,123	5,725
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	82	BF	ne	0,434	0,093	86,217	6,277
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	7	BF	da	0,775	0,538	75,374	12,872
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47A	77	BF	ne	0,411	0,053	86,932	5,841
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47B	78	BF	ne	0,429	0,061	86,360	6,190
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	79	BF	ne	0,401	0,047	87,250	5,648
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	1	BF	da	0,639	0,408	79,683	10,251
A	<i>Thymus</i> spp.L.	BFT 32	15	BF	ne	0,476	0,054	84,873	7,094
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 25A	25	N	ne	2,042	0,144	35,073	37,389
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 25B	26	N	ne	0,442	0,016	85,938	6,446
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 25C	27	N	ne	0,441	0,044	85,994	6,412
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	89	BF	ne	0,503	0,151	83,999	7,626
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIB	91	BF	ne	0,408	0,030	87,035	5,779
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIC	90	BF	ne	0,516	0,173	83,583	7,879
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 27A	31	N	ne	1,307	0,524	58,451	23,167
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 27B	32	N	ne	1,831	0,814	41,798	33,298
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 27C	33	N	ne	0,455	0,055	85,549	6,683
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIA	70	BF	ne	0,444	0,045	85,883	6,480
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIB	71	BF	ne	0,433	0,066	86,240	6,262
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIC	72	BF	ne	0,902	0,123	71,312	15,343
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 28A	28	N	ne	0,448	0,028	85,748	6,562
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 28B	29	N	ne	0,937	0,098	70,200	16,020
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 28C	30	N	ne	1,648	0,077	47,609	29,763
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIA	56	BF	ne	0,407	0,015	87,059	5,764
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIB	57	BF	ne	0,371	0,036	88,220	5,058
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIC	58	BF	ne	0,422	0,073	86,590	6,049
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IID	98	BF	ne	1,190	0,341	62,179	20,899
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 30A	34	N	ne	0,982	0,136	68,793	16,876
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 30B	35	N	ne	1,991	0,261	36,687	36,407
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C	36	N	ne	0,442	0,087	85,946	6,441
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C1	37	N	ne	0,579	0,078	81,582	9,096
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIA	73	BF	ne	0,734	0,246	76,662	12,089
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIB	74	BF	ne	0,614	0,261	80,493	9,758
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	75	BF	ne	0,467	0,023	85,159	6,920
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IID	76	BF	ne	0,401	0,045	87,250	5,648
A	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32A	92	N	ne	0,766	0,549	75,637	12,713
A	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32B	93	N	ne	0,380	0,018	87,918	5,242
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 35A	38	N	ne	0,426	0,037	86,471	6,122
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 35B	39	N	ne	0,510	0,133	83,776	7,761
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 35C	40	N	ne	0,482	0,070	84,667	7,220

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	85	BF	ne	0,924	0,610	70,613	15,769
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIB	86	BF	ne	0,396	0,053	87,409	5,551
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIC	87	BF	ne	0,581	0,155	81,527	9,130
A	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IID	88	BF	ne	0,750	0,439	76,153	12,398
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39A	13	N	ne	0,465	0,054	85,207	6,891
A	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39B	14	N	ne	0,426	0,100	86,444	6,138
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 46A	41	N	ne	0,392	0,044	87,552	5,464
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 46B	42	N	ne	0,549	0,039	82,560	8,501
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 46C	43	N	ne	0,425	0,062	86,495	6,107
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 47A	48	N	ne	0,412	0,010	86,916	5,851
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 47B	59	N	ne	0,436	0,025	86,129	6,330
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 47C	60	N	ne	0,430	0,046	86,328	6,209
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 50A	94	N	ne	0,497	0,067	84,190	7,510
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 50B	95	N	ne	0,730	0,162	76,789	12,012
A	<i>Satureja montana</i> L.	N 51	96	N	ne	0,425	0,094	86,487	6,112
A	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '09	11	N	ne	0,417	0,031	86,749	5,953
A	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '10	12	N	ne	0,407	0,012	87,059	5,764
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32 '10	16	N	ne	0,366	0,034	88,379	4,961
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32A	19	N	ne	0,422	0,024	86,574	6,059
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	20	N	ne	0,450	0,085	85,681	6,602
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	10	N	da	0,564	0,197	82,083	8,791
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48 '10	17	N	ne	0,380	0,040	87,926	5,237
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	9	N	da	0,483	0,047	84,659	7,224
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	22	N	ne	0,425	0,016	86,479	6,117
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48B	23	N	ne	0,417	0,042	86,733	5,962
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48C	24	N	ne	0,412	0,012	86,892	5,866
A	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 50A '10	18	N	ne	0,368	0,009	88,299	5,010
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25A	101	BF	ne	0,444	0,046	85,899	6,470
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25C	53	BF	ne	0,431	0,021	86,296	6,228
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25D	54	BF	ne	0,455	0,055	85,525	6,697
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25E	55	BF	ne	0,417	0,060	86,741	5,957
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	4	BF	da	0,471	0,067	85,035	6,995
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	2	BF	da	0,367	0,031	88,323	4,995
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	67	BF	ne	0,349	0,089	88,911	4,637
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27B	68	BF	ne	0,422	0,028	86,598	6,044
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27C	69	BF	ne	0,411	0,037	86,940	5,837
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28A	49	BF	ne	0,409	0,035	87,012	5,793
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28B	50	BF	ne	0,406	0,017	87,107	5,735
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28C	51	BF	ne	1,156	1,504	63,244	20,251
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28D	52	BF	ne	0,434	0,069	86,217	6,277
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30A	44	BF	ne	0,427	0,060	86,431	6,146
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30B	45	BF	ne	0,422	0,059	86,598	6,044
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30C	46	BF	ne	0,379	0,026	87,942	5,227
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30D	47	BF	ne	0,415	0,028	86,805	5,919
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	5	BF	da	0,457	0,074	85,480	6,725
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	3	BF	da	0,398	0,025	87,353	5,585
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	64	BF	ne	0,445	0,029	85,843	6,504
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35B	65	BF	ne	0,484	0,076	84,611	7,253
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35C	66	BF	ne	0,423	0,043	86,566	6,064
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	6	BF	da	1,121	1,528	64,373	19,565
B	<i>Thymus</i> spp.L.	BF 36A	21	BF	ne	0,386	0,039	87,719	5,363
B	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	83	BF	ne	0,437	0,033	86,097	6,349
B	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	84	BF	ne	0,415	0,041	86,805	5,919
B	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	61	BF	ne	1,117	1,448	64,492	19,492

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
B	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	62	BF	ne	0,363	0,076	88,458	4,913
B	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39C	63	BF	ne	0,502	0,137	84,049	7,595
B	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	8	BF	da	0,463	0,073	85,289	6,841
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46A	80	BF	ne	0,413	0,017	86,868	5,880
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46C	99	BF	ne	0,400	0,013	87,298	5,619
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46F	81	BF	ne	0,413	0,041	86,876	5,875
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	82	BF	ne	0,374	0,046	88,108	5,126
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	7	BF	da	0,388	0,044	87,663	5,397
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47A	77	BF	ne	0,445	0,058	85,851	6,499
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47B	78	BF	ne	0,460	0,059	85,385	6,783
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	79	BF	ne	0,453	0,054	85,586	6,660
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	1	BF	da	0,451	0,084	85,671	6,609
B	<i>Thymus</i> spp.L.	BFT 32	15	BF	ne	0,433	0,040	86,233	6,267
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 25A	25	N	ne	0,429	0,035	86,376	6,180
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 25B	26	N	ne	0,456	0,031	85,493	6,717
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 25C	27	N	ne	0,409	0,033	87,012	5,793
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	89	N	ne	0,399	0,021	87,306	5,614
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIB	91	N	ne	0,446	0,056	85,835	6,509
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIC	90	N	ne	0,477	0,053	84,823	7,124
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 27A	31	N	ne	0,358	0,049	88,625	4,811
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 27B	32	N	ne	0,469	0,060	85,096	6,958
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 27C	33	N	ne	0,418	0,058	86,702	5,982
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIA	70	N	ne	0,430	0,029	86,336	6,204
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIB	71	N	ne	0,409	0,021	87,004	5,798
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIC	72	N	ne	0,440	0,018	86,002	6,407
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 28A	28	N	ne	0,401	0,018	87,250	5,648
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 28B	29	N	ne	0,436	0,051	86,137	6,325
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 28C	30	N	ne	0,428	0,022	86,392	6,170
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIA	56	N	ne	0,421	0,022	86,606	6,040
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIB	57	N	ne	0,377	0,053	88,029	5,174
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIC	58	N	ne	0,420	0,031	86,654	6,011
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IID	98	N	ne	0,400	0,027	87,298	5,619
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 30A	34	N	ne	0,412	0,030	86,916	5,851
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 30B	35	N	ne	0,427	0,037	86,423	6,151
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C	36	N	ne	0,471	0,048	85,024	7,002
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C1	37	N	ne	0,426	0,027	86,447	6,136
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIA	73	N	ne	1,131	1,532	64,047	19,763
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIB	74	N	ne	0,456	0,069	85,493	6,717
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	75	N	ne	0,437	0,038	86,097	6,349
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IID	76	N	ne	0,399	0,012	87,306	5,614
B	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32A	92	N	ne	0,448	0,047	85,771	6,547
B	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32B	93	N	ne	0,436	0,022	86,129	6,330
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 35A	38	N	ne	0,408	0,039	87,019	5,788
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 35B	39	N	ne	0,389	0,038	87,624	5,421
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 35C	40	N	ne	0,430	0,035	86,328	6,209
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	85	N	ne	0,433	0,060	86,248	6,257
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIB	86	N	ne	0,397	0,031	87,369	5,575
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIC	87	N	ne	0,413	0,053	86,876	5,875
B	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IID	88	N	ne	0,443	0,079	85,930	6,451
B	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39A	13	N	ne	1,107	1,401	64,802	19,304
B	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39B	14	N	ne	0,451	0,064	85,671	6,609
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 46A	41	N	ne	1,119	1,517	64,421	19,536
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 46B	42	N	ne	0,440	0,030	86,010	6,402
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 46C	43	N	ne	0,409	0,051	87,004	5,798

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 47A	48	N	ne	0,410	0,026	86,956	5,827
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 47B	59	N	ne	0,383	0,028	87,838	5,290
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 47C	60	N	ne	0,417	0,030	86,749	5,953
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 50A	94	N	ne	1,058	1,339	66,376	18,346
B	<i>Satureja montana</i> L.	N 50B	95	N	ne	0,435	0,019	86,169	6,306
B	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51	96	N	ne	0,409	0,032	87,012	5,793
B	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '09	11	N	ne	0,397	0,031	87,369	5,575
B	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '10	12	N	ne	0,467	0,036	85,159	6,920
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32 '10	16	NT	ne	0,420	0,024	86,654	6,011
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32A	19	NT	ne	0,441	0,054	85,994	6,412
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	20	NT	ne	0,484	0,061	84,611	7,253
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	10	NT	da	0,454	0,055	85,581	6,663
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48 '10	17	NT	ne	0,430	0,114	86,328	6,209
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	9	NT	da	0,413	0,040	86,868	5,880
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	22	NT	ne	0,428	0,039	86,399	6,165
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48B	23	NT	ne	0,418	0,034	86,709	5,977
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48C	24	NT	ne	0,430	0,014	86,328	6,209
B	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 50A '10	18	NT	ne	1,109	1,407	64,731	19,347
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25A	101	BF	ne	0,480	0,064	84,730	7,181
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25C	53	BF	ne	0,504	0,077	83,967	7,645
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25D	54	BF	ne	0,484	0,052	84,619	7,249
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25E	55	BF	ne	0,471	0,084	85,032	6,997
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	4	BF	da	0,512	0,158	83,721	7,795
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	2	BF	da	0,408	0,043	87,043	5,774
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	67	BF	ne	0,395	0,044	87,449	5,527
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27B	68	BF	ne	0,472	0,022	84,985	7,026
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27C	69	BF	ne	0,427	0,042	86,439	6,141
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28A	49	BF	ne	0,426	0,028	86,471	6,122
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28B	50	BF	ne	0,414	0,042	86,829	5,904
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28C	51	BF	ne	0,422	0,016	86,590	6,049
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28D	52	BF	ne	0,472	0,073	85,008	7,012
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30A	44	BF	ne	0,486	0,077	84,547	7,292
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30B	45	BF	ne	0,467	0,072	85,159	6,920
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30C	46	BF	ne	0,399	0,035	87,322	5,604
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30D	47	BF	ne	0,506	0,068	83,904	7,684
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	5	BF	da	0,501	0,113	84,081	7,576
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	3	BF	da	0,490	0,057	84,428	7,365
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	64	BF	ne	0,473	0,037	84,953	7,045
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35B	65	BF	ne	0,523	0,079	83,363	8,013
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35C	66	BF	ne	0,464	0,065	85,263	6,857
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	6	BF	da	0,387	0,046	87,687	5,382
C	<i>Thymus</i> spp.L.	BF 36A	21	BF	ne	0,498	0,027	84,174	7,519
C	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	83	BF	ne	0,446	0,052	85,827	6,514
C	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	84	BF	ne	0,447	0,029	85,795	6,533
C	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	61	BF	ne	0,420	0,038	86,654	6,011
C	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	62	BF	ne	0,486	0,145	84,539	7,297
C	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39C	63	BF	ne	0,533	0,166	83,042	8,208
C	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	8	BF	da	0,478	0,102	84,802	7,137
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46A	80	BF	ne	0,492	0,082	84,365	7,403
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46C	99	BF	ne	0,430	0,040	86,320	6,214
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46F	81	BF	ne	0,471	0,041	85,024	7,002
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	82	BF	ne	0,416	0,033	86,773	5,938
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	7	BF	da	0,419	0,053	86,670	6,001
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47A	77	BF	ne	0,501	0,083	84,060	7,589

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47B	78	BF	ne	0,494	0,075	84,293	7,447
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	79	BF	ne	0,560	0,112	82,194	8,723
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	1	BF	da	0,499	0,067	84,134	7,544
C	<i>Thymus</i> spp.L.	BFT 32	15	BF	ne	0,498	0,053	84,182	7,515
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 25A	25	N	ne	0,427	0,033	86,423	6,151
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 25B	26	N	ne	0,468	0,042	85,128	6,939
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 25C	27	N	ne	0,417	0,027	86,741	5,957
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	89	N	ne	0,421	0,040	86,630	6,025
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIB	91	N	ne	0,492	0,058	84,349	7,413
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIC	90	N	ne	0,581	0,115	81,527	9,130
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 27A	31	N	ne	0,394	0,034	87,481	5,508
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 27B	32	N	ne	0,473	0,071	84,953	7,045
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 27C	33	N	ne	0,431	0,037	86,296	6,228
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIA	70	N	ne	0,517	0,042	83,578	7,882
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIB	71	N	ne	0,469	0,050	85,080	6,968
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIC	72	N	ne	0,508	0,052	83,840	7,722
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 28A	28	N	ne	0,416	0,024	86,765	5,943
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 28B	29	N	ne	0,453	0,034	85,613	6,644
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 28C	30	N	ne	0,515	0,066	83,641	7,843
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIA	56	N	ne	0,500	0,065	84,102	7,563
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIB	57	N	ne	0,407	0,050	87,075	5,754
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIC	58	N	ne	0,436	0,038	86,137	6,325
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IID	98	N	ne	0,423	0,032	86,543	6,078
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 30A	34	N	ne	0,463	0,018	85,295	6,838
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 30B	35	N	ne	0,412	0,025	86,900	5,861
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C	36	N	ne	0,487	0,110	84,505	7,318
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C1	37	N	ne	0,459	0,021	85,414	6,765
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIA	73	N	ne	0,396	0,033	87,401	5,556
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIB	74	N	ne	0,467	0,040	85,167	6,915
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	75	N	ne	0,469	0,014	85,080	6,968
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IID	76	N	ne	0,436	0,022	86,129	6,330
C	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32A	92	N	ne	0,508	0,067	83,864	7,708
C	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32B	93	N	ne	0,534	0,014	83,021	8,221
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 35A	38	N	ne	0,474	0,048	84,937	7,055
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 35B	39	N	ne	0,392	0,033	87,528	5,479
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 35C	40	N	ne	0,485	0,061	84,579	7,273
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	85	N	ne	0,472	0,082	85,000	7,016
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIB	86	N	ne	0,440	0,037	86,018	6,397
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIC	87	N	ne	0,453	0,031	85,613	6,644
C	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IID	88	N	ne	0,559	0,065	82,226	8,704
C	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39A	13	N	ne	0,410	0,048	86,956	5,827
C	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39B	14	N	ne	0,489	0,095	84,441	7,357
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 46A	41	N	ne	0,395	0,028	87,441	5,532
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 46B	42	N	ne	0,487	0,026	84,524	7,307
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 46C	43	N	ne	0,410	0,037	86,972	5,817
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 47A	48	N	ne	0,436	0,057	86,137	6,325
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 47B	59	N	ne	0,435	0,014	86,161	6,310
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 47C	60	N	ne	0,416	0,039	86,773	5,938
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 50A	94	N	ne	0,411	0,036	86,924	5,846
C	<i>Satureja montana</i> L.	N 50B	95	N	ne	0,464	0,059	85,263	6,857
C	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51	96	N	ne	0,408	0,031	87,027	5,783
C	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '09	11	N	ne	0,461	0,037	85,358	6,799
C	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '10	12	N	ne	0,633	0,195	79,881	10,131
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32 '10	16	NT	ne	0,537	0,078	82,942	8,269

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32A	19	NT	ne	0,509	0,063	83,816	7,737
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	20	NT	ne	0,587	0,130	81,325	9,252
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	10	NT	da	0,520	0,065	83,458	7,955
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48 '10	17	NT	ne	0,625	0,321	80,144	9,971
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	9	NT	da	0,469	0,056	85,104	6,954
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	22	NT	ne	0,521	0,077	83,450	7,959
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48B	23	NT	ne	0,465	0,047	85,207	6,891
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48C	24	NT	ne	0,502	0,059	84,039	7,602
C	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 50A '10	18	NT	ne	0,481	0,051	84,706	7,195
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25A	101	BF	ne	0,438	0,038	86,066	0,438
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25C	53	BF	ne	0,408	0,010	87,035	0,408
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25D	54	BF	ne	0,447	0,030	85,803	0,447
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25E	55	BF	ne	0,403	0,039	87,194	0,403
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	4	BF	da	0,403	0,036	87,176	0,403
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	2	BF	da	0,382	0,031	87,854	0,382
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	67	BF	ne	0,367	0,044	88,347	0,367
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27B	68	BF	ne	0,463	0,015	85,279	0,463
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27C	69	BF	ne	0,410	0,043	86,972	0,410
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28A	49	BF	ne	0,442	0,021	85,954	0,442
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28B	50	BF	ne	0,408	0,017	87,027	0,408
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28C	51	BF	ne	0,418	0,020	86,717	0,418
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28D	52	BF	ne	0,429	0,042	86,368	0,429
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30A	44	BF	ne	0,458	0,043	85,446	0,458
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30B	45	BF	ne	0,461	0,034	85,334	0,461
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30C	46	BF	ne	0,396	0,036	87,425	0,396
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30D	47	BF	ne	0,416	0,020	86,781	0,416
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	5	BF	da	0,397	0,030	87,377	0,397
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	3	BF	da	0,430	0,018	86,336	0,430
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	64	BF	ne	0,417	0,011	86,741	0,417
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35B	65	BF	ne	0,480	0,035	84,730	0,480
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35C	66	BF	ne	0,429	0,036	86,360	0,429
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	6	BF	da	0,353	0,034	88,768	0,353
D	<i>Thymus</i> spp.L.	BF 36A	21	BF	ne	0,377	0,019	88,029	0,377
D	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	83	BF	ne	0,465	0,027	85,207	0,465
D	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	84	BF	ne	0,440	0,016	86,002	0,440
D	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	61	BF	ne	0,391	0,017	87,568	0,391
D	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	62	BF	ne	0,385	0,030	87,767	0,385
D	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39C	63	BF	ne	0,443	0,055	85,925	0,443
D	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	8	BF	da	0,433	0,044	86,233	0,433
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46A	80	BF	ne	0,418	0,026	86,725	0,418
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46C	99	BF	ne	0,383	0,022	87,814	0,383
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46F	81	BF	ne	0,411	0,024	86,932	0,411
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	82	BF	ne	0,388	0,033	87,655	0,388
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	7	BF	da	0,378	0,018	87,973	0,378
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47A	77	BF	ne	0,410	0,049	86,964	0,410
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47B	78	BF	ne	0,362	0,037	88,501	0,362
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	79	BF	ne	0,398	0,040	87,335	0,398
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	1	BF	da	0,396	0,064	87,409	0,396
D	<i>Thymus</i> spp.L.	BFT 32	15	BF	ne	0,439	0,036	86,050	0,439
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 25A	25	N	ne	0,436	0,037	86,129	0,436
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 25B	26	N	ne	0,413	0,016	86,876	0,413
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 25C	27	N	ne	0,397	0,025	87,385	0,397
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	89	N	ne	0,388	0,034	87,679	0,388
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIB	91	N	ne	0,390	0,033	87,592	0,390

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIC	90	N	ne	0,420	0,037	86,635	0,420
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 27A	31	N	ne	0,406	0,024	87,083	0,406
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 27B	32	N	ne	0,474	0,038	84,937	0,474
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 27C	33	N	ne	0,459	0,030	85,414	0,459
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIA	70	N	ne	0,435	0,026	86,161	0,435
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIB	71	N	ne	0,418	0,027	86,709	0,418
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIC	72	N	ne	0,417	0,010	86,749	0,417
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 28A	28	N	ne	0,393	0,013	87,512	0,393
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 28B	29	N	ne	0,464	0,033	85,247	0,464
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 28C	30	N	ne	0,443	0,019	85,915	0,443
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIA	56	N	ne	0,415	0,033	86,821	0,415
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIB	57	N	ne	0,359	0,042	88,585	0,359
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIC	58	N	ne	0,379	0,050	87,949	0,379
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IID	98	N	ne	0,381	0,022	87,894	0,381
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 30A	34	N	ne	0,476	0,012	84,873	0,476
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 30B	35	N	ne	0,420	0,014	86,646	0,420
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C	36	N	ne	0,804	0,658	74,436	0,804
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C1	37	N	ne	0,483	0,014	84,651	0,483
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIA	73	N	ne	0,367	0,029	88,331	0,367
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIB	74	N	ne	0,474	0,044	84,929	0,474
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	75	N	ne	0,464	0,018	85,263	0,464
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IID	76	N	ne	0,371	0,015	88,196	0,371
D	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32A	92	N	ne	0,455	0,042	85,525	0,455
D	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32B	93	N	ne	0,428	0,016	86,407	0,428
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 35A	38	N	ne	0,406	0,037	87,107	0,406
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 35B	39	N	ne	0,376	0,029	88,045	0,376
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 35C	40	N	ne	0,427	0,030	86,415	0,427
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	85	N	ne	0,450	0,053	85,700	0,450
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIB	86	N	ne	0,378	0,026	87,989	0,378
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIC	87	N	ne	0,431	0,035	86,288	0,431
D	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IID	88	N	ne	0,510	0,110	83,800	0,510
D	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39A	13	N	ne	0,386	0,016	87,735	0,386
D	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39B	14	N	ne	0,425	0,035	86,497	0,425
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 46A	41	N	ne	0,366	0,029	88,355	0,366
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 46B	42	N	ne	0,479	0,036	84,786	0,479
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 46C	43	N	ne	0,398	0,058	87,361	0,398
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 47A	48	N	ne	0,378	0,008	87,989	0,378
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 47B	59	N	ne	0,420	0,009	86,662	0,420
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 47C	60	N	ne	0,403	0,032	87,194	0,403
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 50A	94	N	ne	0,373	0,024	88,132	0,373
D	<i>Satureja montana</i> L.	N 50B	95	N	ne	0,393	0,017	87,512	0,393
D	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51	96	N	ne	0,388	0,017	87,679	0,388
D	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '09	11	N	ne	0,387	0,024	87,687	0,387
D	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '10	12	N	ne	0,446	0,015	85,835	0,446
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32 '10	16	NT	ne	0,400	0,029	87,274	0,400
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32A	19	NT	ne	0,415	0,020	86,797	0,415
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	20	NT	ne	0,387	0,036	87,695	0,387
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	10	NT	da	0,487	0,043	84,516	0,487
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48 '10	17	NT	ne	0,397	0,032	87,393	0,397
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	9	NT	da	0,429	0,028	86,368	0,429
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	22	NT	ne	0,408	0,023	87,019	0,408
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48B	23	NT	ne	0,423	0,034	86,558	0,423
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48C	24	NT	ne	0,397	0,008	87,385	0,397
D	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 50A '10	18	NT	ne	0,409	0,033	87,012	0,409

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25A	101	BF	ne	0,391	0,070	87,576	5,450
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25C	53	BF	ne	0,385	0,040	87,759	5,338
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25D	54	BF	ne	0,428	0,065	86,392	6,170
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25E	55	BF	ne	0,371	0,040	88,220	5,058
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	4	BF	da	0,414	0,055	86,826	5,906
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	2	BF	da	0,361	0,025	88,530	4,869
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	67	BF	ne	0,345	0,039	89,031	4,565
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27B	68	BF	ne	0,412	0,019	86,916	5,851
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27C	69	BF	ne	0,388	0,036	87,655	5,401
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28A	49	BF	ne	0,381	0,026	87,894	5,256
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28B	50	BF	ne	0,369	0,032	88,267	5,029
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28C	51	BF	ne	0,389	0,036	87,624	5,421
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28D	52	BF	ne	0,403	0,073	87,186	5,687
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30A	44	BF	ne	0,400	0,054	87,298	5,619
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30B	45	BF	ne	0,417	0,057	86,741	5,957
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30C	46	BF	ne	0,353	0,020	88,776	4,720
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30D	47	BF	ne	0,361	0,024	88,538	4,865
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	5	BF	da	0,391	0,065	87,557	5,461
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	3	BF	da	0,373	0,032	88,156	5,097
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	64	BF	ne	0,411	0,034	86,924	5,846
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35B	65	BF	ne	0,461	0,129	85,350	6,804
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35C	66	BF	ne	0,391	0,024	87,568	5,455
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	6	BF	da	0,339	0,032	89,237	4,439
E	<i>Thymus</i> spp.L.	BF 36A	21	BF	ne	0,402	0,025	87,234	5,658
E	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	83	BF	ne	0,400	0,033	87,274	5,633
E	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	84	BF	ne	0,383	0,036	87,814	5,305
E	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	61	BF	ne	0,374	0,037	88,108	5,126
E	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	62	BF	ne	0,371	0,034	88,220	5,058
E	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39C	63	BF	ne	0,411	0,040	86,943	5,835
E	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	8	BF	da	0,436	0,111	86,148	6,319
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46A	80	BF	ne	0,380	0,014	87,926	5,237
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46C	99	BF	ne	0,347	0,018	88,983	4,594
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46F	81	BF	ne	0,357	0,033	88,657	4,792
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	82	BF	ne	0,392	0,069	87,544	5,469
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	7	BF	da	0,388	0,056	87,663	5,397
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47A	77	BF	ne	0,403	0,042	87,197	5,680
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47B	78	BF	ne	0,428	0,096	86,392	6,170
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	79	BF	ne	0,392	0,036	87,547	5,467
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	1	BF	da	0,381	0,070	87,896	5,255
E	<i>Thymus</i> spp.L.	BFT 32	15	BF	ne	0,417	0,038	86,749	5,953
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 25A	25	N	ne	0,391	0,034	87,576	5,450
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 25B	26	N	ne	0,377	0,021	88,021	5,179
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 25C	27	N	ne	0,397	0,028	87,369	5,575
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	89	N	ne	0,380	0,030	87,918	5,242
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIB	91	N	ne	0,375	0,029	88,093	5,135
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIC	90	N	ne	0,414	0,054	86,847	5,893
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 27A	31	N	ne	0,373	0,039	88,156	5,097
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 27B	32	N	ne	0,407	0,067	87,075	5,754
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 27C	33	N	ne	0,398	0,029	87,345	5,590
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIA	70	N	ne	0,412	0,025	86,900	5,861
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIB	71	N	ne	0,380	0,035	87,918	5,242
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIC	72	N	ne	0,372	0,043	88,188	5,077
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 28A	28	N	ne	0,350	0,033	88,887	4,652
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 28B	29	N	ne	0,384	0,036	87,806	5,309

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 28C	30	N	ne	0,429	0,035	86,352	6,194
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIA	56	N	ne	0,409	0,043	86,988	5,808
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIB	57	N	ne	0,354	0,046	88,752	4,734
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIC	58	N	ne	0,389	0,040	87,624	5,421
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IID	98	N	ne	0,377	0,019	88,029	5,174
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 30A	34	N	ne	0,393	0,028	87,496	5,498
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 30B	35	N	ne	0,394	0,033	87,481	5,508
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C	36	N	ne	0,405	0,052	87,112	5,732
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C1	37	N	ne	0,403	0,017	87,194	5,682
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIA	73	N	ne	0,373	0,023	88,148	5,102
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIB	74	N	ne	0,425	0,073	86,479	6,117
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	75	N	ne	0,414	0,023	86,845	5,895
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IID	76	N	ne	0,351	0,013	88,840	4,681
E	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32A	92	N	ne	0,421	0,068	86,630	6,025
E	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32B	93	N	ne	0,417	0,020	86,741	5,957
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 35A	38	N	ne	0,393	0,043	87,496	5,498
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 35B	39	N	ne	0,367	0,013	88,339	4,985
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 35C	40	N	ne	0,358	0,011	88,617	4,816
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	85	N	ne	0,386	0,075	87,727	5,358
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIB	86	N	ne	0,368	0,050	88,291	5,015
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIC	87	N	ne	0,378	0,034	87,989	5,198
E	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IID	88	N	ne	0,441	0,087	85,978	6,422
E	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39A	13	N	ne	0,397	0,038	87,385	5,566
E	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39B	14	N	ne	0,397	0,029	87,367	5,577
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 46A	41	N	ne	0,343	0,031	89,094	4,526
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 46B	42	N	ne	0,419	0,020	86,686	5,991
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 46C	43	N	ne	0,368	0,049	88,307	5,005
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 47A	48	N	ne	0,355	0,022	88,705	4,763
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 47B	59	N	ne	0,369	0,028	88,259	5,034
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 47C	60	N	ne	0,382	0,024	87,854	5,280
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 50A	94	N	ne	0,438	0,088	86,066	6,368
E	<i>Satureja montana</i> L.	N 50B	95	N	ne	0,388	0,034	87,671	5,392
E	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51	96	N	ne	0,388	0,021	87,655	5,401
E	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '09	11	N	ne	0,365	0,030	88,403	4,947
E	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '10	12	N	ne	0,414	0,023	86,829	5,904
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32 '10	16	NT	ne	0,380	0,018	87,910	5,247
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32A	19	NT	ne	0,388	0,020	87,671	5,392
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	20	NT	ne	0,428	0,070	86,381	6,177
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	10	NT	da	0,439	0,061	86,042	6,383
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48 '10	17	NT	ne	0,386	0,045	87,727	5,358
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	9	NT	da	0,398	0,038	87,337	5,595
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	22	NT	ne	0,390	0,020	87,600	5,435
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48B	23	NT	ne	0,442	0,091	85,954	6,436
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48C	24	NT	ne	0,384	0,032	87,798	5,314
E	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 50A '10	18	NT	ne	0,405	0,036	87,115	5,730
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25A	101	BF	ne	0,548	0,163	82,584	8,486
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25C	53	BF	ne	0,567	0,019	81,988	8,849
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25D	54	BF	ne	0,592	0,156	81,193	9,333
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25E	55	BF	ne	0,570	0,062	81,877	8,917
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	4	BF	da	0,538	0,102	82,905	8,291
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	2	BF	da	0,586	0,236	81,376	9,221
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	67	BF	ne	0,500	0,045	84,118	7,553
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27B	68	BF	ne	0,583	0,035	81,455	9,173
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27C	69	BF	ne	0,625	0,160	80,120	9,985

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28A	49	BF	ne	0,543	0,044	82,751	8,385
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28B	50	BF	ne	0,499	0,077	84,150	7,534
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28C	51	BF	ne	0,548	0,057	82,568	8,496
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28D	52	BF	ne	0,603	0,127	80,843	9,545
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30A	44	BF	ne	0,609	0,162	80,629	9,676
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30B	45	BF	ne	0,549	0,124	82,560	8,501
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30C	46	BF	ne	0,548	0,180	82,592	8,482
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30D	47	BF	ne	0,554	0,025	82,385	8,607
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	5	BF	da	0,523	0,105	83,371	8,008
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	3	BF	da	0,559	0,077	82,234	8,699
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	64	BF	ne	0,747	0,093	76,249	12,340
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35B	65	BF	ne	0,737	0,158	76,575	12,142
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35C	66	BF	ne	0,767	0,122	75,629	12,718
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	6	BF	da	0,441	0,090	85,978	6,422
F	<i>Thymus</i> spp.L.	BF 36A	21	BF	ne	0,470	0,057	85,048	6,987
F	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	83	BF	ne	0,556	0,068	82,314	8,651
F	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	84	BF	ne	0,576	0,027	81,678	9,038
F	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	61	BF	ne	0,539	0,071	82,854	8,322
F	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	62	BF	ne	0,517	0,071	83,570	7,887
F	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39C	63	BF	ne	0,596	0,125	81,039	9,426
F	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	8	BF	da	0,584	0,172	81,431	9,188
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46A	80	BF	ne	0,543	0,026	82,743	8,390
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46C	99	BF	ne	0,480	0,025	84,730	7,181
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46F	81	BF	ne	0,525	0,056	83,307	8,046
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	82	BF	ne	0,507	0,102	83,880	7,698
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	7	BF	da	0,492	0,086	84,372	7,398
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47A	77	BF	ne	0,510	0,089	83,774	7,763
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47B	78	BF	ne	0,537	0,099	82,926	8,279
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	79	BF	ne	0,538	0,073	82,883	8,304
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	1	BF	da	0,604	0,186	80,785	9,581
F	<i>Thymus</i> spp.L.	BFT 32	15	BF	ne	0,644	0,107	79,524	10,348
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 25A	25	N	ne	0,487	0,038	84,516	7,311
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 25B	26	N	ne	0,504	0,030	83,991	7,631
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 25C	27	N	ne	0,498	0,128	84,174	7,519
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	89	N	ne	0,499	0,121	84,142	7,539
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIB	91	N	ne	0,551	0,058	82,489	8,544
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIC	90	N	ne	0,610	0,078	80,615	9,684
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 27A	31	N	ne	0,459	0,052	85,422	6,760
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 27B	32	N	ne	0,548	0,148	82,576	8,491
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 27C	33	N	ne	0,513	0,125	83,705	7,805
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIA	70	N	ne	0,564	0,090	82,075	8,796
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIB	71	N	ne	0,527	0,068	83,260	8,075
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIC	72	N	ne	0,513	0,054	83,681	7,819
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 28A	28	N	ne	0,479	0,054	84,778	7,152
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 28B	29	N	ne	0,510	0,057	83,776	7,761
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 28C	30	N	ne	0,484	0,015	84,603	7,258
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIA	56	N	ne	0,575	0,039	81,710	9,018
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIB	57	N	ne	0,524	0,139	83,347	8,022
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIC	58	N	ne	0,479	0,053	84,762	7,162
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IID	98	N	ne	0,518	0,149	83,530	7,911
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 30A	34	N	ne	0,511	0,037	83,760	7,771
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 30B	35	N	ne	0,494	0,068	84,309	7,437
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C	36	N	ne	0,519	0,060	83,488	7,937
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C1	37	N	ne	0,509	0,037	83,816	7,737

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIA	73	N	ne	0,486	0,084	84,539	7,297
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIB	74	N	ne	0,561	0,205	82,155	8,748
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	75	N	ne	0,574	0,081	81,757	8,989
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IID	76	N	ne	0,490	0,031	84,428	7,365
F	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32A	92	N	ne	0,566	0,150	82,020	8,830
F	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32B	93	N	ne	0,464	0,023	85,239	6,871
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 35A	38	N	ne	0,492	0,045	84,365	7,403
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 35B	39	N	ne	0,546	0,205	82,640	8,453
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 35C	40	N	ne	0,524	0,016	83,331	8,032
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	85	N	ne	0,550	0,146	82,504	8,535
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIB	86	N	ne	0,486	0,121	84,563	7,282
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIC	87	N	ne	0,579	0,092	81,582	9,096
F	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IID	88	N	ne	0,603	0,124	80,843	9,545
F	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39A	13	N	ne	0,585	0,026	81,415	9,197
F	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39B	14	N	ne	0,549	0,171	82,555	8,504
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 46A	41	N	ne	0,383	0,073	87,822	5,300
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 46B	42	N	ne	0,573	0,034	81,773	8,980
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 46C	43	N	ne	0,463	0,059	85,287	6,842
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 47A	48	N	ne	0,492	0,048	84,365	7,403
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 47B	59	N	ne	0,485	0,031	84,571	7,278
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 47C	60	N	ne	0,604	0,155	80,795	9,574
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 50A	94	N	ne	0,465	0,082	85,231	6,876
F	<i>Satureja montana</i> L.	N 50B	95	N	ne	0,496	0,059	84,237	7,481
F	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51	96	N	ne	0,514	0,156	83,673	7,824
F	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '09	11	N	ne	0,507	0,051	83,896	7,689
F	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '10	12	N	ne	0,620	0,035	80,295	9,879
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32 '10	16	NT	ne	0,614	0,085	80,493	9,758
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32A	19	NT	ne	0,549	0,024	82,544	8,511
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	20	NT	ne	0,606	0,076	80,742	9,607
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	10	NT	da	0,652	0,208	79,277	10,498
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48 '10	17	NT	ne	0,577	0,043	81,662	9,047
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	9	NT	da	0,551	0,054	82,473	8,554
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	22	NT	ne	0,548	0,023	82,584	8,486
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48B	23	NT	ne	0,563	0,065	82,107	8,777
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48C	24	NT	ne	0,523	0,032	83,379	8,003
F	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 50A '10	18	NT	ne	0,516	0,096	83,601	7,868
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25A	101	BF	ne	2,156	0,559	31,449	39,594
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25C	53	BF	ne	1,837	0,210	41,584	33,428
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25D	54	BF	ne	2,104	0,552	33,102	38,588
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25E	55	BF	ne	1,887	0,096	40,010	34,386
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	4	BF	da	2,008	0,429	36,144	36,738
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	2	BF	da	1,741	0,250	44,644	31,567
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27A	67	BF	ne	1,682	0,158	46,536	30,416
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27B	68	BF	ne	2,219	0,107	29,462	40,803
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27C	69	BF	ne	2,026	0,473	35,598	37,070
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28A	49	BF	ne	2,003	0,163	36,321	36,630
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28B	50	BF	ne	1,911	0,172	39,239	34,855
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28C	51	BF	ne	1,583	0,206	49,660	28,515
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28D	52	BF	ne	2,091	0,592	33,531	38,327
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30A	44	BF	ne	2,466	0,723	21,592	45,590
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30B	45	BF	ne	2,236	0,572	28,921	41,132
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30C	46	BF	ne	1,923	0,303	38,849	35,092
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30D	47	BF	ne	2,044	0,147	35,002	37,432
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	5	BF	da	2,060	0,374	34,491	37,743

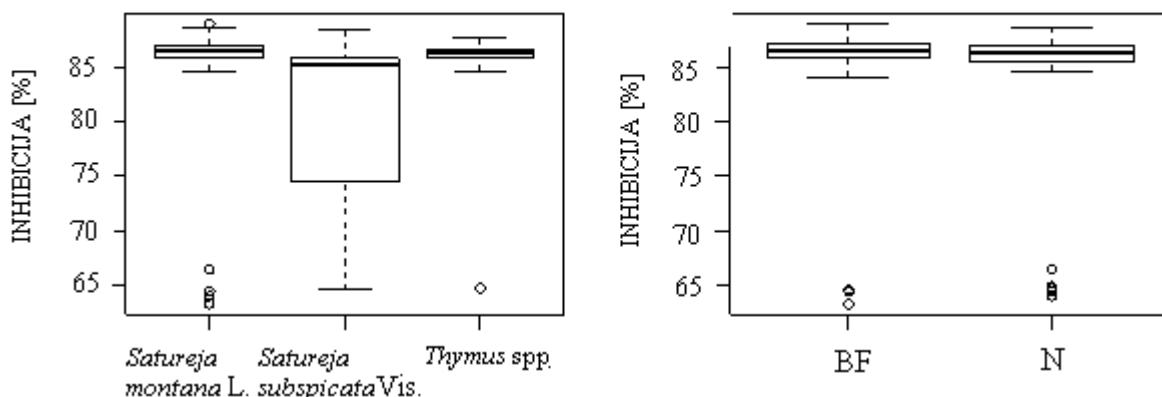
TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	3	BF	da	1,906	0,239	39,414	34,749
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35A	64	BF	ne	1,926	0,398	38,770	35,140
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35B	65	BF	ne	2,264	0,572	28,015	41,683
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35C	66	BF	ne	2,281	0,539	27,466	42,016
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	6	BF	da	1,640	0,133	47,871	29,603
G	<i>Thymus</i> spp.L.	BF 36A	21	BF	ne	1,542	0,013	50,963	27,722
G	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	83	BF	ne	1,478	0,314	53,014	26,475
G	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	84	BF	ne	1,947	0,129	38,102	35,546
G	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39A	61	BF	ne	1,679	0,186	46,607	30,372
G	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	62	BF	ne	1,762	0,247	43,984	31,968
G	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39C	63	BF	ne	2,091	0,491	33,515	38,337
G	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	BF 39B	8	BF	da	1,627	0,357	48,269	29,362
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46A	80	BF	ne	1,954	0,122	37,887	35,677
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46C	99	BF	ne	1,590	0,111	49,437	28,651
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46F	81	BF	ne	2,108	0,122	32,991	38,656
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	82	BF	ne	1,885	0,268	40,065	34,352
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 46G	7	BF	da	2,069	0,425	34,223	37,906
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47A	77	BF	ne	1,878	0,269	40,277	34,223
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47B	78	BF	ne	2,011	0,284	36,070	36,783
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	79	BF	ne	1,948	0,306	38,073	35,564
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 47C	1	BF	da	1,975	0,347	37,193	36,099
G	<i>Thymus</i> spp.L.	BFT 32	15	BF	ne	2,066	0,392	34,302	37,858
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 25A	25	N	ne	2,250	0,128	28,468	41,407
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 25B	26	N	ne	2,079	0,041	33,913	38,095
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 25C	27	N	ne	1,989	0,305	36,751	36,368
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIA	89	N	ne	1,824	0,233	42,013	33,167
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIB	91	N	ne	2,223	0,055	29,326	40,885
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 25IIC	90	N	ne	2,044	0,281	35,020	37,421
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 27A	31	N	ne	1,862	0,180	40,789	33,912
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 27B	32	N	ne	1,897	0,501	39,684	34,584
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 27C	33	N	ne	1,825	0,366	41,973	33,191
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIA	70	N	ne	1,975	0,273	37,212	36,088
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIB	71	N	ne	2,066	0,116	34,302	37,858
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 27IIC	72	N	ne	1,958	0,216	37,760	35,754
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 28A	28	N	ne	1,839	0,132	41,544	33,453
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 28B	29	N	ne	2,229	0,244	29,144	40,996
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 28C	30	N	ne	2,117	0,085	32,689	38,839
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIA	56	N	ne	2,040	0,095	35,137	37,350
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIB	57	N	ne	1,732	0,313	44,938	31,388
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IIC	58	N	ne	1,950	0,389	38,015	35,600
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 28IID	98	N	ne	1,790	0,234	43,094	32,510
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 30A	34	N	ne	2,313	0,126	26,457	42,631
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 30B	35	N	ne	1,837	0,364	41,584	33,428
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C	36	N	ne	2,026	0,332	35,582	37,079
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 30C1	37	N	ne	2,033	0,150	35,352	37,220
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIA	73	N	ne	1,769	0,219	43,746	32,113
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIB	74	N	ne	2,236	0,525	28,913	41,136
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IIC	75	N	ne	2,440	0,168	22,435	45,077
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 30IID	76	N	ne	2,047	0,178	34,907	37,490
G	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32A	92	N	ne	2,134	0,607	32,164	39,159
G	<i>Thymus</i> spp.L.	N 32B	93	N	ne	2,149	0,140	31,671	39,458
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 35A	38	N	ne	2,004	0,383	36,274	36,659
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 35B	39	N	ne	1,845	0,296	41,337	33,578
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 35C	40	N	ne	1,934	0,121	38,499	35,305

TOP.	Vrsta rastline	VZ.	št.vz.	okolje	Presej.	Povpr.	SD	povpr. % INHIB.	povpr. TEAC
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIA	85	N	ne	2,259	0,604	28,182	41,581
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIB	86	N	ne	1,800	0,269	42,776	32,703
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IIC	87	N	ne	2,315	0,151	26,385	42,674
G	<i>Satureja montana</i> L.	BF 35IID	88	N	ne	2,271	0,596	27,808	41,809
G	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39A	13	N	ne	1,301	0,155	58,634	23,056
G	<i>Satureja subspicata</i> Vis.	N 39B	14	N	ne	1,948	0,215	38,073	35,564
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 46A	41	N	ne	1,440	0,212	54,230	25,735
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 46B	42	N	ne	2,329	0,108	25,964	42,930
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 46C	43	N	ne	1,809	0,366	42,474	32,887
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 47A	48	N	ne	2,001	0,161	36,369	36,601
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 47B	59	N	ne	1,945	0,148	38,158	35,513
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 47C	60	N	ne	1,734	0,359	44,882	31,422
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 50A	94	N	ne	1,614	0,278	48,690	29,105
G	<i>Satureja montana</i> L.	N 50B	95	N	ne	1,556	0,053	50,542	27,979
G	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51	96	N	ne	1,779	0,357	43,444	32,297
G	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '09	11	N	ne	1,658	0,256	47,275	29,966
G	<i>Thymus</i> spp.L.	N 51 '10	12	N	ne	1,840	0,174	41,488	33,486
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32 '10	16	NT	ne	2,273	0,258	27,729	41,857
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32A	19	NT	ne	1,685	0,128	46,417	30,488
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	20	NT	ne	1,859	0,528	40,892	33,849
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 32B	10	NT	da	1,793	0,470	42,991	32,573
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48 '10	17	NT	ne	1,449	0,167	53,920	25,924
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	9	NT	da	2,153	0,108	31,536	39,541
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48A	22	NT	ne	1,705	0,034	45,804	30,861
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48B	23	NT	ne	1,425	0,315	54,691	25,455
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 48C	24	NT	ne	1,583	0,124	49,668	28,511
G	<i>Thymus</i> spp.L.	NT 50A '10	18	NT	ne	1,568	0,168	50,160	28,211

PRILOGA B

OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU INHIBICIJE PROSTEGA RADIKALA DPPH PRI TOPILU B (70 % ETANOL)

TOPILO B



Pril. B1: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 70 % etanolu.

Pril. B2: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 70 % etanolu.

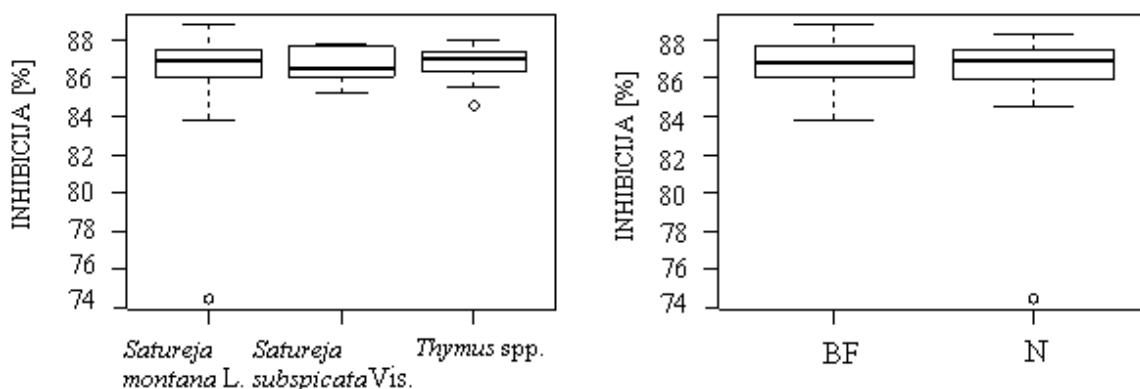
DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
OKOLJE	1	54	53,66	1,499	0,22400
VRSTA	2	209	104,65	2,923	0,05870.
OKOLJE:VRSTA	2	30	15,15	0,423	0,65630

Pril. B1 in B2 nam prikazujeta opravljeno analizo ANOVA med vrstami in okoljem pri vplivu 70 % etanola. Največji povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH je bil izmerjen pri vzorcu 27A, kraški šetraj, nabran na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. Vzorec 28C (kraški šetraj), izmerjen z najmanjšim odstotkom inhibicije je bil prav tako nabran na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. Na sliki ga lahko vidimo na dnu grafikona kot osamelca. Statistično značilnih razlik, (glezano povprečja izračunov odstotka inhibicije prostega radikala DPPH) med rastlinskimi vrstami in okoljem pri ekstraktih s 70 % etanolom, ni bilo.

PRILOGA C

OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU INHIBICIJE PROSTEGLA RADIKALA DPPH PRI TOPILU D(100 % METANOL)

TOPILO D



Pril. C1: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 100 % metanolu.

Pril. C2: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 100 % metanolu.

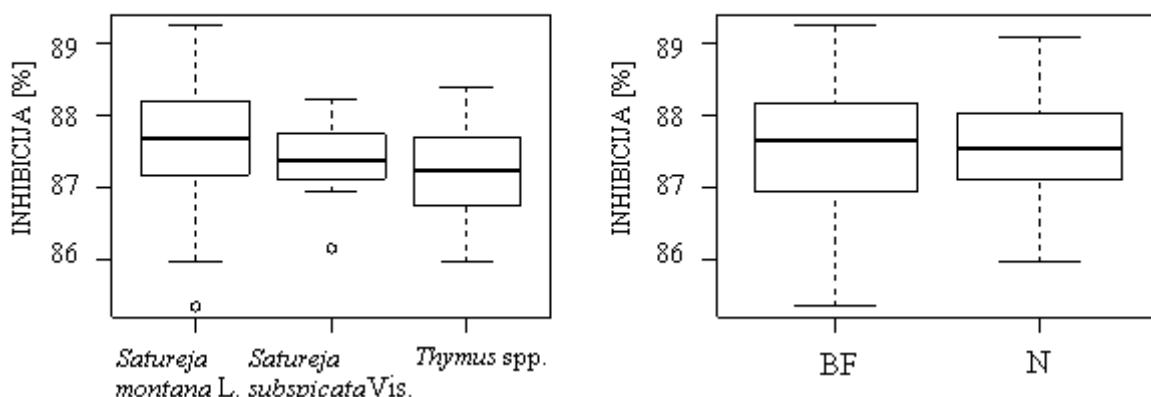
DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
OKOLJE	1	3,34	3,339	1,229	0,27000
VRSTA	2	2,23	1,114	0,41	0,66500
OKOLJE:VRSTA	2	1,99	0,997	0,367	0,69400

Pri obravnavanju vzorcev s 100 % metanolom, ni bilo statistično značilnih razlik (Pril. C1 in C2). Največji povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH smo izračunali pri vzorcu kraškega šetraja 35IIA (88,8 %) nabranem na Lab. Polju BF, najmanjši pa pri vzorcu kraškega šetraja 30C, nabranem v naravi (74,4 %). Slednjega lahko uvrstimo med osamelce, saj je edini vzorec s tako majhnim povprečnim odstotkom inhibicije prostega radikala DPPH. Naslednjemu sledečemu vzorcu (z drugo najmanjšo povprečno vrednostjo odstotka inhibicije prostega radikala DPPH) meri že 83,8% (absorbanca $0,510 \pm 0,110$), hkrati je bil ta vzorec, vzorec kraškega šetraja 35IID, s povprečno najmanjšim izračunanim odstotkom inhibicije prostega radikala DPPH, nabran na Lab. Polju BF. Vzrok za takšen rezultat ni znan. Največji povprečni odstotek inhibicije pri vzorcih, nabranih na naravnem rastišču, smo izračunali vzorcu *Satureja montana* L., 46A (85,4% inh, oz. absorbanca ($A = 0,366 \pm 0,029$).

PRILOGA D

OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSOTKU INHIBICIJE PROSTEGA RADIKALA DPPH PRI TOPILU E (80 % METANOL)

TOPILO E



Pril. D1: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 80 % metanolu

Pril. D2: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 80 % metanolu.

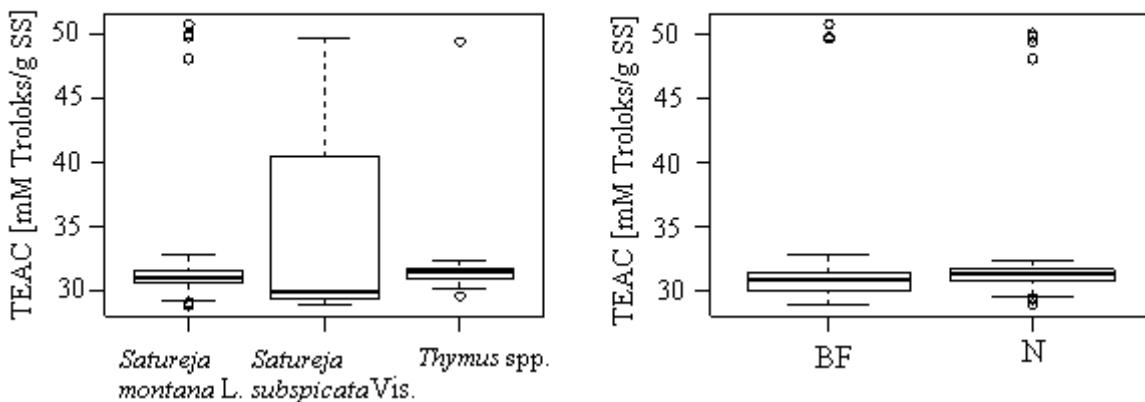
DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
OKOLJE	1	0,21	0,2115	0,342	0,56
VRSTA	2	3,99	1,9954	3,229	0,0541
OKOLJE:VRSTA	2	0,03	0,0147	0,024	0,9765

Tako kot pri 100 % metanolu, tudi pri 80 % metanolu (topilu E) računalniško izvedeni testi za povprečni odstotek inhibicije prostega radikala DPPH, niso pokazali statistično značilnih razlik. Največji povprečni odstotek inhibicije (89,2 % inh.) smo izračunali pri vzorcu kraškega šetraja 35IIA, nabranem 10.9.2009, najmanjši pa pri vzorcu *Satureja montana* L. 35B (85,4 % inh.), nabranem 7.8.2009. Oba vzorca sta bila nabранa na laboratorijskem polju Biotehniške fakultete. V naravi nabran vzorec z največjim povprečnim odstotkom inhibicije je bil vzorec kraškega šetraja z vrednostjo 89,1 % inh., nabran 6.8.2009 v bližini Senožeč, vzorec s povprečno najmanjšim odstotkom inhibicije (85,9 % inh.) pa je bil vzorec materine dušice (vz. 48B), nabran 6.8.2009 v bližini Divače.

PRILOGA E

OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU VREDNOSTI TEAC [MM TROLOKS/G SS] PRI TOPILU B (70 % ETANOL)

TOPILO B



Pril. E1: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 70 % etanolu.

Pril. E2: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 70 % etanolu.

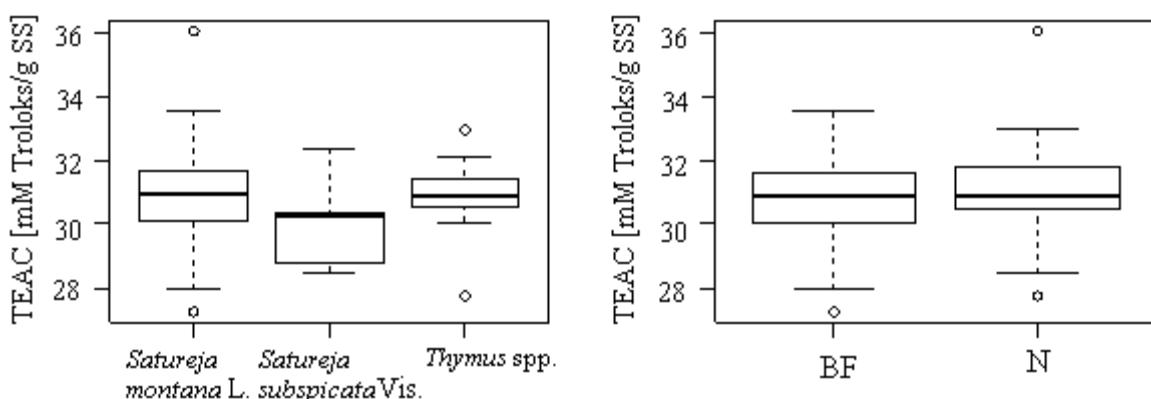
DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
OKOLJE	1	54,9	54,91	2,053	0,155
VRSTA	2	91,9	45,97	1,719	0,185
OKOLJE:VRSTA	2	16,1	8,07	0,302	0,74

Največje vrednosti TEAC pri topilu B (70 % etanol) smo zasledili pri izvlečkih kraškega šetrja, vzorcu 28C (50,716 mM Troloks/g SS, nabran 29.7.2009) in 35IIA (49,775 mM Troloks/g SS, nabran 10.9.2009). Oba vzorca sta bila nabранa na Lab. polju Biotehniške fakultete. Najmanjši vrednosti TEAC sta pokazala vzorca 47A in 47C. Oba vzorca sta bila nabранa dne 7.8.2009 na Lab. polju Biotehniške fakultete. Pri vzorcu 47C naj omenim, da je bil ta vzorec tudi eden od 10 naključno izbranih vzorcev, katerih polovico mase je bilo presejane, polovico pa ne. Rezultata meritev AOX potenciala pa sta praktično enaka. TEAC presejanega vzorca je tako meril 29,0 mM Troloks/g SS, nepresejanega pa 29,1 mM Troloks/g SS. Statistično značilnih razlik pri obravnavanjih s topilom B ni bilo.

PRILOGA F

OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU VREDNOSTI TEAC [MM TROLOKS/G SS] PRI TOPILU D (100 % METANOL)

TOPILO D



Pril. F1: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 100 % metanolu

Pril. F2: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 100 % metanolu

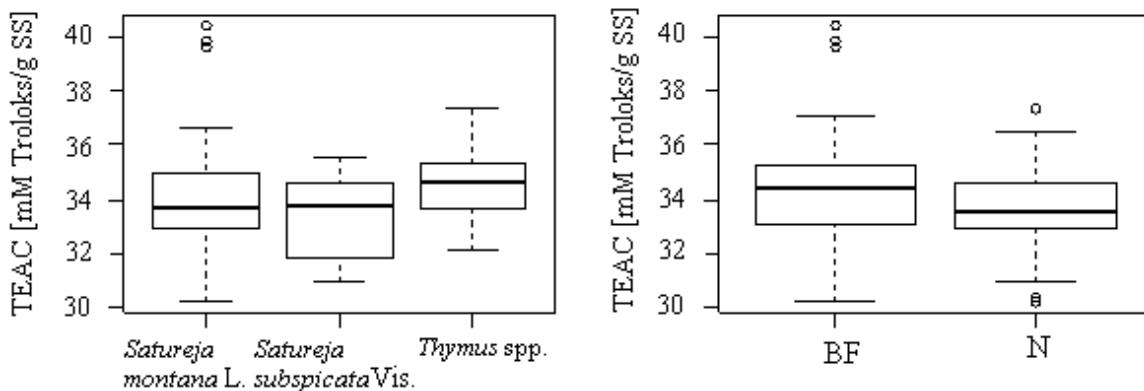
DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
OKOLJE	1	5,59	5,594	3,015	0,0858
VRSTA	2	6,3	3,150	1,698	0,1888
OKOLJE:VRSTA	2	2,99	1,497	0,807	0,4493

Pri statističnem obravnavaju podatkov kot so rastlinske vrste in okolja v interakciji s topilom D (100 % metanolom) nismo zabeležili statistično značilnih razlik ne pri vrstah ne pri okoljih. Podatke lahko razberemo in odčitamo s slike št. 21 ter preglednice št. 29. Pri rastlinskih vrstah se nam je izrazil eden osamelec z znatno večjo vrednostjo od ostalih povprečnih vrednostih TEAC. Le-ta je na podlagi izračunov merila 36,0 mM Troloks/g SS, šlo je za vzorec kraškega šetraja 30, nabранa v naravnem okolju in sicer 6.8.2009 v okolici Petrinj. Ta isti vzorec se nam ponovno prikaže kot osamelec pri grafikonu zraven, kjer so obravnavana okolja. Zaznamuje najvišjo točko začrtanega vzorca pod oznako N. Pri materini dušici opazimo tudi osamelca, tokrat s skrajno majhno vrednostjo, označeno s kot TEAC točko na grafikonu. V tem primeru gre za materino dušico, nabrano 6.8.2009 v okolici Divače, njena povprečna TEAC vrednost pa je bila 27,752 mM Troloks/g SS.

PRILOGA G

OBRAVNAVANJA PO POVPREČNEM ODSTOTKU VREDNOSTI TEAC [MM TROLOKS/G SS] PRI TOPILU F (40 % METANOL)

TOPILO F



Pril. G1: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 40 % metanolu.

Pril. G2: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 40 % metanolu.

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
OKOLJE	1	7,2	7,216	2,099	0,1508
VRSTA	2	21,1	10,551	3,069	0,0512
OKOLJE:VRSTA	2	2,5	1,241	0,361	0,698

Pri topilu F, oz 40 % metanolu smo zopet zabeležili kar nekja osamelcev neznanega izvora. Tu gre za celotno populacijo 35 vrste kraškega šetraja (vzorci 35A, 35B in 35C), nabранo 7.8.2009 na Lab. polju Biotehniške fakultete. Izrazili so se pa tako med vrstami kot tudi v obravnavanih okoljih. Statistično značilnih razlik, pri tej koncentraciji ter obravnavi TEAC, ni bilo.

PRILOGA H

OPRAVLJENI TESTI STATISTIČNE METODE ANALIZE VARIANC PRI KATERIH OBRAVNAVANJIH SO SE POKAZALE STATISTIČNO ZNAČILNE RAZLIKE

Pril. H1: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 96 % etanolu

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
Okolje	1	347	346,7	3,46	0,06603
Vrsta	2	1102	550,8	5,497	0,00554 **
Okolje:Vrsta	2	139	69,7	0,696	0,50112

Pril. H2: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 40 % etanolu

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
Okolje	1	0	0,003	0,001	0,97000
Vrsta	2	54,8	27,4	13,42	7,58e-06 ***
Okolje:Vrsta	2	3,44	1,718	0,842	0,434

Pril. H3: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri 40 % metanolu

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
Okolje	1	26,2	26,201	8,209	0,00515**
Vrsta	2	24,69	12,346	3,868	0,05434
Okolje:Vrsta	2	9,8	4,899	1,535	0,33089

Pril. H4: Analiza razlik po povprečni vrednosti INHIB [%] med vrstami in okoljem pri dH₂O

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
Okolje	1	265	264,5	5,117	0,02601 *
Vrsta	2	691	345,6	6,687	0,00193**
Okolje:Vrsta	2	11	5,3	0,103	0,90248

Pril. H5: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 96 % etanolu

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
Okolje	1	288	287,6	4,003	0,04833 *
Vrsta	2	808	403,9	5,622	0,00496**
Okolje:Vrsta	2	116	58,1	0,809	0,44835

* računalniški prikaz statistično značilnih razlik pri uporabi statistične metode analize varianc (ANOVA). Več zvezdic skupaj (*) pri določenih obravnavanjih pomeni večje statistično značilne razlike ter obratno.

Pril. H6: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 40 % etanolu

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
Okolje	1	1,98	1,978	1,373	0,244
Vrsta	2	46,03	23,013	15,98	1.08e-06 ***
Okolje:Vrsta	2	1,06	0,531	0,302	0,74

Pril. H7: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri 80 % metanolu

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
Okolje	1	2,33	2,3289	2,681	0,1049
Vrsta	2	5,57	2,783	3,204	0,0451*
Okolje:Vrsta	2	0,71	0,3533	0,407	0,667

Pril. H8: Analiza razlik po povprečni vrednosti TEAC [mM Troloks/g SS] med vrstami in okoljem pri dH₂O

DEJAVNIKI	Stopinje prostosti (SP)	Vsota kvadratov (SS)	Povprečni kvadrat (MS)	F test (F)	p-vrednost ($p \leq 0,05$)
Okolje	1	64	64,1	1,318	0,253926
Vrsta	2	928	464,000	9,546	0,000169***
Okolje:Vrsta	2	17	8,4	0,172	0,841846

* računalniški prikaz statistično značilnih razlik pri uporabi statistične metode analize varianc (ANOVA). Več zvezdic skupaj (*) pri določenih obravnavanjih pomeni večje statistično značilne razlike ter obratno.