



Gimnazija Kranj  
Koroška cesta 13  
4000 Kranj

# Sezonska dinamika vsebnosti fotosintetskih pigmentov in zdravilnih učinkovin pri bršljanu (*Hedera helix* L.)

---

Raziskovalna naloga na področju biologije

Avtorice:

**Katja Konc, Ana Marija Okorn in Neža Sodnik**

Mentorica:

**univ. dipl. bio. Urša Petrič (Gimnazija Kranj)**

Kranj, marec 2018

## ZAHVALA

Iskreno se zahvaljujemo naši mentorici profesorici biologije Urši Petrič, ki nam je pomagala pri laboratorijskem in teoretičnem delu, nam svetovala, nudila strokovno pomoč in nas priganjala z roki za oddajo. Z njeno pomočjo nam je uspelo raziskovalno nalogo speljati do konca in jo sestaviti v smiselno celoto. V to je vložila veliko svojega prostega časa, za kar smo ji zelo hvaležne.

Zahvalo dolgujemo tudi šolski laborantki Jasni Turel, ki nam je pripravljala laboratorijski inventar, pomagala pri delu in nas trpela v svojem laboratoriju.



## KAZALO

|                                                   |    |
|---------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD.....                                      | 7  |
| 1.1. NAMEN.....                                   | 7  |
| 1.2. TEORETIČNO OZADJE .....                      | 7  |
| 1.2.1. RAZISKOVALNI OBJEKT: NAVADNI BRŠLIJAN..... | 7  |
| 1.2.1.1. SONČNI IN SENČNI LISTI.....              | 8  |
| 1.2.2. SEZONSKA DINAMIKA .....                    | 9  |
| 1.2.3. FOTOSINTETSKA BARVILA .....                | 9  |
| 1.2.4. ZDRAVILNE UČINKOVINE.....                  | 10 |
| 1.2.4.1. ZDRAVILNE UČINKOVINE V BRŠLIJANU.....    | 10 |
| 1.2.4.2. SAPONINI .....                           | 10 |
| 1.3. RAZISKOVALNO VPRAŠANJE.....                  | 11 |
| 1.4. HIPOTEZE.....                                | 11 |
| 2. RAZISKAVA.....                                 | 12 |
| 2.1. METODA DELA.....                             | 12 |
| 2.1.1. PRIPOMOČKI .....                           | 12 |
| 2.1.1.1. VSEBNOST FOTOSINTETSKIH PIGMENTOV .....  | 12 |
| 2.1.1.2. VSEBNOST SAPONINOV .....                 | 12 |
| 2.1.2. OPIS DELA.....                             | 13 |
| 2.1.2.1. VSEBNOST FOTOSINTETSKIH PIGMENTOV .....  | 13 |
| 2.1.2.1.1. RAČUNANJE KLOROFILA A IN B.....        | 13 |
| 2.1.2.2. VSEBNOST SAPONINOV .....                 | 14 |
| 2.1.2.3. UČINKOVITOST SAPONINOV .....             | 15 |
| 2.2. MERITVE.....                                 | 16 |
| 2.2.1. VSEBNOST FOTOSINTETSKIH PIGMENTOV.....     | 16 |
| 2.2.2. SAPONINI .....                             | 17 |
| 2.2.2.1. VSEBNOST SAPONINOV .....                 | 17 |
| 2.2.2.2. UČINKOVITOST SAPONINOV .....             | 18 |
| 3. RAZPRAVA .....                                 | 22 |
| 3.1. VSEBNOST FOTOSINTETSKIH PIGMENTOV.....       | 22 |
| 3.2. SAPONINI.....                                | 23 |
| 4. ZAKLJUČEK.....                                 | 24 |
| 5. VIRI .....                                     | 25 |
| 5.1. LITERATURA.....                              | 25 |
| 5.2. VIRI SLIK.....                               | 26 |

## KAZALO SLIK

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| Slika 1: Navadni bršljan ( <i>Hedera helix</i> L.) .....                  | 7  |
| Slika 2: Sončni (levo) in senčni (desno) list .....                       | 8  |
| Slika 3: Absorpcijski spekter klorofila a in b .....                      | 9  |
| Slika 4: Ekstrakt sončnih listov, pripravljen za spektrofotometrijo ..... | 13 |
| Slika 5: Filtriranje bršljanovega ekstrakta .....                         | 14 |
| Slika 6: Penjenje ekstrakta .....                                         | 14 |
| Slika 7: Merjenje oljnih kapljic v vodi .....                             | 15 |
| Slika 8: Merjenje oljnih kapljic v bršljanovem ekstraktu .....            | 15 |

## KAZALO TABEL

|                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Premer maščobnih kapljic v vodi – kontrolni poskus (14. 4. 2017) .....                 | 18 |
| Tabela 2: Premer oljnih kapljic v raztopini ekstrakta sončnih listov v vodi (14. 4. 2017) .....  | 18 |
| Tabela 3: Premeri oljnih kapljic v raztopini ekstrakta senčnih listov v vodi (14. 4. 2017) ..... | 19 |
| Tabela 4: Premer maščobnih kapljic v vodi - kontrolni poskus (21. 8. 2017) .....                 | 19 |
| Tabela 5: Premeri oljnih kapljic v raztopini ekstrakta sončnih listov v vodi (21. 8. 2017) ..... | 20 |
| Tabela 6: Premeri oljnih kapljic v raztopini ekstrakta senčnih listov v vodi (21. 8. 2017) ..... | 20 |

## KAZALO GRAFOV

|                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Graf 1: Količina klorofila a na suho maso v odvisnosti od časa nabiranja sončnih in senčnih listov bršljana .....   | 16 |
| Graf 2: Količina klorofila b na suho maso v odvisnosti od časa nabiranja sončnih in senčnih listov bršljana .....   | 16 |
| Graf 3: Vsebnost saponinov v odvisnosti od vrste listov bršljana in časa nabiranja .....                            | 17 |
| Graf 4: Velikost maščobnih kapljic v odvisnosti od izpostavitve ekstraktov sončnih in senčnih listov bršljana ..... | 21 |

## POVZETEK

Cilj te raziskovalne naloge je bil spremljati sezonsko spreminjanje vsebnosti fotosintetskih pigmentov in saponinov kot zdravilnih učinkovin v sončnih in senčnih listih navadnega bršljana. Za spremljanje vsebnosti pigmentov smo uporabljale spektrofotometrijo, za spremljanje saponinov pa kvalitativno in kvantitativno merjenje lastnosti saponinov.

Zanimalo nas je predvsem, kdaj je najbolj optimalen čas za nabiranje bršljana, če ga nameravamo uporabiti za kozmetične in zdravstvene namene, in kako kot zimzelena rastlina reagira na spreminjanje letnih časov s prilagajanjem količine in vrste barvil v listih. Nismo namreč še zasledile objave o tem, kdaj je bršljan najbolj primeren za tako uporabo. S tem želimo pripomoči k čim bolj učinkovitemu koriščenju mnogih bršljanovih potencialov.

Navadni bršljan (*Hedera helix L.*) je trajna olesenela zimzelena plezalka iz družine bršljanovk (*Araliaceae*). Razširjen je skozi celo srednjo, zahodno in južno Evropo. Raste na vlažnih in humusnih tleh, lahko pa tudi na revnejši podlagi. Uspeva tako v senci kot na soncu. Listi so gladki, na zgornji ploskvi temnejše, na spodnji pa svetlejše zelene barve. Je žužkocvetka. Cvetovi so drobni in združeni v rumeno-zelena socvetja, ki so bogata z nektarjem. Plod je črna jagoda.

Za bršljan je značilna dvojnost listov oz. heterofilija, kar pomeni, da se listi delijo na sončne in senčne liste, ki se razlikujejo po barvi in obliki ter posledično vsebnosti barvil, kot sta klorofila a in b ter drugi. Poleg barvil v listih najdemo tudi saponine, natančneje hederasaponine. To so glikozidi, ki se v vodnih raztopinah močno penijo. Zaradi njihovega protimikrobnega in protivnetnega delovanja, sposobnosti penjenja, raztapljanja maščob v vodi in znižanja površinske napetosti ter drugih lastnosti jih uporabljajo v velikem številu različnih kozmetičnih sredstev in kot sestavino prehranskih dopolnil in zdravil. Med drugim so to kreme proti celulitu in sirupi za olajševanje kašlja.

Na koncentracijo fotosintetskih barvil in saponinov v listih imajo vpliv zunanji dejavniki, kot so na primer vremenske razmere v različnih letnih časih. Zato lahko čas nabiranja vpliva na možnost izkoriščanja teh učinkovin za kozmetične in farmacevtske namene.

Tekom naloge smo spremljale in primerjale vsebnost fotosintetskih pigmentov in saponinov v sončnih in senčnih listih. S spektrofotometrijo smo ugotavljale vsebnost klorofila a in b. Vse meritve smo izvajale ločeno s sončnimi in senčnimi listi enkrat mesečno 12 zaporednih mesecev. S penjenjem ekstrakta in raztapljanjem maščob v njem smo poskušale čim bolj empirično dokazati prisotnost in delež saponinov v listih v dveh letnih časih, to sta pomlad in poletje, saj smo takrat glede na vire pričakovale največjo vsebnost teh spojin. Pri tem smo spoznale mnoge nove metode dela in se naučile veliko novega o raziskovalnem laboratorijskem delu.

## SUMMARY

The goal of this research assignment was to monitor seasonal changes in photosynthetic pigments and saponin contents as active substances in adult and juvenile leaves of the common ivy. We used spectrophotometry for monitoring pigment contents as well as qualitative and quantitative measurement of saponin properties.

We were predominantly interested in finding the optimal time for collecting ivy leaves if they were to be used for cosmetic and medical purposes, and how the common ivy, as an evergreen plant, reacts to seasonal changes by adjusting the amount and type of photosynthetic pigments in its leaves. We have not yet come across an article that would discuss the best season for use of ivy leaves. Therefore, we wish to contribute to the best possible use of ivy's many potentials with our research.

The common ivy (*Hedera helix* L.) is a perennial evergreen woody vine from the family *Araliaceae*. It is native to Central, West and South Europe. It grows on moist and hummus-rich ground, as well as poorer soil. It thrives in shady and sunny locations and is insect pollinated. The flowers are small and grow in yellow-green umbels that are rich in nectar. The fruit is a black berry.

One of characteristic properties of the common ivy is heterophily, which means the leaves are either juvenile or adult and are different in colour and shape. Therefore they also differentiate in pigment contents, such as chlorophyll a and b and others. Beside this, saponins or more precisely hederasaponins are also found in ivy leaves. These are glycosides which intensely foam in water. They are used in number of cosmetic products, food supplements and medicine for their antimicrobial and anti-inflammatory activity, ability to foam, dilute fats and lower surface tension and other qualities. They are for instance used in anti-cellulite creams and cough syrups.

External factors, such as, for instance, weather in different seasons, have an effect on concentration of photosynthetic pigments and saponins in ivy, so the season of collecting the leaves might affect the potential of these substances for cosmetic and pharmaceutical purposes.

During the assignment we monitored and compared the contents of photosynthetic pigments and saponins in juvenile and adult leaves. We established the contents of chlorophyll a and b using spectrophotometry. All measurements were made with adult and juvenile leaves separately once a month for 12 consecutive months. Through foaming of the ivy extract and dilution of fats in it we tried to prove the presence and amount of saponins as empirically as possible. We chose to do this in spring and summer as we expected the contents of these chemicals to be the largest in these two seasons. In doing so, we became familiar with many new methods and learned a lot about research in a laboratory.

## 1. UVOD

### 1.1. NAMEN

Znanstvene raziskave so gonilo napredka današnjega sveta. Kot dijakinja, ki nas naravoslovje zanima ne le v teoriji, ampak tudi v praksi, smo se odločile, da se z raziskovalnim delom spoznamo že v gimnaziji in si tako nabereimo začetne izkušnje z delom na tem področju. Vse nas navdušuje svet rastlin, zato smo si za objekt raziskovanja izbrale rastlino, ki jo s pridom koristita tudi dve izmed največjih industrij; kozmetična in farmacevtska. Zato je bršljan zagotovo perspektivna izbira za raziskave. Nismo še namreč zasledile objave o tem, kdaj je najboljši čas nabiranja bršljana v te namene. Tako bi bile raziskave v to smer lahko zanimive za optimizacijo postopkov, s katerimi se koristijo učinkovine v tej rastlini.

Cilj te raziskovalne naloge je bil spremljati sezonsko spreminjanje vsebnosti pigmentov in saponinov kot zdravilnih učinkovin v sončnih in senčnih listih navadnega bršljana. Zanimalo nas je predvsem, kdaj je najbolj optimalen čas za nabiranje bršljana, če ga nameravamo uporabiti za kozmetične in zdravstvene namene, in kako kot zimzelena rastlina reagira na spreminjanje letnih časov s prilagajanjem količine in vrste barvil v listih.

## 1.2. TEORETIČNO OZADJE

### 1.2.1. RAZISKOVALNI OBJEKT: NAVADNI BRŠLJAN



Slika 1: Navadni bršljan (*Hedera helix* L.)

Navadni bršljan oz. *Hedera helix* L. je trajna olesenela zimzelena vzpenjavka iz družine bršljanovk (*Araliaceae*). Je zelo dolgoživa rastlina, ki lahko dočaka več sto let. Vzpenja se po drevesnih deblih in zidovih in lahko doseže do 30 m višine in do 25 cm in več debeline. Lahko se plazi tudi po tleh in tako prekriva tla (Martinčič, 2010). Je dobro odporen proti mrazu. Dobro uspeva tako v senčnih kot na sončnih legah in na različni prsteh, od vlažne humusne do bolj revne prsti (Press, 2011). V Sloveniji ga najdemo od nižin do gorskega pasu (Martinčič, 2010).

Skorja debela je pepelnato siva. Koreninski sistem je zelo površinski in razraščan, pojavljajo pa se tudi nadomestne zračne korenine, ki služijo za pritrjevanje na podlago ob vzpenjanju. Listi so vedno zeleni, usnjati, tri- do pet krpati in dvoredno nameščeni ali

jajčasto romboidne oblike in premenjalno razporejeni. Na zgornji strani so temnejše zelene barve s svetlejšimi listnimi žilami, na spodnji strani lista pa so svetlejši (Burlando in sod., 2010).

Za bršljan sta značilni heterofilija listov in dimorfizem poganjkov. Poganjki se delijo na cvetne in vegetativne. Na slednjih najdemo oprijemalne korenine in dlanaste liste, cvetni pa so brez nadomestnih korenin in poganjajo jajčaste liste (Bavcon, 2010).

Cvetovi so majhni, rumenkasto zeleni in združeni v kobulasta socvetja premera 3-5 cm, ki so pogostejša pri starejših rastlinah in na delih, ki imajo nekoliko več svetlobe (Burlando in sod., 2010). Socvetja so dišeča in vsebujejo veliko nektarja. Cveti septembra in oktobra. Je žužkocvetka, plodove, ki so temno modre do črne jagode velikosti 6-8 mm, pa večinoma s svojimi iztrebki raznašajo ptice, ki se pozimi hranijo z njimi (Bavcon, 2010).

Bršljan ni zajedavka, saj vodo in minerale črpa s koreninami iz tal, hranilne snovi pa tvori s pomočjo fotosinteze v listih. Če preveč obraste drevo, mu lahko jemlje svetlobo in vodo ter tako nekoliko škoduje matični rastlini. Na vedno zelene liste se pozimi lahko lovi sneg in preobremeni gostiteljsko drevo (Bavcon, 2010).

### 1.2.1.1 SONČNI IN SENČNI LISTI



Slika 2: Sončni (levo) in senčni (desno) list

Za bršljan je značilna dvojnost listov oz. heterofilija. Večina vzpenjavk kaže spreminjanje oblike in funkcije različnih delov rastline od mlade do zrele faze razvoja. To jim omogoča prilagajanje različnim stopnjam osvetljenosti, saj so mlade rastline in listi navadno manj osvetljeni (Putz, 1991).

Fenotipsko so mladi listi pri bršljanu senčni (skiomorfni) in poganjajo na vegetativnih poganjkih, odrasli listi pa so sončni (heliomorfni) in jih najdemo na cvetnih poganjkih, ki rastejo stran od debla in ne poganjajo nadomestnih korenin. Eden glavnih dejavnikov prehoda (ki je ireverzibilen) med tema dvema oblikama listov je koncentracija giberelinske kisline, ki jo najdemo v listu (Briggs in Walters, 2016). Razlikujejo se po obliki (senčni listi so dlanasti, 3-5 krpasti, sončni jajčasto romboidni) in barvi (senčni so temnejše zelene barve in imajo svetlejša žila) (Putz, 1991). Sončni listi imajo okoli 1,5-krat večjo sposobnost fotosinteze kot senčni (Bauer in Bauer, 1980).



### 1.2.2. SEZONSKA DINAMIKA

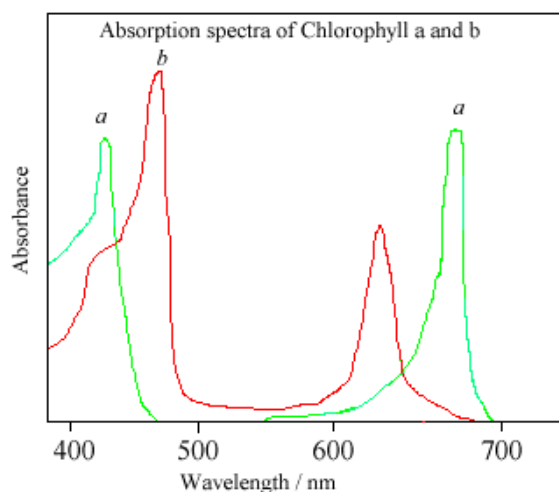
Zimzeleni listavci, predvsem na Mediteranu, naj bi bili pozimi fotosintetsko aktivni do temperatur med  $-4^{\circ}\text{C}$  in  $-8^{\circ}\text{C}$ . Nekateri avtorji navajajo pri bršljanu popolno fotosintetsko neaktivnost pri nizkih temperaturah med zimo. Nihanje klorofila je povezano tudi z življenjsko dobo listov. Meritve so prav tako pokazale sezonsko nihanje koncentracije alergenov v bršljanu (Precht, 2013).

Listi so dolgo živeči in ne odpadejo več let, a skozi različne letne čase se njihova kemična sestava spreminja. Rastlina prilagaja vsebnost klorofila in drugih sestavin sezonskim razmeram in razmeram v mikrookolju. Koncentracija klorofila se spusti v aprilu, ko se tvori največ novih listov in se povrne na običajno v nekaj tednih (Waggy, 2010).

Pater Ašič piše, da naj bi bršljanove liste za uporabo v zdravilne namene nabirali avgusta in septembra (Ašič, 1989). Drugi viri navajajo, da se bršljan za medicinske namene nabira spomladi in poleti (Lutsenko in sod., 2010).

### 1.2.3. FOTOSINTETSKA BARVILA

Klorofil je pigment, ki rastlinam omogoča fotosintezo in jim daje zeleno barvo. Ločimo dve vrsti, in sicer klorofil a in klorofil b, ki se razlikujeta po kemijski strukturi in delu svetlobnega spektra, ki ga absorbirata. Oba vsebujeta porfirinski obroč, edina razlika pa je v eni funkcionalni skupini na stranski verigi (pri klorofilu a je to metilna, pri klorofilu b pa aldehidna skupina (Perdue, 2017).



Klorofil a je glavni fotosintetski pigment, ki ga vsebujejo vsi fotosintetski organizmi, ki producirajo kisik. Absorbira večinoma modro in rdečo svetlobo, v manjši meri tudi vijolično.

Klorofil b je stranski pigment in pripomore k učinkovitosti fotosinteze s tem, da razširi absorpcijski spekter. Za razliko od klorofila a ga ne najdemo v vseh fotosintetskih organizmih (Perdue, 2017).

Slika 3: Absorpcijski spekter klorofila a in b

## **1.2.4. ZDRAVILNE UČINKOVINE**

### **1.2.4.1. ZDRAVILNE UČINKOVINE V BRŠLJANU**

Bršljan je strupena rastlina in ga ne uživamo, še posebej ne jagod. V ljudskem zdravilstvu se je uporabljal v desetine različnih namenov (Hensel, 1989). Danes ga s pridom uporabljata farmacevtska in kozmetična industrija, prva za izdelovanje sirupov proti kašlju, saj mehča sluz v pljučih in sprošča krče bronhijev ter olajšuje dihanje, druga pa izvleček bršljana uporablja v proticelulitnih mazilih. Bršljan deluje protivnetno, olajšuje izkašljevanje, uničuje parazite, uravnava imunski sestav in blaži krče. Nekateri viri mu pripisujejo tudi antioksidativno in protirakavo delovanje. Najpomembnejše sestavine listov, ki jih v te namene uporabljamo, so triterpenski saponini, flavonoidi, antocianini, steroli, vitamini, aminokisline in eterična olja (Lutsenko in sod., 2010).

Poleg uporabe v pripravkih proti celulitu in kašlju ga najdemo tudi v kremah proti srbenju in revmatizmu ter v drugih kozmetičnih in dermatoloških izdelkih (Lutsenko in sod., 2010).

### **1.2.4.2. SAPONINI**

Saponini so glikozidi, ki so svoje ime dobili po lastnosti, da tako kot milo v vodi topijo maščobe, za kar so jih dolgo tudi uporabljali. Zaradi njihovega protimikrobnega delovanja, sposobnosti penjenja, raztapljanja in znižanja površinske napetosti ter drugih lastnosti jih uporabljajo v velikem številu različnih kozmetičnih sredstev in kot sestavino prehranskih dopolnil in zdravil (Sahelian, 2016). Najdemo jih v različnih rastlinah in tudi pri nekaterih živalskih vrstah. Pri rastlinah se največkrat nahajajo v povrhnjici, kjer tvorijo voskasto zaščitno plast. Njihova glavna funkcija je sodelovanje z rastlinskim imunskim sistemom in fungicidno delovanje (Marciano, 2013).

Triterpensaponini oz. hederasaponini so saponini, ki jih najdemo v bršljanovih listih. Listi in plodovi te rastline vsebujejo 5-8% saponinov (Burlando in sod., 2010). Tako kot vsi saponini raztapljajo maščobe, k odpravljanju celulita pa pripomorejo tudi s tem, da inhibirajo encime, ki razkrajajo elastin in hialuronsko kislino, kar poskrbi za prožnejšo kožo. V sirupu za kašelj imajo nalogo mehčanja oziroma raztapljanja sluzi, s tem pa olajšajo izkašljevanje (Sahelian, 2016). Glavna predstavnik te skupine spojin v bršljanu sta hederasaponin C (poleg tega še hederasaponini B, D, E, F, G, H in I) in  $\alpha$ -hederin (Lutsenko in sod., 2010). Slednji ima antibiotične lastnosti (Burlando in sod., 2010).

### **1.3. RAZISKOVALNO VPRAŠANJE**

Navadni bršljan je zimzelena zdravilna rastlina. Glede na to smo si zastavile dve glavni raziskovalni vprašanji:

Ali bršljan kot zimzelena heterofilna rastlina prilagaja količino in vrsto barvil glede na pogoje, ustrezne letnemu času?

Ali izbira letnega časa in sončnih ali senčnih listov vpliva na količino in učinkovitost zdravilnih učinkovin v bršljanu?

### **1.4. HIPOTEZE**

Naše hipoteze pred pridobitvijo rezultatov so bile:

- Pričakujemo, da bo koncentracija klorofila a in b najnižja aprila, najvišja pa bo v poletnih mesecih. Predvidevamo, da bo vsebnost večja v sončnih listih.
- Vsebnost in učinkovitost saponinov bo višja poleti v senčnih listih.

## **2. RAZISKAVA**

### **2.1. METODA DELA**

#### **2.1.1. PRIPOMOČKI**

##### ***2.1.1.1 VSEBNOST FOTOSINTETSKIH PIGMENTOV***

- Listi bršljana (sončni, senčni),
- plutovrt s premerom 9.9 mm,
- pinceta,
- petrijevke,
- plutovinasta podlaga,
- tehnica (EB-300M, Železniki, Slovenija),
- sušilnik (Binder, APT.line™ FP),
- terilnica in pestilo,
- 40 ml časa,
- kapalka,
- 10 kivet za aceton,
- 98% aceton (Merck, Germany),
- spektrofotometer (SpectroVis Plus, Vernier, ZDA),
- program Logger Pro 3.8.4.2.

##### ***2.1.1.2. VSEBNOST SAPONINOV***

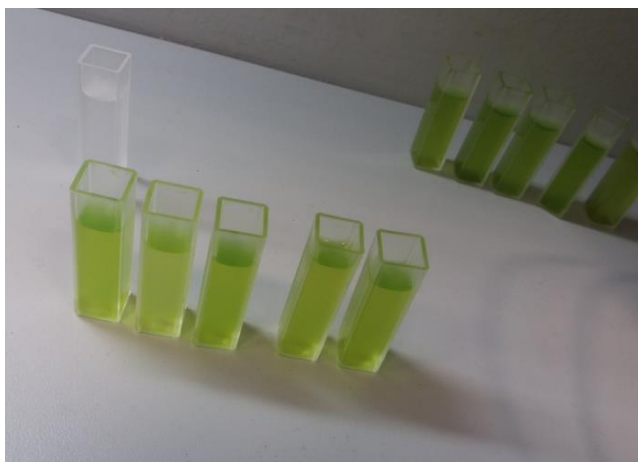
- posušeni in zdrobljeni listi bršljana (sončni, senčni),
- destilirana voda,
- 150ml čaša,
- 10ml valji,
- magnetno mešalo (Lab companion, Korea)
- filtrirni papir,
- lij,
- parafilm,
- višji merilni valj,
- tehnica (EB-300M, Železniki, Jugoslavija),
- sončnično olje (Mercator, Slovenija),
- petrijevke,
- kapalka,
- kljunasto merilo.

## 2.1.2. OPIS DELA

### 2.1.2.1. VSEBNOST FOTOSINTETSKIH PIGMENTOV

Pred začetkom dela smo v bližini šole nabrle zadostno količino senčnih in sončnih bršljanovih listov.

Nato smo s plutovrtom premera 9,9 mm izrezale 25 krogov iz vsake vrste listov. V vsako petrijevko smo dale po pet krogov istovrstnih listov. Vsebino vsake petrijevke smo nato stehtale in si mase zapisovale v tabelo. Liste smo nato sušile v sušilni napravi 3 dni pri 50°C. Po sušenju smo vsebino vsake petrijevke stehtale in tako dobile suhe mase.



Slika 4: Ekstrakt sončnih listov, pripravljen za spektrofotometrijo

Za določanje pigmentov s spektrofotometrijo smo ravno tako s plutovrtom premera 9,9 mm izrezale kroge iz vsake vrste listov. Pet krogov istovrstnih svežih listov smo v sterilnici strle in ekstrahirale z 20 ml 98% acetona. Nato smo ekstrakt filtrirale v čašo in ga s kapalko odmerile v kivete. Izvedle smo pet ponovitev za vsako vrsto listov. S spektrofotometrom smo izmerile ekstinkcijo ekstrakta pri valovnih dolžinah 470, 644 in 662 nm. Na enoto suhe mase smo določile vsebnost klorofila a in b.

#### 2.1.2.1.1. RAČUNANJE KLOROFILA A IN B

Vsebnost klorofilov smo določali spektrofotometrično po Lichtenthalerju (1987). Vsebnost barvil na suho maso lista smo izračunali po enačbi (5) in (6):

$$Kla = ((11,24 \times E_{662}) - (2,04 \times E_{644})) \times V_e \times s.m.^{-1} \text{ (mg kla } g^{-1} \text{ s.m.)} \quad \dots(5)$$

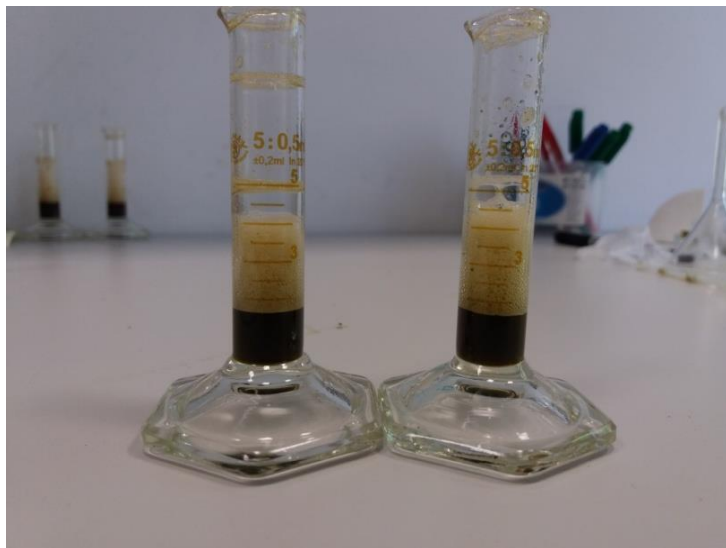
$$Klb = ((20,13 \times E_{644}) - (4,19 \times E_{662})) \times V_e \times s.m.^{-1} \text{ (mg klb } g^{-1} \text{ s.m.)} \quad \dots(6)$$

### 2.1.2.2. VSEBNOST SAPONINOV



Slika 5: Filtriranje bršljanovega ekstrakta

Že posušene bršljanove liste smo v terilnici zdrobile v prah in izločile večje ostanke žil. Nato smo bršljanov prah in vodo v čaši zmešale v razmerju 1:10 ter mešanico 10 min mešale na magnetnem mešalu pri srednji hitrosti. Mešanico smo nato prefiltrirale in tako dobile bršljanov ekstrakt. Naredile smo ekstrakt sončnih in senčnih bršljanovih listov.



Slika 6: Penjenje ekstrakta

V 7 ml merilni valj smo s kapalko odmerile 2 ml izvlečka (ekstrakta) in 2 min ritmično stresale. Po tem času smo odčitale volumen nastale pene in preostalega ekstrakta. Postopek smo ponovile petkrat z ekstraktom senčnih in petkrat z ekstraktom sončnih listov.

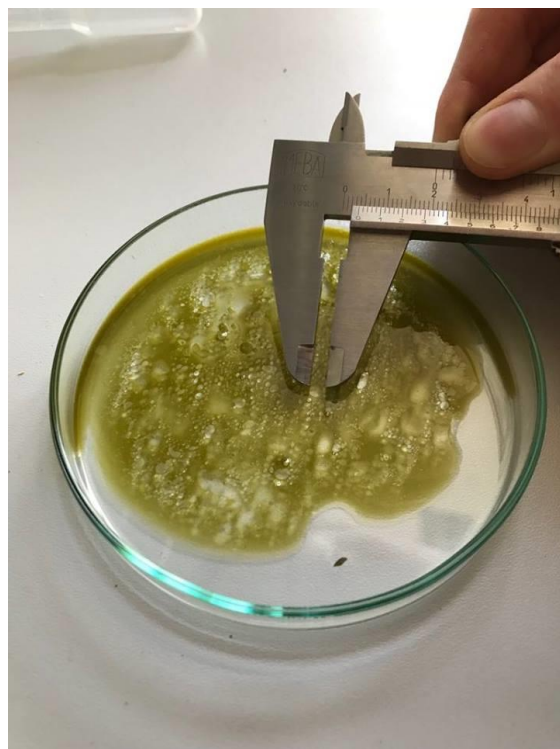
### **2.1.2.3. UČINKOVITOST SAPONINOV**

V drugem delu smo v manjšem merilnem valju zmešale 2 ml destilirane vode in 2 ml olja (kontrolni poskus). Zmes smo prelile v petrijevko in po petih sekundah s kljunastim merilom izmerile premer 15 oljnih kapljic. Postopek smo ponovile petkrat.

Nato smo postopek ponovile z 2 ml olja in 2 ml ekstrakta bršljanovih listov iz prejšnjih poskusov. Petkrat smo merile kapljice v zmesi z ekstraktom senčnih in petkrat z ekstraktom sončnih listov.



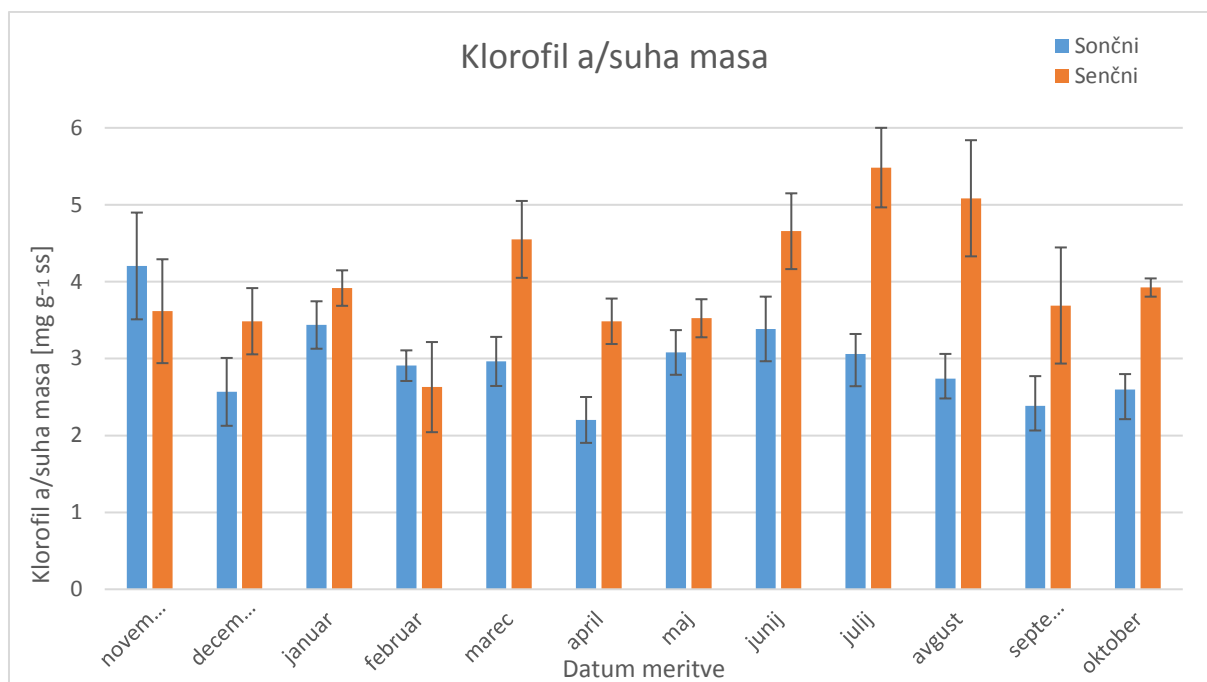
Slika 7: Merjenje oljnih kapljic v vodi



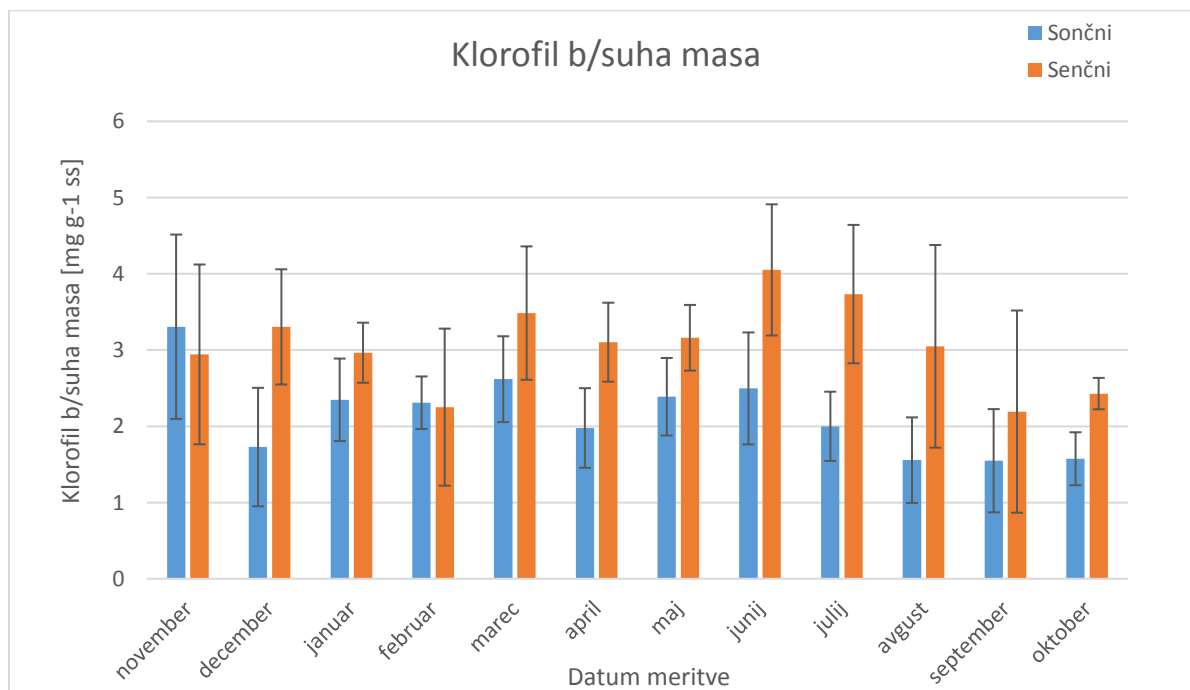
Slika 8: Merjenje oljnih kapljic v bršljanovem ekstraktu

## 2.2. MERITVE

### 2.2.1. VSEBNOST FOTOSINTETSKIH PIGMENTOV



Graf 1: Količina klorofila a na suho maso v odvisnosti od časa nabiranja sončnih in senčnih listov bršljana

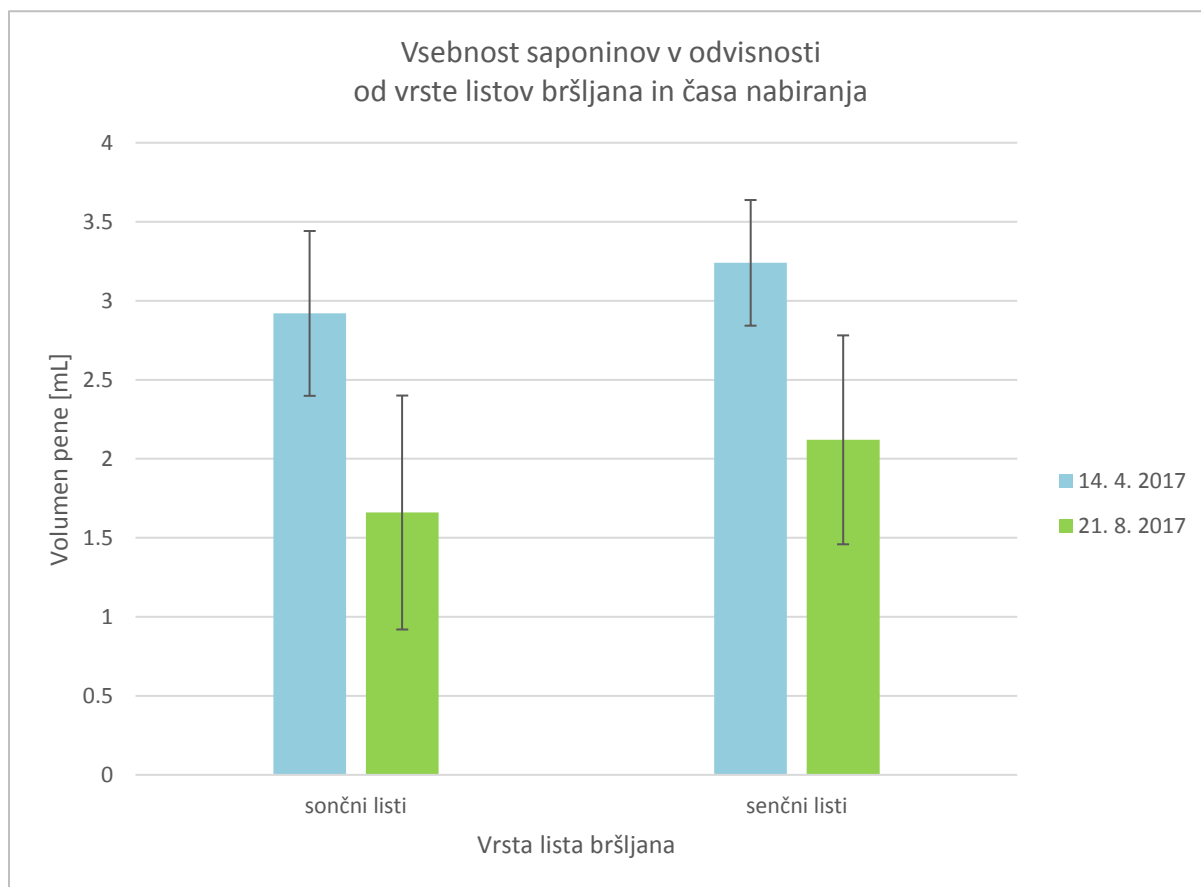


Graf 2: Količina klorofila b na suho maso v odvisnosti od časa nabiranja sončnih in senčnih listov bršljana



## 2.2.2. SAPONINI

### 2.2.2.1. VSEBNOST SAPONINOV



Graf 3: Vsebnost saponinov v odvisnosti od vrste listov bršljana in časa nabiranja

### 2.2.2.2. UČINKOVITOST SAPONINOV

| št. meritve | Premer maščobnih kapljic [mm] |               |               |               |               |
|-------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|             | 1. petrijevka                 | 2. petrijevka | 3. petrijevka | 4. petrijevka | 5. petrijevka |
| 1           | 4.13                          | 4.30          | 5.11          | 2.36          | 4.52          |
| 2           | 4.30                          | 4.22          | 4.64          | 1.92          | 2.28          |
| 3           | 3.28                          | 3.44          | 5.41          | 3.20          | 5.16          |
| 4           | 2.78                          | 2.90          | 3.42          | 4.32          | 3.00          |
| 5           | 1.88                          | 3.72          | 2.60          | 2.00          | 5.66          |
| 6           | 3.36                          | 4.20          | 3.68          | 5.98          | 3.44          |
| 7           | 2.08                          | 2.26          | 2.08          | 3.68          | 5.08          |
| 8           | 2.65                          | 2.20          | 2.10          | 2.10          | 2.04          |
| 9           | 2.40                          | 2.08          | 2.22          | 2.56          | 2.72          |
| 10          | 2.80                          | 2.28          | 3.78          | 3.54          | 4.88          |
| 11          | 2.13                          | 1.76          | 3.65          | 2.58          | 2.56          |
| 12          | 1.76                          | 2.72          | 2.00          | 2.74          | 1.86          |
| 13          | 1.48                          | 2.18          | 4.86          | 4.18          | 4.70          |
| 14          | 2.10                          | 2.12          | 2.06          | 2.17          | 4.04          |
| 15          | 1.38                          | 1.58          | 2.34          | 3.56          | 1.98          |

Tabela 1: Premer maščobnih kapljic v vodi – kontrolni poskus (14. 4. 2017)

| št. meritve | Premer maščobnih kapljic [mm] |               |               |               |               |
|-------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|             | 1. petrijevka                 | 2. petrijevka | 3. petrijevka | 4. petrijevka | 5. petrijevka |
| 1           | 2.80                          | 1.56          | 1.18          | 2.12          | 1.68          |
| 2           | 1.78                          | 1.98          | 2.26          | 2.12          | 1.89          |
| 3           | 1.99                          | 0.79          | 1.80          | 1.48          | 1.76          |
| 4           | 2.36                          | 1.54          | 1.70          | 2.16          | 1.78          |
| 5           | 2.48                          | 1.52          | 1.38          | 1.92          | 1.24          |
| 6           | 0.87                          | 1.62          | 1.54          | 2.08          | 1.58          |
| 7           | 1.46                          | 1.56          | 1.82          | 1.78          | 1.50          |
| 8           | 1.58                          | 1.64          | 1.56          | 1.36          | 1.78          |
| 9           | 2.10                          | 1.48          | 0.99          | 1.80          | 1.80          |
| 10          | 2.32                          | 1.84          | 1.86          | 2.70          | 1.52          |
| 11          | 1.38                          | 1.50          | 1.32          | 1.68          | 1.56          |
| 12          | 1.54                          | 1.48          | 1.28          | 1.56          | 1.38          |
| 13          | 1.78                          | 1.56          | 1.38          | 2.18          | 1.84          |
| 14          | 0.98                          | 1.70          | 1.34          | 2.06          | 1.38          |
| 15          | 1.58                          | 1.48          | 1.98          | 1.84          | 0.98          |

Tabela 2: Premer oljnih kapljic v raztopini ekstrakta sončnih listov v vodi (14. 4. 2017)

|             | Premer maščobnih kapljic [mm] |               |               |               |               |
|-------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| št. meritve | 1. petrijevka                 | 2. petrijevka | 3. petrijevka | 4. petrijevka | 5. petrijevka |
| 1           | 2.02                          | 2.14          | 1.70          | 1.96          | 2.12          |
| 2           | 1.28                          | 1.46          | 1.48          | 1.16          | 1.18          |
| 3           | 2.20                          | 1.82          | 2.16          | 1.60          | 1.24          |
| 4           | 1.26                          | 1.20          | 1.12          | 1.10          | 0.88          |
| 5           | 2.12                          | 2.68          | 1.28          | 1.76          | 1.82          |
| 6           | 2.38                          | 2.12          | 1.20          | 2.18          | 1.60          |
| 7           | 1.60                          | 2.32          | 1.94          | 1.88          | 1.32          |
| 8           | 2.44                          | 1.08          | 1.36          | 1.68          | 2.01          |
| 9           | 2.72                          | 2.10          | 2.06          | 1.96          | 1.11          |
| 10          | 1.20                          | 1.86          | 1.70          | 0.85          | 0.78          |
| 11          | 1.38                          | 2.50          | 1.64          | 1.12          | 1.52          |
| 12          | 0.98                          | 3.08          | 1.93          | 1.86          | 2.06          |
| 13          | 1.42                          | 1.78          | 2.66          | 2.18          | 1.36          |
| 14          | 1.66                          | 1.98          | 1.28          | 2.14          | 1.92          |
| 15          | 2.22                          | 2.12          | 0.80          | 1.66          | 0.85          |

Tabela 3: Premeri oljnih kapljic v raztopini ekstrakta senčnih listov v vodi (14. 4. 2017)

|             | Premer maščobnih kapljic [mm] |               |               |               |               |
|-------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| št. meritve | 1. petrijevka                 | 2. petrijevka | 3. petrijevka | 4. petrijevka | 5. petrijevka |
| 1           | 4.12                          | 6.00          | 6.57          | 3.36          | 4.52          |
| 2           | 4.28                          | 5.02          | 4.64          | 1.92          | 2.28          |
| 3           | 2.30                          | 3.64          | 6.10          | 3.78          | 5.16          |
| 4           | 1.78                          | 2.90          | 3.42          | 5.70          | 3.00          |
| 5           | 1.08                          | 4.72          | 3.60          | 2.00          | 5.66          |
| 6           | 1.76                          | 4.20          | 4.18          | 6.98          | 4.44          |
| 7           | 1.18                          | 2.36          | 2.08          | 3.68          | 6.08          |
| 8           | 1.10                          | 1.88          | 1.60          | 1.10          | 2.04          |
| 9           | 1.38                          | 4.08          | 2.22          | 1.56          | 2.72          |
| 10          | 1.88                          | 1.28          | 2.78          | 4.00          | 4.88          |
| 11          | 1.36                          | 2.76          | 4.65          | 1.58          | 2.56          |
| 12          | 2.08                          | 1.72          | 2.00          | 2.74          | 1.86          |
| 13          | 2.70                          | 1.18          | 5.46          | 4.18          | 4.70          |
| 14          | 2.40                          | 1.12          | 1.06          | 1.70          | 5.04          |
| 15          | 1.80                          | 1.58          | 3.34          | 3.56          | 1.98          |

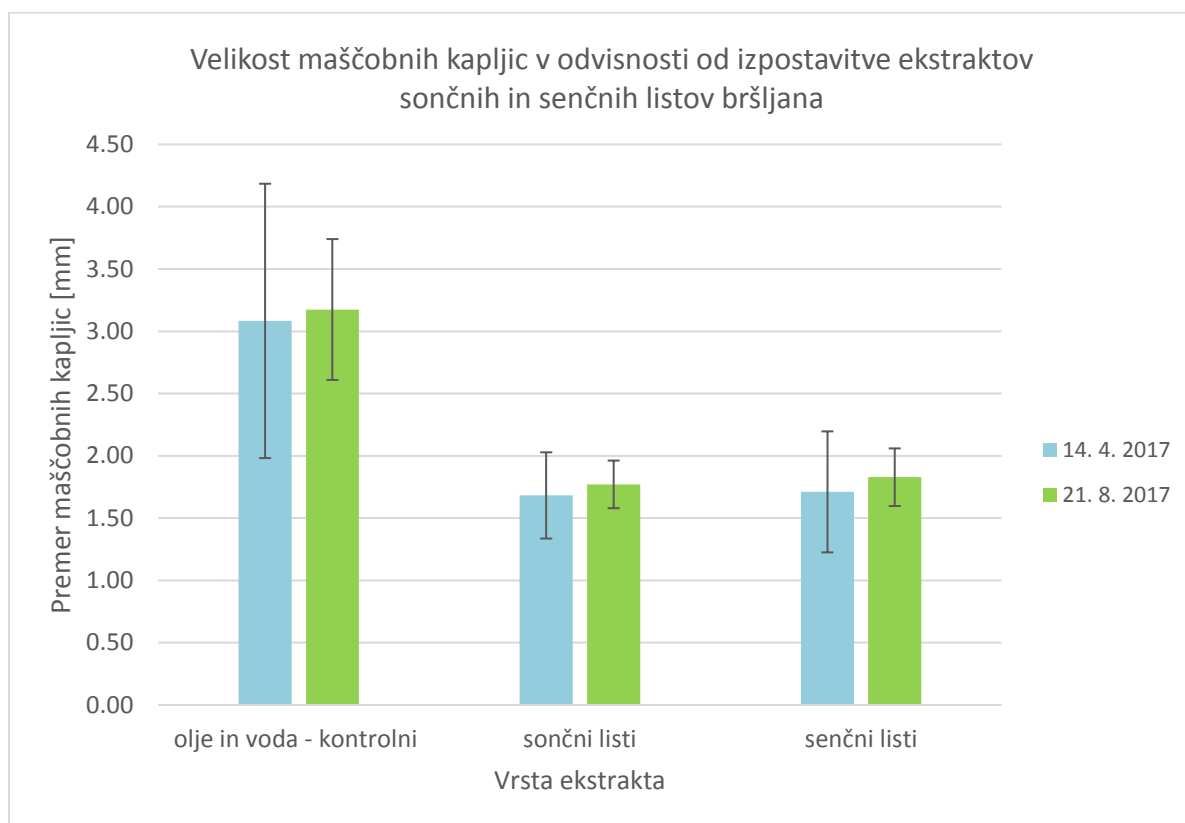
Tabela 4: Premer maščobnih kapljic v vodi - kontrolni poskus (21. 8. 2017)

| št. meritve | Premer maščobnih kapljic [mm] |               |               |               |               |
|-------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|             | 1. petrijevka                 | 2. petrijevka | 3. petrijevka | 4. petrijevka | 5. petrijevka |
| 1           | 2.80                          | 1.56          | 1.78          | 2.72          | 1.68          |
| 2           | 1.78                          | 1.98          | 2.26          | 2.12          | 2.00          |
| 3           | 2.10                          | 1.84          | 1.80          | 1.48          | 1.76          |
| 4           | 2.36                          | 1.54          | 1.70          | 2.16          | 1.78          |
| 5           | 2.48                          | 1.52          | 1.38          | 1.92          | 1.64          |
| 6           | 2.76                          | 1.62          | 1.54          | 2.08          | 1.58          |
| 7           | 1.46                          | 1.56          | 1.82          | 1.78          | 1.50          |
| 8           | 1.58                          | 1.64          | 1.56          | 1.76          | 1.78          |
| 9           | 2.10                          | 1.48          | 1.18          | 1.80          | 1.80          |
| 10          | 2.50                          | 1.84          | 1.86          | 2.70          | 1.52          |
| 11          | 1.38                          | 1.50          | 1.32          | 1.68          | 1.56          |
| 12          | 1.54                          | 1.48          | 1.28          | 1.56          | 1.68          |
| 13          | 1.78                          | 1.56          | 1.68          | 2.18          | 1.84          |
| 14          | 1.36                          | 1.70          | 1.50          | 2.06          | 1.38          |
| 15          | 1.58                          | 1.48          | 1.98          | 1.84          | 0.98          |

Tabela 5: Premeri oljnih kapljic v raztopini ekstrakta sončnih listov v vodi (21. 8. 2017)

| št. meritve | Premer maščobnih kapljic [mm] |               |               |               |               |
|-------------|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|             | 1. petrijevka                 | 2. petrijevka | 3. petrijevka | 4. petrijevka | 5. petrijevka |
| 1           | 2.20                          | 2.14          | 1.70          | 1.96          | 2.12          |
| 2           | 1.28                          | 1.46          | 2.48          | 1.16          | 1.18          |
| 3           | 2.20                          | 1.82          | 2.16          | 1.60          | 1.64          |
| 4           | 1.26                          | 2.20          | 1.12          | 1.10          | 0.88          |
| 5           | 2.42                          | 3.68          | 1.68          | 1.76          | 2.22          |
| 6           | 2.38                          | 2.12          | 1.20          | 2.18          | 1.60          |
| 7           | 1.60                          | 2.32          | 1.94          | 2.38          | 1.32          |
| 8           | 2.74                          | 1.08          | 1.36          | 1.68          | 2.60          |
| 9           | 3.52                          | 2.10          | 2.06          | 1.96          | 1.20          |
| 10          | 1.20                          | 1.86          | 1.70          | 1.00          | 0.78          |
| 11          | 1.38                          | 2.50          | 1.64          | 1.12          | 1.52          |
| 12          | 1.02                          | 3.08          | 2.14          | 1.86          | 2.26          |
| 13          | 1.42                          | 1.78          | 2.66          | 2.18          | 1.46          |
| 14          | 1.66                          | 2.26          | 1.28          | 2.54          | 1.92          |
| 15          | 2.62                          | 2.22          | 0.80          | 1.66          | 0.85          |

Tabela 6: Premeri oljnih kapljic v raztopini ekstrakta senčnih listov v vodi (21. 8. 2017)



Graf 4: Velikost maščobnih kapljic v odvisnosti od izpostavitve ekstraktov sončnih in senčnih listov bršljana

### 3. RAZPRAVA

#### 3.1. VSEBNOST FOTOSINTETSKIH PIGMENTOV

Graf 1 prikazuje vsebnost klorofila a [mg] na suho maso sončnih in senčnih listov bršljana [g] v odvisnosti od meseca nabiranja. Razvidno je, da vsebnost variira po mesecih.

V sončnih listih smo porast klorofila a opazili v poletnih mesecih, veliko vsebnost pa smo opazili tudi v novembru in januarju. Najmanj ga je bilo aprila. V senčnih listih je vrh vsebnost klorofila a dosegla v vseh treh poletnih mesecih, največ ga je bilo julija, še en vrh pa se je pojavil marca. Velika vsebnost klorofila a v poletnih mesecih se sklada z veliko fotosintetsko aktivnostjo v tem obdobju (Monroe, 2013). Marčevski maksimum v senčnih listih in novembrski maksimum v sončnih sta verjetno vremensko pogojena; razmere za rast rastlin in fotosintezo so bile namreč ugodne (Naše okolje, 2017). Pričakovane večje vsebnosti klorofila a v sončnih listih nismo dokazale, kar se ne sklada z objavami večje fotosintetske aktivnosti sončnih listov. (Bauer in Bauer, 1986). Razlog bi bil lahko v rastnem območju izbrane rastline. Rastišče bršljana, s katerega smo nabirale liste, namreč ni bil osenčen. Predlagamo, da bi uporabile naključno izbrane rastline iz primernejšega rastišča.

Minimum je bil aprila in februarja. Aprilski minimum se sklada z objavami (Waggy, 2010). Prav tako smo zasledile manjšo vsebnost klorofila a v jesensko-zimskih mesecih, kar je verjetno posledica nižjih temperatur in nižje fotosintetske aktivnosti.

Graf 2 prikazuje vsebnost klorofila b [mg] na suho maso sončnih in senčnih listov bršljana [g] v odvisnosti od meseca nabiranja. Tudi ta variira po mesecih, a ga je v povprečju manj kot klorofila a, saj ni glavno fotosintetsko barvilo (AVTOR).

Vrh v senčnih listih doseže junija in julija, v sončnih pa novembra. To se sklada z rezultati klorofila a, kar ponovno kaže na večjo fotosintetsko aktivnost rastline v tem obdobju. Manjšo vsebnost klorofila b smo tako v senčnih kot sončnih listih zasledili v zimskih mesecih. To ustreza nižjim temperaturam, ki inhibirajo fotosintezo (Precht, 2013), in pomanjkanju padavin decembra 2016 (Naše okolje, 2016). Po drugi strani je bil november 2016 nenavadno topel, kar je bilo za aktivnost rastlin ugodno (Naše okolje, 2016). Večjo vsebnost klorofila b smo zasledili v senčnih listih, kar pripisujemo rastnim razmeram izbrane rastline.

Maksimuma klorofila a in b v poletnih mesecih sta potrdila našo hipotezo. Naši rezultati ne potrjujejo hipoteze za pričakovane razlike v vsebnosti fotosintetskih barvil v sončnih in senčnih listih.

### 3.2. SAPONINI

Velika koncentracija fotosintetskih barvil v poletnih mesecih kaže na višjo fotosintetsko aktivnost rastline v tem obdobju, kar omenjajo tudi mnogi avtorji (Waggy, 2010). Višja aktivnost bi lahko imela vpliv tudi na vsebnost ostalih učinkovin.

Za ugotavljanje vsebnosti in učinkovitosti saponinov smo si izbrale april in avgust, saj smo avgusta na podlagi naših virov (Ašič, 1989) pričakovale visoko vsebnost teh učinkovin. Večina jih namreč svetuje nabiranje bršljana v poletnem obdobju. (Ašič, 1989, Lutsenko in sod., 2010) Za primerjavo pa smo saponine merile še aprila, kajti zasledile smo tudi objavo, da naj se bršljan za medicinske namene nabira tudi spomladi (Lutsenko in sod., 2010). V tem obdobju so bolj aktivni tudi patogeni, proti katerim rastlina tvori saponinske glikozide.

Graf 3 prikazuje vsebnost saponinov v odvisnosti od vrste listov in časa nabiranja. Vsebnost saponinov je bila v aprilu večja kot pa v avgustu. Pri teh meritvah smo izračunale velik standardni odklon, kar kaže na veliko razpršenost podatkov okoli srednje vrednosti. Predvidevamo, da metoda ni bila najbolj zanesljiva. Hipoteze tako nismo uspele potrditi, saj naše meritve nasprotujejo virom, ki pravijo, da naj bi se bršljan nabiral poleti (Ašič, 1989). Prav tako bi za vsebnost saponinov lahko uporabile drugačno metodo, ki bi bila bolj zanesljiva, npr. HPLC kromatografija.

Graf 4 prikazuje velikost maščobnih kapljic v odvisnosti od izpostavitve ekstraktom sončnih in senčnih listov bršljana. Naši rezultati kažejo na to, da se maščobe bolje topijo v vodnem ekstraktu bršljanovih listov kot pa v vodi sami. Rezultati meritev sončnih in senčnih listov se med seboj bistveno ne razlikujejo, senčni listi so le nekoliko bolje raztapljali olje kot sončni. Pričakovale smo večjo razliko, ker senčni listi rastejo na območju, ki je bolj izpostavljeno patogenim organizmom. Opazne razlike v učinkovitosti saponinov v spomladanskih in poletnih mesecih nismo zasledile, povprečna velikost kapljic je bila aprila le za spoznanje manjša kot avgusta. To se sklada z našimi meritvami večje vsebnosti saponinov v spomladanskih mesecih. Metoda merjenja maščobnih kapljic zahteva veliko natančnosti pri delu, zato je možno, da je tu prišlo do napak meritev. Za merjenje te lastnosti bi lahko uporabile drugo metodo, npr. tankoplastno kromatografijo.

Rezultati naše raziskave hipoteze ne potrjujejo. Z dodatnimi raziskavami bi bilo zanimivo potrditi predlog, da naj bi se bršljanovi listi za kozmetične in farmacevtske namene nabirali spomladi. Saponini namreč služijo kot obramba rastline pred glivami (Marciano, 2013), zato predvidevamo, da bi bila večja vsebnost saponinov v aprilu smiselna, saj so takrat razmere za rast gliv boljše, vlaga je namreč večja in temperature bolj zmerne. Ker senčni listi rastejo na manj osvetljenih delih bližje opori, je to okolje bolj primerno za uspevanje gliv in zato bi bilo logično, da je vsebnost saponinov v tem delu rastline nekoliko večja. Z našimi meritvami smo to predvidevanje potrdile.

## 4. ZAKLJUČEK

S to raziskovalno nalogo smo se ukvarjale skoraj leto in pol, saj smo meritve zbirale 12 mesecev. V tem času smo se imele priložnost spoznati s teoretičnim in praktičnim delom biologije. Največji izziv nam je predstavljalo iskanje primerne metode za določanje koncentracije saponinov, bolj ali manj uspešno smo jih preizkusile namreč kar nekaj. Skozi raziskovalno delo smo si pridobile dragocene izkušnje z laboratorijskim delom.

Uspele smo dokazati visoko koncentracijo hederasaponinov v bršljanovih listih in njihovo sposobnost raztapljanja maščob, kar nam bršljan postavi v skupino kozmetično in farmacevtsko dragocenih rastlin. Čeprav nismo uspele povezati obdobja najvišje koncentracije saponinov z obdobjem največje koncentracije fotosintetskih barvil, menimo, da je, glede na to, da je bila metoda merjenja klorofila bolj natančna, poletje gotovo primerno obdobje za nabiranje bršljana za industrijske namene, saj je aktivnost listov takrat velika. Kljub temu pa pomladi ne gre zanemariti, saj so nam meritve pokazale veliko pomladno vsebnost glikozidov, glede na njihovo vlogo v rastlini pa to lahko vsaj delno tudi pojasnimo.

Navadni bršljan je zelo perspektivna rastlina in menimo, da bi se na tem področju dalo izvesti še precej raziskav, s katerimi bi še bolj obogatili obstoječe znanje o tej plezalki. Našo raziskavo bi lahko izboljšale z uporabo drugih metod. Prisotnost in količino saponinov bi lahko določali s HPLC-kromatografijo. Glede na njihovo antibakterijsko delovanje bi učinke lahko preverjali tudi z izdelavo antibiogramov, fungicidno delovanje pa z uporabo mikroskopske števne metode z glivami kvasovkami. Pri merjenju sezonske aktivnosti bršljana bi lahko poleg spremljanja koncentracije fotosintetskih pigmentov merili tudi druge parametre, npr. neto fotosintezo, transpiracijo, morfološke značilnosti listov in druge.

Raziskovalno delo nas je motiviralo tudi za nadaljnje delovanje v naravoslovnih vodah, saj smo se vse odločile za tovrstne študije.



## 5. VIRI

### 5.1. LITERATURA

1. ARSO, Ministrstvo za okolje in prostor. December 2016. Naše okolje; Mešečni bilten Agencije RS za okolje. Letnik XXIII, št. 12. Ljubljana: Ministrstvo za okolje in prostor. ISSN 1855-3575. Str 8, 14.
2. ARSO, Ministrstvo za okolje in prostor. Februar 2017. Naše okolje; Mešečni bilten Agencije RS za okolje. Letnik XXIV, št. 2. Ljubljana: Ministrstvo za okolje in prostor. ISSN 1855-3575. Str 14.
3. ARSO, Ministrstvo za okolje in prostor. Marec 2017. Naše okolje; Mešečni bilten Agencije RS za okolje. Letnik XXIV, št. 3. Ljubljana: Ministrstvo za okolje in prostor. ISSN 1855-3575. Str 14.
4. ARSO, Ministrstvo za okolje in prostor. November 2016. Naše okolje; Mešečni bilten Agencije RS za okolje. Letnik XXIII, št. 11. Ljubljana: Ministrstvo za okolje in prostor. ISSN 1855-3575. Str 8, 14.
5. AŠIČ, Simon. 1989. Priročnik za nabiranje zdravilnih rastlin. Celje: Mohorjeva družba. ISBN 86-7577-004-9. Str 23.
6. BAUER, Helmut, BAUER, Ulrike. 1980. Photosynthesis in Leaves of the Juvenile and Adult Phase of Ivy (*Hedera helix*); Abstract [online]. AGRIS. Dostopno na: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=XE8021204> (5. 3. 2018)
7. BAVCON, Jože. 2010. Botanični vrt univerze v Ljubljani: University Botanic Gardens Ljubljana. Ljubljana: Kmečki glas. ISBN 978-961-203-367-5. Str 197.
8. BRIGGS, David, WALTERS, Max. 2016. Plant Variation and Evolution. 4. izd. Cambridge: Cambridge University Press. ISBN 978-1-107-60222-9. Str 63-64, 88. Dostop na Google Books: <https://books.google.si/books?hl=sl&id=vx5CDAAAQBAJ&dq=hedera+helix+heterophyll&q=>
9. BURLANDO, Bruno, idr. 2010. Herbal Principles in Cosmetics: Properties and Mechanisms of Action. New York: Taylor and Francis Group. ISBN 13-978-1-4398-1214-3. Str 145-147. Dostop na Google Books: [https://books.google.si/books?id=MaAZMbSxNt4C&dq=hedera+helix+against+cellulitis&hl=sl&source=gbp\\_navlinks\\_s](https://books.google.si/books?id=MaAZMbSxNt4C&dq=hedera+helix+against+cellulitis&hl=sl&source=gbp_navlinks_s)
10. HENSEL, Wolfgang. 2008. Katera zdravilna rastlina je to? Prva izdaja. Olševke: Narava. ISBN 978-961-6582-25-4. Str 210.
11. LICHTENTHALER, H. K. 1987. Chlorophylls are carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 44: 331-382.
12. LUTSENKO, Yulia, idr. 2010. *Hedera helix* as a medical plant [online]. Lviv: Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Department of Pharmacognosy and Botany. Dostopno na:

- <https://pdfs.semanticscholar.org/0f38/cf404822fe200cb69c42a3a9dd067503369c.pdf>  
(5. 3. 2018)
13. MARCIANO, Marisa. 2013. Saponins [online]. The Neuropathic Herbalist. Dostopno na: <https://thenaturopathicherbalist.com/plant-constituents/saponins/> (22. 2. 2018)
  14. MARTINČIČ, Andrej. 2010. Mala flora Slovenije. 4. izd., dopolnjena in spremenjena izd., 2. natis. Ljubljana: Tehniška založba Slovenije. ISBN 978-961-251-026-8. Str 378
  15. MONROE, Rob. 2013. Why Are Seasonal CO2 Fluctuations Strongest at Northern Latitudes? [online] Scripps Institution of Oceanography. Dostopno na: <https://scripps.ucsd.edu/programs/keelingcurve/2013/05/07/why-are-seasonal-co2-fluctuations-strongest-in-northern-latitudes/> (17. 3. 2018)
  16. PAVLETIČ, Zlatko, LIETH, Helmut. 1958. Der Lichtkompensationspunkt einiger immergrüner Pflanzen im Winter und Frühjahr. Str 309-314.
  17. PERDUE, Matthew. 2017. What Are the Roles of Chlorophyll A & B? [online]. Sciencing. Dostopno na: <https://sciencing.com/what-are-the-roles-of-chlorophyll-a-b-12526386.html> (17. 3. 2018)
  18. PRECHT, Herbert. 1973. Temperature and Life. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN 978-3-642-65708-5
  19. PRESS, Bob. 2011. Taxonomy [online]. London: Natural History Museum. Dostopno na: [http://eol.org/data\\_objects/12496303](http://eol.org/data_objects/12496303) (1. 3. 2018)
  20. PUTZ, Francis E. 1991. The Biology of Vines. Cambridge: Cambridge University Press. ISBN 0-521-39250-0. Str 206-208. Dostop na Google Books: [https://books.google.si/books?id=D\\_w8AAAAIAAJ&dq=hedera+helix+heterophylly&hl=sI&source=gbs\\_navlinks\\_s](https://books.google.si/books?id=D_w8AAAAIAAJ&dq=hedera+helix+heterophylly&hl=sI&source=gbs_navlinks_s)
  21. SAHELIAN, Ray. 2016. Saponin in Plants Benefit and Side Effects, Glycosides and Extraction. Raysahelian. Dostopno na: <http://www.raysahelian.com/saponin.html> (22. 2. 2018)
  22. WAGGY, Melissa A. 2010. *Hedera Helix* [online]. Fire Effects Information System, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fire Sciences Laboratory. Dostopno na: [http://eol.org/data\\_objects/24636371](http://eol.org/data_objects/24636371) (22. 2. 2018)

## 5. 2. VIRI SLIK

Slika 1: <http://www.uniprot.org/taxonomy/4052> (4. 3. 2018)

Slika 3: [http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll\\_h.htm](http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm) (15. 3. 2018)

Slike 2, 4, 5, 6, 7 in 8 so avtorske.