# Bioaktivni spojevi samoniklog medvjeđeg luka (Allium ursinum L.)

**Peša, Marija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:577913

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-28**

*Repository / Repozitorij:*

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**
**AGRONOMSKI FAKULTET**

# BIOAKTIVNI SPOJEVI SAMONIKLOG MEDVJEĐEG LUKA (*Allium ursinum* L.)

DIPLOMSKI RAD

**Marija Peša**

**Zagreb, 2019.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**
**AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij
Hortikultura
Povrćarstvo

# BIOAKTIVNI SPOJEVI SAMONIKLOG MEDVJEĐEG LUKA (*Allium ursinum* L.)

DIPLOMSKI RAD

Marija Peša

Mentor: prof.dr.sc. Sandra Voća

**Zagreb, 2019.**

# IZJAVA STUDENTA
# O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Marija Peša**, JMBAG 0178098520, izjavljujem da sam samostalno izradila diplomski rad pod naslovom:

**Bioaktivni spojevi samoniklog medvjeđeg luka (*Allium ursinum* L.)**

**Svojim potpisom jamčim:**

− da sam jedina autorica/jedini autor ovoga završnog rada

– da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, primjereno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada

− da ovaj završni rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnoga ili stručnog studija

− da je elektronička verzija ovoga završnog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor

− da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkoga kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (čl. 19.).

U Zagrebu, _____ _____

(*datum*) (*potpis studenta*)

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**
**AGRONOMSKI FAKULTET**

# IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice Marije Peša, JMBAG 0178098520, **naslova BIOAKTIVNI SPOJEVI SAMONIKLOG MEDVJEĐEG LUKA (*Allium ursinum* L.)** obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1. prof. dr. sc. Sandra Voća mentor _____
2. doc. dr. sc. Jana Šic Žlabur član _____
3. doc. dr.sc. Sanja Fabek Uher član _____

# ZAHVALA

*Zahvaljujem svojoj mentorici prof.dr.sc. Sandri Voća i doc.dr.sc. Jani Šic Žlabur na pruženom znanju, susretljivosti, pomoći i razumijevanju tijekom cjelokupne izrade diplomskog rada. Ovim putem se želim zahvaliti svim djelatnicima Zavoda za poljoprivrednu tehnologiju, skladištenje i transport, posebno gđi Martini Krilčić na pomoći u laboratoriju. Na kraju, veliko hvala mojoj obitelji, dečku i prijateljima na bezuvjetnoj podršci.*

# SADRŽAJ

1. UVOD ..... 1
1.1. Cilj rada ..... 1
2. Pregled literature ..... 2
2.1. Botanička pripadnost i rasprostranjenost ..... 2
2.2. Morfološke karakteristike ..... 3
2.3. Ekološki zahtjevi ..... 6
2.4. Berba samoniklog medvjeđeg luka ..... 7
2.5. Upotreba medvjeđeg luka ..... 9
2.6. Uzgoj medvjeđeg luka ..... 10
2.6.1. Plodored ..... 10
2.6.2. Priprema tla ..... 11
2.6.3. Sjetva (sadnja) ..... 11
2.6.4. Mjere njege i berba ..... 11
2.7. Kemijski sastav medvjeđeg luka ..... 12
2.7.1. Sumporni spojevi ..... 12
2.7.2. Fenoli ..... 13
2.7.3. Ostali spojevi ..... 14
3. Materijali i metode istraživanja ..... 16
3.1. Biljni materijal ..... 16
3.2. Metode ..... 23
3.2.1. Određivanje morfoloških karakteristika ..... 23
3.2.2. Određivanje ukupne suhe tvari sušenjem na 105 °C ..... 23
3.2.3. Određivanje ukupne kiselosti ..... 24
3.2.4. Određivanje pH vrijednosti ..... 25
3.2.5. Određivanje L-askorbinske kiseline ..... 26
3.2.6. Određivanje ukupnih fenola ..... 27
3.2.7. Određivanje flavonoida i neflavonoida ..... 29
3.2.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom ..... 30
3.2.9. Određivanje klorofila a, b i ukupnih klorofila ..... 32
3.3. Statistička obrada podataka ..... 33
4. Rezultati ..... 34
4.1. Morfološke karakteristike i kromatske vrijednosti listova medvjeđeg luka ..... 34

4.2. Osnovni kemijski sastav lista medvjeđeg luka ..... 37
4.3. Sadržaj vitamina C u listovima samoniklog medvjeđeg luka ..... 38
4.4. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida u listovima medvjeđeg luka ..... 39
4.5. Antioksidacijski kapacitet listova medvjeđeg luka ..... 41
4.6. Klorofil a, klorofil b, ukupni klorofil i karotenoidi samoniklog medvjeđeg luka ..... 42
5. ZAKLJUČAK ..... 44
6. LITERATURA ..... 46
7. POPIS SLIKA ..... 51
Životopis ..... 52

## Sažetak

Diplomskog rada studentice **Marije Peša**, naslova

# BIOAKTIVNI SPOJEVI SAMONIKLOG MEDVJEĐEG LUKA (*Allium ursinum* L.)

Medvjeđi luk je samonikla biljka iz porodice sunovratki (Amaryllidaceae). U Hrvatskoj ova biljka raste u kontinentalnom i gorskom području, dok je na krajnjem jugu nema. Svi njeni dijelovi su jestivi, no najčešće se konzumiraju lukovice i listovi. Budući da nije zakonom zaštićena, lako je dostupna za konzumaciju i berbu. Osim što se koristi u kulinarstvu, ova biljka ima i mnogo ljekovitih svojstava.

Cilj ovog diplomskog rada bio je istražiti razlike u sadržaju bioaktivnih komponenti u listovima medvjeđeg luka prikupljenih na različitim mikrolokacijama, te utvrditi razlike u sadržaju bioaktivnih spojeva biljaka u vegetativnoj i generativnoj fazi. U svrhu utvrđivanja nutritivnog sastava provedene su kemijske analize: suhe tvari (%), pH-vrijednosti, ukupnih kiselina (%), vitamina C (mg/100 g svježe tvari), ukupnih fenola (mg GAE/100 g svježe tvari), antioksidacijskog kapaciteta (µmol TE/L) te vrijednosti ukupnih klorofila i karotenoida (mg/g). Osim navedenih kemijskih analiza, utvrđene su morfološke i kromatske vrijednosti listova samonikog medvjeđeg luka na pet mikrolokacija ('Maksimir cesta', 'Maksimir potok', 'Vukomerec', 'Rude' i 'Tuškanac'). Iz morfoloških vrijednosti je utvrđeno da ispitivane populacije pripadaju formi *ucrainicum* te da duljina listova iznosi od 157,38 do 202,09 mm ovisno o mikrolokaciji i fazi rasta. Utvrđene su i razlike u količini vitamina C, prilikom čega je najveći sadržaj utvrđen prije cvatnje i iznosio je 63 mg/100 g na lokaciji 'Vukomerec'. Općenito, za vrijeme cvatnje se kod svih uzoraka, na svim lokacijama smanjio sadržaj navedenog vitamina. Količine ukupnih fenola u ovom istraživanju iznosile su od 132,15 do 191,14 mg GAE/100 g ovisno o lokaciji i fazi rasta. Za vrijeme cvatnje antioksidacijski kapacitet se povećao na svim lokacijama te je iznosio od 2141,29 do 2230,66 µmol TE/L.

Temeljem dobivenih rezultata utvrđeno je da faza rasta i mikrolokacija sa svojim pedoklimatskim čimbenicima utječu na sadržaj bioaktivnih komponenti, a time i na nutritivni sastav biljke. Također se iz ovog rada može utvrditi da su listovi medvjeđeg luka vrijedan izvor vitamina C i brojnih drugih antioksidansa.



**Ključne riječi**: samoniklo bilje, bioaktivni spojevi, vitamin C, fenoli, antioksidacijski kapacitet

## Abstract

Of the master's thesis – student **Marija Peša**, entitled

**BIOACTIVE COMPOUNDS OF WILDGROWN BEAR'S GARLIC (*Allium ursinum* L.)**

Wild garlic is a wildgrown plant from Amaryllidaceae family. In Croatia this plant grows in continental and mountainous areas. All its parts are edible, but bulbs and leaves are usually consumed. Since it is not protected by law, it's easily available for consumption and harvesting. Apart from being used in culinary purposes, this plant also has many medical benefits.

The aim of this graduate thesis was to investigate the differences in the content of bioactive components in the leaves of ramsons collected at various microlocations, and to determinate the differences in the bioactive compounds in vegetative and generative phases. Following chemical analysis, in purpose of determining nutritional composition, was conducted: dry matter (%), pH-value, total acides (%), vitamin C (mg/100 g fresh matter), total phenols (mg GAE/100 g fresh matter), antioxidant capacity (μmol TE/L) and values of total chlorophyll and carotenoid (mg/g). Besides nutritional composition, this thesis shows morphological and chromatic values of the leaves from five microlocations ('Maksimir cesta', 'Maksimir potok', 'Vukomerec', 'Rude' and 'Tuškanac'). From the morphological values it was found that the examined populations belonged to the ucrainicum form and that the leaf lenght was from 157,38 to 202,09 mm depending on the microlocation and growth phase. There were also differences in the amount of vitamin C, with the highest content mesured before flowering 63 mg/100 g at the 'Vukomerec' microlocation. Generally, during flowering in all samples the vitamin content was reduced in all locations. The total amount of phenols in this study ranged from 132,15 to 191,14 mg GAE/100 g depending on the location and growth stage. During flowering, the antioxidant capacity was increased in all samples ranging from 2141,29 to 2230,66 μmol TE/L.

Based on the results, the growth phase and microlocations with its pedoclimatic factors, affect the decrease or increase of the content of some bioactive components, and thus the nutritional composition of the plant. This thesis shows that the leaves of bears garlic are valuable source of vitamin C and antioxidans.



**Key words:** wildgrown plants, bioactive compounds, vitamin C, phenolic compounds, antioxidant capacity

# 1. UVOD

Medvjeđi luk je ljekovita biljka iz porodice sunovratki (lat. Amaryllidaceae). Poznato je da se medvjeđi luk koristio u tradicionalnoj medicini od davnina, međutim studije o njegovom sastavu i farmakološkoj učinkovitosti novijeg su datuma i vrlo su rijetke. Naziv biljke je povezan s narodnom pričom prema kojoj medvjedi nakon buđenja iz zimskog sna konzumiraju ovu biljku kako bi se riješili toksina iz tijela i vratili energiju (Sobolewska i sur., 2015). Osim naziva medvjeđi luk, postoji nekoliko narodnih naziva za ovu biljku, a to su: srijemuš, crijemuš, čremuž, šumski, pasji i divlji luk. U dostupnoj literaturi, medvjeđi luk se često nalazi pod imenom *"wild garlic"* što može dovesti do zabune jer se pod tim nazivom mogu naći i druge biljne vrste poput *Allium vineale* i *Allium canadese* kao i neke druge biljke iz roda *Tulbaghia* (Sobolewska i sur., 2015).

Ova biljka je rasprostranjena u Europi i u Aziji i ne raste na područjima iznad 1 900 metara nadmorske visine. Prirodna staništa medvjeđeg luka mogu se naći od Mediterana do Skandinavije. U Hrvatskoj, medvjeđi luk je najviše rasprostranjen u kontinentalnoj i gorskoj Hrvatskoj, dok ga na krajnjem jugu nema. Medvjeđi luk često raste u grupama, formirajući gusti pokrov u šumama bukve, hrasta i graba (Szafer i Zarzycki 1972; Cincura i sur., 1990; Oborny i sur., 2011; Morschhauser i sur., 2009). Period aktivnog rasta medvjeđeg luka traje između tri do četiri mjeseca s početkom u rano proljeće, između kraja veljače i početka ožujka. Očekivano vrijeme cvatnje medvjeđeg luka je između travnja i svibnja. Gornji, nadzemni dijelovi biljke naglo venu s dolaskom ljeta. Svi dijelovi biljke su jestivi, no najčešće se konzumiraju lukovice i listovi. Za jelo se listovi beru do cvatnje, uz napomenu da su najukusniji oni posve mladi, prije izbijanja cvjetne stapke. Osim što se koristi u kulinarstvu, ova biljka ima ljekovita svojstva. Zahvaljujući kemijskom sastavu može se koristiti kao antimikrobno sredstvo, za detoksikaciju tijela te u prevenciji i liječenju kardiovaskularnih bolesti (Treben 1992; Macku i Krejča 1989; Leporatti i Ivancheva 2003). Listovi ove biljke sadrže komponente na bazi sumpora, fenole, vitamin C, klorofile i karotenoide. Medvjeđi luk je također bogat izvor željeza i adenozina.

## 1.1. Cilj rada

Cilj ovog rada bio je istražiti razlike u sadržaju bioaktivnih komponenti u listovima medvjeđeg luka prikupljenih na različitim mikrolokacijama, te utvrditi razlike u sadržaju bioaktivnih spojeva biljaka u vegetativnoj i generativnoj fazi.

# 2. Pregled literature

## 2.1. Botanička pripadnost i rasprostranjenost

Medvjeđi luk (lat. *Allium ursinum*) je vrsta samonikle jestive biljke srodne s lukom i češnjakom. Medvjeđi luk pripada redu Asparagales, porodici Amaryllidaceae, potporodici Allioideae te rodu *Allium*. Rasprostranjena je u nizinskom i u planinskom dijelu Hrvatske (Slika 1). Neke od lokacija na kojima samoniklo raste su: Medvednica, Samoborsko gorje, Vukomeričke gorice, Moslavačka gora, područje Varaždina, Ivanščica, Novi Marof, Bosiljevo, Josipdol, Učka, Ćićarija, Kordun, Lika i Bjelolasica. Izuzev navedenih područja, medvjeđi luk se može naći i u samom centru grada Zagreba u parkovima poput Maksimira i Tuškanca te na Mirogoju, u Vukomerecu i Ježdovcu. Izvan Hrvatske, medvjeđi luk je raširen u cijeloj Europi, Maloj Aziji, na Kavkazu i Sibiru sve do poluotoka Kamčatke (Lenkova i sur., 2016; Đurđević i sur., 2004).



**Slika 1.** Rasprostranjenost medvjeđeg luka na području Hrvatske (https://hirc.botanic.hr/fcd/ShowResults.aspx?hash=1741594556)

## 2.2. Morfološke karakteristike

Medvjeđi luk je tipični predstavnik roda *Allium* (Slika 2). Ova biljka je proljetni geofit i ima lukovicu kao podzemnu stabljiku. Lukovica je uska i izdužena, duljine 1,5 – 6 centimetara (Slika 3). Ponekad se formiraju i lukovice „kćerke“ što je posebno važno za vegetativno razmnožavanje (Oborny i sur., 2011). Medvjeđi luk može narasti do 50 centimetara visine, a nadzemni dio biljke sastoji se od uspravne, trokutaste cvjetne stabljike, čvrste u poprečnom presjeku. Na vrhu cvjetne stabljike nalazi se cvat poput štitca koji ima od 3 do 30 zvjezdolikih, snježno-bijelih cvjetova, prema Blazewicz-Wozniak i Michowska (2011) 13,4 – 24,0 u prosjeku. Do pune cvatnje cvjetovi su obavijeni sa dvije do tri brakteje. Cvatnja medvjeđeg luka obično počinje u travnju, a završava sredinom svibnja. Također se, na nadzemnom dijelu biljke, nalaze 2 – 3 lista koja su kraća od cvjetne stabljike. Listovi su glatki, ravni, eliptično lancetasti, ušiljeni prema vrhu, a pri osnovi se postepeno sužavaju u peteljku. Širina listova medvjeđeg luka je oko 20 – 64 mm (Szafer i sur., 1988; Błazewicz-Wozniak i Michowska 2011). Usporedna studija o zbirci jedinki medvjeđeg luka iz različitih ekotipova u Poljskoj pokazala je da se oni značajno razlikuju u širini lisnih plojki, duljini stabljika listova, duljini cvjetnih stabljika i broju cvjetova u inflorescencama (Błazewicz-Wozniak i Michowska, 2011).




**Slika 2.** Morfologija medvjeđeg luka (https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Allium_ursinum)



**Slika 3.** Korijen medvjeđeg luka (lijevo) i cvijet medvjeđeg luka (desno) (https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Allium_ursinum)

Medvjeđi luk se regenira uglavnom iz sjemenki, dok je vegetativna regeneracija od manjeg značaja. Plod medvjeđeg luka je tobolac u kojem se nalaze sjemenke (Slika 4). Sjemenke su crne i širine su 2 – 3 mm (Hermy i sur., 1999; Sendl 1995). Srednja težina po sjemenu iznosi 5,4 ± 0,7 mg. Osipanje sjemenki je u lipnju i srpnju, iako vrijeme osipanja može biti odgođeno zbog vremenskih uvjeta, primjerice zbog hladnog proljeća i ljeta (Ernst, 1979). Većina sjemenki pada na tlo direktno ispod tobolca i teško se raznosi vjetrom (Oborny i sur., 2011; Ernst, 1979). Prijenos sjemenki na veće udaljenosti do potencijalnih staništa omogućuju životinje ili se prijenos odvija putem voda tekućica (Eggert, 1992). Većina sjemenki ostaje dormantna jednu do dvije godine, međutim neke sjemenke klijaju tijekom nadolazeće zime ili proljeća, obično od studenog do ožujka (Eggert, 1992; Ernst, 1979). Gusti pokrov medvjeđeg luka može proizvesti veliki broj sjemenki godišnje, čak 10 000 sjemenki po m² kao što je zabilježeno u šumi Gottingen u Njemačkoj (Ernst, 1979). U šumi 'Litovelske Pomoravi' u Češkoj zabilježena je srednja proizvodnja sjemena od 2 692 sjemenki po m² (zabilježeni maksimum je bio 5 612 sjemenki/m²) (Rychnovska i Bednar, 1998).




**Slika 4.** Sjemenke medvjeđeg luka (https://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/Allium_ursinum)

Istraživanje medvjeđeg luka provedeno je u Republici Srpskoj na tri lokacije različite nadmorske visine, odnosno u različitim ekološkim uvjetima: ravničarska lokacija Laktaši (120 m nadmorske visine), niža planinska lokacija Komljenovac (752 m nadmorske visine) i planinska lokacija Drinić (950 m nadmorske visine). Istraživanja su provedena u dvije vegetacijske sezone (2004. i 2005. god) (Todorović i sur., 2009). Analiza je napravljena u fazi mladog luka, odnosno fazi intezivnog rasta plojki kada se i bere za konzumiranje. Morfološke karakteristike srijemuša prikazane su u Tablici 1.

**Tablica 1.** Vrijednosti svojstava mladog luka *Allium ursinum* ovisno o godini i lokaciji (Todorović i sur., 2009)

| Godina | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 2004. | | | | | 2005. | | | | |
| Lokalitet | | | | | | | | | |
| Svojstvo | | | | | | | | | |
| | Laktaši | Komljenovac | Drinić | Prosjek | Laktaši | Komljenovac | Drinić | Prosjek | Prosjek 04/05 |
| Br.korjenčića | 10,1 | 10,7 | 12,5 | 11,1 | 12,2 | 10,8 | 10,4 | 11,2 | 11,1 |
| Broj listova | 1,5 | 1,3 | 1,1 | 1,3 | 1,5 | 1,8 | 2,2 | 1,9 | 1,6 |
| Dužina plojke (cm) | 13,45 | 14,37 | 16,32 | 14,71 | 16,76 | 15,99 | 17,14 | 16,63 | 15,7 |
| Širina plojke (cm) | 4,76 | 6,89 | 7,09 | 6,25 | 5,42 | 5,60 | 5,54 | 5,52 | 5,9 |
| Dužina lisne peteljke (cm) | 9,8 | 10,3 | 13,4 | 11,09 | 16,09 | 13,14 | 13,01 | 14,08 | 12,6 |
| Promjer lisne peteljke (cm) | 0,32 | 0,37 | 0,43 | 0,37 | 0,39 | 0,33 | 0,31 | 0,35 | 0,36 |
| Dužina lukovice(cm) | 4,15 | 4,03 | 3,19 | 3,79 | 3,72 | 3,51 | 3,11 | 3,45 | 0,6 |
| Promjer lukovice(cm) | 0,61 | 0,62 | 0,54 | 0,59 | 0,53 | 0,49 | 0,37 | 0,47 | 0,5 |
| Masa (g) | 13,0 | 11,5 | 12,1 | 12,2 | 11,3 | 13,3 | 13,9 | 12,84 | 12,5 |
| Br.bijaka/m² | 532,0 | 432,0 | 386,0 | 450,0 | 684,0 | 563,0 | 412,0 | 553,0 | 501,5 |

U prosjeku list medvjeđeg luka sa tri ispitivane lokacije imao je 15,7 cm dugu i 5,9 cm široku plojku, na 12,6 cm dugoj lisnoj peteljci. Razlike u veličini lista pri promjeni ekoloških uvjeta potvrđuju promjenjivost ovog morfološkog svojstva srijemuša (Anačkov, 2003). Prema Anačkovu (2003) razlikuje se forma *ucrainicum* sa širinom lista većom od 3,5 cm i forma *angustifolium* sa širinom manjom od 3,5 cm. Na osnovu provedenog istraživanja prosječna širina lista (sa sva tri lokaliteta) je 5,9 cm te ispitivane populacije pripadaju širokolisnoj formi. Medvjeđi luk iz ravničarske lokacije bio je najmanje bujan (visina 29,0 cm) i imao je najmanju masu mladog luka (12 g), dok je mladi luk na planinskoj lokaciji Drinić bio najbujniji (visina 33,1 cm) s najvećom masom mladog luka (13 g). Na osnovu dobivenih rezultata, autori su zaključili da su planinske lokacije najpogodnije za rast i razvoj medvjeđeg luka (Todorović i sur., 2009). Promjenom nadmorske visine mijenja se broj listova, prinos kao i sadržaj makro i

mikroelemenata. To ukazuje na moguće promjene koje bi nastale pri uzgoju ovog luka u ravničarskom području. U istraživanju Blazewicz-Wozniak i Michowske (2011) u Poljskoj, gdje su posađene lukovice tri ekotipa medvjeđeg luka 'Dukla', 'Roztocze' i 'Bieszczady' duljina listova je varirala od 70 – 244 mm ovisno o godini ispitivanja, a širina između 22 i 59 mm.

### 2.3. Ekološki zahtjevi

Poznate su dvije podvrste medvjeđeg luka to su: *A.ursinum* ssp. *ursinum* i *A.ursinum* ssp. *ucrainicum*. Potpodjela je bazirana na glatkoći površine peteljke (Karpaviciene, 2006). Peteljke kod ssp. *ursinum* su grube teksture s brojnim papilama dok su kod ssp. *ucrainicum* peteljke glatke i bez papila (Rola, 2012; Farkas i sur., 2012). Zahtjevi za staništem jednaki su kod obje podvrste (Rola, 2012). Medvjeđi luk najbolje raste na laganim do srednje teškim, hranivim, vlažnim, ali dobro dreniranim tlima te dobro uspjeva u sjeni i polusjeni (Szafer i Zarzycki 1972; Činčura i sur., 1990; Oborny i sur., 2011). Iako ova biljna vrsta preferira visoku vlagu zraka, može se pronaći i na plitkim, prilično suhim vapnenačkim tlima (Eggert, 1992). Međutim i suša, ali i stagnirajuća voda ograničavajući su čimbenici za rast i razvoj ove biljke (Kovacs, 2007). Još jedan ograničavajući čimbenik je koncentracija aluminija u vodenoj fazi tla. U eksperimentalnim uvjetima aluminij je (u koncentraciji od 20 μM) ograničio izduživanje korijena medvjeđeg luka. U takvim uvjetima je i rast novog korijenja bio jako slab (Andersson, 1993).

Medvjeđi luk često raste u gustom sklopu formirajući velike pokrove u šumama graba, hrasta i bukve (Oborny i sur., 2011; Morschhauser i sur., 2009). Pod takvim gustim tepihom odvija se kompeticija za svjetlost i prostor (Leuschner i Lendzion, 2009). Medvjeđi luk je snažan kompetitor koji utječe na rast drugih zeljastih biljaka putem tla gdje akumulira fenolne fitotoksine. Natječe se s drugim biljnim vrstama i putem hlapljivih spojeva (Đurđević i sur., 2004). Eksperimentalni podaci iz testova klijanja sjemena i rasta sadnica pokazali su da tekući ekstrakt i hlapljvi spojevi iz lukovica medvjeđeg luka spriječavaju rast drugih biljaka poput zelene salate, amaranta i pšenice jače od ekstrakata iz listova (Đurđević i sur., 2004).

Razdoblje aktivnog rasta medvjeđeg luka traje od tri do četiri mjeseca, počevši od ranog proljeća prije razvoja lišća na krošnjama stabala (Jandl i sur., 1997). To osigurava dovoljno svjetlosti u prvoj fazi rasta biljaka i omogućuje izbjegavanje kompetencije za svjetlost s krošnjama drveća (Shmanova i Krichfalushii, 1995; Oborny i sur., 2011). Nadalje, kada krošnje drveća u kasno proljeće razviju lišće, to lišće štiti biljku od izravnog sunčeva svjetla i pomaže održavanju odgovarajuće vlage zraka iznad tla. Ipak, nadzemni dijelovi biljke naglo presušuju s dolaskom ljeta. Stopa uginuća medvjeđeg luka tijekom prve 2 godine života procjenjuje se na oko 21 % (Bierzychudek, 1982). U sljedećoj godini navedena stopa se povećava jer biljka razvija kontraktilno korijenje koje je podložnije napadu insekata i nematoda (Ernst, 1979). Procjenjuje se da samo 1 - 10 % sadnica medvjeđeg luka doseže reproduktivnu dob (Bierzychudek, 1982). Procijenjena prosječna životna dob i starost prve reprodukcije za *A. ursinum* je 8 - 10, odnosno, 4 - 5 godina.

## 2.4. Berba samoniklog medvjeđeg luka

Medvjeđi luk mnogi beru u šumama i pripremaju u raznim jelima pa je svako proljeće jedna od aktualnih tema kako ga razlikovati od ostalih sličnih i potencijalno opasnih biljaka. U vrijeme vegetacije medvjeđeg luka, na istim staništima mogu se pronaći mrazovci i đurđice (Slika 5). Bitno je dobro poznavati morfološka svojstva medvjeđeg luka prije odlaska u berbu jer branje pogrešne biljne vrste može dovesti do zdravstvenih problema ili čak dovesti do smrti.



**Slika 5.** Razlike između medvjeđeg luka, đurđice i mrazovca (s lijeva na desno) (https://mozaikmedici.com/clanak/kako-srijemus-razlikovati-od-otrovnih-dvojnika)

Jesenski mrazovac (lat. *Colchicum autumnale*) je vrlo otrovna biljka iz porodice mrazovki (Colchicaceae). Za razliku od medvjeđeg luka kod kojeg svaki list izlazi zasebno iz tla i ne formira rozetu, ova biljka ima 3 – 4 tamnozelena lista koja su međusobno povezana. Razlika je također u tome što medvjeđi luk ima intenzivan miris po češnjaku dok mrazovac nema. Cvatnja mrazovca odvija se tijekom rujna i listopada, dok medvjeđi luk cvjeta u travnju i svibnju. Kod mrazovca svi biljni dijelovi sadrže otrovne alkaloide od kojih je najpoznatiji kolhicin. Otrovna doza je 60 g listova ove biljke ili 10 g sjemenki (Maretić, 1986). Zabilježena su trovanja životinja (konja, svinja, goveda) na ispaši koje konzumiraju ovu biljku kada je druga hrana oskudna. Osušena biljka ne gubi svojstva te ostaje otrovna godinama. Neke životinje (ovce, koze) pokazuju određenu otpornost na mrazovac te mogu pojesti veću količinu ove biljke bez štetnih posljedica, međutim otrov može prijeći u mlijeko te tada ugrožava mladunčad, a postoji podatak i o trovanju ljudi mlijekom koza koje su jele mrazovac (Forenbacher, 1998).

Đurđica (lat. *Convallaria*) je biljni rod mirisnih trajnica kojemu pripadaju tri vrste, od kojih je najpoznatija đurđica (*Convallaria majalis*). Đurđica pripada porodici Asparagaceae, a vrijeme cvatnje joj je u mjesecu svibnju. Đurđica je vrlo otrovna biljka i svi njeni dijelovi su otrovni, posebno plodovi i cvjetovi. Ova biljka sadrži glikozide konvalotoksin i konvalozid. Konzumiranje bobica uzrokuje mučninu, povraćanje, dijareju, ubrzan puls, a u težim stanjima

i smrt. Nakon rukovanja njome potrebno je dobro oprati ruke (Maretić, 1986). Kod đurđice listovi izbijaju iz iste stabljike koja je pri tlu ljubičaste boje, a kod medvjeđeg luka listovi izbijaju pojedinačno, pri tlu su bijele boje i imaju miris po češnjaku (izvor: Encyclopedia of Life, www eol.org).

Osim đurđice i mrazovca, medvjeđi luk se može zamijeniti s bijelom čemerikom (lat. *Veratrum album* L.) (Slika 6). Bijela čemerika pripada porodici Melanthiaceae, a vrijeme cvatnje joj je od lipnja do rujna i kod nas je strogo zaštićena. Svi dijelovi ove biljke sadrže otrovne alkaloide, primjerice protoveratrin A i B, jervin i druge. Od medvjeđeg luka se najlakše razlikuje po nervaturi listova, čemerika ima naizmjenične listove, jasno izraženih žila, na licu gole, na naličju duboko, uzdužno naborane s paralelnom nervaturom i dlačicama.



**Slika 6.** Bijela čemerika (*Veratrum album* L.)
(https://pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Veratrum+album)

Intenzivan miris po češnjaku je nedovoljno svojstvo za prepoznavanje medvjeđeg luka među ostalim potencijalno otrovnim biljkama. Nakon berbe veće količine listova, na rukama ostaje miris češnjaka stoga se može zamijeniti miris s ruke misleći da je s lista. Nadalje, ne preporuča se brati medvjeđi luk u snopovima pomoću nožića ili srpova jer se u snopovima lako može potkrasti list neke druge biljke, a samo nekoliko listova na primjer mrazovca je dovoljno da ozbiljno ugrozi život. Budući da se listovi medvjeđeg luka beru dok još biljka nije procvjetala jer su tada najukusniji i imaju najveću koncentraciju ljekovitih sastojaka, bitno je dobro poznavati stanište gdje se obavlja berba. Poznavanje biljne vrste s nekog staništa u punoj cvatnji, bitno olakšava determinaciju i berbu biljaka kada cvjetovi nisu prisutni.

## 2.5. Upotreba medvjeđeg luka

Svi dijelovi medvjeđeg luka su jestivi. U medicinske svrhe koristi se lišće ili herba (*Allii ursini folium*/*herba*) sakupljeno u travnju i svibnju, i lukovice (*Allii ursini bulbus*) prikupljene u rujnu i listopadu. Medvjeđi luk se obično sakuplja iz prirode, međutim u Poljskoj je ova biljna vrsta zaštićena od 2004. godine i nalazi se na „Crvenom popisu biljaka i gljiva u Poljskoj" zbog čega ju nije moguće brati iz prirode za vlastite potrebe i prodaju (Szafer i sur., 1988; Zarzycki i Mirek 2006). U Hrvatskoj ova biljka još uvijek nije zakonom zaštićena. U europskoj tradicionalnoj medicini medvjeđi luk se općenito preporučuje kao probavni stimulans, antimikrobno sredstvo, za detoksikaciju tijela i kao prevencija kod kardiovaskularnih bolesti (Treben 1992; Macku i Krejča 1989; Leporatti i Ivancheva 2003). Često je primjenjivan kao lijek za respiratorne probleme, poput prehlade ili bronhitisa. Medvjeđi luk je djelotvoran kada se koristi u zacjeljivanju rana, kod kroničnih kožnih poremećaja i kod akni (Sobolewska i sur., 2015).

Suvremene farmakološke studije potvrdile su mnoge od spomenutih tradicionalnih indikacija za korištenje medvjeđeg luka. Veliki broj eksperimenata *in vitro* i *in vivo* pokazao je da je *Allium ursinum* biljka s visokim potencijalom za sprječavanje i liječenje bolesti kardiovaskularnog sustava. ACE je enzim koji igra ključnu ulogu u održavanju krvnog tlaka. *In vivo* pokus na štakorima koji su osam tjedana konzumirali hranu koja je sadržavala 2 % usitnjenih listova medvjeđeg luka, pokazao je značajno nižu aktivnost ACE enzima u plazmi kod skupine koja se hranila medvjeđim lukom u odnosu na kontrolnu grupu (Rietz i sur., 1993). Nadalje, studije provedene na spontano hipertenzivnim štakorima (Okamoto soj) koji su dobivali hranu s/bez 1 % medvjeđeg luka pokazale su smanjenje sistoličkog tlaka nakon 45 dana (173 ± 0,7 mm Hg) u usporedbi s kontrolnom grupom (189 ± 1,2 mm Hg) (Preuss i sur., 2011). Hrana koja je u sebi sadržavala medvjeđi luk bila je puno učinkovitija od hrane koja je u sebi sadržavala češnjak u istoj koncentraciji (175 ± 1,2 mm Hg). Medvjeđi luk je smanjio povećanu koncentraciju inzulina i ukupnu razinu kolesterola, dok je HDL kolesterol imao tendeciju povećanja. Autori su zaključili da se navedeni učinci mogu povezati s visokom koncentracijom glutamil peptida, adenozina i fenola koji se nalaze u medvjeđem luku.

Kao što je već spomenuto, medvjeđi luk je u tradicionalnoj medicini cijenjen kao antimikrobni agens. Postoji značajan broj studija u kojima je antimikrobno djelovanje različitih ekstrakta pripremljenih iz različitih dijelova biljaka testirano *in vitro* protiv niza bakterijskih i gljivičnih sojeva. Usporedna analiza ekstrakta vode i metanola iz herbe medvjeđeg luka (u rasponu koncentracija 0,16 – 83,7 odnosno 0,06 – 35,5 mg/mL) pokazala je da je ekstrakt metanola iz herbe aktivniji protiv mikroba. Ekstrakt je inhibirao rast sljedećih bakterija: *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Salmonella enteritidis* i gljivica*: Cladosporium sp., Aspergillus niger, Rhizopus nigricans, Geotrichum candidum, Penicillium expansum, Candida lipolytica, Mycoderma, Saccharomycopsis fibuligera* (Synowiec i sur., 2010). Usporedna analiza djelovanja etanolnih ekstrakata iz cvjetova i listova medvjeđeg luka protiv *A. niger, Botrytis cinerea, Botrytis paeoniae, Fusarium oxysporum f.sp. tulipae, Penicilium gladioli* i *Sclerotina sclerotiorum,* pokazala je da ekstrakt iz cvjetova posjeduje veću antifungalnu aktivnost. Autori su zaključili da antifugalni učinci

ekstrakta mogu biti pozitivno korelirani sa sadržajem alicina: 1,946 mg alicina/mL ekstrakta cvijeta u odnosu na 0,028 mg alicina/mL ekstrakta lista (Parvu i sur., 2011). Čisti alicin u koncentracijama od 1,57 – 6,25 µg/mL pokazao je inhibitornu aktivnost protiv sojeva: *Candida, Cryptococcus, Trichophyton, Epidermophyton* i *Microsporum* (Ankri i Mirelman, 1999). Postoje i neke studije koje su procijenile potencijal medvjeđeg luka protiv parazita. Na primjer, sok iz lukovica je pokazao učinkovito djelovanje protiv slobodnih, živih nematoda *Rhabditis* sp., ličinka *Nippostrongylus brasiliensis* i ometao je razvoj jajašca svinjske gliste (*Ascaris suum*) (Chybowski, 1997).

Posljednjih godina raste interes za primjenom medvjeđeg luka u kulinarstvu, a naročito kao dodatka prehrani. U Eberbachu u Njemačkoj postoji festival pod nazivom „Barlauchtage“ (dani medvjeđeg luka) koji je posvećen ovoj biljci. Kod medvjeđeg luka najčešće se konzumiraju listovi i lukovice. Svježi listovi mogu se jesti sirovi ili kuhani, a mogu se pripremiti i kao „pesto“. Često se dodaju juhama, njokima, rižotima i tjesteninama, a osušeni listovi se mogu koristiti kao začin. Uz listove, cvjetovi medvjeđeg luka mogu se koristiti kao prilog salatama. Medvjeđi luk je jedan od sastojaka u proizvodima koji se terapijski koriste u Sveučilišnoj bolnici u Bukureštu (Rumunjska). U navedenoj bolnici, takvi se proizvodi koriste kao detoksikacijski i antiaterogeni lijekovi (Epure i sur., 2011).

Medvjeđi luk gubi ljekovitost ukoliko se njegovi biljni dijelovi kuhaju, suše ili smrzavaju. Može se čuvati određeni period u hladnjaku, a možemo ga konzervirati maslinovim uljem uz žličicu soli. Iz listova luka se može pripremiti tinktura (ekstrakt biljke otopljen u alkoholu) koja služi za detoksikaciju organizma (Glavaš, 2012). Lukovice se mogu čuvati kao i luk oko šest mjeseci na hladnom i suhom mjestu (Celing Celić, 2018a).

## 2.6. Uzgoj medvjeđeg luka

Glavni uzgajivači medvjeđeg luka na području Europe su: Bosna i Hercegovina, Njemačka, Švicarska, Srbija i Rumunjska. Međutim, ne postoji baza s podacima o količini i površini pod proizvodnjom (izvor: eNWFP DATABASE). Također, radi se o isključivo sezonskoj proizvodnji jer je medvjeđi luk dostupan samo nekoliko mjeseci godišnje (Celing Celić, 2018b).

### 2.6.1. Plodored

Na istoj površini proizvodnja se može ponoviti svakih 4 - 5 godina. Medvjeđi luk ne podnosi sam sebe niti bilo koji drugi luk kao predkulturu. Navedeni period od 4 – 5 godina je najsigurnija i ekološki najprihvatljivija mjera zaštite od lukove nematode koja može učiniti velike štete u nasadu (Damjanić, 2015). Medvjeđi luk može negativno utjecati na rast mahunarki poput graška, ali dobro raste s drugim biljkama kao što su mrkva, kamilica i ruže. Obično se uzgaja iza kultura gnojenih stajskim gnojem koje tlo ostavljaju rahlim i nezakorovljenim.

### 2.6.2. Priprema tla

Medvjeđi luk nije zahtjevna biljka, voli humusno i hranivima bogatije tlo. Visoki udio dušika i fosfora su poželjni za razvoj lisne mase i cvjetova. Najbolje raste u tlu pH vrijednosti od 5,5 do 8. Odmah nakon uklanjanja predkulture potrebno je obraditi tlo najprije plitkim oranjem te pred sjetvu (ili sadnju) usitniti tlo tanjuranjem (Damjanić, 2015). Prije sjetve ili sadnje u tlo se može unijeti dušično gnojivo oko 90 kg/ha u obliku amonijevog nitrata (34 % dušika).

### 2.6.3. Sjetva (sadnja)

Medvjeđi luk se može razmnožavati generativno (izravna sjetva sjemena) ili vegetativno (sadnja lukovica). Sjetvu bi bilo najbolje obaviti žitnim sijačicama ili polaganjem trake sa sjemenom u brazde. Pri tome se mora uzeti u obzir da sjeme medvjeđeg luka duže od jedne godine ne klija. Biolog Eggert je posijao sto sjemenki na osam pokusnih ploča da ispita klijavost. Sjemenke je smjestio u zemlju i prekrio ih lišćem iz prirodnog staništa (bukova šuma). Samo 15,8 ± 0,8 % sjemenki iz prethodne godine je proklijalo. Većina (61,3 ± 3,6 %) je proklijala u sljedećoj godini, a 3,3 ± 1,4 % proklijanih sjemenki je zabilježeno godinu dana kasnije. Temperatura je važan čimbenik pri klijanju. U laboratorijskim uvjetima, visoka stopa klijanja (do 63 %) može se postići stratifikacijom na 15 – 20 °C u trajanju od četiri mjeseca, a potom na 5 – 10 °C još četiri mjeseca. Konstantna izloženost niskim temperaturama (5 °C) na osam mjeseci dovodi do niske klijavosti od oko 5 % (Ernst, 1979). Lukovice se sade kasno u ljeto, sadilicama za luk i drugo gomoljasto povrće na razmak od 20 × 30 cm te se prekrivaju malčem od lišća i kore.

### 2.6.4. Mjere njege i berba

Nakon sjetve ili sadnje počinju rasti korovi koje treba pažljivo, mehanički ukloniti. Tlo cijelo vrijeme treba održavati vlažnim, a tijekom sušnih razdoblja malč pomaže da tlo zadrži vlagu. U prirodnom staništu medvjeđi luk nema problema s korovom jer među prvim biljkama izlazi iz zemlje te tako stvara gusti „tepih“ i ne dozvoljava drugim biljkama rast i razvoj. Prosječan prinos medvjeđeg luka je 6,2 kg/m², što je rezultat jakog busanja koje je karakteristično za višegodišnje lukove (Todorović i sur., 2009). Dobiveni prinos medvjeđeg luka koji je rastao slobodno u prirodi je značajno veći u odnosu na rezultate proizvodnje mladog luka i crvenog luka u zaštićenim prostorima (Todorović, 2002). Berba se vrši košnjom ako je cilj uzgoja list i cvijet, a vadilicama ili kombajnima za mrkvu ili luk ako je cilj uzgoja lukovica.

## 2.7. Kemijski sastav medvjeđeg luka

### 2.7.1. Sumporni spojevi

Medvjeđi luk ima intenzivan miris vrlo sličan češnjaku što je povezano s prisutnošću spojeva koji sadrže sumpor (Sobolewska i sur., 2015). Sumporni spojevi su najvažnije komponente medvjeđeg luka kako u smislu kemotaksonomske vrijednosti tako i u smislu farmakološke aktivnosti. Njihov kvalitativni i kvantitativni profil podložan je velikim varijacijama, a glavni razlog toga je njihova labilnost. Od različitih sumpornih spojeva prisutnih u ovoj, ali i u drugim biljkama roda *Allium*, glutamil peptidi i sulfoksidi smatraju se primarnima. Obično biljke iz tog roda sadrže visoku koncentraciju S-alk(en)il-L-cistein-sulfoksida, to su ne hlapljivi sumporni sekundarni metaboliti bez mirisa koji nakon naknadne hidrolize rezultiraju mnogim hlapljivim spojevima uključujući tiosulfinate i (poli)sulfide odgovorne za specifičnu aromu i miris lukova (Boscher i sur., 1995; Yoo i Pike, 1998). Antioksidacijska aktivnost vrsta *Allium* posljedica je nekoliko spojeva koji sadrže sumpor i njihovih prekursora, ali je također povezana s drugim bioaktivnim spojevima kao što su polifenoli, dijetalna vlakna i mikroelementi (Lenkova i sur., 2016). Medvjeđi luk pripada metin/alin tipu roda *Allium*, što znači da uglavnom sadrži mješavinu (+)-S-metil-L-cistein-sulfoksida (metina) i (+)-S-alil-L-cistein-sulfoksida=(+)-S-2-propenil-L-cistein-sulfoksida (alina) (Schmitt i sur., 2002; Kubec i sur., 2000).

Osim navedenih spojeva sadrži izoalin i propin, a etin je pronađen u uzroku svježih listova prikupljenih u mjesecu travnju u Češkoj (Kubec i sur., 2000). Kvantitativni profil cistein sulfoksida ovisi o vremenu berbe i biljnom dijelu koji se istražuje. U istom istraživanju u Češkoj, njihov ukupni sadržaj u listovima prikupljenim u travnju izražen u mg/100 grama svježe tvari iznosio je 101,9 (od toga: metin – 60,0, etin – 0,4, propin – 1,2, alin – 40,3 i izoalin – u tragovima) (Kubec i sur., 2000).

Analiza ukupnog sadržaja cistein sulfoksida u različitim dijelovima medvjeđeg luka prikupljenih u Njemačkoj tijekom vegetacijskog perioda (od ožujka do lipnja), pokazala je da su najveće razine dostignute u ožujku i travnju, odnosno prije cvjetanja (Schmitt i sur., 2002, 2005). Nadalje, kvantitativni profil istraživanih sulfoksida (alina, metina, izoalina i propina) se razlikovao tijekom vegetacijskog perioda. U ožujku je lukovica sadržavala gotovo iste količine alina i metina, dok je nekoliko tjedana kasnije alin postao vodeća komponenta (73 ± 18 %), a sadržaj metina je pao na 15 ± 9 % sredinom svibnja (Schmitt i sur., 2005).

Kao što je ranije spomenuto, cistein sulfoksidi podliježu hidrolitičkom cijepanju što dovodi do stvaranja brojnih hlapljivih sekundarnih produkata. To se događa posredstvom specifičnih enzima koji se nazivaju C,S-liaze (Landshuter i sur., 1994). Optimalni pH i temperatura za njenu aktivnost su 6,0 i 35 °C. Nakon inkubacije od 30 minuta uz pH 3,0 C,S-liaza medvjeđeg luka gubi svoju aktivnost za 90 %. Ipak, njena enzimska svojstva su zadržana na niskim temperaturama što osigurava cjelogodišnju zaštitu podzemnih dijelova biljke. Primarni produkti nastali kao posljedica aktivnosti C,S-liaze su tiosulfinati, piruvična kiselina i amonijak. Glavni tiosulfinati koji se nalaze u ekstraktu medvjeđeg luka su alicin i metil-alil ili

dimetil tiosulfinat (Sendl i Wagner, 1991). Prema Sendlu (1995), oni čine 75 – 90 % svih spojeva nastalih odmah nakon hidrolize cistein sulfoksida. Tiosulfinati su nestabilni, reaktivni spojevi koji se lako razgrađuju na (poli)sulfide, ditine, ajoene i druge hlapljive i ne hlapljive spojeve. Ovo se događa tijekom skladištenja, obrade, u prisutnosti organskih otapala i pri toplinskoj obradi. Alicin je vrlo nestabilan čak i na sobnoj temperaturi. Istraživanja Bagiu i sur. (2010) pokazala su da se nakon 20 sati pri 20 °C u potpunosti razgrađuje što rezultira di-2-propenil disulfidom, di-2-propenil trisulfidom, di-2-propenil sulfidom i sumpornim dioksidom.

Količina eteričnog ulja u medvjeđem luku ovisi o stanju tla, geografskoj lokaciji i dijelu biljke koji se koristi. Od preko 20 komponenti identificiranih u ulju medvjeđeg luka sakupljenog u Srbiji, najzastupljenije komponente su bile disulfidi (54,7 %), zatim trisulfidi (37,0 %), tetrasulfidi (4,7 %) i ne sulfatne komponente (1,0 %) (Godovec i sur., 2008). S druge strane, sastav eteričnih ulja tri ekotipa medvjeđeg luka prikupljenog u Poljskoj značajno se razlikovao u dominantnim komponentama (Blazewicz-Wozniak i Michowska, 2011). Ekotip 'Roztoczea' sadržavao je metil-2-propenil disulfid (prosječno 16,05 %), 6,10,14-trimetil-2-pentadekanon (13,55 %), nonanal (11,93 %) i dimetil-trisulfid (12,07 %) kao glavne komponente. Ekotip 'Dukla' se uglavnom sastojao od fitola (17,03 %) i n-heksadenske kiseline (16,57 %), dok je u ulju Bieszczady ekotipa dominirao fitol acetat (16,40 %) i (E)-b-ionon (13,33 %) (Blazewicz-Wozniak i Michowska, 2011).

Osim studija o sastavu eteričnog ulja iz medvjeđeg luka, zanimljivo je i istraživanje emisije organskih sumpornih spojeva u atmosferu. Takva istraživanja su provedena u Bečkom predgrađu, u šumovitom parku u kojem je medvjeđi luk rastao kao pokrov na tlu (Puxbaum i Konig, 1997). Stope emisije sumpora (μg S) po gramu suhe tvari i po jedinici površine su iznosile 1 μg/g × h i 60 μg/m² × h. Autori su zaključili da je to najviša stopa ikad zabilježena za takve tvari emitirane iz kopnene biljke.

### 2.7.2. Fenoli

Osim komponenti na bazi sumpora, medvjeđi luk je jako dobar izvor fenola. Ukupni sadržaj polifenola izražen kao ekvivalent galne kiseline (GAE) u ekstraktu lišća dobivenom 12-dnevnom maceracijom sa 70 %-im etanolom na sobnoj temperaturi bio je veći u usporedbi s ultrazvučnom ekstrakcijom: 27,9 g GAE/100 g suhe tvari u odnosu na ~ 10 g GAE/100 g (Gitin i sur., 2012). U istraživanju Đurđevića i sur. (2004) ukupni sadržaj slobodnih fenola u listovima iznosio je 3,24 mg/g, dok je u lukovicama iznosio 2,30 mg/g. Sadržaj vezanih formi bio je otprilike isti u listovima i lukovicama (1,10 i 1,00). S druge strane, prema istraživanju Kerana i sur. (2015) sadržaj ukupnih fenola u listovima je iznosio od 552,89 do 571,12 mg GAE/100 g svježe tvari, a u ekstraktu 285,80 mg GAE/g ekstrakta.

Studije o sadržaju fenolnih kiselina u svježem lišću i lukovicama prikupljenih u šumi u zapadnoj Srbiji pokazale su neke razlike između slobodnih i vezanih spojeva u navedenim dijelovima biljaka (Đurđević i sur., 2004). Količina slobodnih fenolnih kiselina u listovima i lukovicama iznosila je 119,75 i 180,91 μg/g, a vezanih oblika 135,30 odnosno 248,97 μg/g. Listovi su sadržavali slobodne forme ferulinske i vanilinske kiseline, te vezane oblike p-

kumarinskih, ferulinskih i vanilinskih kiselina. U lukovicama su pronađene slobodne ferulinske, p-hidroksibenzojeve i vanilinske kiseline, te vezani oblici p-kumarinske i ferulinske kiseline.

Flavonoidi i neflavonoidi su skupine fenolnih spojeva. Velik broj ljekovitih biljaka sadrži flavonoide koji imaju izraženu antioksidacijsku aktivnost (Lovrić, 2014). Zbog toga im se pripisuju mnoga terapijska djelovanja, npr. antibakterijsko, protuupalno, antialergijsko, antimutageno, antiviralno i antikancerogeno (Lovrić, 2014). Sadržaj flavonoida (izražen u mg ekvivalenta kvercetina - QE) određivan je u svježem lišću prikupljenom u ožujku iz „Bacau city“ šume u Rumunjskoj. Koristeći ekstrakciju uz pomoć ultrazvuka, sadržaj flavonoida je iznosio 7,3 mg QE/kg svježe biljke; dok je konvencionalnom maceracijom sadržaj iznosio 2,7 mg QE/kg (Gıtin i sur., 2012). Također, ukupni sadržaj flavonoida u različitim dijelovima medvjeđeg luka prikupljenog u lipnju u šumskom području u blizini Wrocława (Poljska) značajno se razlikovao: sjemenke - 73,14 mg/100 g suhe mase, stabljike - 206,07 mg/100 g, zeleno lišće – 1 856,31 mg/100 g, žuti listovi 2 362,96 mg/100 g (Oszmianski i sur., 2013).

### 2.7.3. Ostali spojevi

Ostali spojevi identificirani u medvjeđem luku uključuju lektine izolirane iz lukovica, korijena i listova sakupljenih u travnju (Smeets i sur., 1997). Lukovice su također bogate polisaharidima, a u njihovom ekstraktu mogu se naći kiseline poput palmitinske, linolenske, oleinske, stearinske, α-linolenske i miristinske (Wiater i sur., 1998). Vodeni ekstrakti daju farmakološki vrijedne γ-glutamil-peptide i mnoge druge aminokiseline kao što su: asparagin, glutamin, asparaginska kiselina, glutaminska kiselina, arginin, alanin, glicin, treonin (Wagner i Sendl, 1990).

Primarna funkcija biljnih pigmenata je njihova uloga u procesu fotosinteze, dok ostale funkcije prvenstveno uključuju privlačenje insekata zbog potrebe oprašivanja (Šic Žlabur i sur., 2016). Klorofili su najvažniji biljni pigmenti aktivni za vrijeme fotosinteze i nalaze se u kloroplastima. U vodi netopljiv, djelomično lipofilni klorofil pojavljuje se kod većine biljaka u dva kemijski srodna oblika: kao modro zeleni klorofil a i kao žutozeleni klorofil b. Listovi medvjeđeg luka su relativno bogati pigmentima u odnosu na druge biljke iz roda *Allium*, a sadržaj pigmenata iznosi: 2,87 mg/g klorofila a, 1,35 mg/g klorofila b i čak 9,99 mg/g karotenoida (Štajner i Szllosi Varga, 2003). U istraživanju Štajnera i sur. (2008) sadržaj klorofila a je iznosio 2,87 mg/g, klorofila b 1,35 mg/g, karotenoida 3,99 mg/g i flavonoida 171,20 mg/g u listovima medvjeđeg luka za vrijeme cvatnje. Od sadržaja ispitivanih makro i mikroelemenata u mladom medvjeđem luku, treba istaknuti sadržaj željeza 247,9 (mg/kg) čiji sadržaj je jednak sadržaju željeza u špinatu (Lešić i sur., 2002), a veći od sadržaja željeza u crvenom luku (Fenweck i Hanly, 1990).

U istraživanju Golubkine i sur. (2010) sadržaj vitamina C u medvjeđem luku iznosio je 63 mg/100 g svježe tvari, dok prema istraživanju Štajnera i Szllosi Varga (2003) sadržaj vitamina C u listovima medvjeđeg luka iznosi 0,020 mg/g. Medvjeđi luk je bogat izvor adenozina (120 mg/kg) (Nagori i sur., 2010).

Istraživanje o volumenu i koncentraciji cvjetnog nektra na „Mescek planini“ u Mađarskoj pokazalo je da medvjeđi luk stvara niske do srednje volumene (0,1 – 3,8 µL) visoko koncentriranog cvjetnog nektra (25 – 50 % koncentracije šećera) (Farkas i sur., 2012). Cvjetovi izloženi izravnoj sunčevoj svjetlosti proizvodili su manje količine nektara u odnosu na one koji su se nalazili u zasjeni. Veći volumen nektara s većim sadržajem šećera nalazio se u populacijama medvjeđeg luka koje su rasle u optimalnim uvjetima za navedenu biljku (u šumama hrasta i graba), u odnosu na biljke koje su rasle u šumama lipe i jasena.

Prema istraživanju Todorović i sur. (2009), prosječan sadržaj suhe tvari u samoniklom, mladom medvjeđem luku iznosi 15,2 %. Međutim, klimatski uvjeti godine imali su značajan utjecaj na sadržaj suhe tvari. U godini s manje padalina i nešto višim prosječnim temperaturama, sadržaj suhe tvari u mladom luku bio je 2,5 puta veći (21,7 %). U istraživanju Blazewicz-Wozniak i Michowske (2011) listovi medvjeđeg luka sadržavali su u prosjeku od 6,69 do 15,70 % suhe tvari, a sadržaj je ovisio o ekotipu i o godini uzgoja. Prema Dyduch i Najda (2001) suha tvar u listovima medvjeđeg luka varira od 10,7 do 15,8 %.

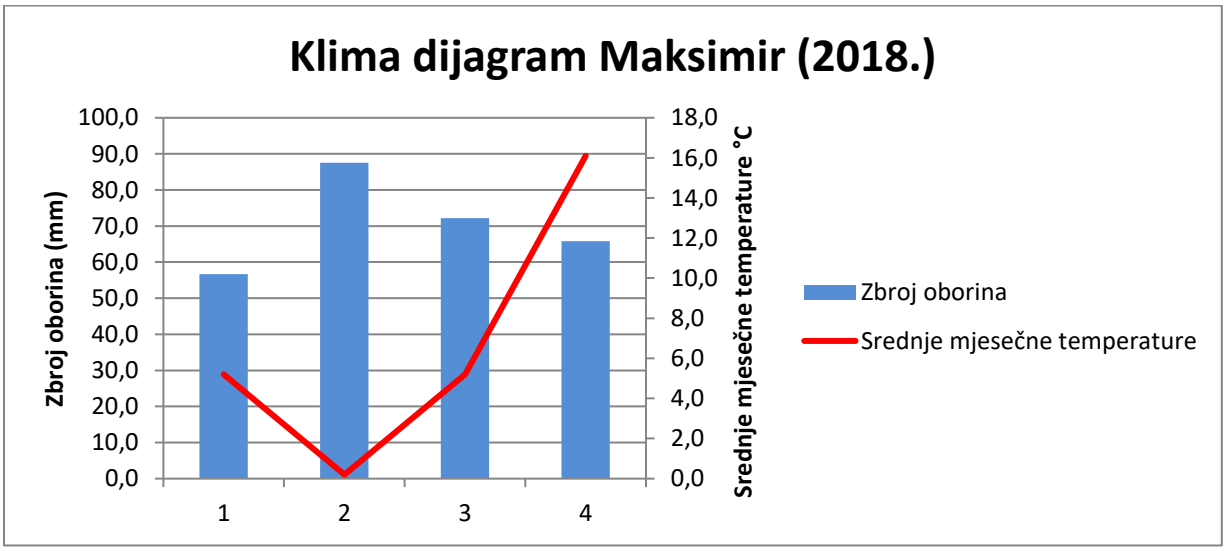
Piatkowska i sur. (2015) su određivali nutritivni, odnosno, osnovni kemijski sastav listova različitih sorata češnjaka, ali i kultiviranog medvjeđeg luka. Prema navedenom istraživanju, medvjeđi luk sadrži 79,0 g/kg suhe tvari, 13,7 g/kg bjelančevina, 5,6 g/kg masti, 50,8 g/kg ukupnih ugljikohidrata i 26,9 g/kg vlakana. Sadržaj vitamina C iznosi 56,1 mg/kg, ukupnih fenola 529,7 mg/kg, a antioksidativna aktivnost je iznosila 24,98 mmol TEAC/kg. U usporedbi s različitim sortama češnjaka (sorte *'Harnaš', 'Ornak', 'Mega', 'Arkus'*), medvjeđi luk je imao manje suhe tvari, manje bjelančevina, ukupnih ugljikohidrata i vlakana, a više masti i veći sadržaj kalija, magnezija i željeza. Sadržaj vitamina C je također bio manji nego u ispitivanim sortama češnjaka, dok su ukupni fenoli bili veći kod medvjeđeg luka nego kod sorte *'Ornak'* (335,3 mg/kg). Antioksidativna aktivnost ispitivanih uzoraka bila je približno jednaka vrijednosti izmjerenoj kod medvjeđeg luka.

# 3. Materijali i metode istraživanja

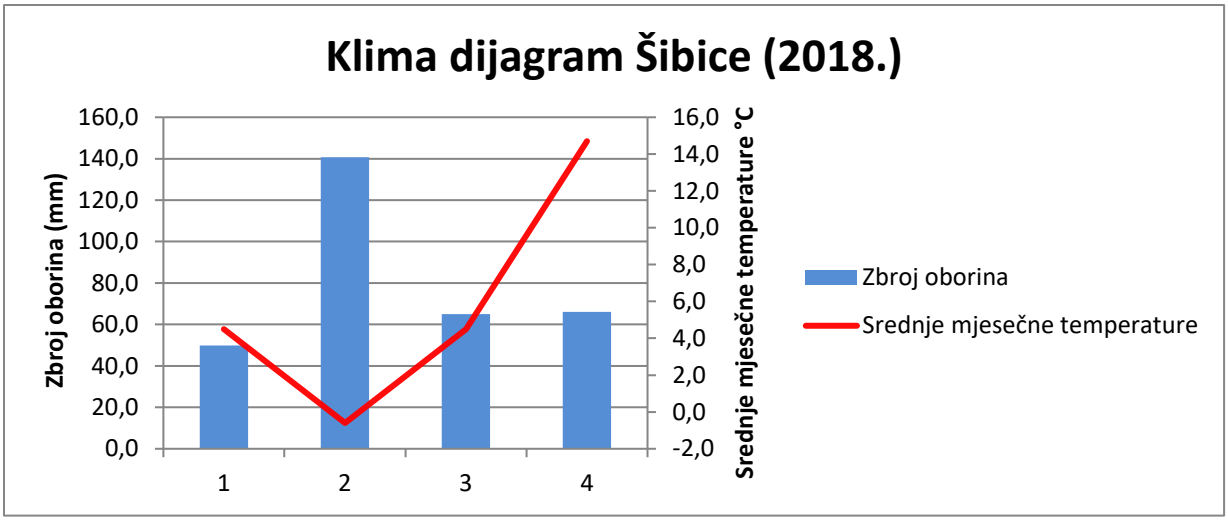
## 3.1. Biljni materijal

Listovi samoniklog medvjeđeg luka ubrani su na pet različitih mikrolokacija na području grada Zagreba i Samobora. Mikrolokacije s kojih je prikupljen biljni materijal su: 1) 'Maksimir uz cestu', 2) 'Maksimir uz potok', 3) 'Vukomerec', 4) 'Rude' (Samobor) i 5) 'Tuškanac'. Prva berba listova medvjeđeg luka prije cvatnje obavljena je 04.04.2018. godine u ranojutarnjim satima. Listovi su stavljeni u platnene vreće, a potom spremljeni u hladnjak na 24 sata do analize biljnog materijala. Druga berba listova je obavljena 19.04.2018. u vrijeme cvatnje, a daljnji postupak je bio isti kao i kod prve berbe.

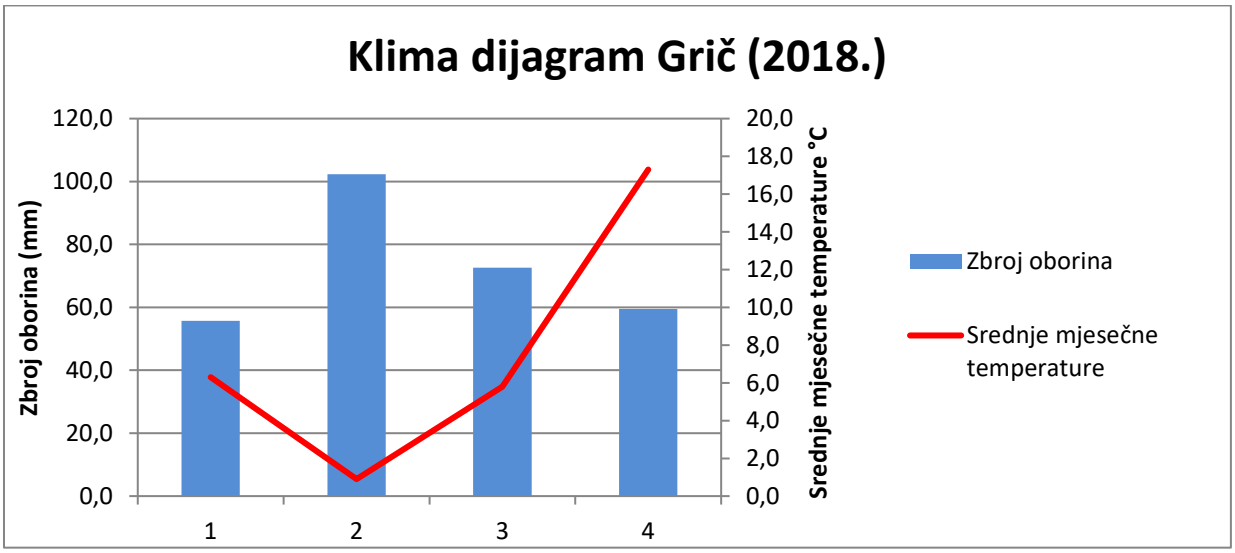
Klimatske prilike pojedine mikrolokacije u periodu od četiri mjeseca (od siječnja do travnja) opisane su klima dijagramima (Grafikoni 1-3) s podacima iz meteoroloških postaja koje se nalaze najbliže lokacijama sa kojih je prikupljen biljni materijal. Tako za lokacije 'Maksimir uz cestu', 'Maksimir uz potok' i 'Vukomerec' vrijedi klima dijagram meteorološke postaje Maksimir (Grafikon 1); za lokaciju 'Rude' iz meteorološke postaje Šibice (Grafikon 2), a za 'Tuškanac' iz postaje Grič (Grafikon 3).




**Grafikon 1.** Klima dijagram s podacima iz meteorološke postaje Maksimir (DHMZ, 2018)

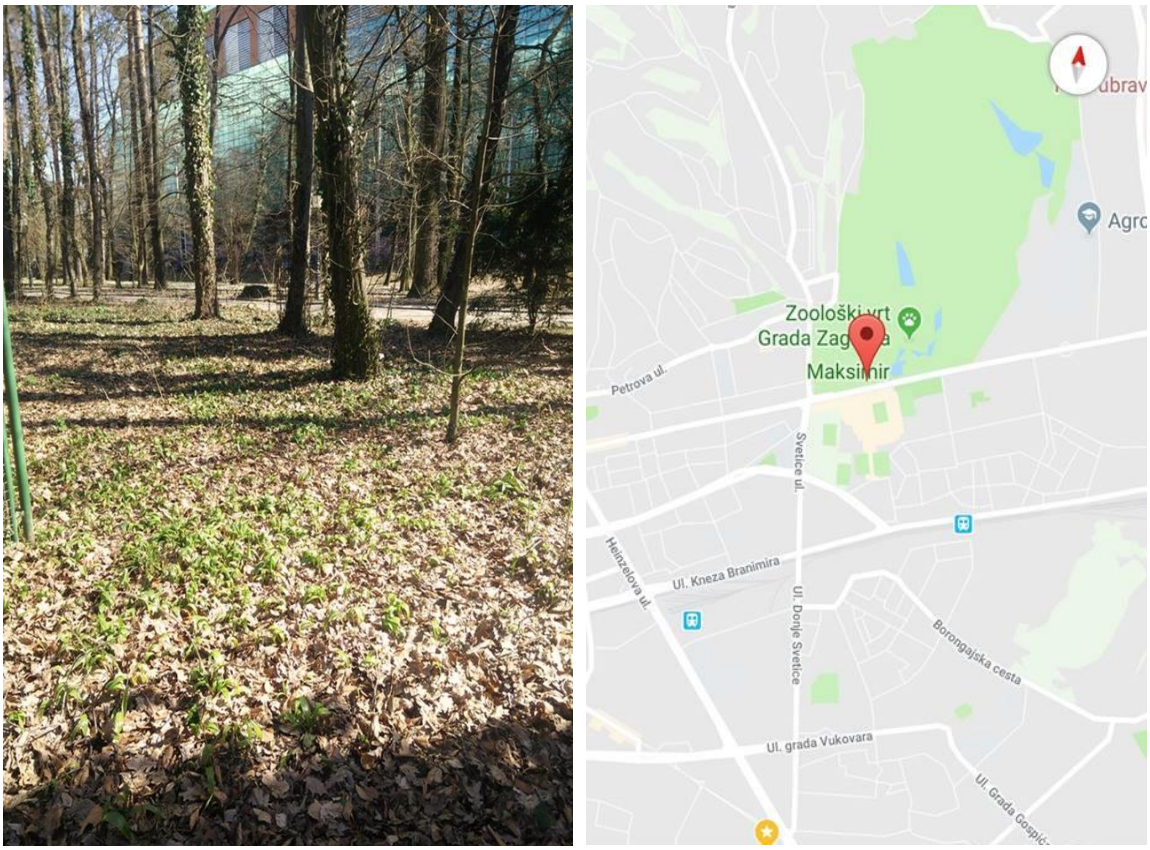



**Grafikon 2.** Klima dijagram sa podacima iz meteorološke postaje Šibice (DHMZ, 2018)

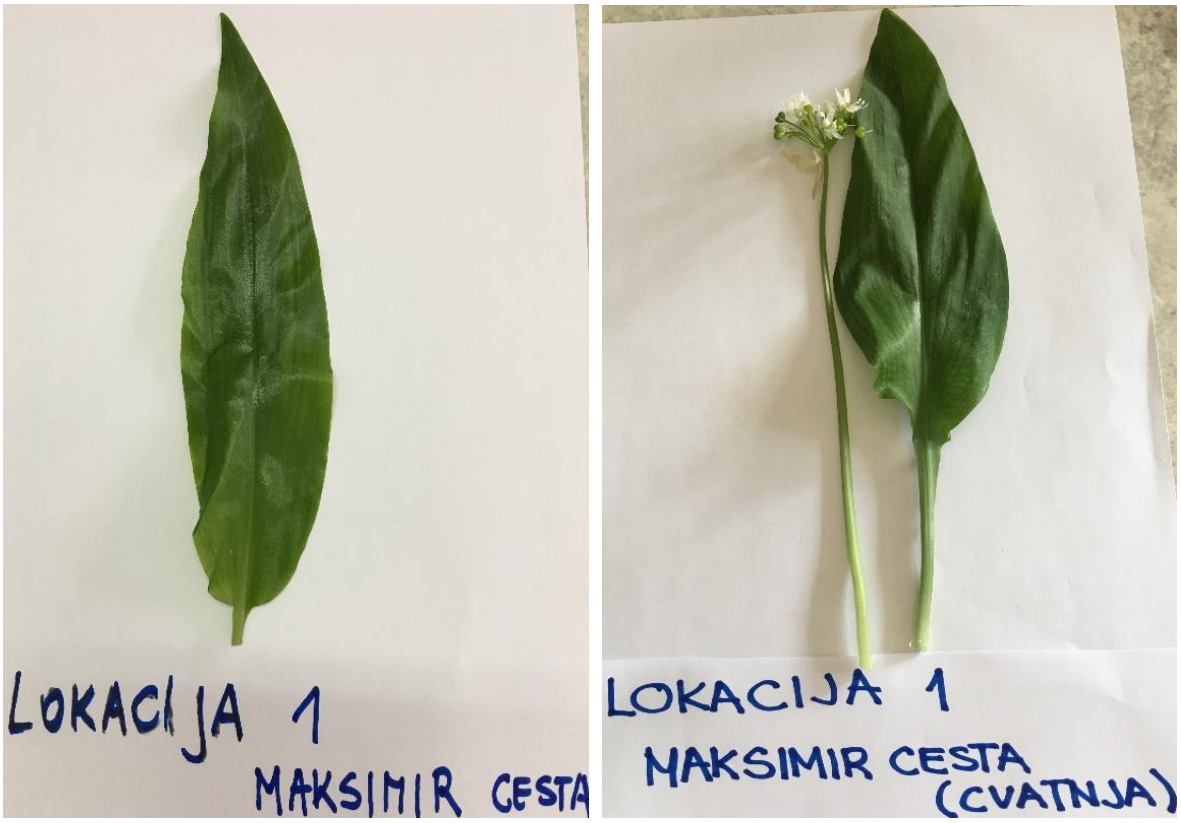



**Grafikon 3.** Klima dijagram sa podacima iz meteorološke postaje Grič (DHMZ, 2018)

Prva od navedenih mikrolokacija smještena je na 15 metara od ceste s pojačanim prometom (Slika 7). Biljke su se nalazile u malim skupinama u suncu i polusjeni, a u vrijeme prvog obilaženja staništa (13.03.2018.) temperatura zraka iznosila je 15 °C na navedenom području, a vlaga 60 %, tada su biljke bile u fazi nicanja. Slika 8 prikazuje biljni materijal s navedenog staništa u vrijeme ispitivanja. Na istom staništu su se uz medvjeđi luk nalazile biljke: kozlac (lat. *Arum maculatum*), šuplja šupaljka (lat. *Corydalis cava*), bijela šumarica (lat. *Anemone nemorosa*) i bršljan (lat. *Hedera helix*). U južnom dijelu parka Maksimir gdje se nalaze dvije navedene mikrolokacije, dominira hrast lužnjak (lat. *Quercus robur*) i obični grab (lat. *Carpinus betulus*) (izvor: http://www.park-maksimir.hr/Maksimir_hr/). Prema pedološkoj karti Hrvatske, tip tla na području Maksimira je pseudoglej obronačni.

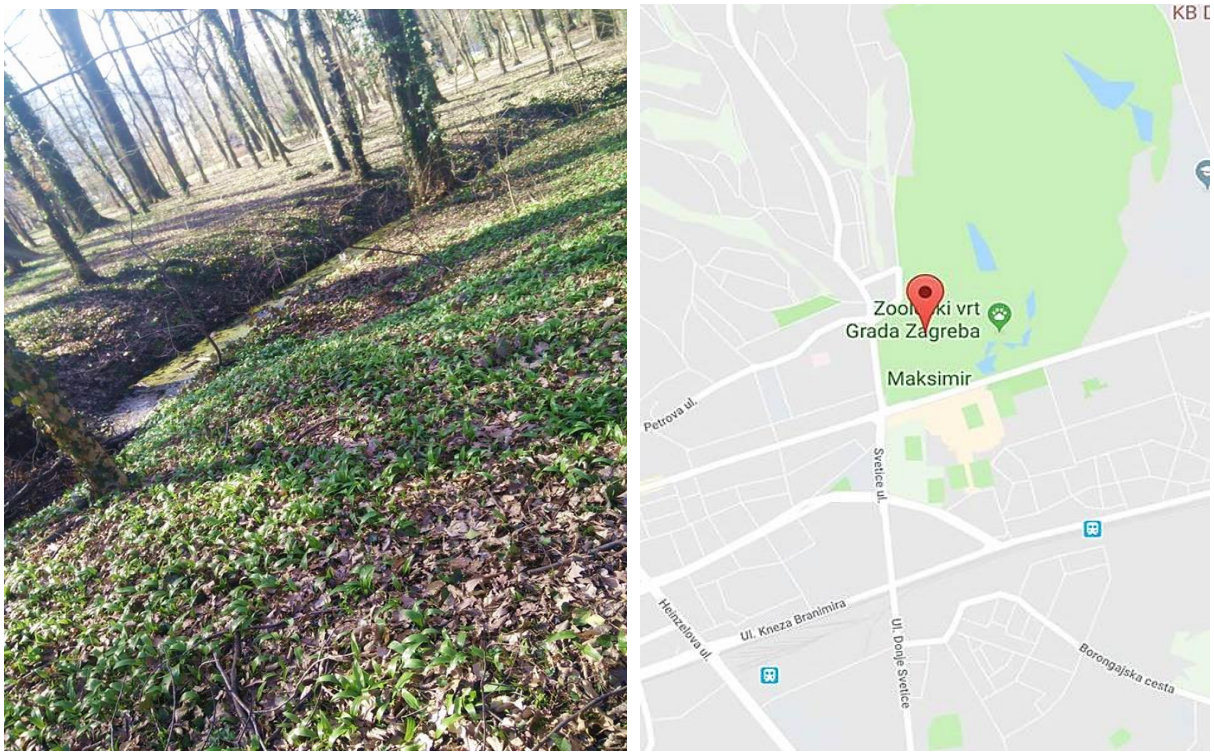



**Slika 7.** Prikaz staništa 'Maksimir uz cestu' (desno: www.google.hr/maps)

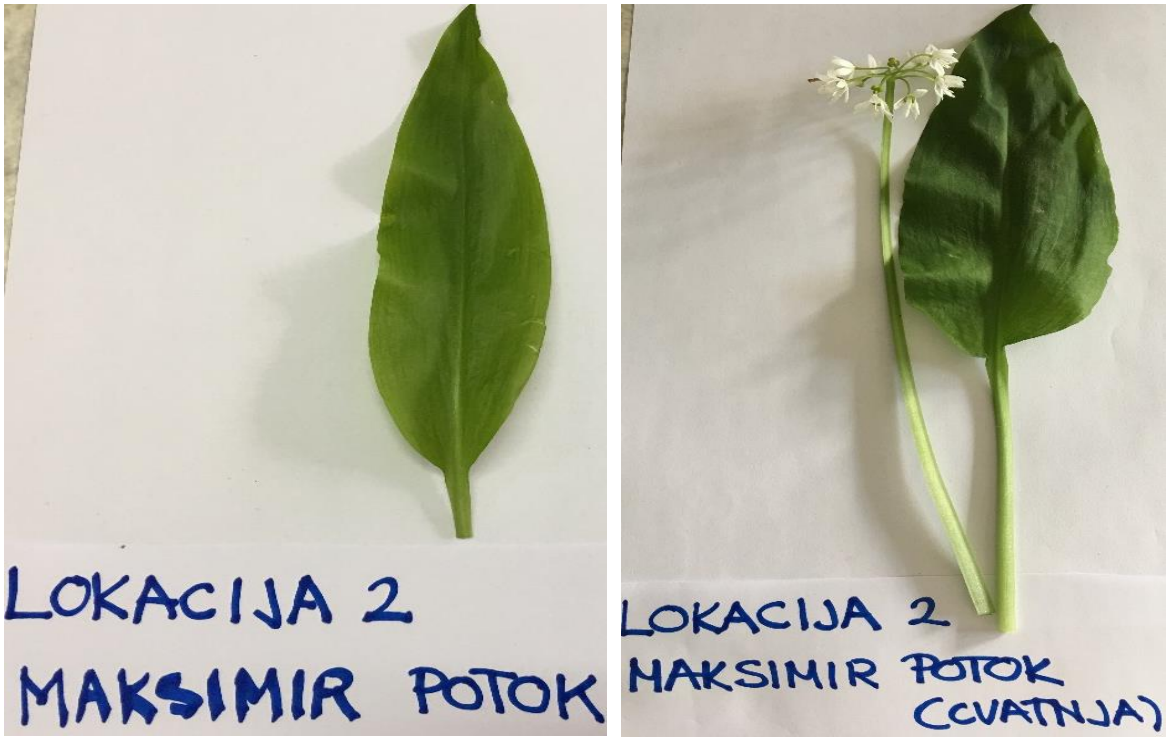



**Slika 8.** Biljni materijal 'Maksimir cesta' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno)

Sljedeća lokacija sa koje je sakupljen biljni materijal je 'Maksimir potok' (Slika 9). Na ovoj lokaciji biljke su rasle u gustom sklopu uz potok Bukovčak, a sa udaljavanjem od potoka prema pješačkoj stazi biljaka je bilo sve manje. Na ovom staništu biljke su se nalazile u sjeni i polusjeni na vlažnom tlu. Na Slici 10 prikazan je biljni materijal sa staništa u vrijeme ispitivanja.

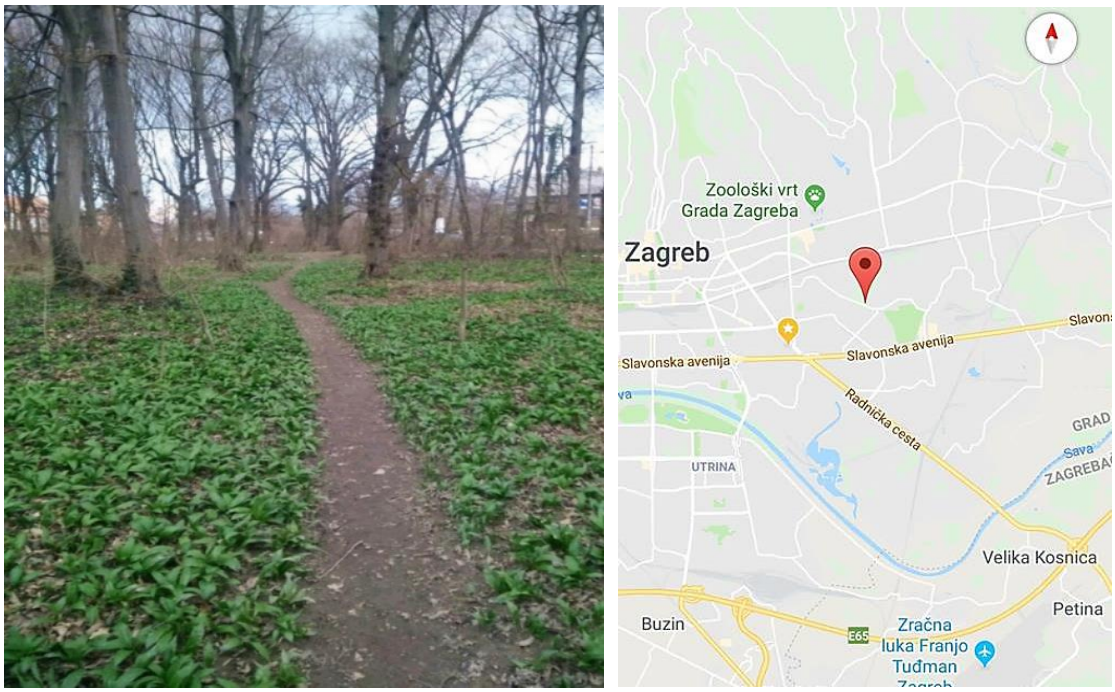



**Slika 9.** Prikaz staništa 'Maksimir uz potok' (desno: www.google.hr/maps)

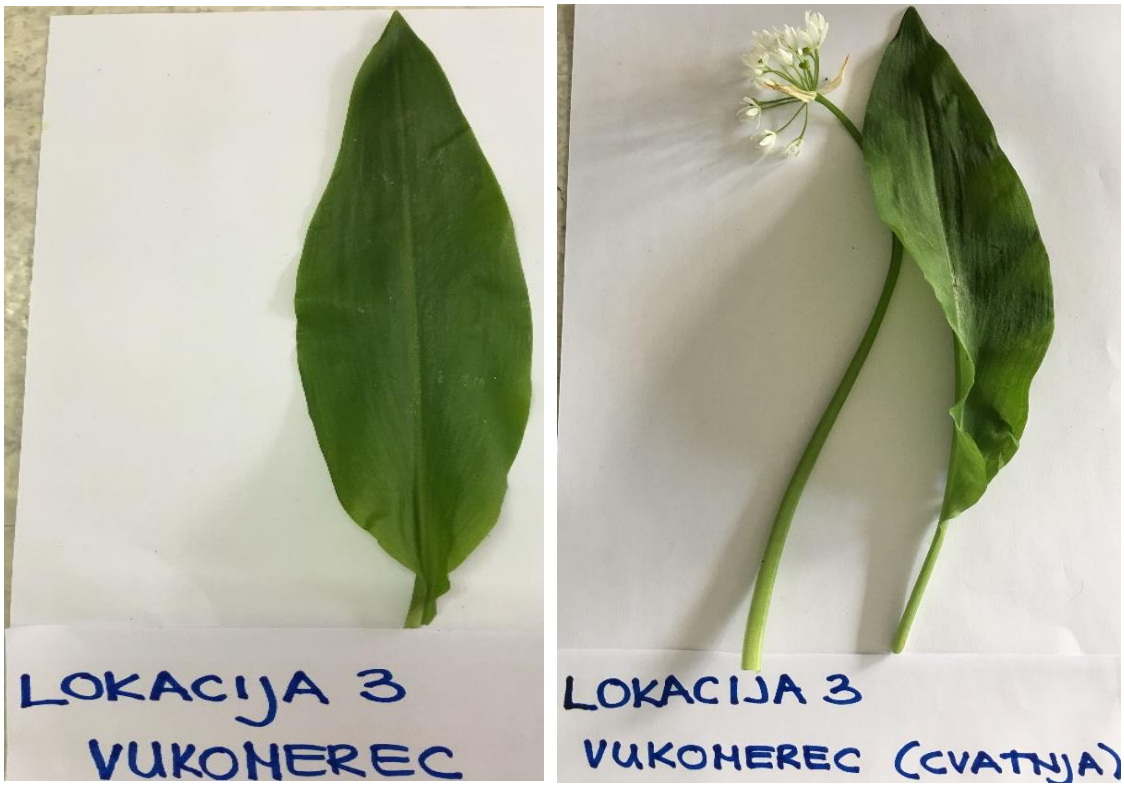



**Slika 10.** Biljni materijal 'Maksimir potok' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno)

Na lokaciji 'Vukomerec', medvjeđi luk je rastao u gustom sklopu, u sjenovitoj šumi kraj ceste i na vlažnom tlu (Slika 11). U usporedbi sa mikrolokacijama u Maksimiru, ovdje je medvjeđeg luka bilo znatno više te je činio pokrov kroz cijelu šumu i bio dominantna biljna vrsta. Na slici 12 prikazan je biljni materijal s lokacije 'Vukomerec' u vrijeme istraživanja. Prema pedološkoj karti na području 'Vukomereca' se nalazi aluvijalni tip tla.




**Slika 11.** Prikaz staništa 'Vukomerec' (desno: www.google.hr/maps)

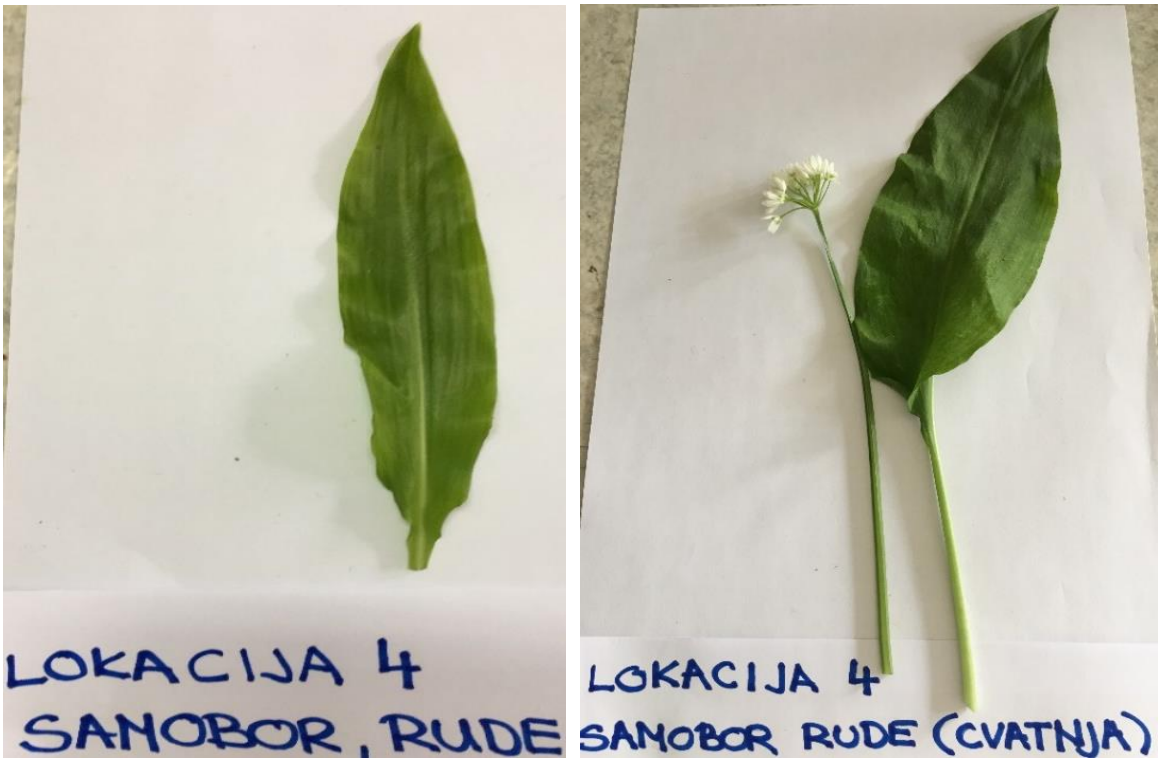



**Slika 12.** Biljni materijal 'Vukomerec' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno)

Sljedeća lokacija sa koje je prikupljen materijal su 'Rude' (Slika 13). 'Rude' se nalaze na 287 metara nadmorske visine, a naselje se nalazi na obroncima Samoborskog i Žumberačkog gorja. Na ovoj lokaciji medvjeđeg luka ima po obroncima i uz potok Gradnu u velikim količinama. Na Slici 14 prikazan je biljni materijal s navedene lokacije u vrijeme istraživanja. Prema pedološkoj karti Hrvatske, tip tla na lokaciji 'Rude' je kiselo smeđe na klastitima.




**Slika 13.** Prikaz staništa 'Rude' (desno: www.google.hr/maps)

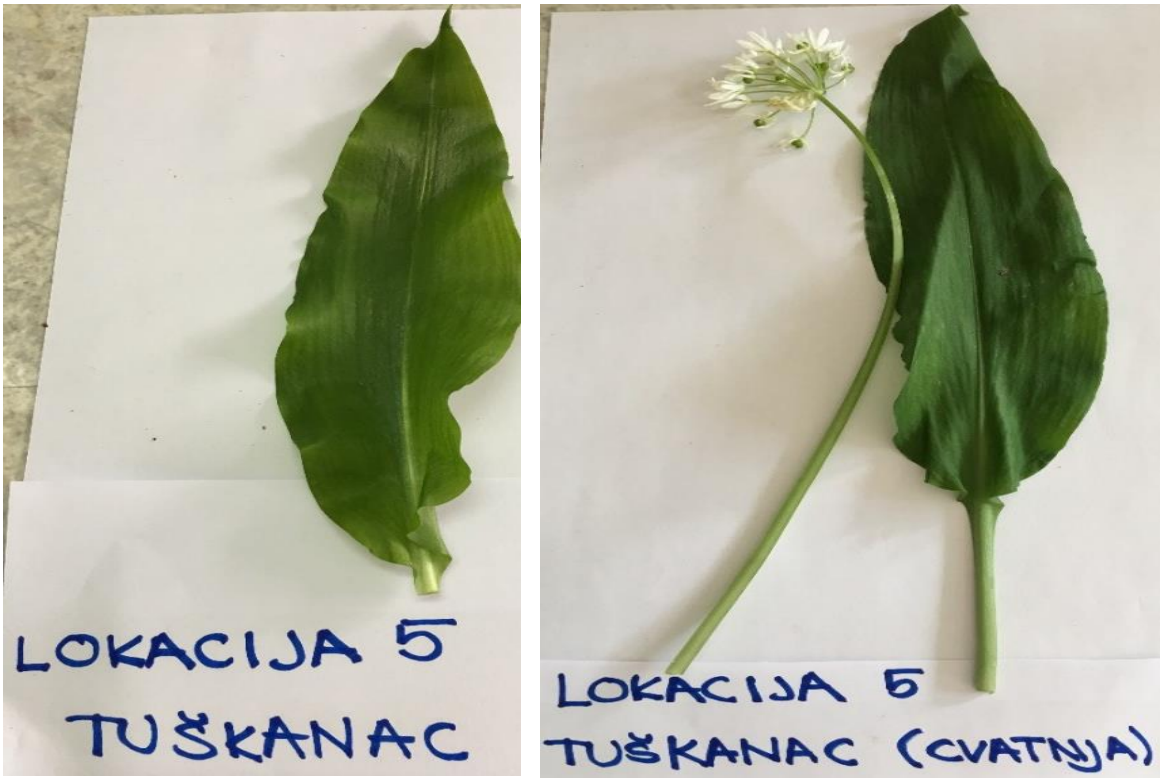



**Slika 14.** Biljni materijal 'Rude' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno)

Zadnja lokacija na kojoj je prikupljen biljni materijal je 'Tuškanac'. Medvjeđi luk se na navedenoj lokaciji nalazio na maloj padini (odnosno brežuljku) (Slika 15). Od prometnice je udaljen 20-ak metara, a promet je na navedenoj lokaciji slab. Stanište na kojem raste je sjenovito, odnosno polusjenovito, a tlo vlažno. Na ulazu u šumu nalaze se male grupe medvjeđeg luka dok ga na padini ima više. Na Slici 16 prikazan je biljni materijal sa ovog područja u vrijeme istraživanja. Tip tla na širem području Tuškanca je pseudoglej obronačni.




**Slika 15.** Prikaz staništa 'Tuškanac' (desno: www.google.hr/maps)




**Slika 16.** Biljni materijal 'Tuškanac' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno)

## 3.2. Metode

### 3.2.1. Određivanje morfoloških karakteristika

Prije kemijske analize se na uzorku od 15 listova mjerila njihova dužina, širina i boja. Mjerenje je izvršeno u dva navrata: prije cvatnje i za vrijeme cvatnje. Listovi su mjereni digitalnim pomičnim mjerilom (Jiangsu, Kina), a kromatske vrijednosti su zabilježene uz pomoć kolorimetra (PCE CSM 4, PCE Instruments, UK). Intenzitet boje listova utvrđen je CIELab kolorimetrijskim pristupom. CIELab prostor opisuju slijedeće osi: L* - akromatska os svjetline sa rasponom od 0 (idealno crne) do 100 (idealno bijele) koja opisuje količinu boje reflektiranu od promatrane površine i dvije kromatske osi: a* crveno/zelena kromatska os, sa + a* koja označava crveno i – a* koja označava zeleno, b* žuto/plave kromatska os, sa + b* koja označava žutu i – b* koja označava plavu. Kartezijanske kordinate L*, a* i b* služe za izračun cilindričnih koordinata: kromatičnosti boje C* koja je određena zasićenjem boje i kutom tona boje, h* čija je vrijednost izražena u stupnjevima pa kut vrijednosti 0° predstavlja poziciju na + a*osi, 90° na + b* osi, 180° na – a*, 270° na – b*, dok je kut vrijednosti 360° zapravo crna boja.

### 3.2.2. Određivanje ukupne suhe tvari sušenjem na 105 °C

Ukupnu suhu tvar čini cjelokupna količina tvari iz sastava proizvoda koja ne isparava pod definiranim uvjetima (Katalinić, 2006). Ovisno o sastavu proizvoda, za određivanje ukupne suhe tvari primjenjuju se tri postupka sušenja: sušenje na 105 ºC, sušenje u vakuumu i destilacija. U ovom radu korištena je metoda sušenja pri 105 ºC (AOAC, 1995).

Aparatura i pribor:

- laboratorijski sušionik (Heraeus, Typ R.B. 360 GmbH, Hanau)
- eksikator
- staklene posudice
- analitička vaga (Sartorius)
- stakleni štapić odgovarajuće duljine ovisno o veličini posudice
- kvarcni pijesak

Postupak određivanja:

U osušenu i izvaganu staklenu posudicu s poklopcem stavi se oko 5 g kvarcnog pijeska i stakleni štapić. Potom se osuši u laboratorijskom sušioniku pod određenim uvjetima sa skinutim poklopcem. Nakon sušenja poklopac se stavi na posudicu, posudica se izvadi iz sušionika i ohladi u eksikatoru, a zatim važe s točnošću 0,0002 g. U ohlađenu i izvaganu posudicu s pijeskom stavi se oko 3 – 5 g pripremljenog uzorka, koji se dobro izmiješa staklenim

štapićem i sve zajedno izvaže točnošću 0,0002 g. Staklena posudica u kojoj se nalazi pijesak i ispitivana količina uzorka stavi se u laboratorijski sušionik zagrijan na 105 ºC ± 0,5 ºC u kojem se zagrijava jedan sat sa skinutim poklopcem. Nakon hlađenja i vaganja, sušenje se nastavlja sve dok razlika nakon dva uzastopna sušenja u razmaku od pola sata ne bude manja od 0,001 g. Iznova se važe s točnošću ± 0,0002 g.

Formula: $$\text{Suha tvar (\%)} = \frac{m2-m0}{m1-m0} \times 100$$

Prema kojoj je:

m0 (g) – masa posudice i pomoćnog materijala (pijesak, stakleni štapić, poklopac)

m1 (g) – masa posudice s ispitivanim uzorkom prije sušenja

m2 (g) – masa posudice s ostatkom nakon sušenja

### 3.2.3. Određivanje ukupne kiselosti

Ova se metoda temelji na potenciometrijskoj titraciji otopinom natrijeva hidroksida (AOAC, 1995), a primjenjuje za određivanje ukupne kiselosti u voću, povrću i proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor:

- graduirana pipeta, obujma 25 i 100 ml
- odmjerna tikvica, obujma 250 ml
- analitička vaga (Sartorius)
- potenciometar sa staklenom elektrodom (Mettler Toledo, Sevenmulti)
- bireta obujma 100 ml
- filter papir

Reagensi:

- natrijev hidroksid, otopina c (NaOH) = 0,1 mol/l
- puferna otopina poznatog pH

Priprema uzoraka:

Uzorak se homogenizira i odvagne se 20 g, te se prenese u odmjernu tikvicu obujma 200 mL, tikvica se dopuni do oznake destiliranom vodom i njezin sadržaj dobro promućka i profiltrira. Potenciometar se baždari pomoću puferne otopine. Ovisno o očekivanoj kiselosti otpipetira se 25 ml pripremljenog uzorka i prenese u čašu s miješalicom. Miješalica se pusti u rad, a zatim iz birete brzo dodaje otopina natrijeva hidroksida dok se ne postigne pH oko 7,90 – 8,01.

Formula:

$$\text{Ukupna kiselost (\%)} = \frac{V \times F \times G}{D} \times 100$$

Prema kojoj je:

V (mL) - volumen utrošene NaOH pri titraciji

F - faktor normaliteta NaOH

G (g/mL) - gramekvivalent najzastupljenije kiseline u uzorku

D (g) - masa uzorka u titriranoj tekućini

### 3.2.4. Određivanje pH vrijednosti

Mjerenje pH vrijednosti određuje se pH-metrom, uranjanjem kombinirane elektrode u homogenizirani uzorak i očitavanjem vrijednosti ( AOAC, 1995).

Aparatura i pribor:

- čaša volumena 25 mL
- magnet za miješanje
- magnetska miješalica (MM-510)
- pH-metar (Mettler Toledo, Sevenmulti)
- analitička vaga (Sartorius)

Priprema uzoraka:

Uzorci se najprije profiltriraju kako bi se uklonile balastne tvari, a zatim slijedi postupak određivanja pH vrijednosti.

Postupak određivanja:

Prije mjerenja pH-metar se baždari pufer otopinom poznate pH vrijednosti kod sobne temperature. pH vrijednost određuje se uranjanjem elektrode u ispitivani uzorak.

### 3.2.5. Određivanje L-askorbinske kiseline

2,6-p-diklorindofenol oksidira L-askorbinsku kiselinu u dehidrosakorbinsku kiselinu, dok boja reagensa ne prijeđe u bezbojnu leukobazu, pa služi istovremeno i kao indikator ove redoks reakcije. Ova metoda se primjenjuje za određivanje askorbinske kiseline u proizvodima od voća i povrća (AOAC, 2002).

Aparatura i pribor:

- homogenizator (Zepter international)
- analitička vaga (Sartorius)
- odmjerna tikvica volumena 100 mL
- čaše volumena 100 mL
- bireta 50 mL
- Reagensi
- 2,6-p-diklorfenolindofenol
- 2 %-tna oksalna kiselina

Priprema uzoraka:

Uzorak se homogenizira uz dodatak 2 %-tne otopine oksalne kiseline i kvantitativno prenosi u odmjernu tikvicu od 100 mL. Uz povremeno miješanje, nakon jednog sata, odmjerna tikvica se nadopuni do oznake otopinom oksalne kiseline. Filtrat se titrira otopinom 2,6-p-diklorindofenola. Iz utrošenog 2,6-p-diklorindofenola za titraciju filtrata do pojave ružičaste boje koja je bila postojana pet sekundi, izračuna se količina L-askorbinske kiseline u uzorcima te se izrazi u mg/100 g svježe tvari.

Formula za izračun: $Vitamin\ C\ (mg/100) = \frac{V \times F}{D} \times 100$

Prema kojoj je:

V (mL) - volumen utrošenog 2,6-p-diklorfenolindofenola pri titraciji

F - faktor normaliteta 2,6-p-diklorfenolindofenola

D (g) - masa uzorka u titriranoj tekućini

### 3.2.6. Određivanje ukupnih fenola

Ukupni fenoli određuju se spektrofotometrijski u etanolnom ekstraktu uzorka mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri valnoj duljini 750 nm. Metoda se bazira na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom. Folin-Ciocalteu reagens je smjesa fosfowolframove i fosfomolibden kiseline, a pri oksidaciji fenolnih spojeva ove kiseline reduciraju se u wolfram-oksid i molibden-oksid koji su plavo obojeni (Ough i Amerine, 1988).

Aparatura i pribor:

- filter papir
- stakleni lijevci
- pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- tikvica s okruglim dnom volumena 100 mL
- odmjerne tikvice volumena 50 mL i 100 mL
- kivete
- povratno hladilo
- spektrofotometar (Schimadzu UV 1650 PC)

Kemikalije:

- 96 %-tni etanol
- 80 %-tni etanol
- Folin-Ciocalteu reagens (F.C. reagens)
- zasićena otopina natrijeva karbonata

Priprema uzoraka:

10 g uzorka se izvaže s točnošću ± 0,01 g i homogenizira se s 40 mL 80 %-tnog etanola. Homogena smjesa kuha se 10 minuta uz povratno hladilo. Dobiveni ekstrakt se filtrira u odmjernu tivicu od 100 mL. Zaostali talog zajedno s filter papirom se prebaci s 50 mL 80 %-og etanola u tikvicu sa šlifom i dodatno kuha uz povratno hladilo još 10 min. Dobiveni ekstrakt se spoji s prethodno dobivenim ekstraktom i nadopuni do oznake s 80 %-im etanolom.

Postupak određivanja:

U odmjernu tikvicu od 50 mL otpipetira se 0,5 mL ekstrakta, 30 mL destilirane vode i 2,5 mL F.C. reagensa. Sve skupa se promiješa. Pripremljenoj smjesi doda se 7,5 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Dobro se izmiješa, nadopuni destiliranom vodom do oznake te se ostavi dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu.

Izrada baždarnog pravca:

Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 500 mg galne kiseline koja se otopi u 80 % -tnom etanolu i nadopuni u odmjernoj tikvici od 100 mL do oznake. Od pripremljene otopine galne kiseline prirede se razrjeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL, tako da se otpipetira redom 0, 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standarda u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake 80 % etanolom. Koncentracije galne kiseline u tikvicama iznose 0, 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 0,5 mL uzorka u odmjerne tikvice od 50 mL. Potom se dodaje redom 30 mL destilirane vode, 2,5 mL F.C. reagensa i 7,5 mL zasićene otopine natrijevog karbonata. Dobro se izmiješa i nadopunjava destiliranom vodom do oznake. Uzorci se ostave dva sata na sobnoj temperaturi. Nakon toga mjeri se apsorbancija pri valnoj duljini 750 nm uz destiliranu vodu kao slijepu probu. Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrta se baždarni pravac tako da se na apscisi nanese koncentracija galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije.

Račun: Baždarni pravac nacrta se pomoću računala u programu Microsoft Excel, te se izračuna jednadžba pravca prema kojoj se izračuna koncentracija ukupnih fenola.

Formula za izračun: $y = 0{,}001\ x + 0{,}0436$

Prema kojoj je:

y – apsorbancija na 750 nm

x – koncentracija galne kiseline (mg/ L)

### 3.2.7. Određivanje flavonoida i neflavonoida

Za taloženje flavonoidnih fenolnih spojeva preporuča se upotreba formaldehida. Formaldehid reagira s C-6 ili C-8 pozicijom na 5,7-dihidroksi flavonoidu stvarajući metilol derivate koji dalje reagiraju s drugim flavonoidnim spojevima također na C-6 ili C-8 poziciji. Pri tome nastaju kondenzirane molekule koje se uklone filtriranjem. Ostatak neflavonoidnih fenola određuje se po metodi za ukupne fenole (Ough i Amerine, 1988). Razlika ukupnih fenola i neflavonoida daje količinu flavonoida.

Aparatura i pribor:

- filter papir
- stakleni lijevci
- Erlenmeyer-ova tikvica sa šlifom i čepom volumena 25 mL
- pipete volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- analitička vaga
- staklene kivete
- spektrofotometar (Schimadzu UV 1650 PC)

Kemikalije:

- klorovodična kiselina, HCl 1: 4 ( konc. HCl razrijedi se vodom u omjeru 1: 4 )
- formaldehid ( 13 mL 37 %-tnog formaldehida u 100 mL vode)
- dušik za propuhivanje uzorka
- zasićena otopina natrijeva karbonata
- Folin-Ciocalteu reagens
- 80 %-tni etanol

Priprema uzoraka: Ekstrakt ukupnih fenola (opisan u poglavlju 3.2.5.) koristi se i za određivanje flavonoida i neflavonoida.

Postupak određivanja: Otpipetira se 10 mL ekstrakta u tikvicu od 25 mL i doda 5 mL otopine HCl (1:4) te 5 mL formaldehida. Smjesa se propuše dušikom, zatvori i ostavi stajati 24 sata na sobnoj temperaturi u mraku. Sljedeći dan se profiltrira preko filter papira i slijedi isti postupak kao za određivanje ukupnih fenola.

Račun: Koncentracija neflavonoida izračunava se na isti način kao i koncentracija ukupnih fenola uzimajući u obzir i dodatna razrjeđenja. Iz razlike količine ukupnih fenola i neflavonoida odredi se količina ukupnih flavonoida.

### 3.2.8. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta ABTS metodom

Metoda se temelji na gašenju stabilnog plavo-zelenog radikal-kationa 2,2′-azinobis (3etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina) (ABTS·+ radikal-kationa) koji se oblikuje bilo kemijskom ili enzimskom oksidacijom otopine ABTS-a čiji je karakterističan adsorpcijski maksimum pri valnoj duljini od 734 nm. U prisutnosti antioksidansa ABTS·+ kation se reducira u ABTS, a reakcija se očituje obezbojenjem plavo-zelene otopine. Udio uklonjenih ABTS radikala koji „gase" različiti antioksidansi mjeri se praćenjem smanjenja apsorbancije ABTS radikala te se uspoređuje sa smanjenjem apsorbancije koju uzrokuje dodatak određene količine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiseline) pri istim uvjetima (Miller i sur., 1993; Re i sur., 1999).

Priprema reagensa:

1.dan:

140 mM otopina kalijeva persulfata, K2S2O8 (0,1892 g K2S2O8 izvaže se i otopi u 5 mL destilirane vode u odmjernoj tikvici od 10 mL 7 mM ABTS otopina (0,0192 g ABTS reagensa otopi se u 5 mL destilirane vode u odmjernoj tikvici od 10 mL) stabilna ABTS·+ otopina (88 µL K2S2O8 otopine (140mM) prenese se u tikvicu u kojoj se nalazi 5 mL otopine ABTS-a; sadržaj tikvice se dobro promiješa, zatvori, obloži aluminijskom folijom i ostavi stajati 12-16 sati pri sobnoj temperaturi; stajanjem intenzitet plavo-zelene boje se pojačava)

2. dan:

Na dan provođenja svih analiza priprema se 1%-na otopina ABTS·+ (1 mL ABTS·+ otopine otpipetira se u odmjernu tikvicu od 100 mL i nadopuni 96%-im etanolom do oznake. Nakon toga mjeri se apsorbanca 1%-ne otopine ABTS·+ pri 734 nm koja mora iznositi 0,70 ± 0,02. Ako apsorbanca otopine ne iznosi 0,734 onda ju je potrebno namjestiti, odnosno ako je apsorbanca premala u tikvicu od 100 mL pripremljene 1%-ne otopine ABTS·+ treba dodati još par kapi stabilne ABTS·+ otopine, a ako je apsorbanca prevelika onda treba razrijediti odnosno u tikvicu (100 mL) dodati još 96 %-og etanola.

NAPOMENA:

Isti dan kada se pripremi 1%-na otopina ABTS·+ s podešenom apsorbancom na 0,70 ± 0,02 treba napraviti i sve analize uzoraka (i baždarni pravac ako je to potrebno) jer je ABTS·+ otopina nestabilna i nepostojana već unutar 24 sata.

Priprema uzoraka za analizu:

Procedura ekstrakcije iz uzoraka ista je kao i u protokolu određivanja fenola FolinCiocalteu metodom. ABTS metodu najbolje je provesti kada se rade i fenoli te iz pripremljenih fenolnih ekstrakata napraviti analizu i za fenole i za ABTS tako da se poslije rezultati sadržaja fenola i ABTS-a mogu korelirati. 10 g uzorka izvaže se izravno u Erlenmeyerovu tikvicu sa šlifom (300 mL) i doda se 40 mL 80 %-og etanola te se kuha uz povratno hladilo 10 minuta. Nakon kuhanja sadržaj se profiltrira u odmjernu tikvicu od 100 mL. Ostatak taloga zajedno s filtar papirom prebaci se u Erlenmeyerovu tikvicu (istu, 300 mL),

doda se 50 mL etanola i ponovno kuha 10 min uz hladilo. Nakon toga sadržaj se profitrira u istu tikvicu od 100 mL odnosno ekstrakti se spoje, ohlade nakon čega se odmjerna tikvica od 100 mL nadopuni 80 %-im etanolom do oznake. Ako je potrebno ekstrakte treba razrijediti 80 %-im etanolom (u slučaju prevelike apsorbance).

Postupak određivanja (spektrofotometrijski):

160 µL uzorka (ekstrakta) pomiješa se s 2 mL 1%-ne otopine ABTS·+ te se nakon 1 min mjeri apsorbanca na 734 nm. Za slijepu probu se koristi 96 % etanol.

Izrada baždarnog pravca:

Za izradu baždarnog pravca u ABTS metodi koristi se Trolox koji uzrokuje smanjenje boje ABTS·+ otopine. Točke određene za izradu baždarnog pravca su sljedeće: 0, 100, 200, 400, 1000, 2000 i 2500 µmol/dm3. Najprije se pripremi stock otopina i to tako da se u odmjernu tikvicu od 25 mL izvaže 0,0156 Trolox-a, a tikvica se 80 %-im etanolom nadopuni do oznake. Iz stock otopine uzimaju se sljedeći volumeni Trolox-a za pripremu daljnjih razrjeđenja koja se pripremaju u odmjernim tikvicama od 25 mL1:

- ⟶ 0 mL Trolox (samo EtOH)
- 100 ⟶ 0,4 mL
- 200 ⟶ 0,8 mL
- 400 ⟶ 1,6 mL
- 1000 ⟶ 4 mL
- 2000 ⟶ 8 mL
- 2500 ⟶ 10 mL

Nakon pripreme navedenih koncentracija Trolox-a iz svake tikvice u kojoj je navedena koncentracija Trolox-a uzima se 160 µL otopine Trolox-a i dodaje 2 mL 1%-ne ABTS·+ otopine podešene apsorbance (0,70 ± 0,02). Nakon što pomiješamo dodanu koncentraciju Trolox-a i 1 %-ne ABTS·+ otopine izmjeri se apsorbanca pri 734 nm. I tako za svaku točku koncentracije Troloxa. Temeljem izmjerenih vrijednosti apsorbanca za svaku točku napravi se baždarni pravac.

### 3.2.9. Određivanje klorofila a, b i ukupnih klorofila

Osnovna uloga klorofila je apsorpcija svjetlosne energije koja se zatim u procesu fotosinteze pretvara u kemijsku energiju. Optičke osobine pigmentnih spojeva zasnivaju se na kemijskoj strukturi njihovih molekula. Apsorpcija vidljivog dijela spektra ovisi o prisustvu sustava konjugiranih dvostrukih veza u njihovim molekulama. Modrozeleni klorofil a i žutozeleni klorofil b apsorbiraju vidljivi dio spektra i imaju maksimume apsorpcije u crvenom (600 - 700 nm) i plavom (400 - 500 nm) dijelu spektra. Poznato je nekoliko validiranih metoda za određivanje klorofila u biljnim uzorcima. U ovom radu klorofilni pigmenti određivali su se spektrofotometrijski metodom po Holmu (1954) i Wetstteinu (1957). Cilj ove metode je odrediti koncentraciju kloroplastnih pigmenata (klorofil - a, klorofil - b i ukupnih klorofila a i b) u acetonskom ekstraktu biljnog materijala.

Aparatura i pribor:

- vaga
- tarionik i tučak
- Büchnerov lijevak
- Erlenmeyerova tikvica (300 mL)
- vakuum pumpa na vodeni mlaz
- odmjerna tikvica od 25 mL
- spektrofotometar (Shimadzu UV 1650 PC)

Kemikalije:

- aceton (p.a.)
- magnezijev karbonat ($MgCO_3$)
- kvarcni pijesak

Postupak određivanja:

Postupak ekstrakcije i određivanja pigmenata treba izvoditi brzo, u zamračenim uvjetima. Odvagati uzorak mase 6 g i prenijeti u tarionik. Na uzorak dodati oko pola žličice kvarcnog pijeska, pola žličice praha MgCO3 (zbog neutralizacije kiselosti) i 10 mL acetona. Smjesu usitniti tučkom u tarioniku, te kvantitativno acetonom prenijeti na Büchnerov lijevak. Uzorak ekstrahiran acetonom filtrirati preko vakuuma. Nakon što se macerat profiltrira filtrat kvantitativno prenijeti u odmjernu tikvicu od 25 mL, koja se nadopuni do oznake acetonom. Spektrofotometrom očitati apsorbancu u dobivenom filtratu pri valnim duljinama 662, 644 i 440 nm koristeći aceton kao slijepu probu.

Dobivene vrijednosti apsorpcije (662A, 644A i 440A) uvrstiti u Holm - Weststtainove jednadžbe za izračunavanje koncentracije pigmenata u $mg/dm^3$:

$$\text{klorofil a} = 9{,}784 \times A_{662} - 0{,}990 \times A_{644} \text{ mg/L}$$

$$\text{klorofil b} = 21{,}426 \times A_{644} - 4{,}65 \times A_{662} \text{ mg/L}$$

$$\text{klorofil a + b} = 5{,}134 \times A_{662} + 20{,}436 \times A_{644} \text{ mg/L}$$

$$\text{karotenoidi} = 4{,}695 \times A_{440} - 0{,}268 \times (\text{klorofil a + b}) \text{ mg/L}$$

Brojevi u jednadžbama su molarni apsorpcijski koeficijenti po Holmu i Wetstteinu. Formula za izračunavanje koncentracije pigmenata na mg/g svježe tvari ploda glasi:

Račun: $$c \text{ (mg/g)} = \frac{c1 \times V}{m}$$

Gdje je:

c – masena koncentracija pigmenata izražena u mg/g svježe tvari ploda

c1 – masena koncentracija pigmenata izražena u mg/L

V – volumen filtrata (odmjerne tikvice) mL

m – masa uzorka izražena u mg

### 3.3. Statistička obrada podataka

Podaci su statistički obrađeni u programskom sustavu SAS, verzija 9.3 (SAS, 2010). Rezultati su podvrgnuti jednosmjernoj analizi varijance (ANOVA). Sve laboratorijske analize napravljene su u tri repeticije. Srednje vrijednosti uspoređene su t-testom (LSD), a smatraju se značajno različitim pri $p \leq 0{,}0001$. U tablicama su uz rezultate u eksponentima prikazana različita slova koja označavaju grupe uzoraka. Također je izražena i standardna devijacija.

# 4. Rezultati

## 4.1. Morfološke karakteristike i kromatske vrijednosti listova medvjeđeg luka

Morfološke karakteristike samoniklog medvjeđeg luka i njegove kromatske vrijednosti prikazane su u Tablicama 2 i 3. Morfološke karakteristike obuhvaćaju prosjek duljine i širine lisnih plojki medvjeđeg luka (bez lisne peteljke). Iz dobivenih rezultata, signifikantne razlike između uzoraka utvrđene su za duljinu i širinu listova te za kromatske vrijednosti. Duljina listova medvjeđeg luka varirala je od 159,99 do 195,99 mm prije cvatnje, dok je za vrijeme cvatnje duljina listova iznosila od 157,38 do 202,09 mm. Biljke s lokacije 'Rude' imale su prosječno najveću duljinu lisne plojke prije cvatnje (195,99 mm), a biljke s lokacije 'Vukomerec' za vrijeme cvatnje (202,09 mm). Najmanja duljina lisne plojke prije i za vrijeme cvatnje izmjerena je na uzorcima s lokacije 'Maksimir potok' (159,99 mm i 157,38 mm). U istraživanju Todorović i sur. (2009), prosječna duljina lisne plojke medvjeđeg luka prije cvatnje iznosi 157 mm što se ne podudara s prosjekom svih uzoraka biljaka prije cvatnje iz ovog istraživanja čija je ukupna vrijednost veća za 22 mm. Prema Blazewicz-Wozniak i Michowskoj (2011) duljina lisne plojke medvjeđeg luka variria od 70 do 244 milimetra ovisno o ekotipu i godini, a duljina listova ispitivanih uzoraka iz ovog istraživanja nalazi se unutar tog raspona.

Širina listova medvjeđeg luka nalazila se u rasponu od 41,92 do 57,95 mm prije cvatnje, a za vrijeme cvatnje širina je iznosila od 49,19 do 62,2 mm. Najmanji prosjek širine plojki prije cvatnje izmjeren je kod biljki sa lokacije 'Rude' (41,92 mm), a najveći s lokacije 'Tuškanac' (57,95 mm). Za vrijeme cvatnje najmanju širinu listova imale su biljke s lokacije 'Maksimir potok' (49,19 mm), a najveću sa lokacije 'Vukomerec' (62,2 mm). Budući da svi uzorci imaju širinu plojke veću od 35 mm, ove ispitivane populacije pripadaju formi *ucrainicum*.

**Tablica 2.** Morfološke vrijednosti lista samoniklog medvjeđeg luka

| Uzorak | Duljina (mm) | Širina (mm) |
|---|---|---|
| | p≤0,0001 | p≤0,0001 |
| | **Prije cvatnje** | |
| **ML 1** | 167,44de ± 23,69 | 46,08ef ± 4,62 |
| **ML 2** | 159,99e ± 18,92 | 43,44f ± 4,72 |
| **ML 3** | 180,53bcd ± 30,19 | 55,42bc ± 8,06 |
| **ML 4** | 195,99ab ± 18,41 | 41,92f ± 5,48 |
| **ML 5** | 190,65abc ± 27,94 | 57,95ab ± 6,24 |
| | **Cvatnja** | |
| **MLc 1** | 177,72cd ± 26,89 | 52,22cd ± 9,19 |
| **MLc 2** | 157,38e ± 15,68 | 49,19de ± 9,00 |
| **MLc 3** | 202,09a ± 31,17 | 62,26a ± 7,87 |
| **MLc 4** | 165,79de ± 21,13 | 51,82cd ± 10,08 |
| **MLc 5** | 159,21e ± 22,40 | 58,62ab ± 8,71 |

ML1 – 'Maksimir cesta', ML2 – 'Maksimir potok', ML3 – 'Vukomerec', ML4 – 'Rude', ML5 – 'Tuškanac'. MLc - oznaka za uzorke u cvatnji. Različita slova prikazuju značajne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

Intenzitet boje listova utvrđen je koristeći CIELab kolorimetrijski sustav. Signifikantna razlika između uzoraka utvrđena je kod svih analiziranih kromatskih vrijednosti. Vrijednost parametra *L** (svjetlina) izmjerena je u rasponu od 19,42 do 29,44 prije cvatnje. Najmanja navedena vrijednost prije cvatnje (19,42) izmjerena je kod biljaka s lokacije 'Tuškanac', a najveća kod biljaka s lokacije 'Rude' (29,44). Što je vrijednost parametra *L** veća, to je ton boje svjetliji. Za vrijeme cvatnje vrijednost parametra *L** varirala je od 21,58 do 29,20. Najmanju svjetlinu za vrijeme cvatnje imali su listovi na lokaciji 'Tuškanac' (21,58), a najveću na lokaciji 'Maksimir cesta' (29,20). Općenito se može zaključiti da ispitivani uzorci imaju tamnu boju lista budući da se svjetlina opisuje u rasponu od 0 do 100, gdje 0 označava idealno crnu, a 100 idealno bijelu boju.

Parametar *a** označava crveno/zelenu kromatsku os. Ukoliko parametar *a** ima pozitivan predznak tada on označava crvenu kromatsku os, a ukoliko ima negativan predznak tada označava zelenu kromatsku os. Za navedeni parametar vrijednosti prije cvatnje iznosile su od -9,29 do -12,54 (zelena kromatska os), s tim da je najmanja vrijednost izmjerena na lokaciji 'Tuškanac', a najveća na lokaciji 'Vukomerec'. Za vrijeme cvatnje vrijednost parametra *a** je iznosila od -10,78 do -12,35, najmanja vrijednost je izmjerena na lokaciji 'Vukomerec', a najveća na lokaciji 'Maksimir potok'.

Parametar *b** označava žuto/plavu kromatska os. Ukoliko navedeni parametar ima pozitivan predznak tada on označava žutu kromatsku os, a ako ima negativan predznak tada označava plavu kromatsku os. Vrijednosti parametra *b** kretale su se od 12,26 do 24,45 (žuta kromatska os), najmanja vrijednost je izmjerena na lokaciji 'Tuškanac', a najveća lokaciji 'Rude'. Za vrijeme cvatnje vrijednost parametra *b** varirala je od 13,21 do 20,48. Najmanja vrijednost je izmjerena na lokaciji 'Tuškanac', a najveća na lokaciji 'Maksimir potok'. Iz navedenog se može zaključiti da faza rasta ne mijenja značajno vrijednosti parametara *a**i *b** kod listova medvjeđeg luka, ali da navedeni parametri itekako ovise o mikrolokaciji.

Parametar *C* označava kromatičnost, a ona je definirana tonom i zasićenjem boje. Vrijednost navedenog parametra prikazuje udaljenost od osi *L** i započinje s nulom. Što je veća vrijednost parametra *C* to znači da je ton boje jasniji, odnosno čišći. Vrijednost parametra *C* prije cvatnje bila je u rasponu od 15,39 do 27,34. Najmanja vrijednost izmjerena je kod listova biljaka s lokacije 'Tuškanac' (15,39), a najveća kod biljaka sa lokacije 'Rude' (27,34). Za vrijeme cvatnje vrijednost *C* se kretala od 17,06 do 23,92. Najmanja izmjerena vrijednost navedenog parametra je bila kod biljaka sa lokacije 'Vukomerec', a najveća kod biljaka sa lokacije 'Maksimir potok'. Za vrijeme cvatnje je kod većine uzoraka došlo do povećanja vrijednosti parametra *C,* što znači da je ton boje za vrijeme cvatnje bio čišći nego prije cvatnje.

Parametar *h* označava kut tona boje, a njegove vrijednosti prije cvatnje bile su u rasponu od 116,62 do 129,27. Najmanja navedena vrijednost je izmjerena na lokaciji 'Rude', a najveća na lokaciji 'Maksimir potok'. Za vrijeme cvatnje parametar *h* je iznosio od 120,40 do 129,33. Najmanju vrijednost imale su biljke sa lokacije 'Maksimir cesta', a najveću 'Vukomerec'.

**Tablica 3.** Kromatske vrijednosti lista samoniklog medvjeđeg luka

| Uzorak | *L** | *a** | *b** | *C* | *h* |
|---|---|---|---|---|---|
| | **p≤0,0036** | **p≤0,0475** | **p≤0,0002** | **p≤0,0006** | **p≤0,0001** |
| | | | **Prije cvatnje** | | |
| **ML 1** | 21,71cd ± 1,07 | -11,39b ± 0,77 | 14,64cde ± 1,15 | 18,55cde ± 1,30 | 127,89a ± 1,43 |
| **ML 2** | 23,58bcd ± 1,62 | -11,93b ± 0,99 | 18,05bcd ± 2,76 | 21,65bcd ± 2,83 | 123,65b ± 2,13 |
| **ML 3** | 21,82cd ± 0,24 | -12,54b ± 0,55 | 15,33cde ± 0,61 | 19,80bcde ± 0,79 | 129,27a ± 0,59 |
| **ML 4** | 29,44a ± 4,52 | -12,19b ± 0,61 | 24,45a ± 1,95 | 27,34a ± 1,45 | 116,62c ± 3,06 |
| **ML 5** | 19,42d ± 2,54 | -9,29a ± 2,62 | 12,26e ± 4,77 | 15,39e ± 5,39 | 127,76a ± 2,71 |
| | | | **Cvatnja** | | |
| **MLc 1** | 29,20a ± 7,87 | -11,62b ± 0,71 | 20,29ab ± 5,08 | 23,44ab ± 4,73 | 120,40bc ± 4,67 |
| **MLc 2** | 28,67ab ± 0,66 | -12,35b ± 0,74 | 20,48ab ± 0,49 | 23,92ab ± 0,78 | 121,08b ± 1,03 |
| **MLc 3** | 21,65cd ± 1,01 | -10,78ab ± 0,87 | 13,21e ± 1,74 | 17,06e ± 1,89 | 129,33a ± 1,53 |
| **MLc 4** | 26,06abc ± 1,78 | -11,61b ± 0,25 | 18,95bc ± 1,02 | 22,23bc ± 0,95 | 121,51b ± 1,16 |
| **MLc 5** | 21,58cd ± 1,09 | -10,78ab ± 0,74 | 13,84de ± 1,14 | 17,54de ± 1,34 | 127,76a ± 0,56 |

ML1 – 'Maksimir cesta', ML2 – 'Maksimir potok', ML3 – 'Vukomerec', ML4 – 'Rude', ML5 – 'Tuškanac'. MLc - oznaka za uzorke u cvatnji. L* - svjetlina; a*- crveno/zelena kromatska os; b* – plavo/žuta kromatska os; C – kromatičnost boje: h – kut tona boje. Različita slova prikazuju značajne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

## 4.2. Osnovni kemijski sastav lista medvjeđeg luka

Rezultati osnovnog kemijskog sastava lista medvjeđeg luka prikazani su u Tablici 4, a obuhvaćaju sadržaj ukupne suhe tvari (%), pH - vrijednost i sadržaj ukupnih kiselina (%). Značajne statističke razlike između uzoraka s različitih lokacija kao i ovisno o cvatnji utvrđene su za sva tri navedena parametra. Postotak suhe tvari u listovima medvjeđeg luka prije cvatnje bio je u rasponu od 8,86 do 11,22 %. Najmanji postotak suhe tvari prije cvatnje zabilježen je na lokaciji 'Rude', dok je najveći postotak suhe tvari prije cvatnje izmjeren u listovima biljaka s lokacije 'Maksimir potok' (11,22 %). Sadržaj suhe tvari u listovima medvjeđeg luka za vrijeme cvatnje iznosio je od 8,67 do 10,39 %. Najmanji postotak suhe tvari za vrijeme cvatnje iznosio je na lokaciji 'Maksimir potok', a najveći postotak je izmjeren u listovima sa lokacije 'Rude' koja se nalazi na većoj nadmorskoj visini. Prema Blazewicz-Wozniak i Michowskoj (2011) listovi medvjeđeg luka sadrže od 6,69 do 15,70 % suhe tvari, dok je u ovom istraživanju sadržaj suhe tvari varirao od 8,67 do 11,22 % ovisno o fazi rasta i mikrolokaciji. Prema Dyduch i Najda (2001) suha tvar u listovima medvjeđeg luka varira od 10,7 do 15,8 % što se podudara s rezultatima iz ovog istraživanja. Kod većine ispitivanih uzoraka sadržaj suhe tvari se smanjio u vrijeme cvatnje. Stoga se može zaključiti da vrijednost suhe tvari ovisi o fazi rasta i mikrolokaciji, odnosno o pedoklimatskim uvjetima, temperaturi, tlu, vlagi zraka, nadmorskoj visini, količini oborina i zasjenjenosti terena. U vrijeme kada je temperatura veća, a količina oborina manje sadržaj suhe tvari bit će veći (Todorović i sur., 2009).

pH - vrijednost listova medvjeđeg luka je varirao od 5,39 do 5,55 prije cvatnje. Najmanji pH prije cvatnje utvrđen je u listovima s lokacije 'Maksimir cesta' i 'Vukomerec', a najveći s lokacije 'Tuškanac'. pH listova medvjeđeg luka za vrijeme cvatnje iznosio je od 5,43 do 5,74 s tim da su najmanju vrijednost imali listovi s lokacije 'Maksimir cesta', a najveći pH su imali listovi biljaka s lokacije 'Tuškanac'. Općenito se može zaključiti da je vrijednost pH listova gotovo ujednačena na svim istraživanim područjima. Budući da se na području Zagreba i Samobora nalaze kisela tla, pretpostavlja se da zbog toga listovi medvjeđeg luka imaju pH – vrijednost navedenu u ovom istraživanju.

Sadržaj ukupnih kiselina u istraživanim uzorcima bio je u rasponu od 0,047 do 0,088 %. Prije cvatnje vrijednost ukupnih kiselina kretala se od 0,049 do 0,081 %. Najmanja vrijednost ukupnih kiselina prije cvatnje izmjerena je kod listova s lokacije 'Rude', a najveća s lokacije 'Maksimir potok'. Ukupne kiseline za vrijeme cvatnje iznosile su od 0,047 do 0,088 %. Najmanji postotak ukupnih kiselina za vrijeme cvatnje utvrđen je u listovima biljaka s lokacije 'Maksimir potok', a najveći s lokacije 'Rude'. Za vrijeme cvatnje sadržaj ukupnih kiselina se povećao kod većine ispitivanih uzoraka. Do značajnijeg povećanja sadržaja ukupnih kiselina za vrijeme cvatnje došlo je kod uzoraka s lokacije 'Tuškanac' i 'Rude' koje se nalaze na nešto višoj nadmorskoj visini, u polusjeni. Za vrijeme cvatnje značajno se smanjio sadržaj ukupnih kiselina na lokaciji 'Maksimir potok' koja se nalazila u zasjenjenom položaju.

Iz navedenog se može zaključiti da mikrolokacija i faza rasta utječu na sadržaj ukupnih kiselina u listovima medvjeđeg luka. Također, valja spomenuti da je sadržaj ukupnih kiselina i suhe tvari prije cvatnje bio najmanji na lokaciji 'Rude', a najveći na lokaciji 'Maksimir potok'. Nakon cvatnje sadržaj suhe tvari i ukupnih kiselina bio je najveći na lokaciji 'Rude', a najmanji

na lokaciji 'Maksimir potok'. Iz navedenog se može zaključiti da što je veći sadržaj suhe tvari, veći će biti i postotak ukupnih kiselina u uzorku.

**Tablica 4.** Osnovni kemijski sastav lista samoniklog medvjeđeg luka

| **Uzorak** | Suha Tvar (%) P≤0,0001 | pH P≤0,0001 | Ukupne Kiseline (%) P≤0,0001 |
|---|---|---|---|
| | **PRIJE CVATNJE** | | |
| **ML 1** | 10,15c ± 0,04 | 5,39c ± 0,03 | 0,064cd ± 0,007 |
| **ML 2** | 11,22a ± 0,12 | 5,44c ± 0,02 | 0,081ab ± 0 |
| **ML 3** | 10,03c ± 0,08 | 5,39c ± 0,03 | 0,059de ± 0,003 |
| **ML 4** | 8,86f ± 0,10 | 5,54b ± 0,05 | 0,049fg ± 0,002 |
| **ML 5** | 9,74d ± 0,10 | 5,55b ± 0,05 | 0,052efg ± 0,004 |
| | **CVATNJA** | | |
| **MLc 1** | 9,31e ± 0,04 | 5,43c ± 0,13 | 0,069c ± 0,003 |
| **MLc 2** | 8,67g ± 0,18 | 5,69a ± 0,06 | 0,047g ± 0,003 |
| **MLc 3** | 9,72d ± 0,02 | 5,67a ± 0,06 | 0,057def ± 0 |
| **MLc 4** | 10,39b ± 0,12 | 5,71a ± 0,06 | 0,088a ± 0,012 |
| **MLc 5** | 9,24e ± 0,10 | 5,74a ± 0,02 | 0,079b ± 0,004 |

ML 1 – 'Maksimir cesta', ML 2 – 'Maksimir potok', ML 3 – 'Vukomerec', ML 4 – 'Rude', ML 5 – 'Tuškanac'; MLc – oznaka za uzorke u cvatnji. Različita slova prikazuju značajne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

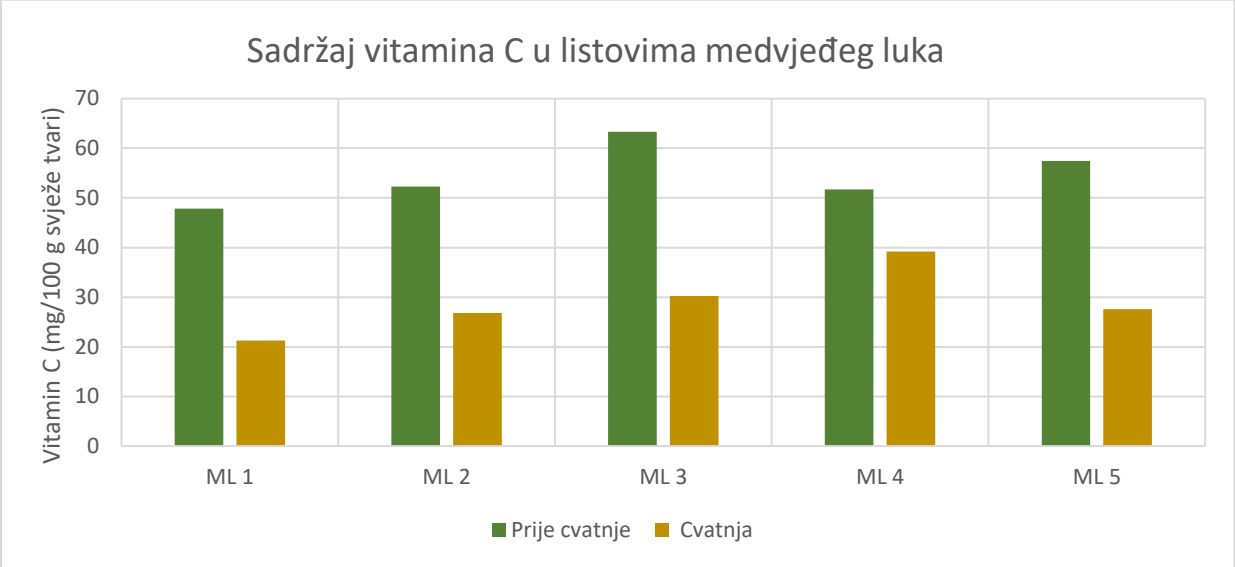
### 4.3. Sadržaj vitamina C u listovima samoniklog medvjeđeg luka

Sadržaj vitamina C u listovima medvjeđeg luka prije cvatnje na svim istraživanim lokacijama bio je u rasponu od 47,85 do 63,13 mg/100 g svježe tvari. Najmanji sadržaj vitamina C prije cvatnje utvrđen je u listovima s lokacije 'Maksimir cesta', a najveći listovima prikupljenim na lokaciji 'Vukomerec'. Za vrijeme cvatnje sadržaj vitamina C u listovima medvjeđeg luka s istraživanih lokacija bio je u rasponu od 21,29 do 39,17 mg/100 g svježe tvari. Najmanji sadržaj vitamina C za vrijeme cvatnje imali su listovi prikupljeni na lokaciji 'Maksimir cesta', a najveći na lokaciji 'Rude' (Grafikon 1). Na svim lokacijama je u vrijeme cvatnje došlo do smanjenja sadržaja vitamina C u listovima. Do smanjenja sadržaja je došlo zbog različitih biokemijskih reakcija koje se događaju tijekom procesa zrenja. Zrenje i starenje odvija se uslijed utjecaja biljnih hormona koje proizvodi samo biljno tkivo u određenoj fazi starosti. Biosinteza askorbinske kiseline se događa tijekom razvoja listova, a opada smanjenjem njihove funkcije što je dio procesa starenja (Gallie, 2013). Poznato je, također, da razina vitamina C ovisi o stopi fotosinteze i sadržaju glukoze.

Sadržaj askorbinske kiseline u istraživanju Golubkine i sur. (2010) u medvjeđem luku iznosio je oko 65 mg/100 g svježe tvari što je približno sadržaju vitamina C u uzorku prikupljenom na lokaciji 'Vukomerec' u ovom istraživanju. Općenito, su svi uzorci prije cvatnje imali vrijednost vitamina C približnu navedenoj u literaturi. Prema Piatkowskoj i sur. (2015), sadržaj vitamina C u medvjeđem luku iznosi 56 mg/kg što se ne podudara s ovim istraživanjem. Nadalje, važno je naglasiti kako su svi ispitivani uzorci lista medvjeđeg luka u fazi prije cvatnje

imali veći sadržaj vitamina C od onog koji je određen u limunu (40,48 mg/100 g), kupusu (35,55 mg/100 g), mrkvi (29,92 mg/100 g) i cvjetači (39,42 mg/100g) iz istraživanja autora Govindappa i sur.(2013) prema čemu se može zaključiti kako je medvjeđi luk vrijedan izvor vitamina C.

U ovom istraživanju sadržaj vitamina C se razlikovao ovisno o fazi rasta i mikrolokaciji. Količina askorbinske kiseline varira među biljnim vrstama, te ovisi o klimatskim uvjetima u kojima je biljka rasla i razvijala se, o kakvoći tla i stupnju zrelosti ubrane biljke.




ML1 – 'Maksimir cesta', ML2 – 'Maksimir potok', ML3 – 'Vukomerec', ML4 – 'Rude', ML5 – 'Tuškanac'.

**Grafikon 4.** Sadržaj vitamina C u listovima medvjeđeg luka

### 4.4. Sadržaj ukupnih fenola, flavonoida i neflavonoida u listovima medvjeđeg luka

Fenoli imaju esencijalnu ulogu u razvoju biljaka, a posebno u prilagodbi i preživljavanju u nepovoljnim uvjetima (Lovrić, 2014). Količine ukupnih fenola u ovom istraživanju bile su od 138,41 do 191,14 mg GAE/100 g svježe tvari prije cvatnje. Najmanja količina ukupnih fenola prije cvatnje utvrđena je kod biljaka sa lokacije 'Rude', a najveća kod listova biljaka sa lokacije 'Maksimir potok'. Za vrijeme cvatnje sadržaj ukupnih fenola kretao se od 132,15 do 176,23 mg GAE/100 g svježe tvari. Najmanja količina ukupnih fenola za vrijeme cvatnje utvrđena je kod listova prikupljenih na lokaciji 'Vukomerec', a najveća na lokaciji 'Maksimir potok' (Tablica 5). Rezultati ovog istraživanja se ne podudaraju s rezultatima Kerana i sur. (2015) u kojem je sadržaj ukupnih fenola u listovima iznosio od 552,89 do 571,12 mg GAE/100 g svježe tvari.

Sadržaj ukupnih flavonoida u listovima medvjeđeg luka iznosio je od 75,49 do 110,65 mg GAE/100 g svježe tvari prije cvatnje. Najmanja količina ukupnih flavonoida prije cvatnje utvrđena je kod listova sa lokacije 'Rude', a najveća sa lokacije 'Tuškanac'. Za vrijeme cvatnje sadržaj ukupnih flavonoida iznosio je od 61,53 do 100,85 mg GAE/100 g svježe tvari. S tim da je najmanja vrijednost zabilježena kod listova sa lokacije 'Tuškanac', a najveća kod biljaka sa lokacije 'Maksimir potok'. S druge strane, sadržaj ukupnih neflavonoida iznosio je od 62,92 do 87,36 mg GAE/100 g svježe tvari prije cvatnje. Najmanja vrijednost ukupnih flavonoida zabilježena je kod biljaka sa lokacije 'Rude', a najveća kod biljaka sa lokacije 'Maksimir potok'. Za vrijeme cvatnje sadržaj neflavonoida kretao se od 55,53 do 88,35 mg GAE/100 g.

Najmanja vrijednost neflavonoida za vrijeme cvatnje utvrđena je kod listova biljaka sa lokacije 'Vukomerec', a najveća sa lokacije 'Rude' (Tablica 5).

Prema dobivenim rezultatima se može zaključiti da se sadržaj ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida smanjuje za vrijeme cvatnje. Smanjenje se dogodilo zbog senescencije listova. Prirodna senescecija listova je proces koji uključuje postupnu degradaciju staničnih struktura i organela. S druge strane, u biljakama se može povećati udio polifenola prilikom stresnih uvjeta. Također i lokalitet utječe na razinu fenolnih spojeva, kao i porodica kojoj biljka pripada (Lovrić, 2014).

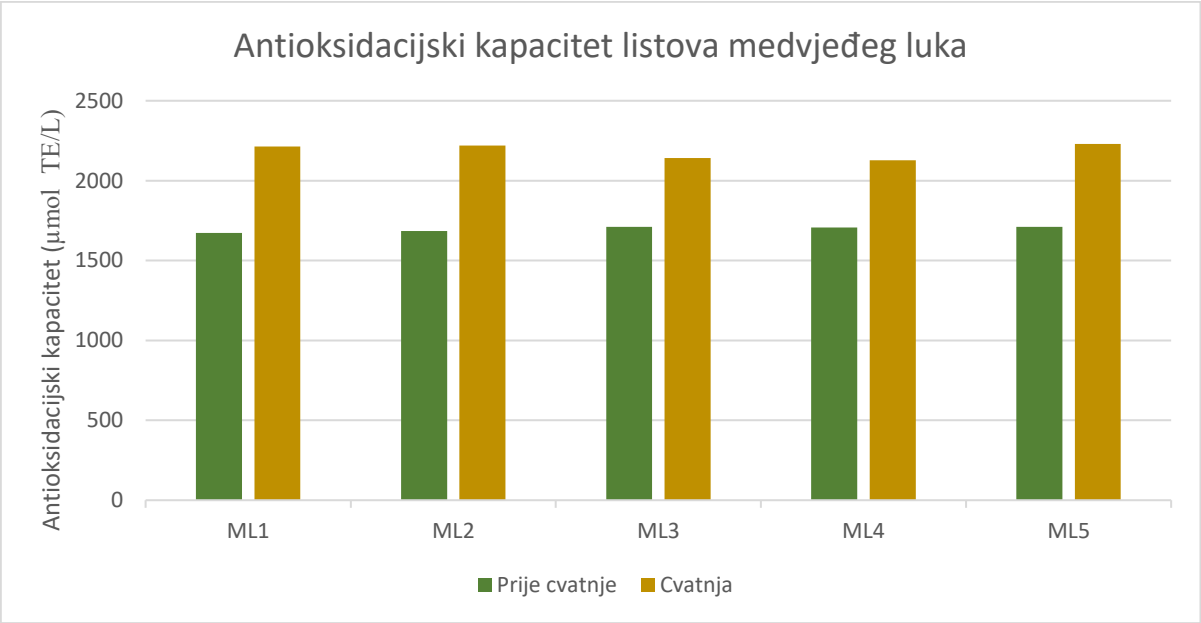
**Tablica 5.** Sadržaj ukupnih fenola, neflavonoida i flavonoida u listovima medvjeđeg luka (mg GAE/100 g svježe tvari)

| **Uzorak** | Ukupni fenoli $p \leq 0,0001$ | Neflavonoidi $p \leq 0,0001$ | Flavonoidi $p \leq 0,0001$ |
|---|---|---|---|
| **PRIJE CVATNJE** | | | |
| **ML 1** | 176,95c ± 0,14 | 69,79d ± 0,28 | 107,16bc ± 0,39 |
| **ML 2** | 191,14a ± 2,12 | 87,36ab ± 0,43 | 103,79cd ± 2,56 |
| **ML 3** | 184,09b ± 2,04 | 74,31c ± 0,34 | 109,98ab ± 2,15 |
| **ML 4** | 138,41g ± 0,36 | 62,92e ± 1,02 | 75,49g ± 1,10 |
| **ML 5** | 186,18b ± 2,51 | 75,61c ± 0,72 | 110,65a ± 2,84 |
| **CVATNJA** | | | |
| **MLc 1** | 153,21e ± 2,79 | 60,06f ± 1,95 | 93,15e ± 3,59 |
| **MLc 2** | 176,23c ± 0,86 | 75,37c ± 1,28 | 100,85d ± 0,85 |
| **MLc 3** | 132,15h ± 0,53 | 55,53g ± 1,06 | 76,57fg ± 0,84 |
| **MLc 4** | 167,63d ± 0,92 | 88,35a ± 1,25 | 79,28f ± 1,73 |
| **MLc 5** | 147,20f ± 1,45 | 85,67b ± 0,26 | 61,53h ± 1,25 |

ML 1 – 'Maksimir cesta', ML 2 – 'Maksimir potok', ML 3 – 'Vukomerec', ML 4 – 'Rude', ML 5 – 'Tuškanac'; MLc – oznaka za uzorke u cvatnji. Različita slova prikazuju značajne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

### 4.5. Antioksidacijski kapacitet listova medvjeđeg luka

Antioksidacijski kapacitet listova medvjeđeg luka prije cvatnje iznosio je od 1673,28 do 1710,57 µmol TE/L, ovisno o mikrolokaciji. Najmanji antioksidacijski kapacitet prije cvatnje imali su listovi sa lokacije 'Maksimir cesta', a najveći sa lokacije 'Vukomerec' iako su listovi sa lokacija 'Rude' i 'Tuškanac' imali također približno jednaku vrijednost (1705,92 i 1710,11 µmol TE/L). Za vrijeme cvatnje antioksidacijski kapacitet se povećao te je bio u rasponu od 2141,29 do 2230,66 µmol TE/L (Grafikon 2). Najmanji antioksidacijski kapacitet prije cvatnje imale su biljke prikupljene na lokaciji 'Vukomerec', a najveći biljke sa lokacije 'Tuškanac'. Poznato je da na sadržaj bioaktivnih spojeva i antioksidacijsku aktivnost utječu lokacija, klimatski uvjeti i uvjeti skladištenja te stupanj zrelosti (Lenkova i sur., 2016).




ML1 – 'Maksimir cesta', ML2 – 'Maksimir potok', ML3 – 'Vukomerec', ML4 – 'Rude', ML5 – 'Tuškanac'.

**Grafikon 5.** Antioksidacijski kapacitet listova medvjeđeg luka

### 4.6. Klorofil a, klorofil b, ukupni klorofil i karotenoidi samoniklog medvjeđeg luka

Najaktivnije fotosintetsko tkivo kod viših biljaka je mezofil lista u čijim stanicama ima mnogo klorofila. Na učinkovitost procesa fotosinteze djeluju brojni unutrašnji i okolišni čimbenici: razvojno stanje biljke, opskrbljenost vodom i mineralnim tvarima, otvorenost puči, kvaliteta i intezitet osvjetljenja, temperatura, koncentracija ugljikovog dioksida i kisika i strujanje zraka.

Sadržaj klorofila a u listovima medvjeđeg luka prije cvatnje je iznosio od 0,66 do 0,82 mg/g, a u vrijeme cvatnje od 0,65 do 0,89 mg/g. Najmanji sadržaj klorofila a prije cvatnje utvrđen je kod listova sa lokacije 'Rude' koja se nalazi na višoj nadmorskoj visini (0,66 mg/g), a najveći kod biljaka sa lokacije 'Maksimir potok' (0,82 mg/g). Za vrijeme cvatnje najmanji sadržaj klorofila a izmjeren je kod listova sa lokacije 'Rude' (0,65 mg/g), a najveći kod biljaka sa lokacija 'Maksimir cesta' i 'Vukomerec' (0,89 mg/g).

Klorofil b je prije cvatnje bio u rasponu od 0,28 do 0,45 mg/g, a u cvatnji od 0,39 do 0,52 mg/g. Najmanji sadržaj klorofila b prije cvatnje zabilježen je u listovima biljaka sa loakcije 'Rude' (0,28 mg/g), također su listovi sa lokacije 'Tuškanac' imali sličnu vrijednost (0,29 mg/g). Najveći sadržaj klorofila b prije cvatnje zabilježen je na lokaciji 'Maksimir potok' (0,45 mg/g). Za vrijeme cvatnje najmanji sadržaj klorofila b zabilježen je kod biljaka sa lokacija 'Maksimir potok' i 'Tuškanac' (0,39 mg/g), a najveći kod biljaka sa lokacije 'Maksimir cesta' i 'Vukomerec' (0,52 mg/g) (Tablica 6).

Ukupni klorofili kretali su se od 0,94 do 1,27 mg/g prije cvatnje. S tim da je najmanja vrijednost bila kod biljaka sa lokacije 'Rude', a najveća kod biljaka sa lokacije 'Maksimir potok'. Za vrijeme cvatnje ukupni klorofili iznosili su od 1,07 do 1,42 mg/g. S tim da je najmanja vrijednost zabilježena na lokaciji 'Rude', a najveća na lokaciji 'Maksimir cesta' i 'Vukomerec' (1,41 i 1,42 mg/g).

Karotenoidi u listovima medvjeđeg luka prije cvatnje su bili u rasponu od 0,46 do 0,54 mg/g. Najmanju vrijednost karotenoida imali su listovi biljaka sa lokacije 'Rude' (0,46 mg/g) iako se vrijednosti karotenoida sa lokacija 'Maksimir potok' (0,48 mg/g), 'Vukomerec' (0,50 mg/g) i 'Tuškanac' (0,49 mg/g) nisu bitnije razlikovale. Za vrijeme cvatnje se sadržaj karotenoida povećao i iznosio je od 0,48 do 0,62 mg/g (Tablica 6). Najmanju vrijednost za vrijeme cvatnje imali su listovi sa lokacija 'Rude' i 'Tuškanac', a najveću sa lokacije 'Maksimir cesta' i 'Vukomerec' (0,62 mg/g). Moguće povećanje sadržaja karotenoida za vrijeme cvatnje dogodilo se zbog starenja listova. Ostali faktori koji utječu na koncentraciju karotenoida su: klimatski uvjeti i vrsta tla.

Navedeni rezultati se ne podudaraju sa rezultatima iz literature. Prema Štajneru i Szllosi Varga (2003) listovi medvjeđeg luka sadrže 2,87 mg/g klorofila a, 1,35 mg/g klorofila b i čak 9,99 mg/g karotenoida. Kao što je ranije spomenuto, medvjeđi luk je biljka koja raste u rano proljeće ispod drveća te tako izbjegava kompeticiju za svjetlost dok na krošnjama još nisu razvijeni listovi. Za vrijeme cvatnje, biljke se već nalaze u zasjeni te je na taj način smanjena njihova izloženost suncu (intenzitet svjetlosti je manji), a vlaga se zadržava.

Klorofili i karotenoidi rastu u listovima zbog njihove senescencije. U mjesecu lipnju dolazi do naglog sušenja nadzemnih dijelova biljke.

**Tablica 6.** Vrijednosti klorofila a, klorofila b, ukupnog klorofila i karotenoida u listovima medvjeđeg luka (mg/g)

| **Uzorak** | Klorofil a $p \leq 0,0001$ | Klorofil b $p \leq 0,0001$ | Ukupni klorofil $p \leq 0,0001$ | Karotenoidi $p \leq 0,0160$ |
|---|---|---|---|---|
| | | **PRIJE CVATNJE** | | |
| **ML 1** | 0,79c ± 0,01 | 0,35e ± 0,01 | 1,13c ± 0 | 0,54ab ± 0 |
| **ML 2** | 0,82b ± 0,01 | 0,45b ± 0,02 | 1,27b ± 0,02 | 0,48b ± 0,17 |
| **ML 3** | 0,73d ± 0,01 | 0,34e ± 0,01 | 1,07e ± 0,01 | 0,50b ± 0,01 |
| **ML 4** | 0,66f ± 0,01 | 0,28f ± 0,01 | 0,94g ± 0,01 | 0,46b ± 0,01 |
| **ML 5** | 0,69e ± 0,01 | 0,29f ± 0,01 | 0,99f ± 0,01 | 0,49b ± 0,01 |
| | | **CVATNJA** | | |
| **MLc 1** | 0,89a ± 0,01 | 0,52a ± 0,01 | 1,41a ± 0,01 | 0,62a ± 0,01 |
| **MLc 2** | 0,74d ± 0,01 | 0,39d ± 0,01 | 1,14c ± 0,01 | 0,53ab ± 0 |
| **MLc 3** | 0,89a ± 0,01 | 0,52a ± 0,01 | 1,42a ± 0,01 | 0,62a ± 0 |
| **MLc 4** | 0,65f ± 0,01 | 0,43c ± 0,01 | 1,07e ± 0,02 | 0,48b ± 0 |
| **MLc 5** | 0,71e ± 0,01 | 0,39d ± 0,01 | 1,10d ± 0,01 | 0,49b ± 0,01 |

ML 1 – 'Maksimir cesta', ML 2 – 'Maksimir potok', ML 3 – 'Vukomerec', ML 4 – 'Rude', ML 5 – 'Tuškanac'; MLc – oznaka za uzorke u cvatnji. Različita slova prikazuju značajne statističke razlike između srednjih vrijednosti.

# 5. ZAKLJUČAK

Medvjeđi luk je samonikla biljka čiji su listovi bogati vitaminom C i antioksidansima. Budući da u Hrvatskoj nije zakonom zaštićena, ova biljka je lako dostupna za berbu i konzumaciju.

Temeljem rezultata ovog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

1. Duljina listova medvjeđeg luka iznosila je od 157,38 do 202,09 mm ovisno o mikrolokaciji i fazi rasta. Biljke sa lokacije 'Rude' imale su prosječno najveću duljinu lisne plojke prije cvatnje, a biljke sa lokacije 'Vukomerec' za vrijeme cvatnje. Najmanja duljina lisne plojke prije i za vrijeme cvatnje izmjerena je na uzorcima sa lokacije 'Maksimir potok'.

2. Ispitivane populacije pripadaju formi *ucrainicum* jer svi uzorci imaju širinu lisne plojke veću od 35 mm.

3. Najveći postotak suhe tvari izmjeren je kod uzoraka prije cvatnje (od 8,86 do 11,22 %). Najmanji postotak suhe tvari prije cvatnje zabilježen je na lokaciji 'Rude', dok je najveći izmjeren u listovima biljaka sa lokacije 'Maksimir potok' (11,22 %).

4. pH listova medvjeđeg luka kreće se oko 5,5, a listovi sadrže i vrlo male razine ukupnih kiselina koje iznose od 0,047 do 0,088 % ovisno o lokaciji i fazi rasta.

5. Najveći sadržaj vitamina C izmjeren je prije cvatnje i iznosio je 63 mg/100 g na lokaciji 'Vukomerec'. Općenito se za vrijeme cvatnje kod svih uzoraka, na svim lokacijama smanjio sadržaj vitamina C.

6. Koncentracija fenola, flavonoida i neflavonoida smanjila se za vrijeme cvatnje kod gotovo svih ispitivanih uzoraka ovisno o lokaciji. Do smanjenja ukupnih fenola i flavonoida za vrijeme cvatnje nije došlo na lokaciji 'Rude', a do smanjenja neflavonoida nije došlo na lokacijama 'Rude' i 'Tuškanac'.

7. Za vrijeme cvatnje antioksidacijski kapacitet se povećao na svim lokacijama te je iznosio u rasponu od 2141,29 do 2230,66 μmol TE/L.

8. Sadržaj klorofila a u listovima medvjeđeg luka prije i za vrijeme cvatnje iznosi od 0,65 do 0,89 mg/g. Klorofil b je u rasponu od 0,28 do 0,52 mg/g. Ukupni klorofil je iznosio od 0,94 do 1,41 mg/g ovisno o lokaciji i fazi rasta.

9. Za vrijeme cvatnje sadržaj karotenoida se povećao i iznosio je od 0,48 do 0,62 mg/g ovisno o lokaciji.

Iz navedenih tvrdnji može se zaključiti da faza rasta i mikrolokacija sa svojim pedoklimatskim čimbenicima utječu na smanjenje, odnosno povećanje sadržaja nekih bioaktivnih komponenti. S obzirom da se medvjeđi luk može zamjeniti sa određenim, potencijalno po život opasnim biljkama, bitna je edukacija u vidu upoznavanja s morfološkim karakteristikama prije odlaska u berbu.

# 6. LITERATURA


1. Andersson ME. (1993). Aluminium toxicity as a factor limiting the distribution of Allium ursinum L. Annals of Botany 72:607–611.
2. Anačkov, G. (2003). Rod Allium L. 1754 (Amaryllidales, *Alliaceae*) u flori Vojvodine. Magistarski rad, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
3. Ankri S., Mirelman D. (1999). Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes and Infection. 1(2):125–129.
4. Bagiu RV, Vlaicu B., Butnariu M. (2010). Chemical composition and in vitro antifungal activity screening of the Allium ursinum L. (Liliaceae) International Journal of Molecular Sciences. 13:426–1436.
5. Bierzychudek P. (1982). Life histories and demography of shade-tolerant temperate forest herbs: a review. New Phytologist. 90:757–776.
6. Błażewicz-Woźniak M., Michowska A. (2011). The growth, flowering and chemical composition of leaves of three ecotypes of Allium ursinum L. Acta Agrobotanica 64: 171-180
7. Boscher J, Auger J, Mandon N., Ferary S. (1995). Qualitative and quantitative comparison of volatile sulphides and flavour precursors in different organs of some wild and cultivated garlics. Biochemical Systematics and Ecology. 23(7/8):787–791.
8. Celing Celić M.[1], (2018). Srijemuš možete uzgojiti i u vrtu, a kod branja budite jako oprezni. Dostupno na: https://www.agroklub.com/hortikultura/srijemus-mozete-uzgojiti-i-u-vrtu-a-kod-branja-budite-jako-oprezni/40927/
9. Celing Celić M.[2], (2018). Sve veće zanimanje za srijemuš – u Austriji ga i uzgajaju. Dostupno na: https://www.agroklub.com/hortikultura/sve-vece-zanimanje-za-srijemus-u-austriji-ga-i-uzgajaju/40259/
10. Chybowski J. (1997). Badania aktywności przeciwrobaczej wyciągów czosnkowych. Herba Polonica. 43(4):383–387.
11. Činčura F, Feráková V, Májovský J, i sur. (1990). Pospolite rośliny środkowej Europy. Warszawa: PWRiL
12. Damjanić I. (2015). Divlji luk lat. *Allium ursinum*. Priručnik. Na Okić. Udruga za suživot s prirodom.
13. Dyduch J., Najda A. (2001). Estimation of the biological value of winter garlic leaves from early cultivation on bunch crop. Part II. Plants grown from planting air bulbs. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. 4(2): 4.
14. Đurđević L, Dinić A, Pavlović P. (2004). Allelopathic potential of Allium ursinum L. Biochemical Systematics and Ecology. 32:533–544.
15. Eggert A. (1992) Dry matter economy and reproduction of a temperate forest spring geophyte Allium ursinum. Ecography. 15:45–52.
16. Encyclopedia of life. *Allium Ursinum*. Dostupno na: https://eol.org/pages/1085089/
17. Epure L.I., Roman G.V., Mărăcineanu R. (2011) Studies on medicinal and aromatic plants used in the therapeutic recepies in the Bucharest university hospital. Science Papers. University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest , LIV, 304–313
18. Ernst (1979). WHO. Population biology of Allium ursinum in northern Germany. Journal of Ecology. 1979;67:347–362.

19. eNWFP DATABASE. European non-wood forest products network. Ramsons: *Allium ursinum*. Dostupno na: http://www.nwfps.org/nwfp/ramsons/
20. Farkas A., Molnàr R., Morschhauser T. (2012). Variation in nectar volume and sugar concentration of Allium ursinum L. ssp. ucrainicum in three habitats.ScientificWorldJournal. 2012:138579.
21. Fenweck i Hanley (1990). Chemical composition. In.Brewster J. L., Rabinowitch, H.: Onion and Allied Crops, Vol. III, CRS Press Inc., Boca Raton, Florida
22. Forenbacher S. (1998). Otrovne biljke i biljna otrovanja životinja. Zagreb, Školska knjiga.
23. Gallie D.R. (2013). L-ascorbic acid: a multifunctional molecule supporting plant growth and development. Scientifica. 2013: 24
24. Gîtin L., Dinică R., Parnavel R. (2012). The influence of extraction method on the apparent content of bioactive compounds in Romanian Allium spp. leaves. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj Napoca. 40(1):93–97.
25. Glavaš M., (2012). Medvjeđi luk. Časopis Hrvatske šume 184:32.
26. Godevac D., Vujisić L., Mojović M., i sur. (2008). Evaluation of antioxidant capacity of Allium ursinum L. volatile oil and its effect on membrane fluidity. Food Chemisty. 107(4):1692–1700.
27. Golubkina N., Kosheleva Vasilyevna O., Malankina H.L., Solovyeva A.Y. (2010). Content of biologically active substances - Selenium, flavonoids, ascorbic acid and chlorophyllin of Allium ursinum L. and Allium victoralis L. Voprosy pitaniia.;79(1):78-81.
28. Govindappa K.V., Manjappa S., Patel R. i Kumar Ajay K. (2013). Determination of vitamin C in some fruits and vegetables in Davanagere city, (Karanataka) – India. International Journal of Pharmacy and Life Sciences. 4(3): 2489 – 2491.
29. Hermy M., Honnay O., Firbank L., i sur. (1999). An ecological comparison between ancient and other forest plant species of Europe, and the implications for forest conservation. Biological Conservation. 91(1):9–22.
30. Jandl R., Kopeszki H., Glatzel G. (1997). Effect of dense Allium ursinum (L.) ground cover on nutrient dynamics and mesofauna of a Fagus sylvatica (L.) woodland. Plant Soil. 189:245–255.
31. Karpaviciene B. (2006). Distribution of Allium ursinum L. in Lithuania. Acta Biologica Univ Daugavp 6(1–2):117–122
32. Keran H., Jašić M., Viktor Juul N., Odobašić A., Salkić M., Ademović Z., Mahovac E. (2015). Activity Water and antioxidative properties of Wild Onion from Bosnia and Herzegovina. Journal of recent advances in agriculture 3(4): 377-381.
33. Kovacs JA. (2007). Data to vegetation biology and coenological relations of Allium ursinum L. stands in Eastern Transylvania. Kanitzia. 15:63–76.
34. Kubec R., Svobodova M., Velisek J. (2000). Distribution of S-alk(en)ylcysteine sulfoxides in some Allium species. Identification of a new flavour precursor: S-ethylcysteine sulfoxide (ethiin) Journal of Agriculture and Food Chemistry. 48:428–433.
35. Landshuter J., Lohmüller EM, Knobloch K. (1994). Purification and characterization of C-S-lyase from ramson, the wild garlic, Allium ursinum. Planta Medica. 60:343–347.

36. Lenkova M., Bystricka J., Toth T. i Hrstkova M. (2016). Evaluation and comparison of the content of total polyphenols and antioxidant activity of selected species of the genus Allium. Jurnal of Central European Agriculture, 17(4), p. 1119 – 1133.
37. Leporatti ML, Ivancheva S. (2003). Preliminary comparative analysis of medicinal plants used in the traditional medicine of Bulgaria and Italy. Journal of Ethnopharmacology. 87:123–142.
38. Lešić R., Borošić J., Buturac J., Ćustić M., Poljak M., Romić D. (2002). Povrćarstvo. Čakovec: Zrinski
39. Leuschner C., Lendzion J. (2009). Air humidity, soil moisture and soil chemistry as determinants of the herb layer composition in European beech forests. Journal of Vegetation Science. 20:288–298.
40. Lovrić S. (2014). Fiziološka i ekološka značajnost fenolnih spojeva u biljci. Završni rad. Poljoprivredni fakultet u Osijeku
41. Macků J, Krejča J. (1989). Atlas roślin leczniczych. Wrocław: Zakład Narodowy im. Ossolińskich
42. Maretić Z. (1986). Naše otrovno bilje i životinje. Zagreb: Stvarnost.
43. Morschhauser T., Rudolf K., Botta-Dukát Z., i sur. (2009). Density-dependence in the establishment of juvenile Allium ursinum individuals in a monodominant stand of conspecific adults. Acta Oecologica. 35(5):621–629.
44. Nagori BP, Solanki R., Sharma N. (2010). Natural healing agent: garlic, an approach to healthy life. International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy . 1(2):358–366.
45. Oborny B, Botta-Dukat Z, Rudolf K, Morschhauser T. (2011). Population ecology of Allium ursinum, a space-monopolizing clonal plant. Acta Botanica Hungarica. 53(3–4):371–388.
46. Oszmiański J, Kolniak-Ostek J, Wojdyło A. (2013). Characterization and content of flavonol derivatives of Allium ursinum L. plant. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 61:176–184.
47. Parvu M., Parvu AE, Vlase L., i sur. (2011) Antifungal properties of Allium ursinum L. ethanol extract. Journal of Medicinal Plants Research. 5(10):2041–2046.
48. Park Maksimir. Opći podaci. Dostupno na: http://www.park-maksimir.hr/maksimir_hr/maksimir_o_parku.htm
49. Pedološka karta Hrvatske. Dostupno na: http://tlo-i-biljka.eu/iBaza/Pedo_HR/index.html
50. Puxbaum H., König G. (1997). Observation of dipropenyl disulfide and other organic sulfur compounds in the atmosphere of a beech forest with Allium ursinum ground cover. Atmosperic Environment. 31(2):291–294.
51. Piatkowska E., Kopeć A., Leszczynska T. (2015). Basic chemical composition, content of micro and macroelements and antioxidant activity of different varieties of garlic's leaves polish origin. Nauka. Technologia. Jakość 1 (98), 181 – 192.
52. Preuss HG, Clouatre D., Mohamadi A., i sur. (2001) Wild garlic has a greater effect than regular garlic on blood pressure and blood chemistries of rats. International Urology and Nephrology. 32(4):525–530.
53. Rietz B., Isensee H., Strobach H., i sur. (1993). Cardioprotective actions of wild garlic (Allium ursinum) in ischemia and reperfusion. Molecular and Cellular Biochemistry. 119:143–150.

54. Rola K. (2012). Taxonomy and distribution of Allium ursinum (Liliaceae) in Poland and adjacent countries. Biologia. 67(6):1080–1087.
55. Rychnovská M, Bednář V. (1998). Floodplain forest: herb layer as indicator of its ecological status. Acta Universitatis Palackianae Olomucensis, Facultas Rerum Naturalium, Biologie . 36:7–15.
56. Schmitt B, Glodek J, Keusgen M (2002). Ontogenic changes of cysteine sulphoxides in Allium ursinum L. Revista de Fitoterapia 2(Suppl. 1) 224, B020
57. Schmitt B., Schulz H., Strosberg J., Keusgen M. (2005). Chemical characterization of Allium ursinum L. depending on harvesting time. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2005;53:7288–7294.
58. Sendl A. (1995). Allium sativum and Allium ursinum: part 1. Chemistry, analysis, history, botany. Phytomedicine. 1(4):323–329.
59. Sendl A., Wagner H. (1991). Isolation and identification of homologues of ajoene and alliin from bulb-extracts of Allium ursinum. Planta Medica. 57(4):361–362.
60. Shmanova IW, Krichfalushii WW. (1995). Biomorphological and ecologo-coenotic characteristics of Allium ursinum L. in Carpathians. Rastitel'nye Resursy 31(3):1–18.
61. Smeets K., Van Damme EJ, Van Leuven F., Peumans WJ. (1997). Isolation, characterization and molecular cloning of a leaf-specific lectin from ramsons (Allium ursinum L.) Plant Molecular Biology. 35(4):531–535.
62. Sobolewska D., Podolak I., Makowska Was J. (2015). Allium ursinum: botanical, phytochemical and pharmacological overview. Phytochemical Review. 14: 81-97.
63. Synowiec A., Gniewosz M., Zieja I., Baczek K., Przybyl J. (2010) Porównanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych ekstraktów z czosnku niedźwiedziego (Allium ursinum) Zesz Probl Postępów Nauk Rol. 553:203–209.
64. Szafer W, Zarzycki W. (1972). Szata roślinna Polski. Warszawa: PWN
65. Szafer W, Kulczyński S, Pawłowski B. (1988). Rośliny polskie. Warszawa: PWN
66. Šic Žlabur J., Voća S., Dobričević N. (2016). Kvaliteta voća, povrća i prerađevina. Priručnik za vježbe. Zagreb, Agronomski fakultet.
67. Štajner D, Szöllosi Varga I. (2003). An evaluation of the antioxidant abilities of Allium species. Acta Biologica Szeged. 47(1–4):103–106.
68. Štajner D., Popović B.M., Canadanović – Brunet J., Štajner M. (2008). Antioxidant and scavenger activities of Allium Ursinum. Fitoterapia 79 (4) : 303-5.
69. Treben M. (1992). Apteka Pana Boga. Porady i praktyka stosowania ziół leczniczych. Warszawa: Natur-Produkt TOM-MARK
70. Todorović, V. (2002). Ranostasnost i prinos mladog luka u zavisnosti od vrste (*A. cepa* L. i *A. Fistulosum* L.) i načina proizvodnje u plastenicima. Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
71. Todorović V., Lazić B., Igić R., Đurovka M. (2009). Karakteristike mladog luka različitih populacija Allium ursinum L. s područja Republike Srpske. Zbornik radova 44. hrvatskog i 4. međunarodnog simpozija agronoma. 454-458.
72. Tomšik A., Mastilović J., Kevrešan Ž., Vidović S. (2016). Shelf life of ramsons (*Allium ursinum* L.) under different storing conditions. Conference paper. Conference: III International Congress Food Technology, Quality and Saftey.
73. Wagner H, Sendl A. (1990). Barlauch und Knoblauch. Vergleichende chemische und pharmakologische Untersuchungen von Barlauch - und Knoblauchextrakten. Deutsche Apotheker-Zeitung. 33:1809–1815.

74. Wiater M, Sobolewska D, Janeczko Z (1998) Fatty acids in lipid fraction from the undeground parts of Allium ursinum L. In: XVII Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego “Farmacja w perspektywie XXI w.”. Streszczenia. Kraków. 10–13 Sept 1998
75. Yoo KS, Pike LM. (1998) Determination of flavor precursor compound S-alk(en)yl-L-cysteine sulfoxides by an HPLC method and their distribution in Allium species. Scientia Horticulturae. 75(1–2):1–10.
76. Zarzycki K, Mirek Z. (2006). Red list of plants and fungi in Poland. Czerwona lista roślin i grzybów Polski. Kraków: Instytut Botaniki im. W. Szafera PAN

## 7. POPIS SLIKA

**Slika 1.** Rasprostranjenost medvjeđeg luka na području Hrvatske. (https://hirc.botanic.hr/)
**Slika 2.** Morfologija medvjeđeg luka. (https://www.pacificbulbsociety.org/)
**Slika 3.** Korijen medvjeđeg luka (lijevo) i cvijet medvjeđeg luka (desno) (https://www.pacificbulbsociety.org/)
**Slika 4.** Sjemenke medvjeđeg luka (https://www.pacificbulbsociety.org/)
**Slika 5.** Razlike između medvjeđeg luka, đurđice i mrazovca (s lijeva na desno) (https://mozaikmedici.com/)
**Slika 6.** Bijela čemerika (*Veratrum album* L.) (https://pfaf.org/)
**Slika 7.** Prikaz staništa 'Maksimir uz cestu' (lijevo foto: M. Peša; desno: www.google.hr/maps)
**Slika 8.** Biljni materijal 'Maksimir cesta' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno) (Foto: M.Peša).
**Slika 9.** Prikaz staništa 'Maksimir uz potok' (lijevo foto: M. Peša; desno: www.google.hr/maps)
**Slika 10.** Biljni materijal 'Maksimir potok' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno) (Foto: M.Peša)
**Slika 11.** Prikaz staništa 'Vukomerec' (lijevo foto: M. Peša; desno: www.google.hr/maps)
**Slika 12.** Biljni materijal 'Vukomerec' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno) (Foto: M.Peša)
**Slika 13.** Prikaz staništa 'Rude' (lijevo foto: M. Peša; desno: www.google.hr/maps)
**Slika 14.** Biljni materijal 'Rude' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno) (Foto: M.Peša)
**Slika 15.** Prikaz staništa 'Tuškanac' (lijevo foto: M. Peša; desno: www.google.hr/maps)
**Slika 16.** Biljni materijal 'Tuškanac' prije cvatnje (lijevo); cvatnja (desno) (Foto: M.Peša)

# Životopis

Marija Peša rođena je 01. veljače 1994. u mjestu Nova Bila u Bosni i Hercegovini. U Zagreb se doseljava nedugo nakon rođenja te nakon završene osnovne, i srednje tehničke škole nastavlja svoje obrazovanje na Agronomskom fakultetu u Zagrebu kojeg upisuje 2013. godine. Preddiplomski studij Hortikulture završava u rujnu 2016. godine te se iste godine upisuje na diplomski studij Hortikulture, usmjerenja Povrćarstvo. Svoju praksu odrađuje na OPG-u Zdenka Dodig gdje širi svoje znanje o ekološkoj poljoprivredi. Aktivno poznaje engleski jezik u govoru i pismu, posjeduje vozačku dozvolu B kategorije. Veliki je ljubitelj bicikliranja i trail utrka.