

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Karolina GABER

**VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V LESU MEHANSKO
POŠKODOVANIH BUKEV (*Fagus sylvatica* L.)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**CONTENT OF TOTAL PHENOLS IN WOOD OF MECHANICALLY
WOUNDED BEECH (*Fagus sylvatica* L.)**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2012

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija lesarstva. Opravljeno je bilo v delovni skupini za kemijo lesa na Oddelku za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Senat Oddelka za lesarstvo je odobril naslov diplomskega dela in je za mentorja imenoval izr. prof. dr. Primoža Ovna, za somentorico doc. dr. Ido Poljanšek in za recenzenta prof. dr. Marka Petriča.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Karolina Gaber

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 630*813.12
KG	les/bukev/reakcijska cona/poškodba/fenoli/spektrofotometrija
AV	GABER, Karolina
SA	OVEN, Primož (mentor)/POLJANŠEK, Ida (somentorica)/PETRIČ, Marko (recenzent)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo
LI	2012
IN	VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V LESU MEHANSKO POŠKODOVANIH BUKEV (<i>Fagus sylvatica</i> L.)
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	IX, 71 str., 8 pregl., 44 sl., 3 pril., 6 vir
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	V lesu 2 preučevanih bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), posekanih v urbanem okolju na JZ pobočju Rožnika v Ljubljani, smo ugotovili vsebnost celokupnih fenolov v ksilemskih tkivih, nastalih kot odziv na mehansko poškodbo. Raziskali smo, katera poranitvena tkiva vsebujejo večji delež celokupnih fenolov. Pripravljene vzorce smo najprej ekstrahirali v vodni raztopini 80 % metanola. Delež celokupnih fenolov smo določili spektrofotometrično po Folin–Ciocalteu-jevi metodi. Ugotovili smo, da se vsebnost celokupnih fenolov v tkivih razlikuje znotraj drevesa in med drevesoma. Pri 1. drevesu je bila vsebnost celokupnih fenolov največja v lesu reakcijske cone (283,92 mg/L), ki je razmejevala prizadeto in zdravo tkivo. V diskoloriranem lesu je bila vsebnost celokupnih fenolov najmanjša (36,39 mg/L). Povečana vsebnost celokupnih fenolov v lesu reakcijske cone je najverjetneje prispevala h kompartmentalizacijski učinkovitosti teh tkiv.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 630*813.12
- CX wood/beechness/reaction zone/wounding/phenols/spectrophotometry
- AU GABER, Karolina
- AA OVEN, Primož (supervisor)/POLJANŠEK, Ida (supervisor)/PETRIČ, Marko (co-advisor)
- PP SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology
- PY 2012
- TI CONTENT OF TOTAL PHENOLS IN WOOD
OF MECHANICALLY WOUNDED BEECH (*Fagus sylvatica* L.)
- DT Graduation Thesis (University studies)
- NO IX, 71 p., 8 tab., 44 fig., 3 ann., 6 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB It was found out that the wood of 2 studied beech trees (*Fagus sylvatica* L.), cut down in the urban area on the south-western slope of Rožnik in Ljubljana, contained total phenols in xylem tissues, developed due to mechanical injuries. We researched which injured tissues contained a larger portion of total phenols. To determine this we extracted samples in water solution of 80 % methanol. The share of total phenols was determined spectrophotometrically using the Folin-Ciocalteu method. The content of total phenols in tissues of the 2 studied beeches differed depending on the tree and the tissue. In both the trees, the content of total phenols in the sapwood was decreasing as the height of the patterns alongside the tree was increasing. In the first tree, the content of total phenols was the highest in the wood of reaction zone (283.92 mg/L) separating the injured and healthy tissues. The content of total phenols was the lowest (36.39 mg/L) in the discolored wood. The increased content of total phenols in the wood of the reaction zone most probably contributed to compartmentalizing efficiency of these tissues.

KAZALO

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	II
KEY WORDS DOCUMENTATION	III
KAZALO	IV
KAZALO SLIK	VI
KAZALO PREGLEDNIC.....	IX
1 UVOD IN CILJ DIPLOMSKE NALOGE.....	1
1.1 BUKEV	1
2 PREGLED LITERATURE	3
2.1 ZGRADBA LESA BUKVE.....	3
2.2 MEHANSKE POŠKODBE DREVJA	3
2.3 MODEL CODIT	4
2.4 MODEL REAKCIJSKIH CON	5
2.5 ZGRADBA REAKCIJSKIH CON PRI BUKVI.....	6
2.6 EKSTRAKTIVI	7
3 MATERIAL IN METODE.....	10
3.1 IZBOR DREVES	10
3.2 RAZREZ MATERIALA.....	10
3.3 MLETJE VZORCEV	11
3.4 SEJANJE ZMLETIH VZORCEV.....	13
3.5 DOLOČITEV VLAŽNOSTI VZORCEV IN DELEŽA SUHE SNOVI.....	13
3.6 EKSTRAKCIJA V 80 % METANOLU	15
3.6.1 Filtracija vzorcev oz. ekstrakta.....	15
3.6.2 Sušenje filtrata.....	17
3.6.3 Določitev deleža v metanolu (MeOH) topnih ekstraktivov.....	18
3.7 POSTOPEK DOLOČANJA CELOKUPNIH FENOLOV.....	20
3.7.1 Priprava raztopine Folin-Ciocalteu Reagenta (FC reagenta)	20
3.7.2 Priprava raztopine natrijevega karbonata (Na₂CO₃)	20
3.7.3 Priprava založne raztopine galne kisline.....	21
3.7.4 Priprava standardne raztopine galne kisline	21
3.7.5 Priprava zmesi reagentov in lesnega ekstrakta	22
3.8 DOLOČITEV CELOKUPNIH FENOLOV	22

3.9	MERJENJE ABSORBANC METANOLNIH EKSTRAKTOV LESA STANDARDNIH RAZTOPIN GALNE KILSINE Z UV-VIS SPEKTROFOTOMETROM	23
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	25
4.1	DOLOČITEV UMERITVENE KRIVULJE ZA STANDARDNE RAZTOPINE GALNE KISLINE IN IZRAČUN KONCENTRACIJ CELOKUPNIH FENOLOV V EKSTRAKTIH LESA.....	25
4.2	VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V DEBLU NAVADNE BUKVE (<i>Fagus sylvatica</i> L.) ŠT. 1	31
4.2.1	Rezultati izračunov za vsebnost celokupnih fenolov v preiskanih tkivih v drevesu št. 1.....	32
4.3	VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V DEBLU NAVADNE BUKVE (<i>fagus sylvatica</i> L.) ŠT. 2	45
4.3.1	Rezultati izračunov za vsebnost celokupnih fenolov v preiskanih tkivih v drevesu št. 2.....	46
4.4	POVPREČNE VREDNOSTI VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV V tkivih NAVADNE BUKVE (<i>Fagus sylvatica</i> L.) ŠT. 1	59
4.5	POVPREČNE VREDNOSTI V VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV V TKIVIH V DREVESU NAVADNE BUKVE (<i>Fagus sylvatica</i> L.) ŠT. 2	62
4.6	PRIMERJAVA POVPREČNIH VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV MED PREISKOVANIMA DREVESOMA PO KATEGORIJI LESNEGA TKIVA (KLT).....	65
5	SKLEP.....	68
6	POVZETEK.....	69
7	VIRI.....	71
	ZAHVALA	
	PRILOGE	

KAZALO SLIK

Slika 1: Razrez debla na kolute (levo) in pregled kolotov (desno)	10
Slika 2: Prikaz delitve koluta in določitev kategorije lesnega tkiva v kolutu (desno), razrez koluta na vzorce (levo).....	11
Slika 3: Dodajanje vzorca v mlin (levo) in mlin Retsch SM 2000 (desno).....	12
Slika 4: Laboratorijski mlinček in frakcija, ki je ostala na situ mreže 0,4 mm	13
Slika 5: Laboratorijska tehnica Mettler Toledo XS, ki smo jo uporabili za gravimetrično analizo vzorcev	13
Slika 6: Priprava raztopin reagentov	15
Slika 7: Prikaz materiala, ki smo ga potrebovali za filtracijo.....	16
Slika 8: Prikaz suhega ostanka po filtraciji v eksikatorju (levo) ter ekstrakt in vzorec po ekstrakciji (desno).....	17
Slika 9: Priprava raztopin standarda galne kisline	21
Slika 10: Prikaz dodatka raztopine Na ₂ CO ₃ v časovnem razmerju 1min do 8 min	22
Slika 11: Vzorci po dodanem Na ₂ CO ₃ (spredaj na sliki) in osnovna raztopina standardne galne kisline (zadaj na sliki) – levo in tekoč ekstrakt in pripravljene vzorci za umeritveno krivuljo - desno	23
Slika 12: UV-Vis spektrofotometer in sveže pripravljene raztopine reagentov in lesnega ekstrakta, sveže pripravljene zmesi standardnih raztopin galne kilsine in reagentov, ter slepi vzorec.	24
Slika 13: Umeritvene krivulja	25
Slika 14: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.) – prečni prerez, drevo št. 1, kolut 1(levo) in kolut 6(desno).....	31
Slika 15: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.) – prečni prerez, drevo št. 1, kolut 9.....	31
Slika 16: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot masna koncentracija v mg/L (kolut 1). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa....	34
Slika 17: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa (kolut 1). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.	34
Slika 18: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen v % glede na suho snov (kolut 1). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa....	35
Slika 19: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot masna koncentracija v mg/L (kolut 6). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa....	38
Slika 20: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 6). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.	38
Slika 21: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen v % glede na suho snov (kolut 6). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa....	39

Slika 22: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot masna koncentracija v mg/L (kolut 9). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa. ...	42
Slika 23: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g lesa (kolut 9). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.	42
Slika 24: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen v % glede na suho snov (kolut 9). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa. ...	43
Slika 25: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.) – prečni prerez, drevo št. 2, kolut 16 (levo) in kolut 21(desno).....	45
Slika 26: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.) – prečni prerez, drevo št. 2, kolut 23.....	45
Slika 27: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot masna koncentracija v mg/L (kolut 16). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	48
Slika 28: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 16). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	48
Slika 29: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen v % glede na suho snov (kolut 16). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	49
Slika 30: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot masna koncentracija v mg/L (kolut 21). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	52
Slika 31: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot delež kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 21). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	52
Slika 32: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov (kolut 21). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	53
Slika 33: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot masna koncentracija v mg/L (kolut 23). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	56
Slika 34: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 23). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	56

Slika 35: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov (kolut 23). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	57
Slika 36: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 1) celokupnih fenolov izraženih kot masna koncentracija v mg/L za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.	59
Slika 37: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 1) celokupnih fenolov izraženih kot ekvivalentnih galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.	60
Slika 38: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 1) vsebnosti v metanolu topnih ekstraktivov v % glede na suho snov za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.	61
Slika 39: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 2) celokupnih fenolov izraženih kot masna koncentracija v mg/L za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	62
Slika 40: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 2) celokupnih fenolov izraženih kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	63
Slika 41: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 2) deleža v metanolu topnih ekstraktivov izraženih kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	64
Slika 42: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); primerjava povprečnih vrednosti celokupnih fenolov med preiskovanima drevesama izraženih kot masna koncentracija v mg/L za posamezno kategorijo lesnega tkiva (KLT). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	65
Slika 43: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); primerjava povprečnih vrednosti celokupnih fenolov med preiskovanima drevesama, izraženih kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa za posamezno kategorijo lesnega tkiva (KLT). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	66
Slika 44: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); primerjava povprečnih vrednosti deleža v metanolu topnih ekstraktivov med preiskovanima drevesoma, izraženih kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov za posamezno kategorijo lesnega tkiva (KLT). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.	67

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Koncentracija standardnih raztopin galne kisline (mg/l).....	21
Preglednica 2: Datumi umeritvene krivulje in grafični prikazi za pripadajoči datum.....	27
Preglednica 3: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 1). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa. MeOH je metanol.	33
Preglednica 4: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 6). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa. MeOH je metanol.	37
Preglednica 5: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 9). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa. MeOH je metanol.	41
Preglednica 6: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 16). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol..	47
Preglednica 7: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 21). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorco rdečega srca. MeOH je metanol.	51
Preglednica 8: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 23). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorco rdečega srca. MeOH je metanol.	55

KAZALO PRILOG

PRILOGA A - Rezultati meritev za drevo št. 1

PRILOGA B - Rezultati meritev za drevo št. 2

PRILOGA C- Postopek merjenja absorbanca z UV-Vis spektrofotometrom

1 UVOD IN CILJ DIPLOMSKE NALOGE

1.1 BUKEV

Ena izmed gospodarsko najpomembnejših in najbolj razširjenih vrst listavcev na severni polobli je veličastna bukev. Če bi našo malo Slovenijo prepustili naravi brez človeka, bi bukev postala kraljica gozda, kot je nekoč že bila. Zelo pomembna je tudi biološka vrednost bukve, saj ohranja rodovitnost gozdnih tal ter povečuje stabilnost celotnega gozdnega ekosistema. Pred leti je bil sicer upad te drevesne vrste, v današnjem času, ko pa se človek zopet zaveda pravega pomena narave, čedalje bolj stremimo k povečevanju deleža bukve.

»Naredite mi to deželo zopet bukovo.« (Brus, 2005)

Opis drevesne vrste je povzet po Brusu (2005). Bukev je listopadna drevesna vrsta, ki v naših krajih zraste v višino do 40 m in doseže debeline do 80 cm. Bukev je sencozdržna drevesna vrsta (to njeno lastnost najbolj opazimo v njeni mladosti, oblikuje nežne senčne liste). Rast bukve je razmeroma hitra, najraje raste na svežih in globokih, s kalcijem bogatih tleh, prav tako pa dobro uspeva tudi na tleh, ki vsebujejo vsaj nekaj apna (predvsem gorski svet). Za svoj razvoj potrebuje precej talne in zračne vlage, ustreza ji humidno podnebje. Potrebuje tudi precej toplote in za svoj razvoj tudi dolgo vegetacijsko dobo. Bukev je izrazita sestojna drevesna vrsta, uspešno se pomlajuje tudi v gosti senci lastnih sestojev. Bukev ima namreč lastnost, da lahko dolgo časa preživi v senci in potem normalno nadaljuje z rastjo. Priraščanje lesa je odvisno od rodovitnosti rastišča, prav tako pa tudi od klimatskih dejavnikov. Les bukve ima širok spekter uporabe, vse od surovine za kurjavo do uporabe njenega lesa za izdelavo pohištva ter parketa. Širok spekter uporabe tega lesa pa izvira iz njegovih lastnosti: velika tlačna trdnost, trd in težak les, ki se dobro cepi in obdeluje ter ima enakomerno strukturo in teksturo. Poleg dobrih lastnosti ima

bukov les tudi pomanjkljivosti, kot so: majhna elastičnost, majhna upogibna trdnost ter nagnjenost k pokanju in krivljenju.

Veličastnost bukve se predvsem kaže v ohranjanju rodovitnosti gozdnih tal ter v trajnem ohranjanju gozdnega ekosistema. Ekološko neprijazna izraba fosilnih virov energije in s tem povečevanje učinka tople grede povzroča propadanje bukovih gozdov, s tem pa propadanje človeškega življenja. Brez naravnih lepot našega ekosistema bi bilo življenje pusto in nesmiselno. Zato moramo odgovorno in preudarno načrtovati vsakršne posege v naravo in se ob tem zavedati izrednega pomena ekosistema in narave ter ohranjati prvobitnost le-te.

CILJI DIPLOMSKE NALOGE:

Ugotoviti vsebnost celokupnih fenolnih ekstraktivov v ksilemskih tkivih, ki pri bukvi nastanejo kot odziv na mehansko poškodbo, ter raziskati, katera poranitvena tkiva vsebujejo večji delež celokupnih fenolov in ekstraktivov.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 ZGRADBA LESA BUKVE

Opis zgradbe lesa je povzet po Čufar (2002). Botanično je les sekundarni ksilem, ki ga v procesu sekundarne debelitvene rasti kambij proizvaja v smeri stržena. Les je nehomogen, anizotropen material, kar pa tudi v neki meri zmanjšuje njegovo uporabnost.

Lesno tkivo je bilo že med evolucijo podvrženo nenehnemu razvoju in prilagajanju na določene razmere. Prav to je v veliki meri prispevalo k velikim razlikam med lesnim tkivom iglavcev in močno naprednim tkivom listavcev. Lesno tkivo listavcev je bolj specializirano, kar pomeni tudi izrazitejše delitve dela med različnimi celicami in tkivi.

Osnovno tkivo bukve je iz traheid z obokanimi piknjami. Njihova naloga je prevajanje vode. Traheje so po prečnem prerezu razporejene difuzno, zato bukev tudi uvrščamo med difuzno porozne listavce. Za traheje so značilne lestvičaste in enostavne perforacije, ki so pogosto tudi zatiljene. Tangencialni premer trahej je okoli 8 μm . Trahejni členi so dolgi, zašiljeni, pogosto z lestvičastimi perforacijami. Trakovno tkivo je heterogeno, osrednji del je iz ležečih se celic, na robovih pa imamo po eno vrsto kvadratastih celic. Za bukev sta značilni dve vrsti trakov: 2- do 4-redni nizki trakovi in nad 10-redni ter nad 1 mm visoki trakovi. Trakovi na letnici so razširjeni (prečni prerez). Aksilani parenhim je apotrahealen in difuzen, lahko pa tudi difuzen v agregatih in redek. Bukvev je evolucijsko primitiven listavec.

2.2 MEHANSKE POŠKODBE DREVJA

Povzeto po Ovnu (2001). Drevo je živo bitje, ki se ne premika in je izpostavljeno številnim neugodnim dejavnikom.

Mestno okolje drevesom predstavlja velik obseg dejavnikov (trki vozil, vandalizem, gradbena dela, naravni pojavi – neurja), ki lahko povzročijo mehanske poškodbe. Ob mehanskem poškodovanju drevo izgubi na vitalnosti. Do mehanskih poškodb lahko pride tudi med sečnjo dreves, med spravilom hlodovine in pri gradnji prometnic. Pri mladem drevju se moramo v veliki meri zavedati malomarnosti pri košnji, saj lahko poškodujemo koreničnik in debla. Prva faza v zaporedju kompleksnih procesov je mehanska poškodba, ki v lesu sproži razvoj lokaliziranih sprememb (abiotska in biotska diskoloracija ter biološki razkroj).

2.3 MODEL CODIT

Povzeto po Ovnu (2001). Model CODIT (Compartmentalization Of Decay In Trees) predstavlja dogajanje v drevesu po mehanskem poškodovanju. Posledice poškodovanj omejujejo štiri modelne stene; tri modelne stene so v lesu, ki je nastal pred poškodbo, četrta pa razmejuje les, ki je nastal pred ranitvijo, od lesa, nastalega po njej. Prvi del pojasnjuje časovno zaporedje sprememb v tkivu po poškodovanju; drugi del modela pa je prostorski in v drevesu predstavlja ovire, ki omejujejo širjenje in razvoj razkrojnih procesov.

Časovni model CODIT – Prva faza po mehanski poškodbi, vključuje procese, ki so povezani z neposrednim odzivom drevesnih tkiv na poškodovanje (možnost nastanka abiotske diskoloracije oz. razbarvanja in nastanka jedrovine, prav tako pa je možen tudi vdor kisika v prevodne elemente). Po prvi fazi pride do kolonizacije poškodovanega zaščitnega lesa, pojavijo se diskoloracije, jedrovine in beljave. Pri listavcih nastanejo tudi barierne reakcijske cone, ki so vidne s prostim očesom in imajo zaščitno vlogo. Vidni so lahko sloji reakcijske cone na meji med nepoškodovano beljavo in okuženim diskoloriranim lesom. V tretji fazi les izgubi oporno funkcijo, saj začne potekati razkroj lesa.

Drevo je visoko predeljen organizem, učinki ranitev pa so opredeljeni na predelke. Neugodne posledice mehanskih poškodb so prostorsko omejene. Prostorski del modela v

prvem delu pojasni dogodke v obstoječem ksilemskem tkivu, v drugem delu pa nastanek tkiva, ki nastane po poškodovanju (nastanek reakcijske cone ali stene 4).

Posledice ranitve v lesu, ki je nastal pred poškodbo, lahko ponazorimo s štirimi predelnimi stenami.

Stena 1 je rezultat aktivnega odziva lesnega tkiva takoj po poškodbi, omejuje pa širjenje diskoloracije in okužbe v vzdolžni smeri. Učinkovitost stene 1 je odvisna od anatomskih posebnosti lesa in sposobnosti drevesne vrste za tvorbo okluzij (depoziti gume, kopičenje dodatnih pomožnih snovi, ...).

Stena 2 je anatomsko in zavira širjenje učinkov ranitve v centripetalni smeri.

Steno 3 tvori radialno usmerjeno trakovno tkivo, ki pa ni sklenjeno, zavira pa širjenje infekcij in diskoloracije v tangencialni smeri.

Glavni element modela CODIT je stena 4 oz. barierna predelna stena. Vlogo stene 4 pri večini listavcev opravlja več deset celic debela plast, s polifenoli zapolnjenimi parenhimskimi celicami ali travmatskimi kanali gume.

2.4 MODEL REAKCIJSKIH CON

Povzeto po Ovnu (2001). Reakcijske cone so zelo dinamične, nastajajo med okuženim in zdravim lesom (nastajale naj bi na mestu interakcij živih tkiv in gostitelja). Raziskave, ki so potekale, so pokazale, da reakcijske cone pravzaprav ustrezajo statičnemu karakterju predelnih barier. Pri obeh modelih nastanek obrambnih con temelji na aktivnem procesu.

A tej tezi nekateri avtorji nasprotujejo. Npr. Body in Rayner menita, da ima že vlažnost lesa zaščitno funkcijo. Frank je domneval, da ima lahko tudi mrtvo lesno tkivo zaščitno vlogo, saj zaščiten les nastaja na površini razkritega lesnega valja in lahko za daljši čas zavre napredovanje okužbe in razkroj.

2.5 ZGRADBA REAKCIJSKIH CON PRI BUKVI

Povzeto po Ovnu s sod. (2004). Preučevali so mejne kompartmentalizacijske plasti izvotljenih ter razkrajajočih se debelih sredic. Prišli so do zaključka, da mejne plasti pri vseh sedmih preiskanih drevesih anatomsko ustrezajo reakcijskim conam in ne bariernim conam, kot jih predstavlja model CODIT.

Prva faza je mehanska poškodba oz. zaporedje kompleksnih procesov, ki v lesu sprožijo razvoj lokaliziranih sprememb (abiotska ali biotska diskoloracija, biološki razkroj, izvotlitev drevesa).

Preučevali so sedem bukev (posekanih novembra 2001). Na preučevanih drevesih so bile na čelih hlodov vidne izrazite spremembe v osrednjem delu debla. Pri štirih drevesih je bil v osrednjem delu debla prisoten razkrajajoč se les, pri treh pa je bila sredica debla popolnoma ali delno izvotljena. Razkroj ter duplino so od zdrave beljave omejevale plasti, ki so bile izrazito temno obarvane; les reakcijske cone oz. bariernih con. Natančne makroskopske in anatomske preiskave so pokazale, da gre za opazne reakcijske cone, ki so beljavo ločevale od dupline ali razkroja reakcijske cone, in ne za barierne cone.

Reakcijske cone preučevanih bukev niso homogene strukture, saj jih sestavljajo tri jasno ločljive plasti (osrednji del reakcijske cone, zunanji del med beljavo in osrednjim delom reakcijske cone in notranji del reakcijske cone med osrednjim delom in razkrajajočim se lesom). Kjer pa reakcijska cona meji neposredno na duplino (testna drevesa 3, 4 in 7), je notranji del reakcijske cone manjkal (opazna so bila trosišča gliv na tangencialni strani).

Zapisali so, da so anatomske značilnosti zunanjega in osrednjega dela reakcijskih con pri bukvah z duplino enake kot pri bukvah z razkrajajočo se sredico. V osrednjem delu reakcijske cone so opazili, da so lumni vlaknastih traheid in parenhimskih celic zapolnjeni s temno obarvanimi depoziti, lumni trahej pa so bili zapolnjeni s suberiziranimi tilami in depoziti. Depoziti so se odložili tudi na letvičaste perforacije in v intervaskularne piknje. Opazili so tudi depozite, ki so zapolnjevali pikenjske odprtine med celicami. Tile ter trakovne in aksialne parenhimske celice osrednjega dela reakcijske cone so bile suberizirane.

Osrednji del reakcijske cone je vseboval tudi hife. Domnevajo, da njihovo napredovanje v smeri proti beljavi preprečujejo depoziti in suberizirane tile.

Zunanji del reakcijske cone izkazuje podobne zgradbene posebnosti, vendar manj izrazite kot v osrednjem delu reakcijske cone. V trahejah so opazili prisotnost debelostenih suberiziranih til, medtem ko depozitov ni bilo. V lumnih vlaknenih osnega in trakovnega parenhima so prevladovali svetlejši depoziti rumene, zelene, rjave barve. Pred zunanjim delom reakcijske cone, v beljavi, so opazili različne faze til. V trakovnem in aksialnem parenhimu so opazili škrobna zrna, kar dokazuje, da je to aktivno nastajajoči del reakcijske cone.

Gosti pleteži hif, delno razkrojene celične stene in depoziti potrjujejo, da se v notranjem delu reakcijske cone pojavijo različne stopnje biološkega razkroja. S pregledom kolotov z duplino pa so pokazali, da sta beljavi navznoter sledila zunanji in osrednji del reakcijske cone, izostal pa je notranji del. Ugotovili so, da duplina nastane s popolnim razkrojem sredice, propade pa notranji del reakcijske cone. Raziskave, ki so jih opravili na katedri za tehnologijo lesa, pojasnjujejo, da je prostorski obseg barierne cone pri različnih vrstah zelo variabilen. Dokazali so, da se pri bukvi barierna cona razvije samo v neposredni bližini rane, na oddaljenosti največ 1 cm. Razloge za to pa je mogoče pripisati zgradbenim posebnostim skorje (sklerificiranim floemskim trakovom, ki po ranitvi zavirajo sprostitve skorjinega tlaka v radialni in tangencialni smeri).

2.6 EKSTRAKTIVI

Povzeto po Ovnu (2011). Ekstraktivi predstavljajo veliko število spojin, ki jih iz lesa pridobivamo z različno uporabo polarnih in nepolarnih topil. Ekstraktivi so v veliki meri različne organske snovi, prav tako pa mednje spadajo tudi anorganske snovi, ki so pomembne za razvoj drevesa.

Ekstraktivi so sekundarni metaboliti, ki nastanejo v procesu ojedritve ali kot odziv živih celic lesa na mehansko poškodbo. Sekundarni metaboliti, ki nastanejo v procesu ojedritve

ali kot odziv živih celic lesa na mehansko poškodbo, imajo v drevesu zaščitno funkcijo. Nastanek ekstraktivov in njihova inkrustacija v celično steno med procesom ojedritve lesu podeli barvo in vonj, poveča njegovo naravno in dimenzijsko obstojnost ter trajnost, gostoto, poroznost in toksičnost.

Sekundarni metaboliti se v živem drevesu skladiščijo pretežno v jedrovini, kjer imajo oporno vlogo. Med ekstraktive sodijo tudi molekule, ki se porablajo za sintezo celične stene v najmanjših delih beljave, kjer se diferencirajo nove celice lesa, prav tako pa tudi tiste molekule, ki se v dormantnem obdobju uskladiščijo v živih parenhimskih celicah. Večinoma so to monomerni in oligomerni ogljikovi hidrati in maščobe, olja ter maščobne kisline.

Prav tako lahko bioaktivne snovi, ki jih izkorišča farmacevtska industrija, uvrstimo med drevesne ekstraktive. Vrsta in količina le-teh sta odvisni od drevesne vrste, ekoloških vplivov, letnega časa, geografskega položaja, mesta odvzema vzorca.

Klasifikacija ekstraktivov temelji na osnovi sorodnosti biokemijske poti, na osnovi njihove kemijske zgradbe, različne polarnosti in na osnovi topila, v katerem so ekstraktivi topni. Ekstraktivi listavcev so terpenoidni ekstraktivi, fenolni ekstraktivi (lignani, stilbenoidi, flavonoidi), drugi ekstraktivi (maščobe, voski, sladkorji, alkaloidi).

Terpenoidni ekstraktivi so skupina različnih snovi, katerih osnovna enota je izopren. Nadaljnja delitev pa temelji na številu izoprenskih enot, ki jih sestavljajo. Monoterpeni vsebujejo dve izoprenski enoti, zanje je pogosto značilen vonj. Seskviterpeni vsebujejo tri izoprenske enote, značilni pa so predvsem za les tropskih vrst (α -santanol, β -santanol). Diterpeni vsebujejo štiri izoprenske enote. So pa sestavina v balzamu iglavcev. Triterpeni oz. polipreni vsebujejo 6 izoprenskih enot. Triterpenoidi so npr. saponini, steroidi. Politerpenoidi so na primer ekonomsko pomemben kavčuk in izločki drevesne gume.

Fenolni ekstraktivi so snovi, katerih osnovna enota je fenolna enota. Pomembni so, saj njihova skupina snovi daje jedrovini lesa barvo in zaradi njih je les tudi toksičen. Enostavni fenoli iz listavcev so verjetno razgradni produkti spojin, ki se lahko hidrolizirajo med ekstrakcijo ali parno destilacijo (odkriti v lesovih *Populus*, *Salix*, *Betula*, *Quercus*). Ena izmed pomembnejših skupin fenolnih ekstraktivov so lignani.

Lignani so iz dveh fenilpropanoidnih enot, ki sta pogosto podobni dimernim strukturam, ki jih najdemo v ligninu. Monomerne enote lignanov pa so med seboj povezane z β -O-4 in β - β vezmi (nastanek tetrahidrofuranskega obroča – npr. pri siringarezinolu listavcev).

Stilbeni so prisotni v jedrovini borov (pinosilvin), zanje je značilen inhibitorski učinek na mikroorganizme. Prav zaradi prisotnosti stilbenov les na svetlobi potemni.

Flavonoidi so sestavljeni iz treh obročev (so C6-C3-C6 strukture), pri čemer struktura srednjega obroča določa razred flavonoida. Definicija flavonoida temelji na substituciji hidroksilnih in metoksilnih skupin v dveh aromatskih obročih. Med flavonoide uvrščamo: flavone, flavane, flavanone, izoflavanone, halkone, aurone. V lesu se flavonoidi nahajajo tudi v obliki glikozidov in v polimernih in oligomernih oblikah. Barvo lesa jedrovine pa povezujemo s prisotnostjo le-teh snovi v lesu. Poznamo pa tudi hidrolizirajoče tanine, pri katerih poimenovanje izvira iz dejstva, da se lahko hidrolizirajo v monomere s kislino. Hidrolizirajoči tanini so estri galne kisline in njenih dimerov, digalne in elagične kisline s sladkorji (običajno glukoza).

Med druge ekstraktive uvrščamo: maščobe, ki so estri glicerola z dolgimi verigami maščobnih kislin, voski pa so estri višjih alkoholov z maščobnimi kislinami.

Ogljikovi hidrati se nahajajo predvsem v najmlajših delih beljave, v kambijeви coni in skorji. Ekstrahiramo jih lahko s polarnimi topili. Najpomembnejša predstavnika ogljikovih hidratov sta glukoza, fruktoza,...

Alkaloidi so snovi, ki vsebujejo majhne količine dušika, ki imajo verjetno biološko učinkovanje na živali in ljudi. Alkaloidi so v manjših količinah prisotni v lesovih nekaterih tropskih vrst. Med bolj poznanimi alkaloidi v lesu velja omeniti berberin in strihnin ter smrtonosen koniin (poison hemlock).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 IZBOR DREVES

Drevesi sta rasli v urbanem okolju, na JZ pobočju Rožnika v Ljubljani, v odraslem bukovem sestoju. Drevesi sta bili visoki 28 m. Najprej smo si ogledali drevesa (slika 1) in nato izbrali drevesi za posek (drevesi sta bili močno mehansko poškodovani).



Slika 1: Razrez debla na kolute (levo) in pregled kolotov (desno)

3.2 RAZREZ MATERIALA

Kolute smo pripeljali v mizarsko delavnico, jih grobo razžagali in spravili v zamrzovalnik. Ves zamrznjeni material smo kasneje skrbno pregledali. Pri pregledu kolotov smo se osredotočili na identifikacijo rastnih značilnosti in tkiv, kot so beljava, jedrovina, reakcijska cona, poranitveni les, ki je nastal po poškodbi, in reakcijska cona v razpoki. Na vsakem kolotu smo označili položaj bodočih vzorcev tako, da smo pridobili tri ali štiri skupine vzorcev: vzorec beljave, poranitvenega lesa, reakcijskih con in diskoloriranega lesa, če je bil prisoten. Vzorce smo označili, kot prikazuje slika 2. Vzorce smo nato v zamrznjenem stanju razžagali in jih nato sušili pri 35 °C–36 °C (24 h).



Slika 2: Prikaz delitve koluta in določitev kategorije lesnega tkiva v kolutu (desno), razrez koluta na vzorce (levo)

Ko so se vzorci posušili, smo jih pripravili za mletje. Ves material smo imeli pripravljen in zložen na pladnjih.

3.3 MLETJE VZORCEV

Vzorci, ki smo jih razžagali na majhni tračni žagi, smo ustrezno shranili v označene prahovke. Sledilo je mletje vzorcev, ki smo ga opravili z mlinom Retsch SM 2000 (slika 3). Ker smo pripravljali material za ekstrakcijo, smo skrbno odstranili oznake na vzorcih in pričeli z mletjem. Sprva je kazalo, da bo mletje vzorcev potekalo brez težav, vendar smo morali zaradi zatikanja vzorca v stroju, vzorce še ustrezno zmanjšati, pri čemer smo si pomagali z dletom. Po mletju posameznega vzorca smo ves lesni prah skrbno shranili v ustrezno označene prahovke. Po končanem mletju posameznega vzorca smo stroj očistili zaradi morebitne kontaminacije naslednjega vzorca. Čiščenje stroja je trajalo od 2,5 min. do 4 min. (na vzorec); za mletje vzorca pa smo potrebovali 5 do 6 min.

Zaradi potreb po finejšem materialu smo vzorce zmleli še na laboratorijskem mlinčku (IKA A 10, anacysenmühle IKA Labortechnik). Ker smo za nadaljnjo analizo potrebovali 0,25 g vzorca, smo morali določene vzorce zmleti dvakrat, da smo dobili ustrezno količino zmletega materiala. Najmanj vzorca smo pridobili pri vzorcih reakcijske cone. Tako kot pri prvem mletju vzorcev smo morali tudi tokrat po vsakem mletju skrbno očistiti mlinček. Za

vsak vzorec smo porabili od 12 min. do 15 min. Po končanem mletju smo zmlet lesni prah takoj presejali skozi sito mreže 0,4 mm.



Slika 3: Dodajanje vzorca v mlin (levo) in mlin Retsch SM 2000 (desno)

3.4 SEJANJE ZMLETIH VZORCEV

Po končanem mletju vzorcev smo ves lesni prah presejali skozi sito mreže 0,4 mm, zaradi potreb po finejšem prahu, ki smo ga potrebovali za ekstrakcijo (slika 4). Preostanek materiala smo shranili nazaj v prahovke.



Slika 4: Laboratorijski mlinček in frakcija, ki je ostala na situ mreže 0,4 mm

3.5 DOLOČITEV VLAŽNOSTI VZORCEV IN DELEŽA SUHE SNOVI

Ker delež ekstraktivov v lesu običajno podajamo v % glede na absolutno suho substanco, smo za vsak vzorec določili vsebnost suhe snovi.



Slika 5: Laboratorijska tehtnica Mettler Toledo XS, ki smo jo uporabili za gravimetrično analizo vzorcev

Najprej smo pripravili tehtiče, ki smo jih postavili v sušilnik pri 105 °C za 15 min., jih ohladili in tehtali. Iz prahovk smo v tehtiče zatehtali 1 g vlažnega lesnega prahu in tako pridobili podatek o skupni masi tehtiča in vlažnega lesa (m2). Tehtič z vzorcem smo nato prestavili v sušilnik, kjer smo lesni prah sušili pri 105 °C do absolutno suhega stanja oz. do konstantne mase. Po končanem sušenju smo tehtiče z lesnim prahom postavili v eksikator, da se ohladijo. Tako pripravljene vzorce smo nato ponovno stehtali in na ta način pridobili podatke o masi vzorca v absolutno suhem stanju (m3).

V nadaljnjem izračunu smo uporabili samo mase lesnega prahu, ki smo jih pridobili tako, da smo od m2 in m3 odšteli m1 (masa tehtiča) (glej prilogi A in B).

Delež suhe snovi smo izračunali po naslednjih formulah.

$$\text{s.s.} = ((m3 - m1) / (m2 - m1)) * 100 \quad (\%) \quad \dots(1)$$

Pri čemer je:

s.s......suha snov

m1masa tehtiča

m2masa vzorca s tehtičem

m3masa vzorca s tehtičem po sušenju

Podatke o deležu suhe snovi smo uporabili za izračun mase vzorca v absolutno suhem stanju, ki smo jih ekstrahirali z MeOH.

$$m8 = m5 * \text{s.s.} \quad (\text{g}) \quad \dots(2)$$

Pri čemer je:

m8.....masa vzorca v absolutno suhem stanju (pred ekstrakcijo)

m5.....masa vzorca pred ekstrakcijo

s.s......suha snov

3.6 EKSTRAKCIJA V 80 % METANOLU

Za ekstrakcijo smo uporabili zmlate vzorce lesnega prahu, za katerega smo na vzporednih vzorcih že določili vsebnost suhe snovi (glej poglavje 3.5).



Slika 6: Priprava raztopin reagentov

Pripravili smo 80 % raztopino metanola (MeOH) v destilirani vodi (8 volumskih delov MeOH in 2 volumska dela H₂O). Za serijo desetih vzorcev, ki smo jih ekstrahirali, smo za izvedbo ekstrakcije potrebovali 325 mL 80 % MeOH raztopine. Preden smo izvedli ekstrakcijo, smo v čaše zatehtali 0,25 g lesnega prahu, vzorce v čašah smo nato prelili s po 25 mL raztopine MeOH in jih postavili na magnetna mešala. Vanje smo položili magnetke in jih zatesnili s parafilnom. Ves potreben material za ekstrakcijo smo vsak dan pripravili predhodno, tako da smo lahko naslednji dan takoj pričeli z ekstrahiranjem vzorcev. Ekstrakcija je potekala 6 ur pri sobni temperaturi. Po zaključku ekstrakcije smo iz čaš pobrali magnetke s pomočjo magnetnih palčk.

3.6.1 Filtracija vzorcev oz. ekstrakta

Po zaključku ekstrakcije je sledilo filtriranje vzorcev. Za filtracijo vzorcev smo potrebovali: filter papir iz steklenih vlaken Watman GFC, Büchnerjeve lije, presesalno erlenmajerico, magnetne palčke za odstranitev magnetkov, etanol za čiščenje in spatulo za

odstranitev vzorca iz lija (slika 7). Po končani pripravi presesalnih erlenmajeric smo začeli s filtracijo vzorcev. Tekoč ekstrakt smo po končani filtraciji prelili v ustrezno označene stekleničke in ga nato za 24 h shranili v hladilnik. Ostanke vzorca pa smo iz čaše in iz Büchnerjevega lija odstranili s spatulo. Filter papir s suhim vzorcem po ekstrakciji smo nato prestavili na petrijevko, ga prekrili z urnim steklom in ga nato postavili v sušilnik za 24 h.



Slika 7: Prikaz materiala, ki smo ga potrebovali za filtracijo

3.6.2 Sušenje filtrata

Filter papir s suhim vzorcem po ekstrakciji smo prestavili na petrijevko in ga postavili v sušilnik. Filter papir, na katerem je bil suhi vzorec, smo delno prekrili z urnim steklom, da ne bi prišlo do razpihovanja ekstrahiranelega lesa v sušilniku. Sušenje suhega vzorca po ekstrakciji na filter papirju je potekalo 24 h, pri 105 °C (slika 8).



Slika 8: Prikaz suhega ostanka po filtraciji v eksikatorju (levo) ter ekstrakt in vzorec po ekstrakciji (desno)

3.6.3 Določitev deleža v metanolu (MeOH) topnih ekstraktivov

Po končanem postopku filtracije smo vzorce lesa po ekstrakciji, ki smo jih predhodno posušili v sušilniku (glej poglavje 3.6.2), uporabili za določitev deleža v metanolu topnih snovi. Najprej smo stehali maso petrijevke s filter papirjem (m6), nato pa smo po sušenju vzorca lesa po ekstrakciji ponovno stehali petrijevko in filter papir z lesnim ostankom vzorca po ekstrakciji (m7).

Iz pridobljenih mas smo nato izračunali maso vzorca po ekstrakciji v absolutno suhem stanju (glej prilogi A in B).

$$m9 = m7 - m6 \quad (\text{g}) \quad \dots(3)$$

Pri čemer je:

m9.....masa ekstrahiranega vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrakciji)

m7.....masa petrijevke z vzorcem po ekstrakciji na filter papirju

m6.....masa petrijevke s filter papirjem

Na podlagi mase vzorca v absolutno suhem stanju (pred ekstrakcijo) in mase vzorca po ekstrakciji lahko podamo podatek o masi topnih ekstraktivov v 80 % metanolu (MeOH) (m10).

$$m10 = m8 - m9 \quad (\text{g}) \quad \dots(4)$$

Pri čemer je:

m10.....masa topnih snovi

m8.....masa vzorca v absolutno suhem stanju (pred ekstrakcijo)

m9.....masa ekstrahiranega vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrakciji)

V nadaljevanju smo podatek o masi topnih snovi (m10) uporabili za izračun deleža topnih ekstraktivov v 80 % vodni raztopini MeOH.

$$\% = ((m10) / (m8)) * 100 \quad \dots(5)$$

Pri čemer je:

m10.....masa topnih snovi

m8.....masa vzorca v absolutno suhem stanju (pred ekstrakcijo)

3.7 POSTOPEK DOLOČANJA CELOKUPNIH FENOLOV

Za določevanje koncentracije celokupnih fenolov smo potrebovali: raztopino FC reagenta (Folin-Ciocalteu reagent) (Sigma Aldrich), raztopino natrijevega karbonata (Na_2CO_3), razredčen ekstrakt lesa preučevanih bukev in monohidrat galne kisline (Fluka). Delež celokupnih fenolov smo nato določali po Folin-Ciocalteu-jevi metodi na UV-Vis spektrometru. Preden smo začeli z izvedbo spektrofotometrične metode, smo morali ustrezno pripraviti raztopine, ki smo jih potrebovali za izvedbo metode. Pripraviti smo morali tudi raztopine ustreznih koncentracij galne kisline, ki smo jih potrebovali za določitev umeritvene krivulje.

Raztopine smo mešali v razmerju: raztopina FC : natrijev karbonat Na_2CO_3 : ekstrakt = 2,5 ml : 2,0 ml : 0,5 ml.

3.7.1 Priprava raztopine Folin-Ciocalteu Reagenta (FC reagenta)

Za UV spektrofotometrično določitev celokupnih fenolov je pomembno, da so vse raztopine pripravljene tik pred uporabo, se pravi, da morajo biti sveže, zato smo pripravili samo potrebno količino FC reagenta. Zmešali smo 5 mL čistega FC reagenta in 45 mL destilirane vode (cca. 50 mL raztopine FC).

3.7.2 Priprava raztopine natrijevega karbonata (Na_2CO_3)

Vzporedno smo pripravili tudi raztopino natrijevega karbonata (Na_2CO_3). V 150 mL čašo smo zatehtali 7,5 g Na_2CO_3 . V drugo čašo smo predhodno z merilnim valjem vlili 100 mL destilirane vode, dodali natrijev karbonat (Na_2CO_3) in dobro premešali, tako da smo dobili raztopino natrijevega karbonata s koncentracijo 75 g/L.

3.7.3 Priprava založne raztopine galne kisline

Pri pripravi 200 mg/L koncentrirane raztopine galne kisline smo najprej pripravili 500 mL merilno bučko, vanjo pa smo zatehtali 0,1000 g suhe galne kisline oz. 0,1106 g monohidrata galne kisline. Nato smo dodali še 5 mL 99,9 % metanola ter do oznake na bučki (500 mL) dolili destilirano vodo.



Slika 9: Priprava raztopin standarda galne kisline

3.7.4 Priprava standardne raztopine galne kisline

Za pripravo standardnih raztopin galne kisline v koncentracijah (0, 10, 20, 50, 100, 150 in 200 mg/L) smo upoštevali postopek redčenja založne raztopine galne kisline, ki je razviden iz preglednice 1.

Preglednica 1: Koncentracija standardnih raztopin galne kisline (mg/L)

Koncentracija standardnih raztopin galne kisline (mg/L)					
0	10	20	50	100	150
voda	5 ml založne raztopine galne kisline + 95 ml vode	5 ml založne raztopine galne kisline + 45 ml vode	5 ml založne raztopine galne kisline + 15 ml vode	5 ml založne raztopine galne kisline + 5 ml vode	5 ml založne raztopine galne kisline + 1,667 ml vode

3.7.5 Priprava zmesi reagentov in lesnega ekstrakta

Za izvedbo spektrofotometričnih meritev je bilo najprej potrebno pripraviti ustrezne zmesi z mešanjem lesnega ekstrakta in pripravljenih reagentov ter zmesi standardnih raztopin galne kisline z zgoraj opisanimi reagenti.

3.8 DOLOČITEV CELOKUPNIH FENOLOV

Na podoben način, kot smo ga opisovali v poglavju 3.7, smo pripravili tudi mešanice standardnih raztopin galne kisline s Folin–Ciocalteu reagentom (FC reagent) in natrijevim karbonatom (Na_2CO_3), ki smo jih potrebovali za določitev umeritvene krivulje.

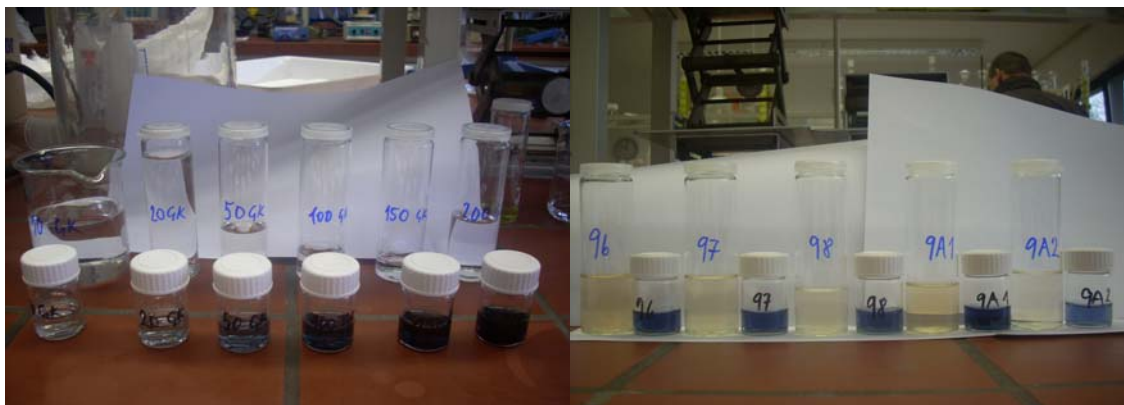
V ustrezno označeno 15 mL stekleničko smo odpipetirali 0,5 mL ekstrakta in dodali 2,5 mL raztopine FC reagenta (10-krat razredčenega z vodo, v volumskem razmerju 1 : 9) in nato v časovnem razmerju 1 min. do 8 min. dodali še 2,0 mL raztopine Na_2CO_3 (75 g/L) (slika 10).

Sledila je priprava slepega vzorca, ki ga uporabljamo pri spektrofotometričnih analizah standardne raztopine galne kisline in fenolnih spojin v metanolnih (MeOH) ekstraktih lesa.



Slika 10: Prikaz dodatka raztopine Na_2CO_3 v časovnem razmerju 1min. do 8 min.

Nato je sledila je inkubacija pri sobni temperaturi (24 °C) za 2 uri. Z meritvami z UV-Vis spektrofotometrom smo kasneje dokazali, da je za inkubacijo dovolj 90 minut oziroma 1,5 ure, saj smo na enem izmed vzorcev preverili časovno odvisnost absorbance.



Slika 11: Vzorca po dodanem Na₂CO₃ (spredaj na sliki) in osnovna raztopina standardne galne kisline (zadaj na sliki) – levo in tekoč ekstrakt in pripravljene vzorce za umeritveno krivuljo – desno

3.9 MERJENJE ABSORBANC METANOLNIH EKSTRAKTOV LESA STANDARDNIH RAZTOPIN GALNE KISLINE Z UV-VIS SPEKTROFOTOMETROM

Metoda določevanja celokupnih fenolov po Folin–Ciocalteu-jevi metodi temelji na uporabi FC reagenta (glej poglavje 3.8) in meritvah absorbanc z UV-Vis spektrofotometrom (slika 12). Za izračun koncentracije celokupnih fenolov je potrebno določiti tudi umeritveno krivuljo ustrezne referenčne spojine, ki je bila v našem primeru galna kislina, oz. ustrezne koncentracije standardnih raztopin galne kisline. Absorbance pripravljenih raztopin smo merili pri valovni dolžini 765 nm z UV-Vis spektrofotometrom, Lambda 2.

Dinamiko UV-Vis spektrofotometrične analize smo morali prilagoditi dokaj velikemu številu vzorcev in predhodnim laboratorijskim postopkom, predvsem ekstrakciji.

To je pomenilo, da smo v vsakem raziskovalnem dnevu izmerili absorbanco desetih, sveže pripravljenih raztopin reagentov in ekstraktov lesa ter šestih, sveže pripravljenih zmesi standardnih raztopin galne kisline in reagentov. Skupaj s slepim vzorcem smo torej imeli po 17 vzorcev. Natančno opisan postopek merjenja absorbance z UV-Vis spektrofotometrom je dodan v prilogi C.

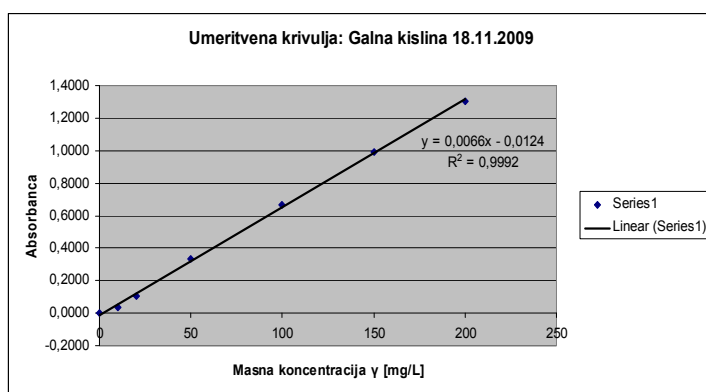


Slika 12: UV-Vis spektrofotometer in sveže pripravljene raztopine reagentov in lesnega ekstrakta, sveže pripravljene zmesi standardnih raztopin galne kisline in reagentov ter slepi vzorec

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 DOLOČITEV UMERITVENE KRIVULJE ZA STANDARDNE RAZTOPINE GALNE KISLINE IN IZRAČUN KONCENTRACIJ CELOKUPNIH FENOLOV V EKSTRAKTIH LESA

Umeritveno krivuljo standardnih raztopin galne kisline smo določili grafično na osnovi koncentracij standardnih raztopin galne kisline in ustreznih reagentov ter njihovih pripadajočih absorbanca (slika 13), ki smo jih izmerili pri valovni dolžini 765 nm.



Slika 13: Umeritvena krivulja

Na grafikonu je prikazana linearna zveza med masno koncentracijo (mg/L) in ustreznimi absorbanca za niz vzorcev, ki smo jih izmerili 18. 11. 2009.

Skupaj z enačbo premice

$$Y = 0,007 \cdot x - 0,0349 \quad \dots(6)$$

Y.....absorbanca A_{765} pri 765 nm

smo izrazili masno koncentracijo.

$$x = \frac{(y + 0,0349)}{0,007} \text{ [mg/L]} \quad \dots(7)$$

x.....masna koncentracija γ [mg/L]

kar je bila osnova za izračun masnih koncentracij celokupnih fenolov v pripravljenih raztopinah ekstraktov lesa, ki smo jih merili pri absorbanci 765 nm.

Vsebnost celokupnih fenolov v ekstraktih lesa smo zaradi primerjave z literaturnimi podatki želeli podati kot molalnost v mmol na 100 g absolutno suhega lesa, ki smo jo izračunali po naslednji enačbi (Vek, 2009):

$$C_{100 \text{ g lesa}} = (\gamma / M_{\text{galne kisline}}) * (V_{\text{vzorca}} / m8) * 100 \quad (\text{mmol}/100 \text{ g lesa}) \quad \dots(8)$$

Pri čemer je:

γmasna koncentracija

$M_{\text{galne kisline}}$ molska masa galne kisline (170,12 g/mol)

V_{vzorca}volumen topila

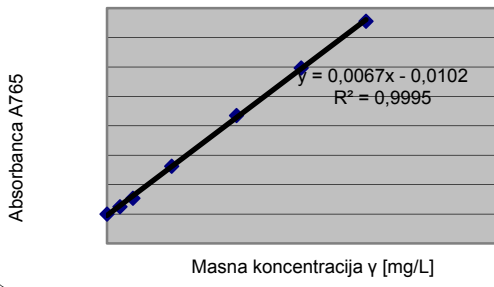
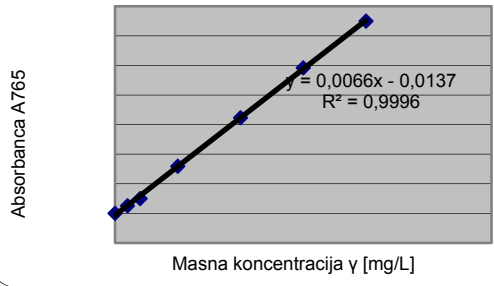
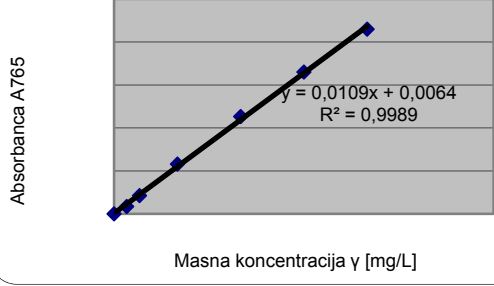
$m8$masa vzorca v absolutno suhem stanju (pred ekstrakcijo)

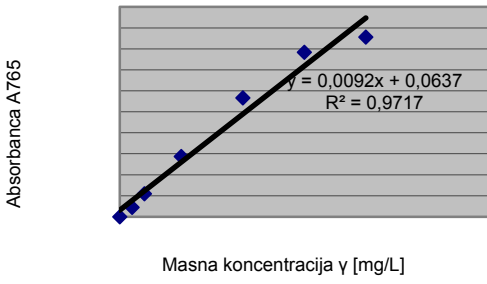
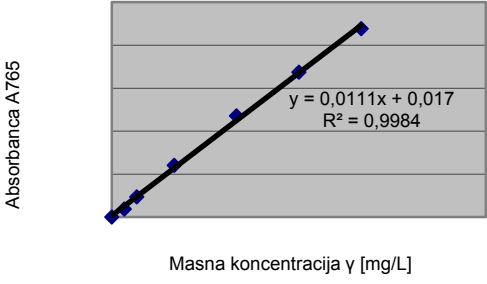
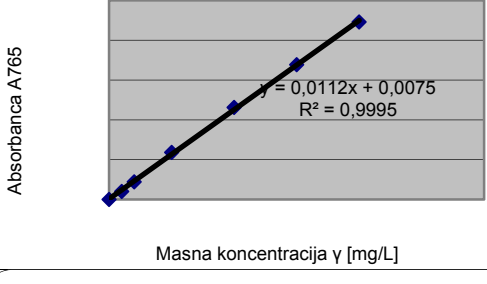
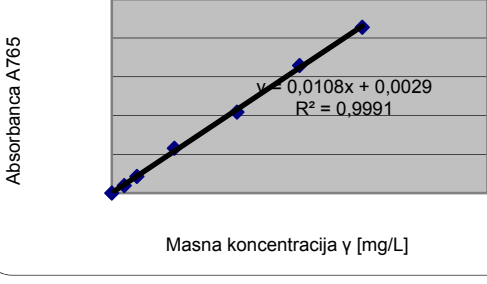
Glede na dinamiko spektrofotometrične analize smo tako pridobili 14 umeritvenih krivulj. Vsako krivuljo smo uporabili za izračun vsebnosti celokupnih fenolov samo za tiste vzorce, ki smo jih merili na pripadajoči datum.

Datumi meritev umeritvene krivulje in regresijski koficienti so zbrani v preglednici 2.

Preglednica 2: Datumi umeritvene krivulje in grafični prikazi za pripadajoči datum

Datum	Vzorec	absorbanca A_{765}	masna koncentracija Mg/L	množina na 100 g lesa Mmol/100 g lesa	Grafični prikazi umeritvene krivulje
18. 11. 2009	21	0,55	85,64	5,38	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 18.11.2009</p> <p>Masna koncentracija γ [mg/L]</p>
	22	0,73	112,79	7,08	
	23	0,83	127,88	8,03	
	24	0,77	118,53	7,46	
	25	0,81	124,88	7,91	
	91	0,49	76,71	5,11	
	92	0,69	106,09	7,46	
	93	0,65	100,09	6,42	
	94	1,00	153,73	9,05	
	95	1,02	156,55	9,66	
19. 11. 2009	51	0,58	87,27	5,48	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 19.11.2009</p> <p>Masna koncentracija γ [mg/L]</p>
	52	0,61	92,24	5,79	
	53	0,70	104,84	6,56	
	54	0,74	111,27	6,99	
	55	0,70	104,87	6,62	
	61	0,54	82,29	5,24	
	62	0,73	109,29	6,94	
	63	0,74	110,37	6,99	
	65	1,09	161,00	10,28	
	66	0,84	124,34	7,87	
24. 11. 2009	11	0,57	91,02	6,77	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 24.11.2009</p> <p>Masna koncentracija γ [mg/L]</p>
	12	0,82	128,55	8,15	
	13	0,82	128,95	8,17	
	14	0,93	144,95	9,25	
	15	0,89	139,06	8,79	
	81	0,53	84,71	5,33	
	82	0,61	95,88	6,02	
	83	0,70	110,71	6,96	
	84	0,57	90,80	5,73	
	85	0,17	30,14	1,89	
25. 11. 2009	161	0,47	72,60	4,61	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 25.11.2009</p> <p>Masna koncentracija γ [mg/L]</p>
	162	0,66	100,22	6,36	
	163	0,65	98,69	6,29	
	164	0,65	97,81	6,23	
	165	0,93	139,34	8,87	
	101	0,53	80,84	5,08	
	102	0,65	98,91	6,22	
	103	0,77	115,62	7,27	
	104	0,37	57,19	3,62	
	105	0,23	37,16	2,37	

26. 11. 2009	231	0,54	82,70	5,26	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 26.11.2009</p>  <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p>
	232	0,64	97,46	6,20	
	233	0,77	117,01	7,46	
	234	0,48	73,73	4,70	
	235	0,36	55,48	3,57	
	151	0,60	90,46	5,70	
	152	0,95	142,69	9,00	
	153	0,66	100,28	6,34	
	154	1,03	155,58	9,80	
	155	0,90	136,48	8,59	
27. 11. 2009	211	0,49	76,05	4,46	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 27.11.2009</p>  <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p>
	212	0,76	116,91	6,87	
	213	0,76	116,55	6,85	
	214	0,49	75,82	4,45	
	215	0,10	16,68	0,98	
	161-J	0,57	89,02	5,23	
	162-J	0,68	105,14	6,17	
	163-J	0,66	102,67	6,03	
	164-J	0,58	90,68	5,33	
	165-J	0,36	56,68	3,33	
1. 12. 2009	201	0,47	42,74	2,69	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 01.12.2009</p>  <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p>
	202	0,55	49,66	3,13	
	203	0,44	39,98	2,51	
	204	0,20	17,83	1,13	
	205	0,16	13,83	0,87	
	96	0,65	59,41	3,79	
	97	0,64	58,24	3,72	
	98	0,50	45,65	2,92	
	9A1	0,92	84,08	5,39	
	9A2	0,46	41,47	2,65	

3. 12. 2009	231	0,51	48,02	3,02	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 03.12.2009</p>  <p>Absorbanca A765</p> <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p>
	232	0,47	43,67	2,74	
	233	0,51	48,36	3,03	
	234	0,52	49,07	3,09	
	235	0,19	13,62	0,86	
	9A3	0,36	32,14	2,05	
	9B1	1,16	118,85	7,65	
	9B2	0,49	45,89	2,93	
	9B3	0,45	41,73	2,66	
	66	0,80	79,89	5,05	
4. 12. 2009	67	0,91	80,05	5,07	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 04.12.2009</p>  <p>Absorbanca A765</p> <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p>
	68	0,56	49,27	3,12	
	6A1	0,61	53,54	3,39	
	6A2	0,65	56,88	3,61	
	6A3	0,43	37,21	2,35	
	271	0,64	56,35	3,54	
	272	0,92	81,69	5,16	
	273	0,98	87,03	5,50	
	274	1,03	91,10	5,77	
	275	0,79	70,05	4,43	
7. 12. 2009	6B2	0,79	69,64	4,40	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 07.12.2009</p>  <p>Absorbanca A765</p> <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p>
	6B3	0,38	32,93	2,09	
	6B4	1,96	174,57	11,18	
	16-L	0,90	79,86	5,06	
	26	0,22	18,82	1,19	
	27	0,39	34,29	2,16	
	28	0,32	27,97	1,77	
	29	1,44	127,64	8,11	
	210	0,76	66,89	4,21	
8. 12. 2009	211	0,75	68,77	4,05	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 08.12.2009</p>  <p>Absorbanca A765</p> <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p>
	212	0,70	64,72	3,81	
	213	0,55	50,88	2,99	
	56	0,28	26,02	1,53	
	57	0,25	22,53	1,33	
	1A1	0,96	88,88	5,23	
	1A2	0,58	53,74	3,16	
	1A3	0,60	55,37	3,26	
	1B1	0,87	80,35	4,73	
	17	0,62	57,40	3,38	

9. 12. 2009	166L	0,65	58,54	3,70	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 09.12.2009</p> <p>Absorbanca A765</p> <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p> <p>$y = 0,0108x + 0,0158$ $R^2 = 0,9987$</p>
	167L	0,58	52,55	3,33	
	1B2	0,78	70,82	4,51	
	1B3	0,77	69,86	4,45	
	1B4	1,83	167,80	10,70	
	58	0,18	15,08	0,95	
	59	1,05	96,06	6,06	
	510	0,73	66,27	4,16	
	511	0,63	56,98	3,57	
	512	0,57	51,77	3,25	
10. 12. 2009	168L	0,12	9,20	0,58	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 10.12.2009</p> <p>Absorbanca A765</p> <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p> <p>$y = 0,0112x + 0,0198$ $R^2 = 0,9983$</p>
	169L	0,12	8,91	0,57	
	16AL	0,64	55,10	3,57	
	16BL	0,98	85,97	5,49	
	21A	0,45	38,59	2,46	
	86	0,26	21,01	1,33	
	87	0,22	17,60	1,11	
	88	0,27	22,53	1,43	
	89	0,98	85,57	5,42	
	810	0,74	64,39	4,06	
11. 12. 2009	211	0,53	49,05	3,12	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 11.12.2009</p> <p>Absorbanca A765</p> <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p> <p>$y = 0,0107x + 0,0101$ $R^2 = 0,9995$</p>
	212	0,80	73,94	4,73	
	213	0,85	78,64	5,00	
	214	0,50	45,70	2,91	
	21B	1,20	111,59	7,19	
	811	0,67	62,08	3,92	
	812	0,66	61,08	3,84	
	106	0,31	28,36	1,79	
	107	0,59	54,52	3,46	
	108	0,70	64,28	4,04	
14. 12. 2009	109	0,65	58,28	3,67	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 14.12.2009</p> <p>Absorbanca A765</p> <p>Masna koncentracija y [mg/L]</p> <p>$y = 0,0108x + 0,016$ $R^2 = 0,9994$</p>
	1010	0,40	35,91	2,27	
	156	0,93	84,75	5,35	
	157	0,57	50,95	3,22	
	166J	0,16	13,02	0,82	
	23AL	0,42	37,54	2,43	
	23BL	0,47	42,12	2,75	
	236L	0,20	17,19	1,10	
	237L	0,13	10,47	0,67	
	216	0,13	10,34	0,66	

4.2 VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V DEBLU NAVADNE BUKVE (*Fagus sylvatica* L.) ŠT. 1

Makroskopski pregled preučevanih vzorcev je razkril, da se sestava tkiv, ki obdajajo mehansko poškodbo pri drevesu št. 1 (sliki 14, 15), nekoliko razlikuje od stanja tkiv v drevesu št. 2 (sliki 25, 26). Kljub temu, da so bili koluti izbrani iz različnih nivojev vzdolž debla, je stanje tkiv zelo podobno. Koluti se razlikujejo samo v debelini prirastka poranitvenega lesa in po prisotnosti razkrojenega lesa na kolutu 9 (slika 15).



Slika 14: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) – prečni prerez, drevo št. 1, kolot 1 (levo) in kolot 6 (desno)



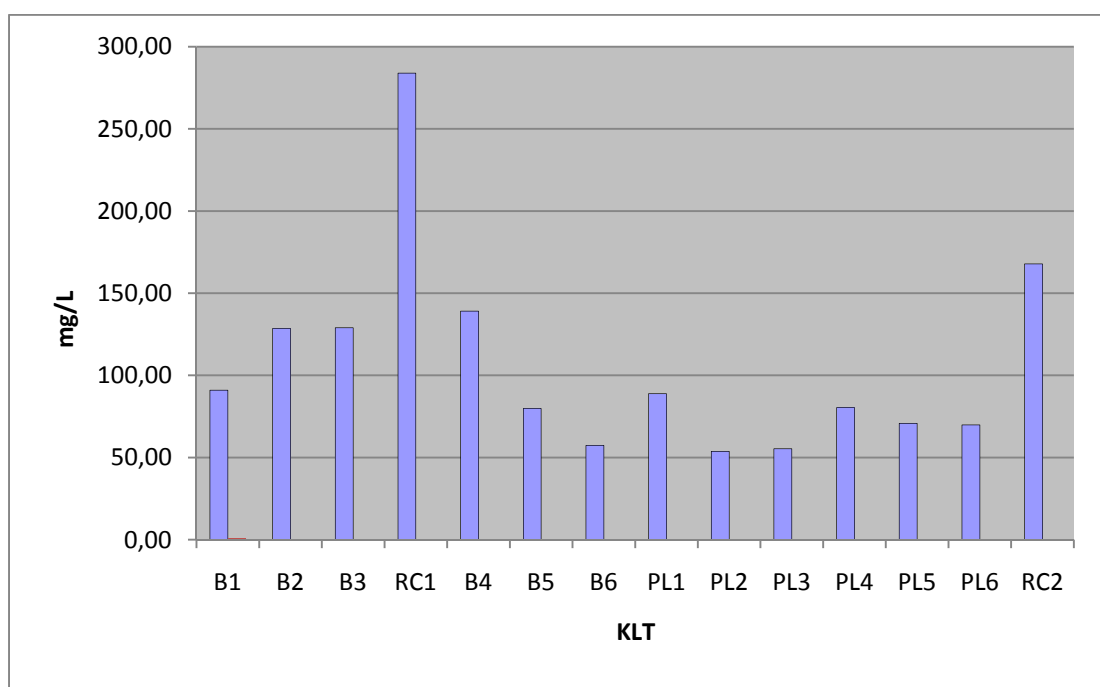
Slika 15: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) – prečni prerez, drevo št. 1, kolot 9

4.2.1 Rezultati izračunov za vsebnost celokupnih fenolov v preiskanih tkivih v drevesu št. 1

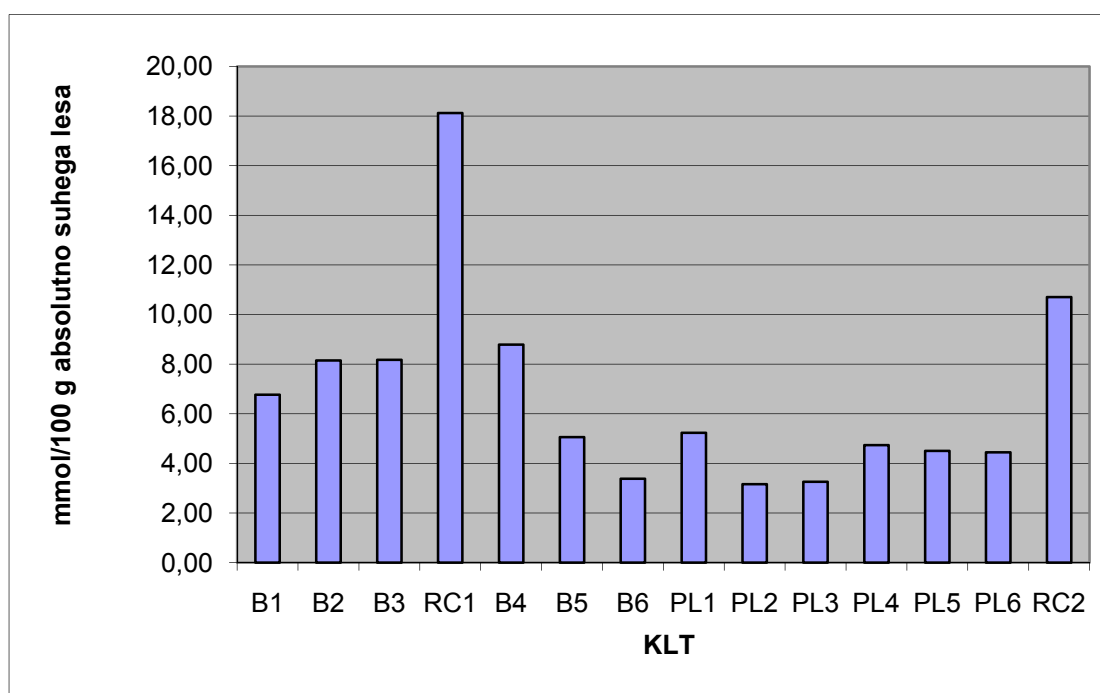
Preglednice 3, 4 in 5 prikazujejo vsebnost celokupnih fenolov, ki smo jih izrazili kot ekvivalente galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa in kot masno koncentracijo v mg/L. Delež v metanolu topnih ekstraktivov je izražen v % glede na suho snov. Slika 16 grafično ponazarja vsebnost celokupnih fenolov, izraženih kot masna koncentracija v mg/L. Največjo vsebnost celokupnih fenolov izkazuje reakcijska cona RC1 (283,92 mg/L), v vzorcu RC2 pa je vsebnost celokupnih fenolov nekoliko nižja, in sicer 167,80 mg/L. Vzorci beljave in poranitvenega lesa izkazujejo večjo mero variabilnosti v vsebnosti celokupnih fenolov. V beljavi je najmanj celokupnih fenolov v vzorcu B6 (57,40 mg/L), največ pa jih je v vzorcu B4 (139,06 mg/L). V poranitvenem lesu je zaznati še večjo variabilnost, saj vzorec PL2 vsebuje samo 53,74 mg/L, največ celokupnih fenolov pa je bilo v vzorcu PL1 (88,88 mg/L) (preglednica 3, slika 16).

Preglednica 3: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 1). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa. MeOH je metanol.

				Absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov		Delež v MeOH topnih ekstraktivov
Drevo	Št. koluta	Oznaka vz.	KLT	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	mg/L	%
1	1	11	B1	0,57	6,77	91,02	-12,05
1	1	12	B2	0,82	8,15	128,55	7,67
1	1	13	B3	0,82	8,17	128,95	5,82
1	1	14	RC1	0,93	18,12	283,92	5,49
1	1	15	B4	0,89	8,70	139,06	16,43
1	1	16	B5	0,90	5,06	79,86	4,42
1	1	17	B6	0,62	3,38	57,40	5,27
1	1	1A1	PL1	0,96	5,23	88,88	5,46
1	1	1A2	PL2	0,58	3,16	53,74	4,67
1	1	1A3	PL3	0,60	3,26	55,37	3,64
1	1	1B1	PL4	0,87	4,73	80,35	4,43
1	1	1B2	PL5	0,78	4,51	70,82	3,43
1	1	1B3	PL6	0,77	4,45	69,86	5,52
1	1	1B4	RC2	1,83	10,70	167,80	6,25

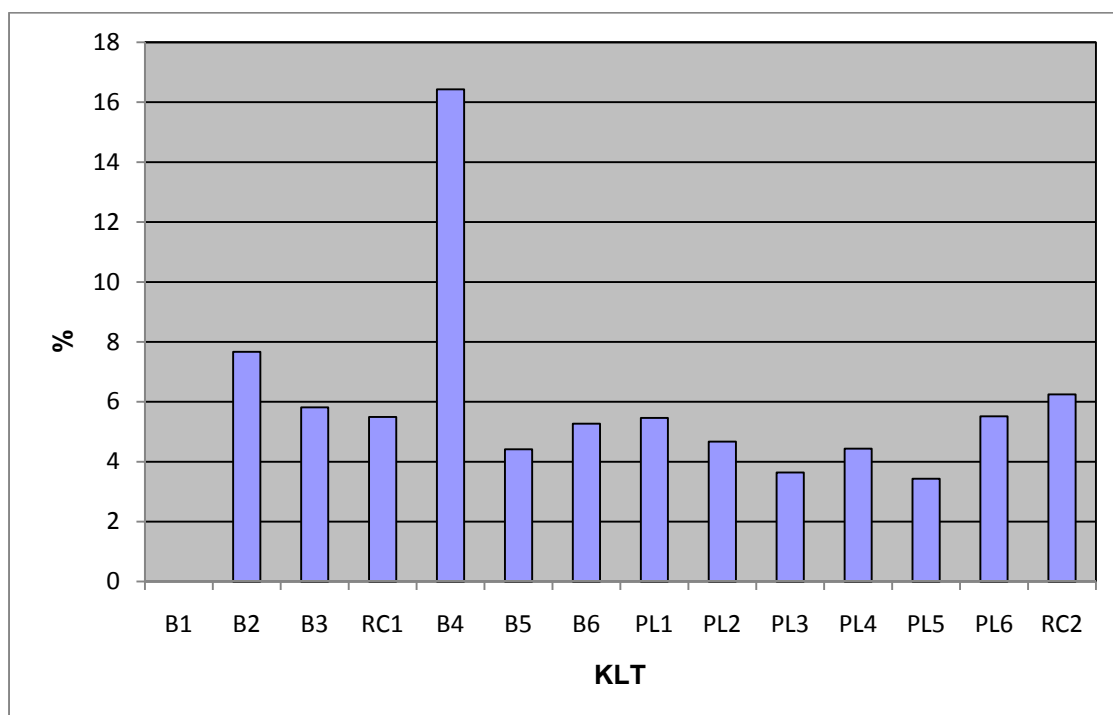


Slika 16: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot masna koncentracija v mg/L (kolut 1). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.



Slika 17: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa (kolut 1). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

Vsebnost celokupnih fenolov, izražena v ekvivalentih galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa, izkazuje podobno zakonitost, ki velja za vsebnost celokupnih fenolov, izraženo kot masna koncentracija v mg/L. Vsebnost celokupnih fenolov je največja v reakcijski coni RC1 (18,12 mmol/100 g absolutno suhega lesa), v vzorcu RC2 pa je vsebnost celokupnih fenolov nekoliko nižja, in sicer 10,70 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V beljavi vsebuje vzorec B4 največ celokupnih fenolov, in sicer 8,70 mmol/100 g absolutno suhega lesa, v vzorcu B6 pa je najmanj celokupnih fenolov, in sicer 3,38 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V poranitvenem lesu je izkazana vsebnost celokupnih fenolov največja v vzorcu PL1 (5,23 mmol/100 g absolutno suhega lesa), najmanjša vsebnost celokupnih fenolov pa je v vzorcu PL2 (3,16 mmol/100 g absolutno suhega lesa) (slika 17).



Slika 18: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen v % glede na suho snov (kolut 1). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

Delež v metanolu topnih ekstraktivov kaže nekoliko drugačno razporeditev po kategorijah lesnega tkiva kot razporeditev celokupnih fenolov (slika 18). Delež v metanolu topnih

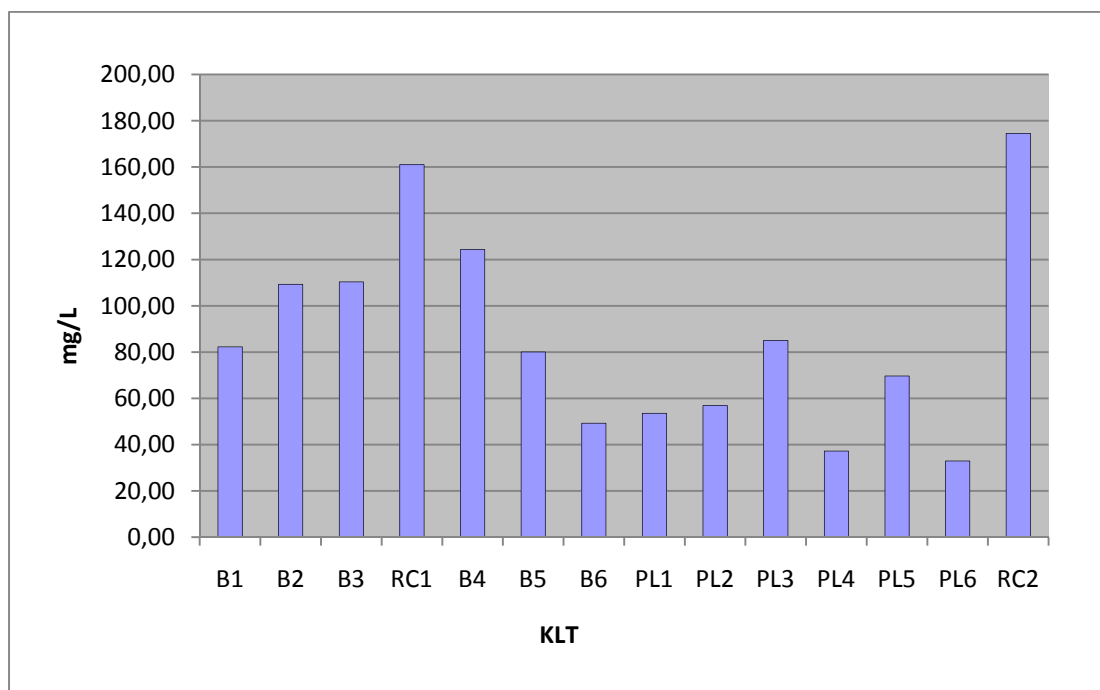
ekstraktivov je največji v vzorcu beljave B4 (16,43 %), čeprav vzorci beljave in poranitvenega lesa izkazujejo precejšnjo variabilnost deleža v metanolu topnih ekstraktivov. V vzorcu RC2 je delež v metanolu topnih ekstraktivov 6,25 %. V poranitvenem lesu je največji delež v metanolu topnih ekstraktivov v vzorcu PL6 (5,52 %), najmanjši pa je v vzorcu PL5 (3,43 %). Pri nastalih meritvah oz. izračunih v metanolu topnih ekstraktivov izraženih v %, smo zabeležili tudi negativne rezultate. Menimo, da so posledica eksperimentalnih napak, zato jih na sliki 18 nismo prikazali.

V preglednici 4 so prikazane vrednosti celokupnih fenolov v tkivih koluta 6, ki smo jih izrazili v ekvivalentih galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa in kot masno koncentracijo v mg/L. Delež v metanolu topnih ekstraktivov smo izrazili v % glede na suho snov.

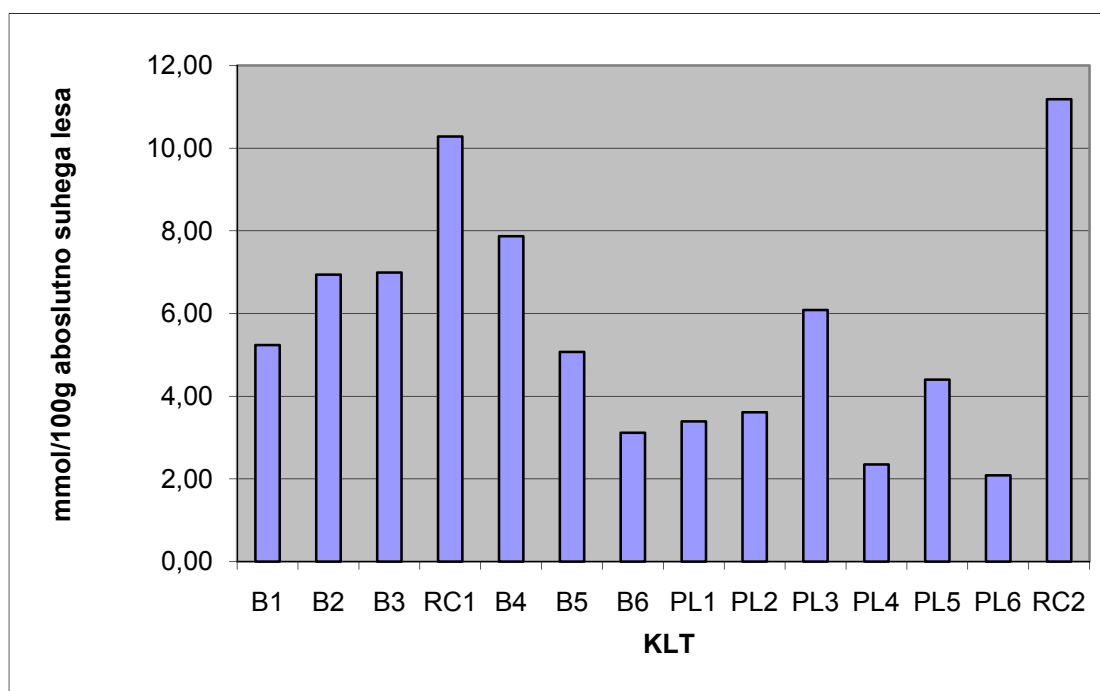
Slika 19 prikazuje vsebnost skupnih fenolov, ki je največja v reakcijskih conah, RC2 (174,57 mg/L) in RC1 (161,00 mg/L). V lesu beljave je najmanj celokupnih fenolov vseboval vzorec B6 (49,27 mg/L), največ pa vzorec B4 (124,34 mg/L). V poranitvenem lesu je zaznati večjo variabilnost v vsebnosti celokupnih fenolov, saj vzorec PL6 vsebuje najmanj celokupnih fenolov 32,93 mg/L, največ celokupnih fenolov pa je v vzorcu PL3 (85,04 mg/L).

Preglednica 4: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 6). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa. MeOH je metanol.

				Absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov		Delež v MeOH topnih ekstraktivov
Drevo	Št. koluta	Oznaka vz.	KLT	A ₇₆₅	mmol/100g lesa	mg/L	%
1	6	61	B1	0,54	5,24	82,29	0,91
1	6	62	B2	0,73	6,94	109,29	3,05
1	6	63	B3	0,74	6,99	110,37	2,74
1	6	65	RC1	1,09	10,28	161,00	2,24
1	6	66	B4	0,84	7,87	124,34	5,85
1	6	67	B5	0,91	5,07	80,05	5,67
1	6	68	B6	0,56	3,12	49,27	4,04
1	6	6A1	PL1	0,61	3,39	53,54	5,26
1	6	6A2	PL2	0,65	3,61	56,88	5,68
1	6	6A3	PL3	0,94	6,08	85,04	3,72
1	6	6B1	PL4	0,43	2,35	37,21	-4,65
1	6	6B2	PL5	0,79	4,40	69,64	15,37
1	6	6B3	PL6	0,38	2,09	32,93	3,95
1	6	6B4	RC2	1,96	11,18	174,57	7,17

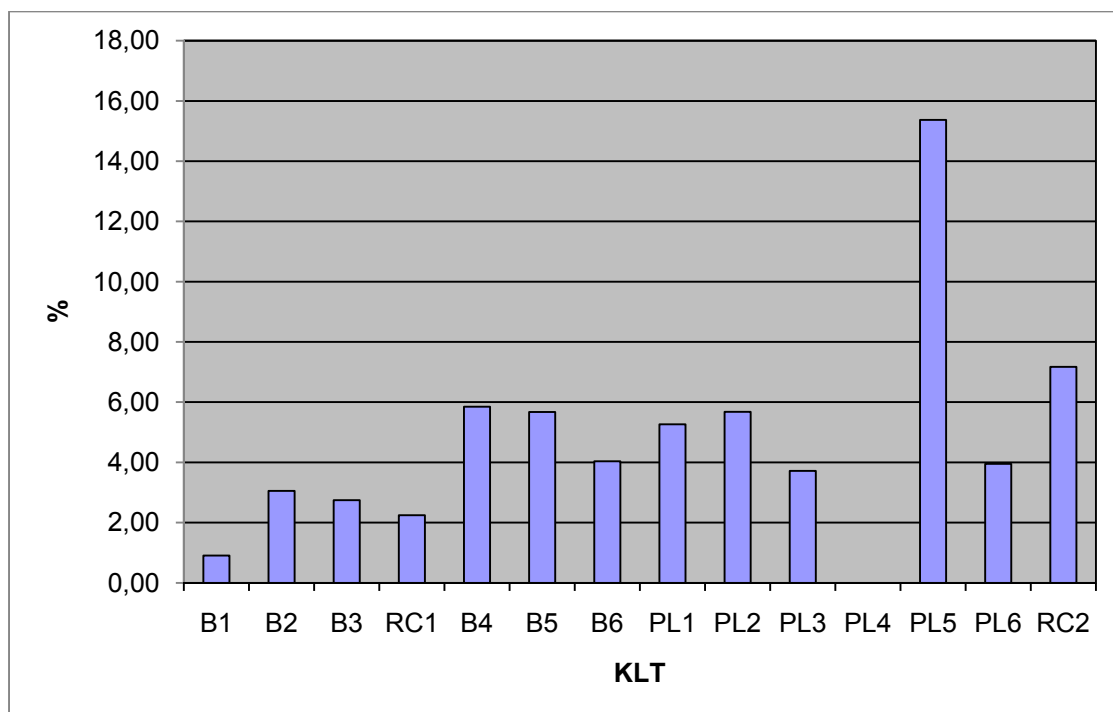


Slika 19: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot masna koncentracija v mg/L (kolut 6). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.



Slika 20: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa (kolut 6). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

S slike 20 lahko razberemo, da je vsebnost celokupnih fenolov, izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa, največja v reakcijski coni RC2 (11,18 mmol/100 g absolutno suhega lesa). Precejšnja variabilnost je v lesu beljave in poranitvenem lesu. V lesu beljave je največja vsebnost celokupnih fenolov pri vzorcu B4 (7,87 mmol/100 g absolutno suhega lesa), najmanjša pa pri vzorcu B6 (3,12 mmol/100 g absolutno suhega lesa). V poranitvenem lesu izkazuje največjo vsebnost celokupnih fenolov vzorec PL3 (6,08 mmol/100 g absolutno suhega lesa), najmanjša vsebnost celokupnih fenolov pa je izkazana pri vzorcu PL6 (2,09 mmol/100 g absolutno suhega lesa).



Slika 21: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen v % glede na suho snov (kolut 6). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

Delež v metanolu topnih ekstraktivov je prikazan na sliki 21. Največji delež v metanolu topnih ekstraktivov je v poranitvenem lesu v vzorcu PL5 (15,73 %). Čeprav je največjo variabilnost razbrati med vzorci beljave in poranitvenega lesa, velik delež v metanolu topnih ekstraktivov vsebuje tudi RC2 (7,17 %). V beljavi je najmanjši delež v metanolu topnih ekstraktivov vseboval vzorec B1 (0,91 %), največji delež v metanolu topnih

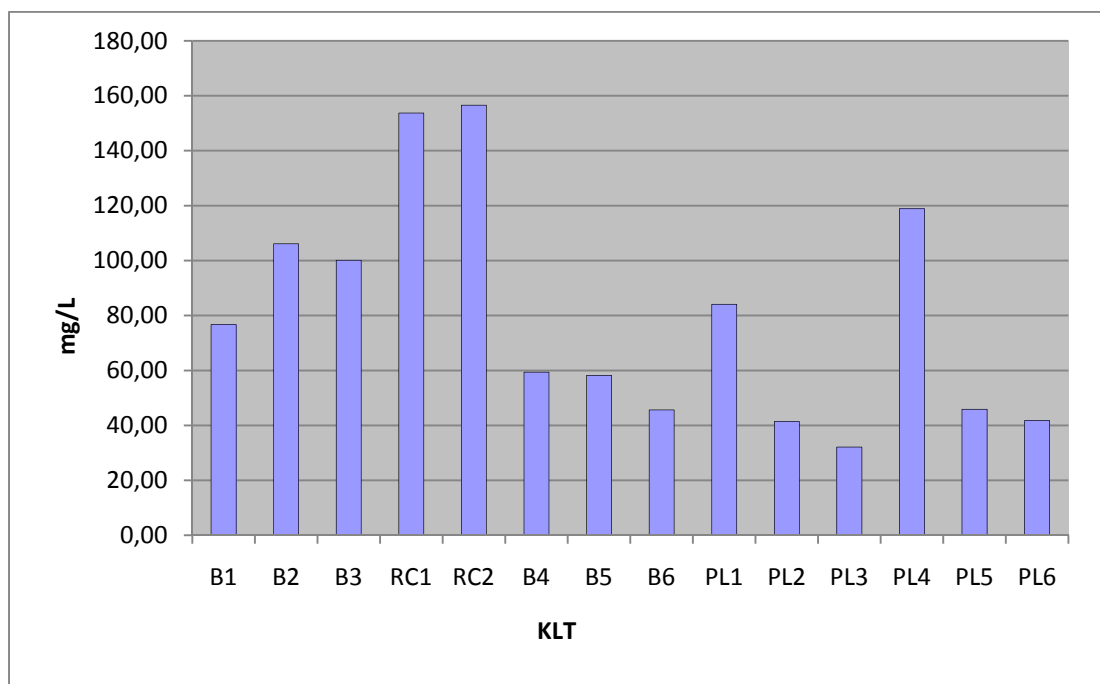
ekstraktivov pa vzorec B4 (5,67 %). Pri nastalih meritvah oz. izračunih v metanolu topnih ekstraktivov izraženih v %, smo zabeležili tudi negativne rezultate. Menimo, da so posledica eksperimentalnih napak, zato jih na sliki 21 nismo prikazali.

Preglednica 5 prikazuje načine izražanja vsebnosti celokupnih fenolov in v metanolu topnih ekstraktivov za tkiva koluta 9.

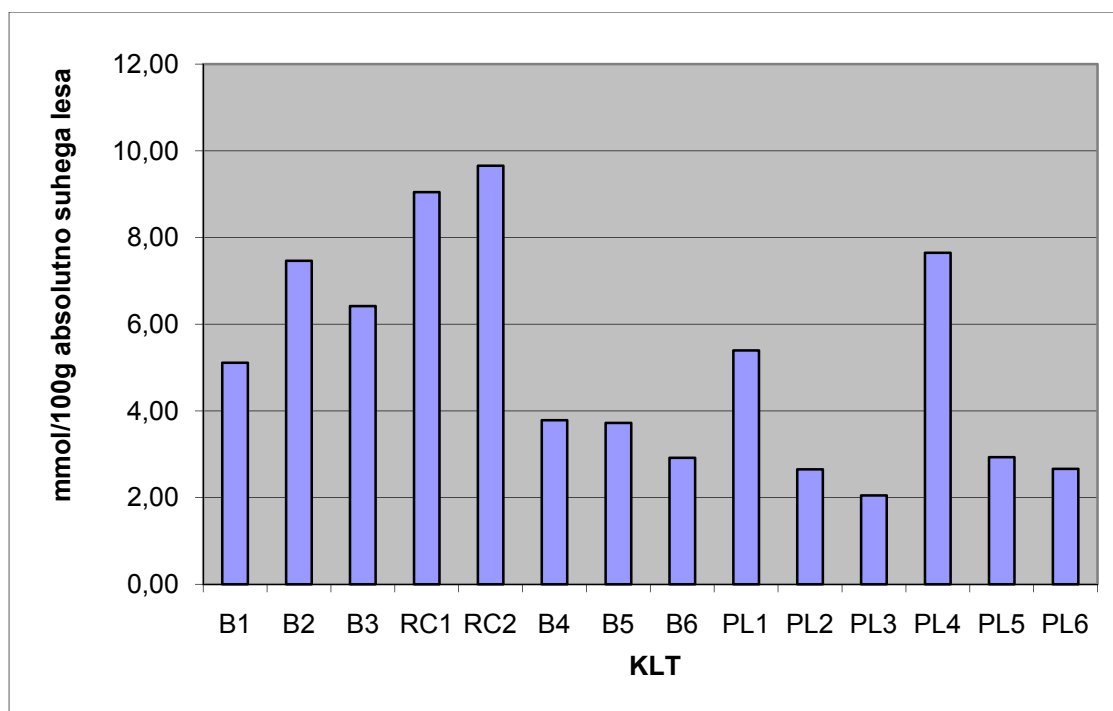
Na sliki 22 je vsebnost celokupnih fenolov, izražena kot masna koncentracija v mg/L, največja v RC2 (156,55 mg/L), nekoliko nižja pa je vsebnost celokupnih fenolov v RC1 (153,73 mg/L). Prav tako vzorci beljave in vzorci poranitvenega lesa izkazujejo precejšno variabilnost v vsebnosti celokupnih fenolov. V lesu beljave je najmanj celokupnih fenolov vseboval vzorec B6 (45,65 mg/L), največ pa vzorec B2 (106,09 mg/L). V poranitvenem lesu je bilo zaznati še večjo variabilnost. Vzorec PL3 je vseboval samo 32,14 mg/L, največ celokupnih fenolov pa je bilo v vzorcu PL4 (118,85 mg/L).

Preglednica 5: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 9). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa. MeOH je metanol.

				Absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov		Delež v MeOH topnih ekstraktivov
Drevo	Št. koluta	Oznaka vz.	KLT	A ₇₆₅	mmol/100g lesa	mg/L	%
1	9	91	B1	0,49	5,11	76,71	7,32
1	9	92	B2	0,69	7,46	106,09	-0,58
1	9	93	B3	0,65	6,42	100,09	0,78
1	9	94	RC1	1,00	9,05	153,73	8,40
1	9	95	RC2	1,02	9,66	156,55	3,19
1	9	96	B4	0,65	3,79	59,41	1,98
1	9	97	B5	0,64	3,72	58,24	1,29
1	9	98	B6	0,50	2,92	45,65	10,43
1	9	9A1	PL1	0,92	5,39	84,08	6,94
1	9	9A2	PL2	0,46	2,65	41,47	2,03
1	9	9A3	PL3	0,36	2,05	32,14	2,71
1	9	9B1	PL4	1,16	7,65	118,85	-21,72
1	9	9B2	PL5	0,49	2,93	45,89	10,72
1	9	9B3	PL6	0,45	2,66	41,73	-80,69

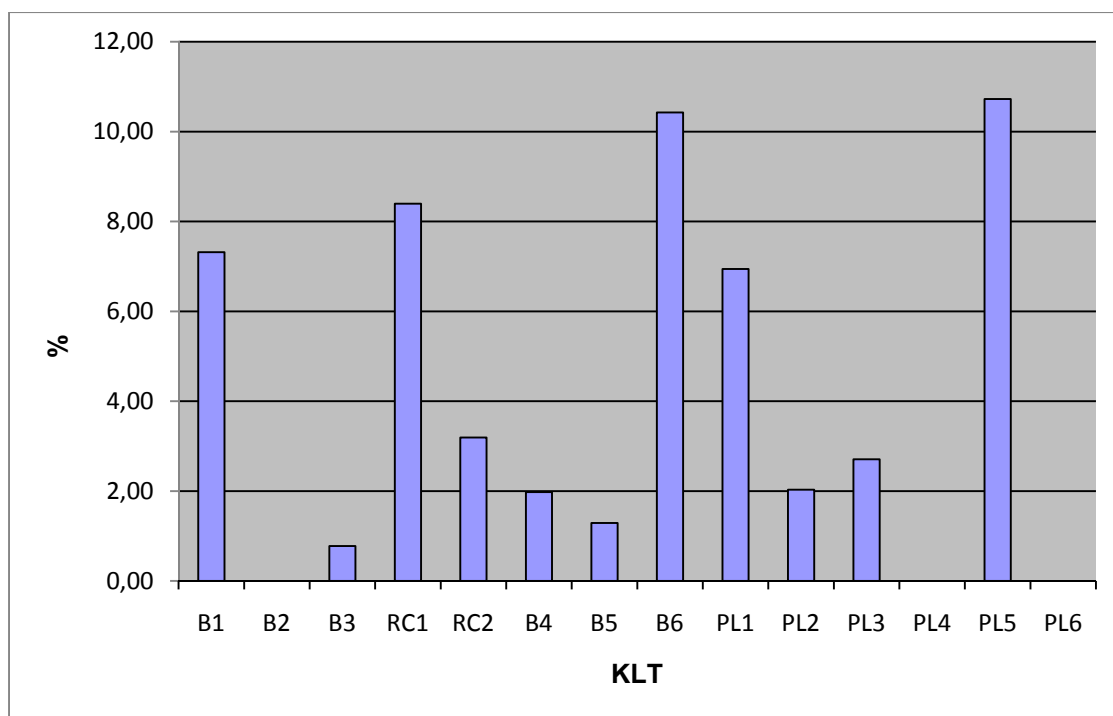


Slika 22: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot masna koncentracija v mg/L (kolut 9). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.



Slika 23: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g lesa (kolut 9). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

Na sliki 23 smo vsebnost celokupnih fenolov izrazili v mmol/100 g absolutno suhega lesa. Največja vsebnost celokupnih fenolov je v vzorcu RC2 (9,66 mmol/100 g absolutno suhega lesa). Precejšnjo variabilnost v vsebnosti celokupnih fenolov izkazujejo les beljave in poranitveni les. V lesu beljave imamo največjo vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu B2 (7,46 mmol/100 g absolutno suhega lesa), najmanjšo pa v vzorcu B6 (2,92 mmol/100 g absolutno suhega lesa). V poranitvenem lesu je največja vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu PL4 (7,65 mmol/100 g absolutno suhega lesa), najmanjša vsebnost celokupnih fenolov je v vzorcu PL3 (2,05 mmol/100 g absolutno suhega lesa).



Slika 24: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen v % glede na suho snov (kolut 9). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

Slika 24 prikazuje delež v metanolu topnih ekstraktivov, ki je največji v poranitvenem lesu PL5 (10,72 %). Vzorci beljave in reakcijske cone izkazujejo precejšnjo variabilnost v deležu v metanolu topnih ekstraktivov. V lesu beljave je največji delež v metanolu topnih ekstraktivov v vzorcu B6 (10,43 %), najmanjši pa v vzorcu B3 (0,78 %). Reakcijske cone izkazujejo nekoliko manjšo variabilnost v deležu v metanolu topnih ekstraktivov. V vzorcu

RC2 je le 3,19 % v metanolu topnih ekstraktivov, največji delež le-teh pa je vzorcu RC1 (8,40 %). Pri nastalih meritvah oz. izračunih v metanolu topnih ekstraktivov izraženih v %, smo zabeležili tudi negativne rezultate. Menimo, da so posledica eksperimentalnih napak, zato jih na sliki 24 nismo prikazali.

4.3 VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V DEBLU NAVADNE BUKVE (*Fagus sylvatica* L.) ŠT. 2

Pri makroskopskem opisu vzorcev v preučevanih drevesih smo opazili, da je v drevesu št. 2 izrazit diskoloriran les, ki je v drevesu št. 1 umanjkal. Diskoloracija je odziv lesa na sekundarne spremembe, ki so jih sprožili zunanji dejavniki (npr. poškodba drevja). Poškodovan les prirašča poranitveni les (16 A in 16 B) z manj izrazitim prirastkom, kot ga je mogoče opaziti pri kolutu 1 v drevesu št. 1 (slika 25). Prav tako je v lesu, ki je nastal pred poškodbo, mogoče jasno definirati del reakcijske cone, ki razmejuje notranji del beljave in del diskoloriranega lesa (rdeče srce). V zgornjem delu kolotov je mogoče videti močno razkrojen les (sliki 25, 26).



Slika 25: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) – prečni prerez, drevo št. 2, kolut 16 (levo) in kolut 21 (desno)



Slika 26: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) – prečni prerez, drevo št. 2, kolut 23

4.3.1 Rezultati izračunov za vsebnost celokupnih fenolov v preiskanih tkivih v drevesu št. 2

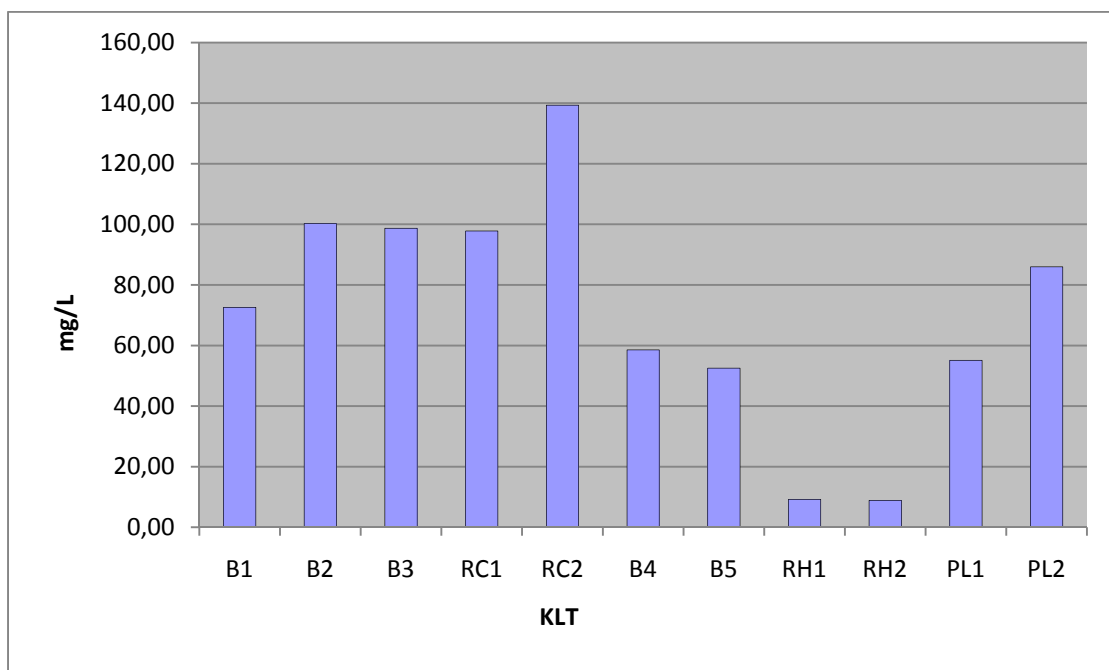
Preglednice 6, 7 in 8 prikazujejo delež celokupnih fenolov, ki smo ga izrazili v ekvivalentih galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa in kot masno koncentracijo v mg/L. Delež v metanolu topnih ekstraktivov je izražen v % glede na suho snov. Pri preglednicah 6, 7 in 8 in grafičnih ponazoritvah lahko podamo še rezultate in komentarje na diskoloracijo, ki je pri drevesu št. 1 umanjkala.

Vsako preglednico spremljajo tudi po trije grafikoni, ki grafično ponazarjajo vsebnost ekstraktivov, izraženo na način, ki je bil izpostavljen.

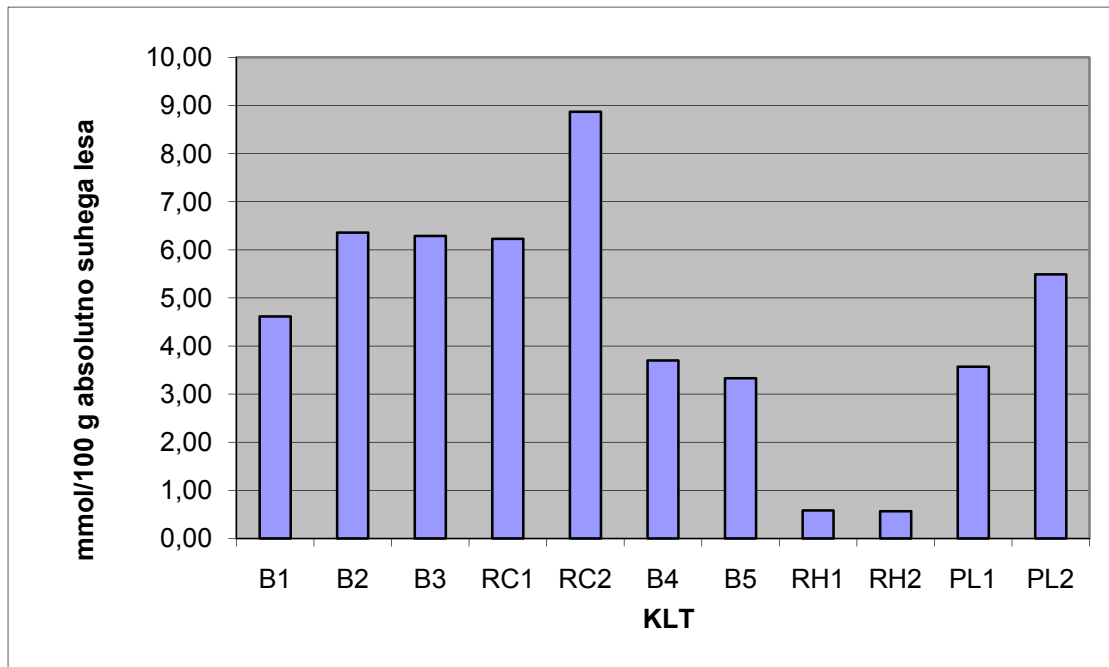
Na sliki 27 je za kolut 16 prikazana vsebnost celokupnih fenolov, izražena kot masna koncentracija v mg/L. Največja vsebnost celokupnih fenolov je v reakcijski coni, v vzorcu RC2 (139,34 mg/L). Večjo mero variabilnosti je zaznati pri vzorcih lesa beljave in vzorcih poranitvenega lesa, manjšo vsebnost celokupnih fenolov pa izkazuje tudi les rdečega srca. Vzorec RH1 je vseboval največ celokupnih fenolov, tj. 9,20 mg/L. V lesu beljave je najmanjša vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu B5 (52,55 mg/L), največja pa je v vzorcu B2 (100,22 mg/L). V poranitvenem lesu je najmanjša vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu PL1 (55,10 mg/L), največjo vsebnost celokupnih fenolov pa imamo v vzorcu PL2 (85,97 mg/L).

Preglednica 6: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				Absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov		Delež v MeOH topnih ekstraktivov
Drevo	Št. koluta	Oznaka vz.	KLT	A_{765}	mmol/100g lesa	mg/L	%
2	16	16 1	B1	0,47	4,61	72,60	4,03
2	16	16 2	B2	0,66	6,36	100,22	7,06
2	16	16 3	B3	0,65	6,29	98,69	7,63
2	16	16 4	RC1	0,65	6,23	97,81	5,59
2	16	16 5	RC2	0,93	8,87	139,34	12,22
2	16	16 6	B4	0,65	3,70	58,54	2,40
2	16	16 7	B5	0,58	3,33	52,55	0,12
2	16	16 8	RH1	0,12	0,58	9,20	2,40
2	16	16 9	RH2	0,12	0,57	8,91	2,19
2	16	16 A	PL1	0,64	3,57	55,10	6,93
2	16	16 B	PL2	0,98	5,49	85,97	6,59

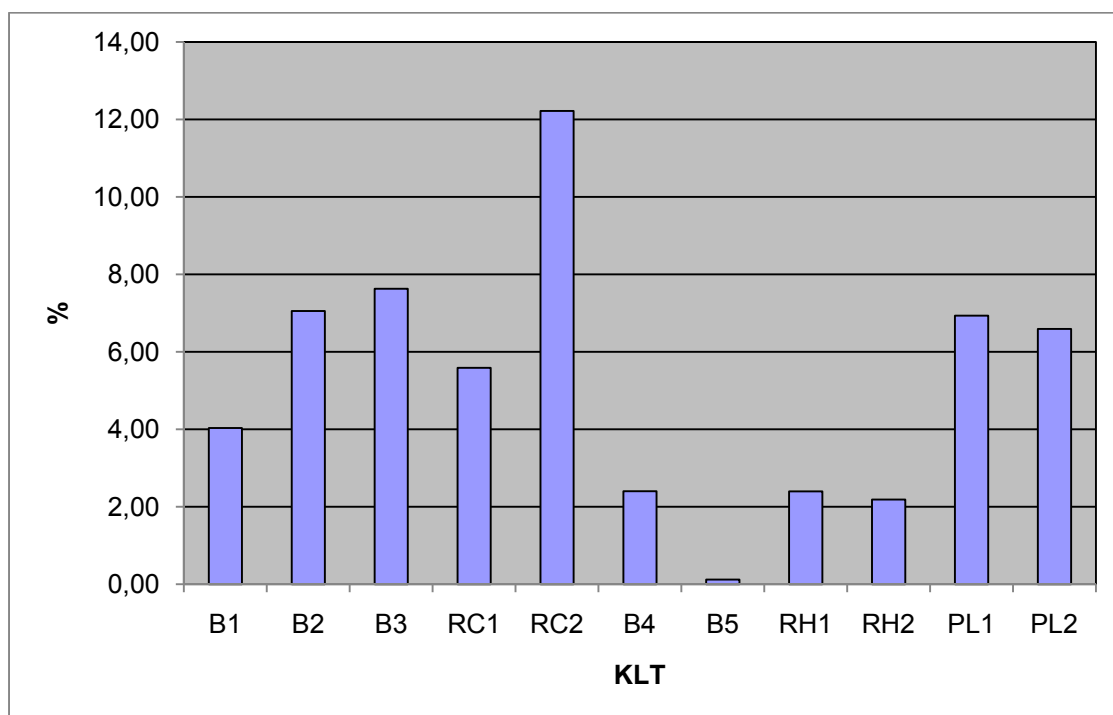


Slika 27: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot masna koncentracija v mg/L (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.



Slika 28: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Vsebnost celokupnih fenolov, ki smo jo izrazili kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa, je največja v lesu reakcijske cone, v vzorcu RC2 (8,87 mmol/100 g absolutno suhega lesa). Vzorci beljave izkazujejo večjo mero variabilnosti v vsebnosti celokupnih fenolov. Les beljave izkazuje največjo vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu B2 (6,36 mmol/100 g absolutno suhega lesa), vzorec B5 pa najmanjšo vsebnost celokupnih fenolov 3,33 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V poranitvenem lesu, v vzorcu PL2 imamo največjo vsebnost celokupnih fenolov, in sicer 5,49 mmol/100 g absolutno suhega lesa, v vzorcu PL1 pa najmanjšo vsebnost celokupnih fenolov, in sicer 3,57 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Vsebnost celokupnih fenolov izkazuje tudi les rdečega srca. Vzorca RH1 in RH2 izkazujeta minimalno razliko v vsebnosti celokupnih fenolov, izraženo na način, ki je bil izpostavljen (slika 28).



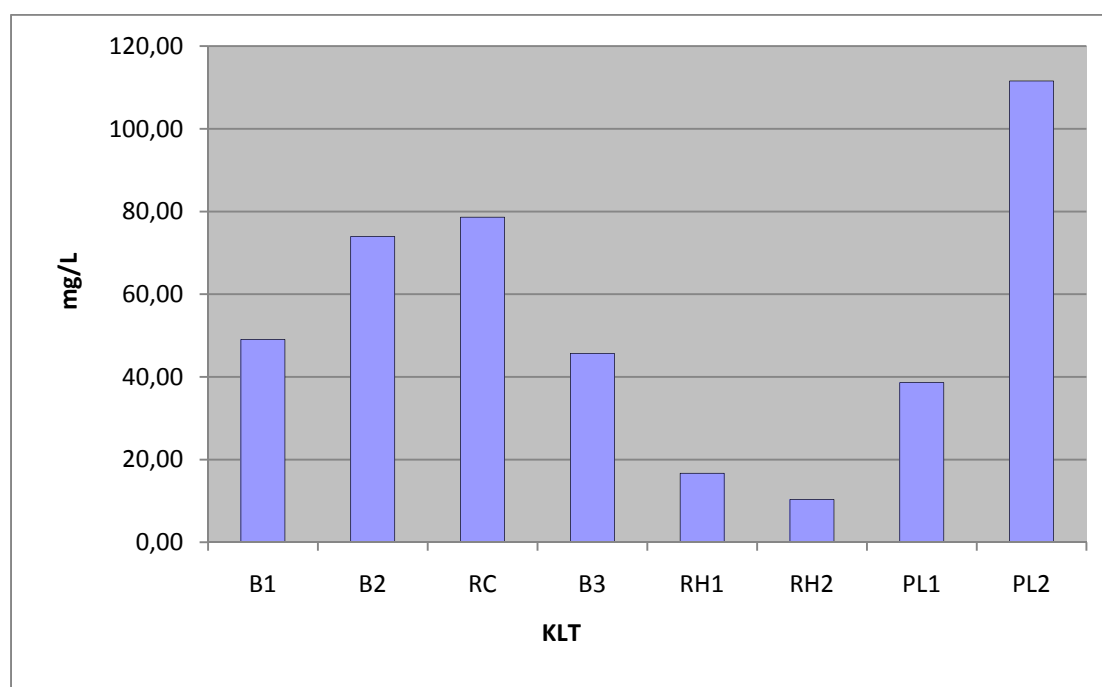
Slika 29: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen v % glede na suho snov (kolot 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Na sliki 29 vidimo da, izkazuje največji delež v metanolu topnih ekstraktivov les reakcijske cone, v vzorcu RC2 (12,22 %). Zelo variabilne vrednosti v deležu v metanolu topnih ekstraktivov, izkazuje les beljave. V vzorcu B5 imamo le 0,12 % v metanolu topnih ekstraktivov, v vzorcu B3 pa je delež v metanolu topnih ekstraktivov 7,63 %. Les rdečega srca izkazuje v vzorcu RH2 nekoliko nižje vrednosti 2,19 % v metanolu topnih ekstraktivov, v vzorcu RH2 pa je delež le teh 2,40 %. V poranitvenem lesu, v vzorcu PL1 je 6,93 % v metanolu topnih ekstraktivov, vzorec PL2 pa je vseboval 6,59 % v metanolu topnih ekstraktivov.

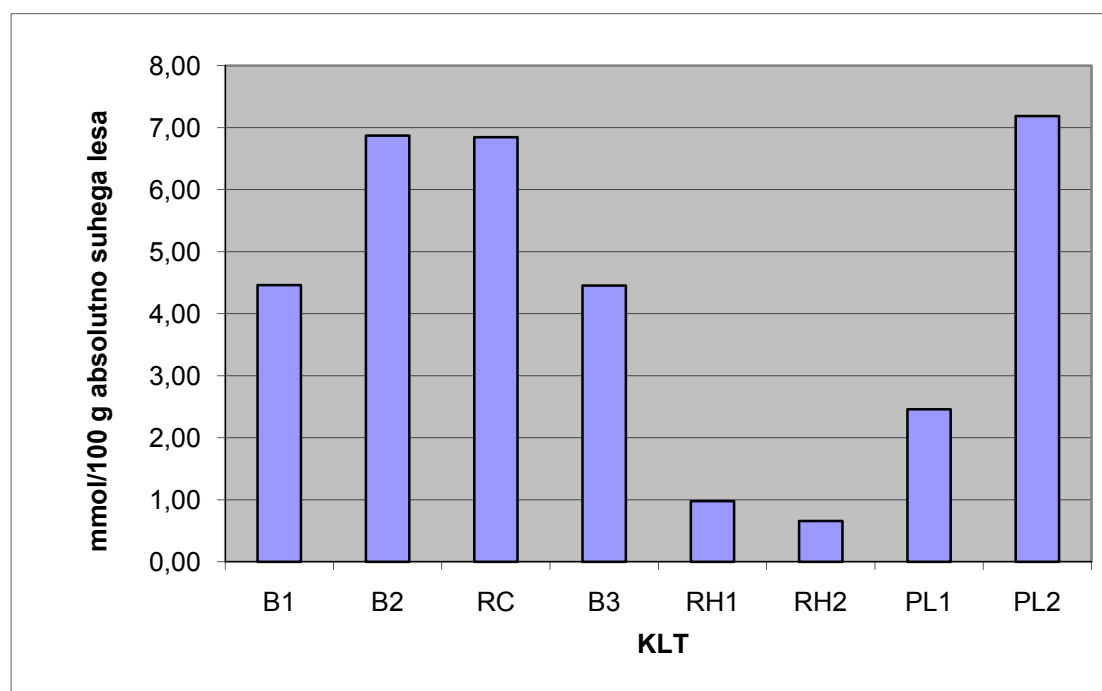
Preglednica 7 podaja rezultate vsebnosti celokupnih fenolov in delež v metanolu topnih ekstraktivov v tkivu koluta 21. Na sliki 30 je vsebnost celokupnih fenolov največja v poranitvenem lesu, v vzorcu PL2 (111,59 mg/L). Prav tako je zaznati visoko vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu reakcijske cone, RC1 (78,64 mg/L). Vzorci beljave izkazujejo precejšno mero variabilnosti v vsebnosti celokupnih fenolov. V lesu beljave vsebuje vzorec B2 največ celokupnih fenolov, in sicer 73,94 mg/L, najmanjšo vsebnost celokupnih fenolov pa izkazuje vzorec B3 (45,70 mg/L). Les rdečega srca izkazuje največjo vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu RH1 (16,68 mg/L).

Preglednica 7: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (koluta 21). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				Absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov		Delež v MeOH topnih ekstraktivov
Drevo	Št. koluta	Oznaka vz.	KLT	A_{765}	mmol/100g lesa	mg/L	%
2	21	21 1	B1	0,49	4,46	49,05	3,96
2	21	21 2	B2	0,76	6,87	73,94	1,48
2	21	21 3	RC	0,76	6,85	78,64	1,64
2	21	21 4	B3	0,49	4,45	45,70	6,28
2	21	21 5	RH1	0,10	0,98	16,68	2,00
2	21	21 6	RH2	0,13	0,66	10,34	6,55
2	21	21 A	PL1	0,45	2,46	38,59	5,53
2	21	21 B	PL2	1,20	7,19	111,59	6,93

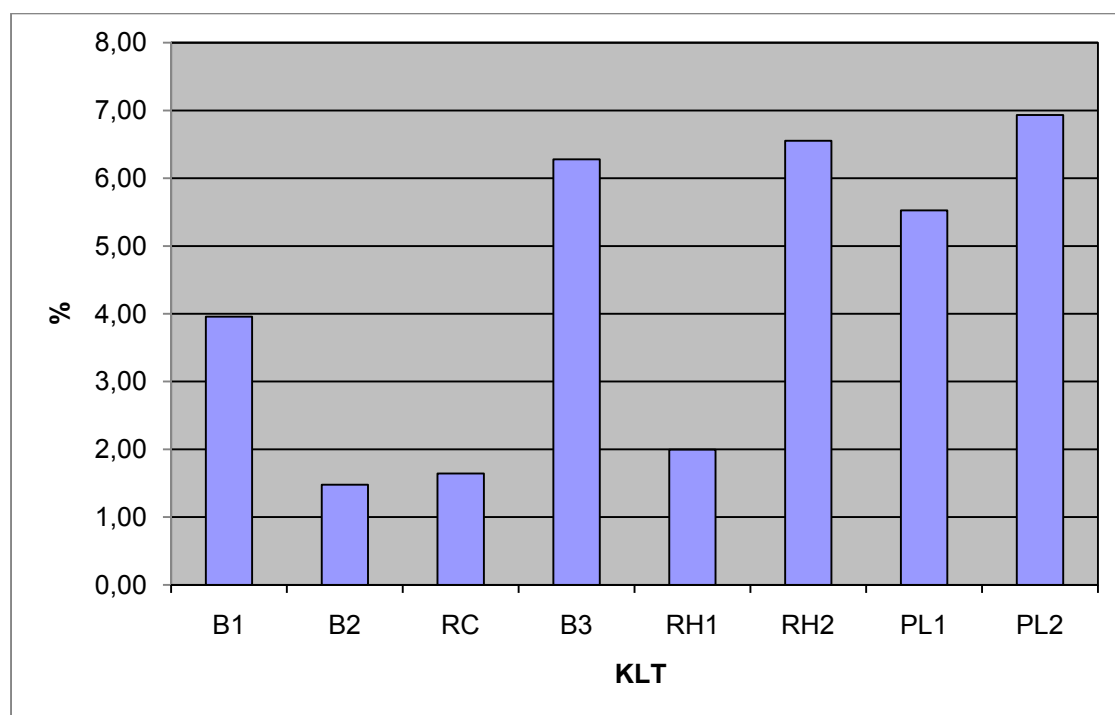


Slika 30: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot masna koncentracija v mg/L (kolut 21). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.



Slika 31: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot delež kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa (kolut 21). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Na sliki 31 izkazuje največjo vsebnost celokupnih fenolov poranitveni les, v vzorcu PL2 (7,19 mmol/100 g absolutno suhega lesa). Les beljave izkazuje največjo vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu B2, in sicer 6,87 mmol/100 g absolutno suhega lesa, v vzorcu B3 pa najmanjšo vsebnost celokupnih fenolov, in sicer 4,45 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Prav tako je opaziti večjo vsebnost celokupnih fenolov v lesu reakcijske cone (6,85 mmol/100g absolutno suhega lesa). Manjša vsebnost celokupnih fenolov je tudi v lesu rdečega srca, v vzorcu RH1 je vsebnost celokupnih fenolov največja (0,98 mmol/100 g absolutno suhega lesa), v vzorcu RH2 pa najmanjša (0,66 mmol/100 g absolutno suhega lesa).



Slika 32: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov (kolutu 21). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

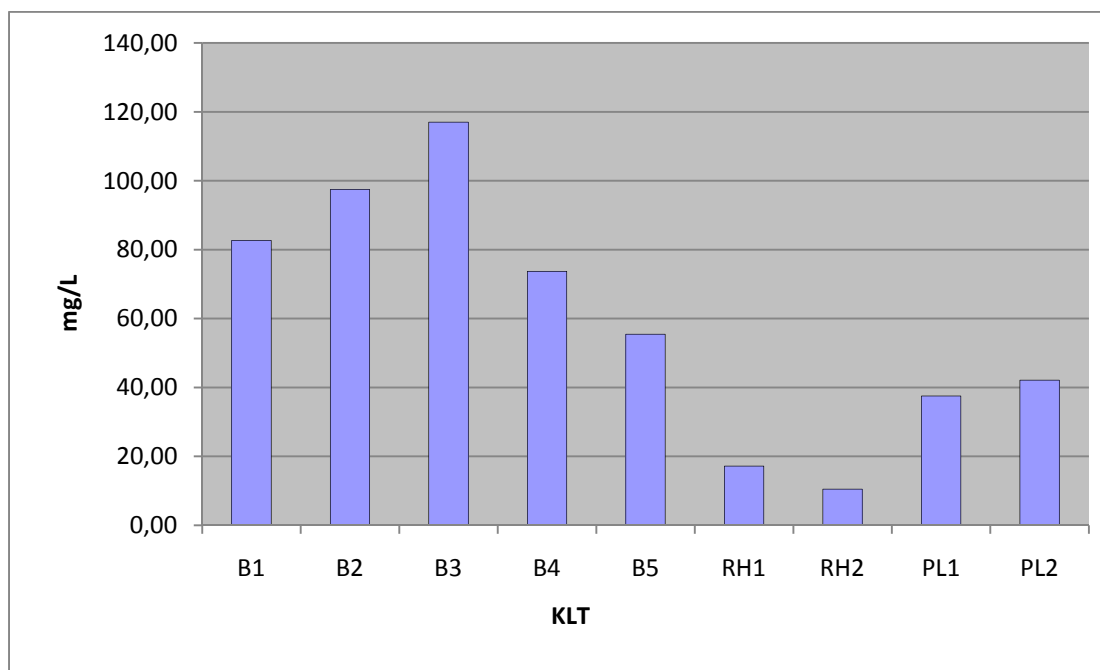
Delež v metanolu topnih ekstraktivov je pri kolutu 21 zelo variabilen. Največji delež v metanolu topnih ekstraktivov je v poranitvenem lesu, PL2 (6,93 %). Les beljave izkazuje največji delež v metanolu topnih ekstraktivov v vzorcu B3 (6,28 %), najmanjši delež v

metanolu topnih ekstraktivov pa imamo v vzorcu B2 (1,48 %). V lesu rdečega srca je največji delež v metanolu topnih ekstraktivov v vzorcu RH2 (6,55 %) in najmanjši v vzorcu RH1 (2,00 %). Delež v metanolu topnih ekstraktivov v lesu reakcijske cone je 1,94 % (slika 32).

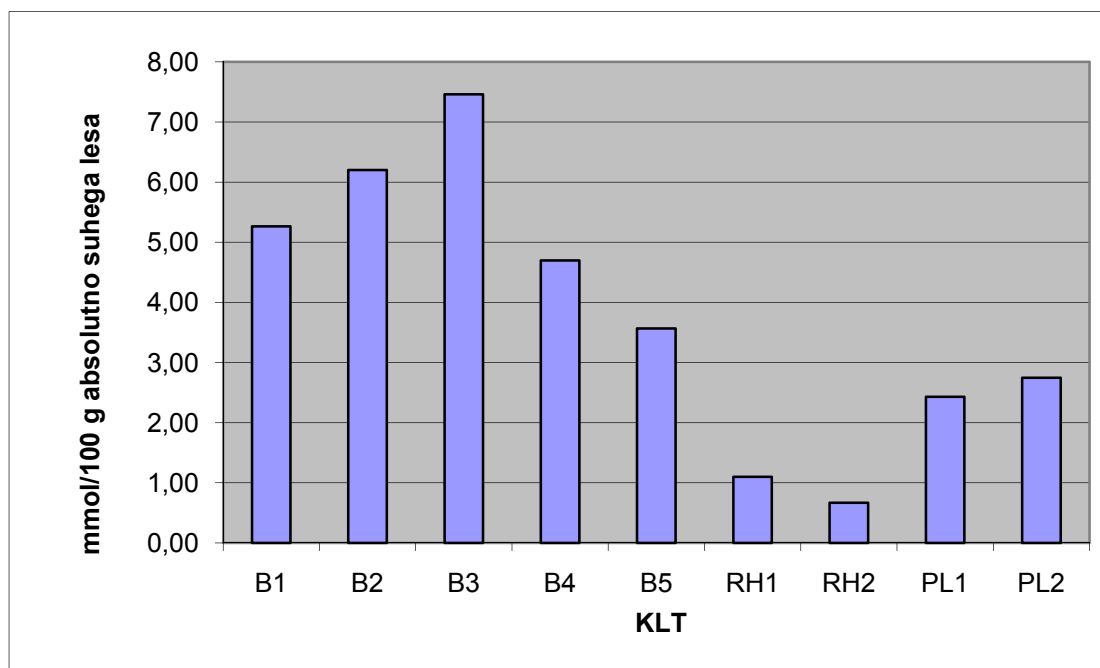
Vsebnosti ekstraktivov za kolut 23 so prikazane v preglednici 8, ki jo spremljajo trije grafikoni, ki grafično ponazarjajo vsebnost ekstraktivov, izraženo na način ki je bil izpostavljen že predhodno pri preglednicah 6 in 7. Na sliki 33 izkazuje les beljave največjo vsebnost celokupnih fenolov v mg/L v vzorcu B3 (117,01 mg/L), najmanjšo vsebnost celokupnih fenolov pa v vzorcu B5 (55,48 mg/L). V vzorcu RH1 je največja vsebnost celokupnih fenolov (17,19 mg/L), v vzorcu RH2 pa najmanjša (10,47 mg/L). Poranitveni les izkazuje največjo vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu PL2 (42,12 mg/L), najmanjšo pa v vzorcu PL1 (37,54 mg/L). Opazili smo, da je vsebnost celokupnih fenolov največja v vzorcih, vzetih iz beljave, najmanjša pa pri lesu rdečega srca.

Preglednica 8: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				Absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov		Delež v MeOH topnih ekstraktivov
Drevo	Št. koluta	Oznaka vz.	KLT	A ₇₆₅	mmol/100g lesa	mg/L	%
2	23	231	B1	0,54	5,26	82,70	3,20
2	23	232	B2	0,64	6,20	97,46	2,15
2	23	233	B3	0,77	7,46	117,01	4,56
2	23	234	B4	0,48	4,70	73,73	12,17
2	23	235	B5	0,36	3,57	55,48	2,47
2	23	236	RH1	0,20	1,10	17,19	0,09
2	23	237	RH2	0,13	0,67	10,47	3,08
2	23	23A	PL1	0,42	2,43	37,54	3,41
2	23	23B	PL2	0,47	2,75	42,12	4,12



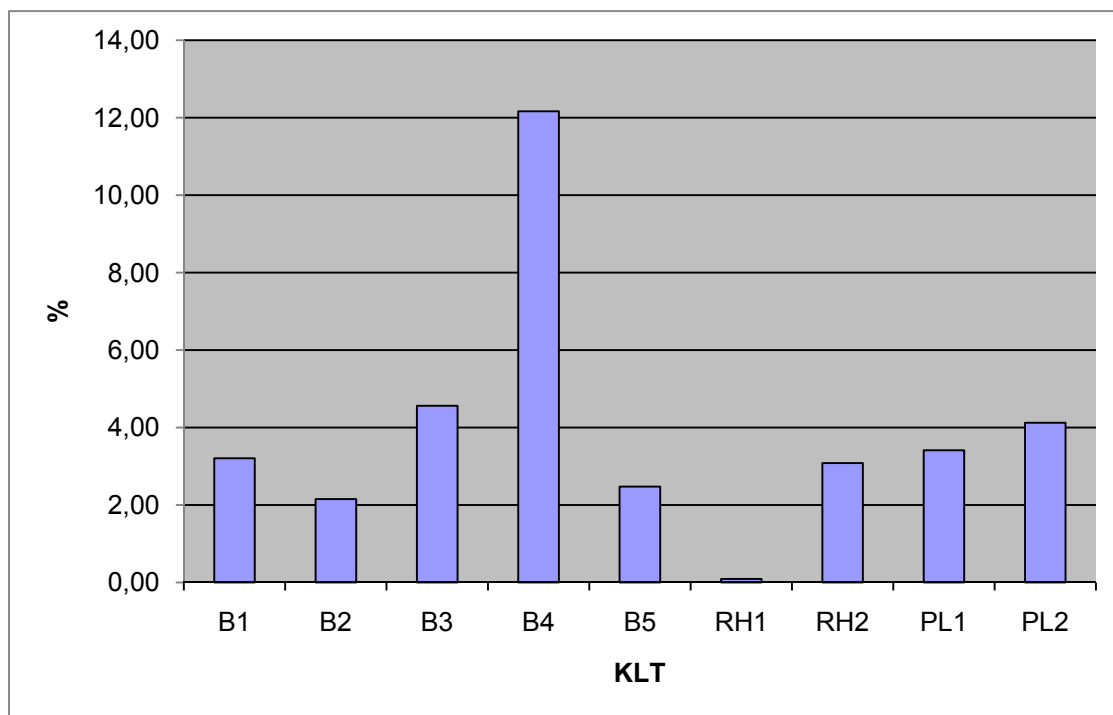
Slika 33: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot masna koncentracija v mg/L (kolot 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.



Slika 34: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa (kolot 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Največjo variabilnost v vsebnosti celokupnih fenolov, izraženih kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa, izkazuje les beljave.

V lesu beljave, v vzorcu B3, je največja vsebnost celokupnih fenolov, in sicer 7,46 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Poranitveni les izkazuje največjo vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu PL2 (2,75 mmol/100 g absolutno suhega lesa), v vzorcu PL1 pa je le-ta vsebnost najmanjša, in sicer znaša 2,43 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Vsebnost celokupnih fenolov izkazuje tudi les rdečega srca, v vzorcu RH1 je vsebnost celokupnih fenolov največja (1,10 mmol/100 g absolutno suhega lesa), v vzorcu RH2 pa najmanjša (0,67 mmol/100 g absolutno suhega lesa) (slika 34).



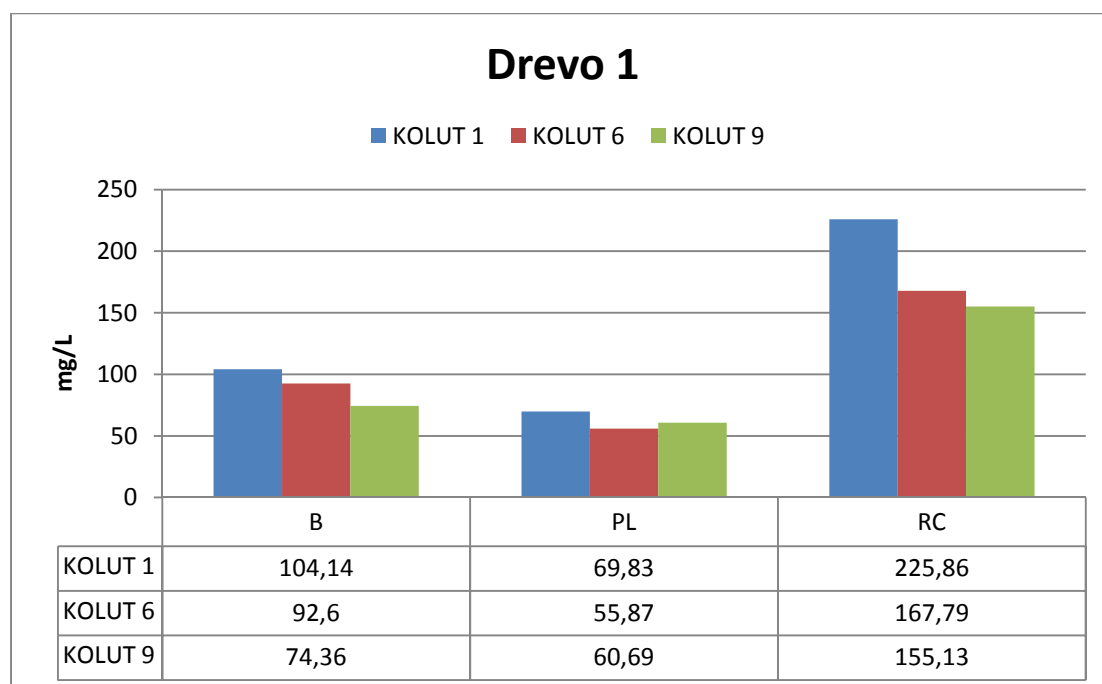
Slika 35: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih kategorijah lesnega tkiva (KLT), izražen kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov (kolut 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Vzorci, vzeti iz beljave izkazujejo največjo mero variabilnosti v deležu v metanolu topnih ekstraktivov, v vzorcu B4 je največji delež v metanolu topnih ekstraktivov 12,17 %. Najmanjši delež v metanolu topnih ekstraktivov je v lesu rdečega srca, v vzorcu RH1 (0,09

%). Večji delež v metanolu topnih ekstraktivov izkazuje poranitveni les, v vzorcu PL2 je delež v metanolu topnih ekstraktivov 4,12 %.

4.4 POVPREČNE VREDNOSTI VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV V TKIVIH NAVADNE BUKVE (*Fagus sylvatica* L.) ŠT. 1

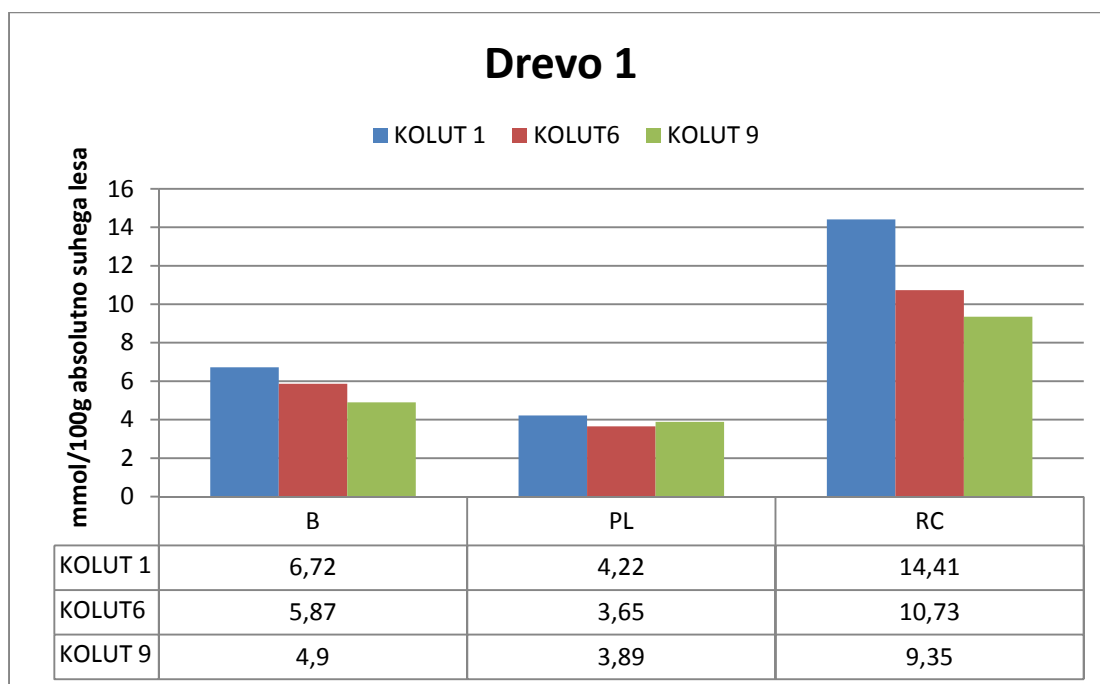
Zaradi primerjave deleža v metanolu topnih ekstraktivov in vsebnosti celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva smo grafično prikazali tudi povprečne vrednosti celokupnih fenolov v tkivu posebej za drevo št. 1. V grafikonih je povprečna vsebnost celokupnih fenolov izražena kot masna koncentracija v mg/L in kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa. Delež v metanolu (MeOH) topnih ekstraktivov je izražen v % glede na suho snov.



Slika 36: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 1) celokupnih fenolov, izražene kot masna koncentracija v mg/L za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

Slika 36 prikazuje, da je največja povprečna vsebnost celokupnih fenolov, izražena kot masna koncentracija v mg/L, v reakcijskih conah. Kar precejšnjo variabilnost in večjo vsebnost celokupnih fenolov pa je zaznati v lesu beljave in nekoliko nižjo v poranitvenem lesu. Za beljavo in reakcijsko cono lahko rečemo, da velja zveza, da se z naraščajočo

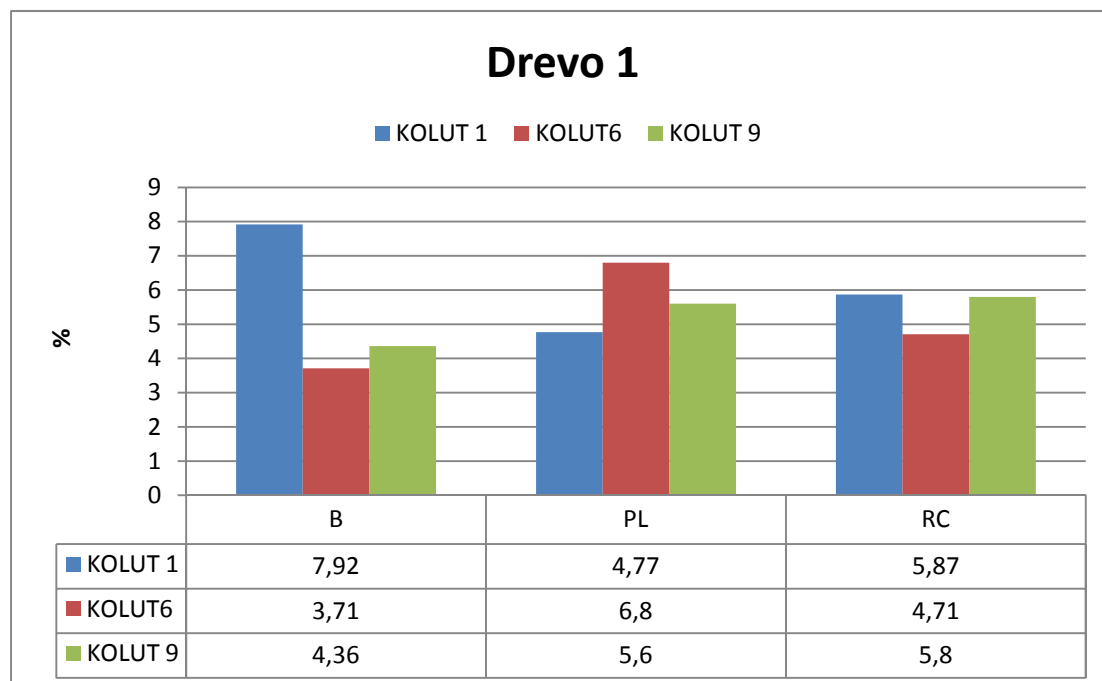
višino odvzetega vzorca manjša vsebnost celokupnih fenolov. Pri poranitvenem lesu ta zveza ne drži. Les beljave vsebuje za polovico manj celokupnih fenolov kot les reakcijske cone. V poranitvenem lesu je povprečna vsebnost celokupnih fenolov za 2/3 manjša kot v lesu reakcijske cone.



Slika 37: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 1) celokupnih fenolov, izražene v ekvivalentih galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

Tudi povprečne vrednosti vsebnosti celokupnih fenolov, ki so izražene kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g lesa, dokazujejo, da je vsebnost celokupnih fenolov največja v lesu reakcijske cone. Les beljave izkazuje kar precejšno vsebnost celokupnih fenolov, nekoliko nižje povprečne vrednosti zaznamo v poranitvenem lesu. Tudi v tem primeru lahko ugotovimo zvezo med višino drevesa in vsebnostjo celokupnih fenolov. V primeru lesa beljave in lesa reakcijske cone lahko izpostavimo, da se vsebnost fenolov z naraščajočo višino odvzetega vzorca zmanjšuje, za poranitveni les te zveze ne moremo izpostaviti. Les beljave vsebuje za polovico manj celokupnih fenolov kot reakcijska cone.

V poranitvenem lesu pa je celokupnih fenolov za 2/3 manj kot v reakcijski coni (slika 37).

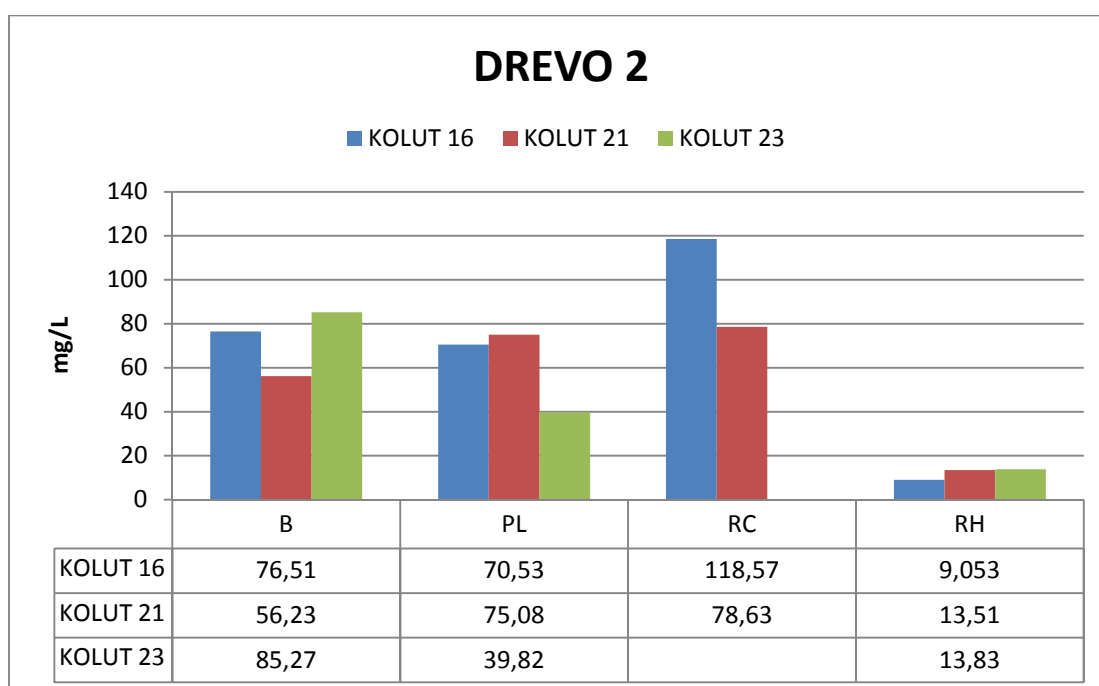


Slika 38: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 1) deleža v metanolu topnih ekstraktivov v % glede na suho snov za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa.

Največji delež v metanolu topnih ekstraktivov, izražen v % glede na suho snov je pri lesu beljave (slika 38). Precejšnje povprečne vrednosti deleža v metanolu topnih ekstraktivov lahko opazimo v poranitvenem lesu, nekoliko manjše povprečne vrednosti deleža v metanolu topnih ekstraktivov pa vsebuje les reakcijske cone.

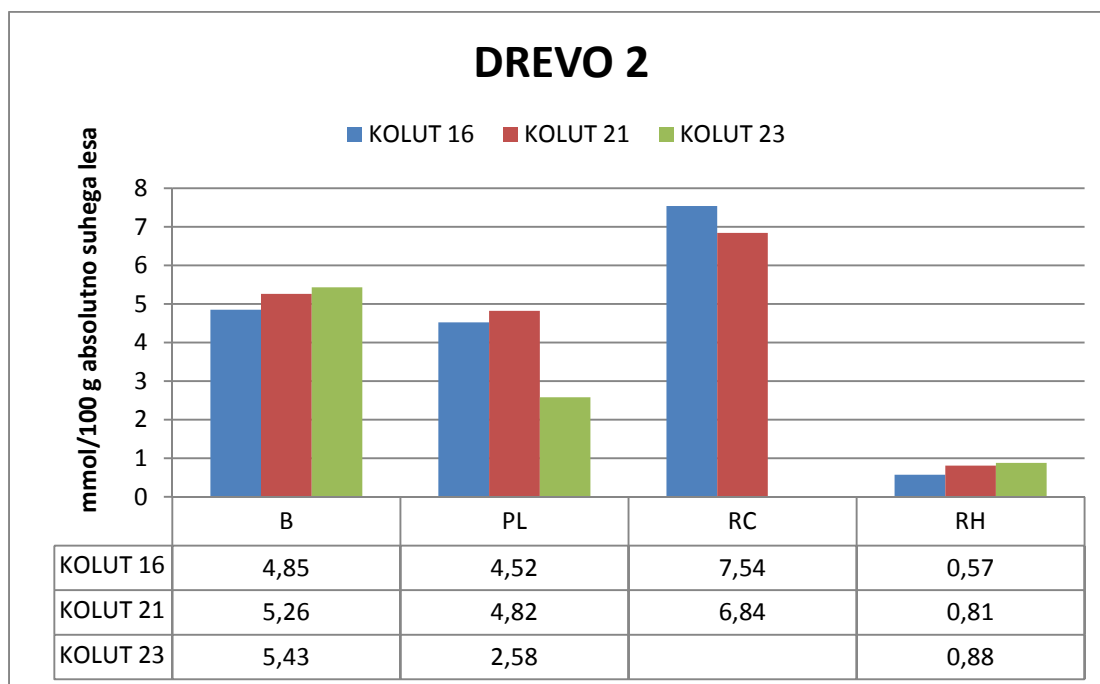
4.5 POVPREČNE VREDNOSTI V VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV V TKIVIH V DREVESU NAVADNE BUKVE (*Fagus sylvatica* L.) ŠT. 2

Zaradi primerjave deleža v metanolu topnih ekstraktivov in vsebnosti celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva smo grafično prikazali tudi povprečne vrednosti celokupnih fenolov in delež v metanolu topnih ekstraktivov posebej za drevo št. 2. Vrednosti v vsebnosti celokupnih fenolov smo v grafikonih izrazili kot masno koncentracijo v mg/L in kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa. Delež v metanolu topnih ekstraktivov je izražen v % glede na suho snov.



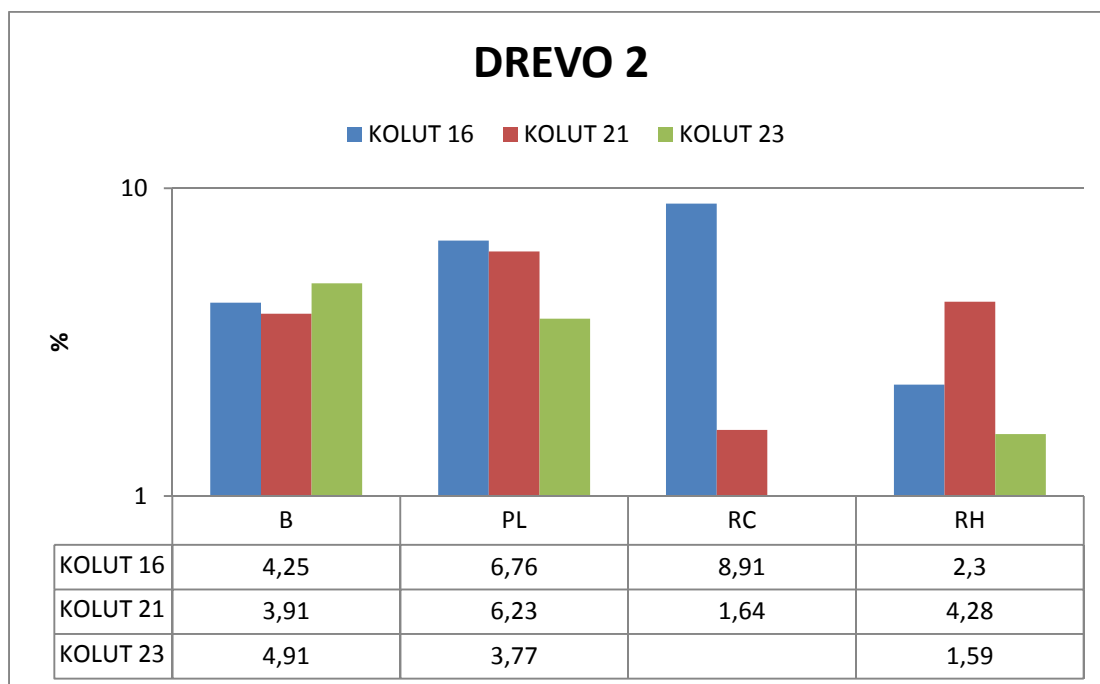
Slika 39: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 2) celokupnih fenolov, izražene kot masna koncentracija v mg/L za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Tudi pri drugem preučevanem drevesu so največje povprečne vrednosti v vsebnosti celokupnih fenolov, izraženi kot masna koncentracija v mg /L, v lesu reakcijske cone. Zelo variabilne so povprečne vrednosti v vsebnosti celokupnih fenolov v lesu beljave in poranitvenem lesu (slika 39). Nižje vrednosti pa zaznamo v lesu rdečega srca, ki je pri drevesu št. 1 manjkal.



Slika 40: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 2) celokupnih fenolov, izražene kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Povprečne vrednosti celokupnih fenolov, ki smo jih izrazili kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g lesa, kažejo podobno zakonitost kot masne koncentracije. Največje povprečne vrednosti celokupnih fenolov, izraženih kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g lesa, so v lesu reakcijske cone (slika 40). Večjo variabilnost povprečnih vrednosti v vsebnosti celokupnih fenolov zaznamo v lesu beljave. Nekoliko nižje so tudi povprečne vrednosti v poranitvenem lesu, najnižje vrednosti v vsebnosti celokupnih fenolov pa imamo v lesu rdečega srca.

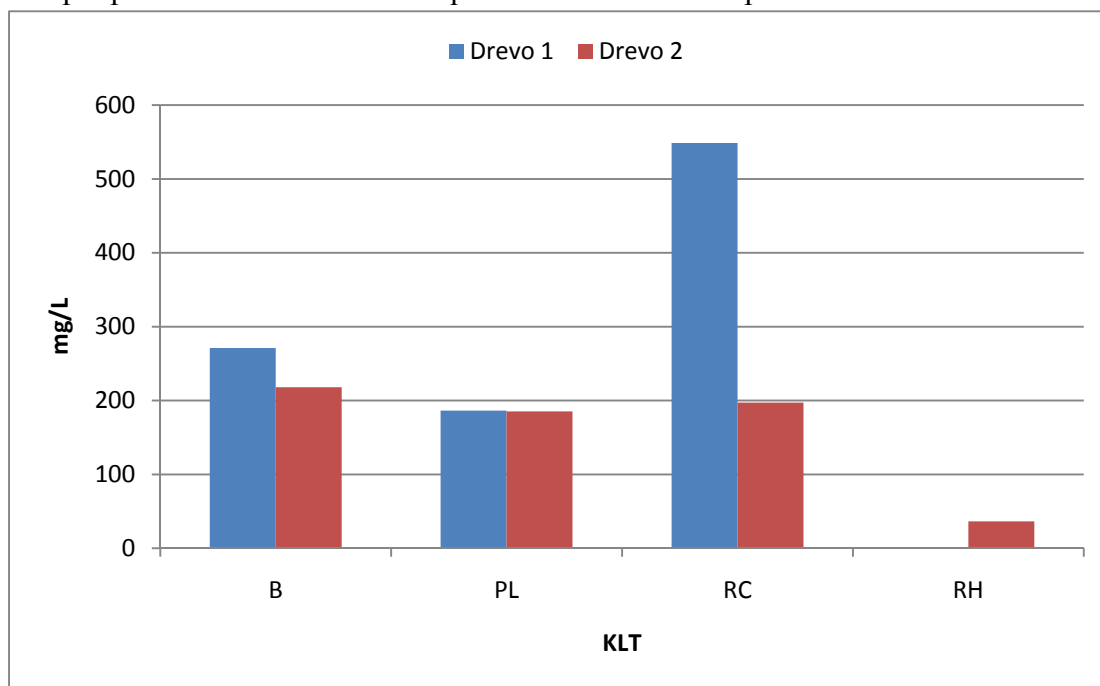


Slika 41: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 2) deleža v metanolu topnih ekstraktivov, izražene kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov za posamezno kategorijo lesnega tkiva. Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Višje povprečne vrednosti deleža v metanolu topnih ekstraktivov lahko opazimo v lesu reakcijske cone, nekoliko nižje so vrednosti v poranitvenem lesu. Najnižje povprečne vrednosti deleža v metanolu topnih ekstraktivov izkazuje les rdečega srca, višje so pa povprečne vrednosti deleža v metanolu topnih ekstraktivov pri lesu beljave (slika 41).

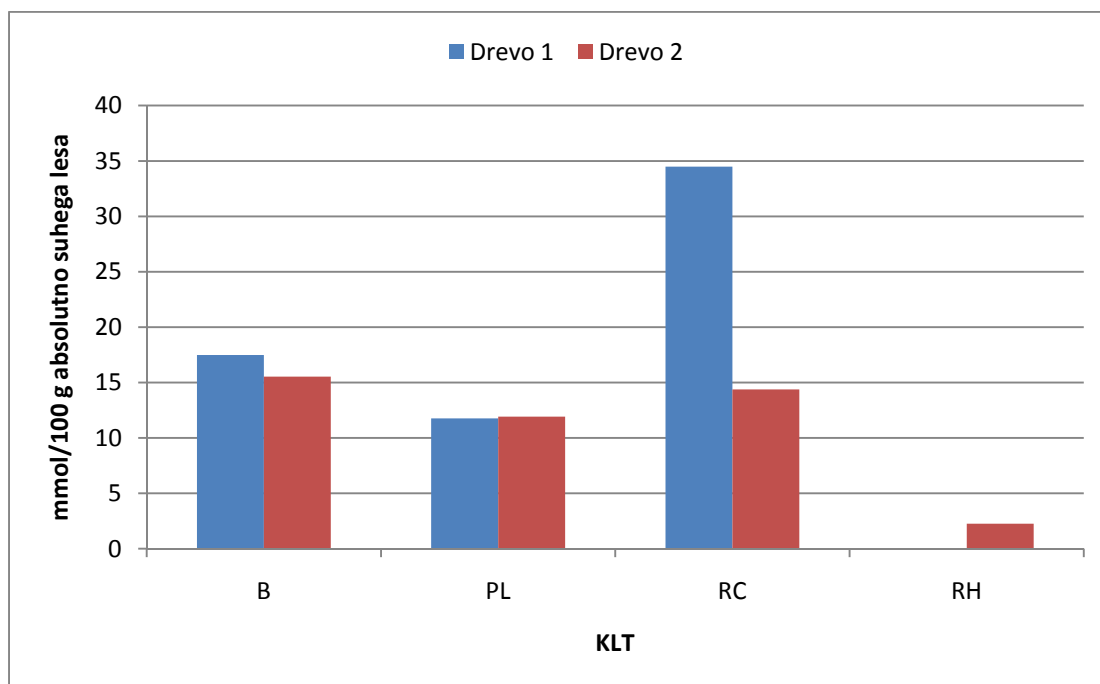
4.6 PRIMERJAVA POVPREČNIH VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV MED PREISKOVANIMA DREVESOMA PO KATEGORIJI LESNEGA TKIVA (KLT)

Na slikah 42, 43, 44 smo prikazali povprečne vrednosti v vsebnosti celokupnih fenolov med preiskovanima drevesoma za vsako kategorijo lesnega tkiva. Prav tako je prikazan tudi povprečni delež v metanolu topnih ekstraktivov med preiskovanima drevesoma.



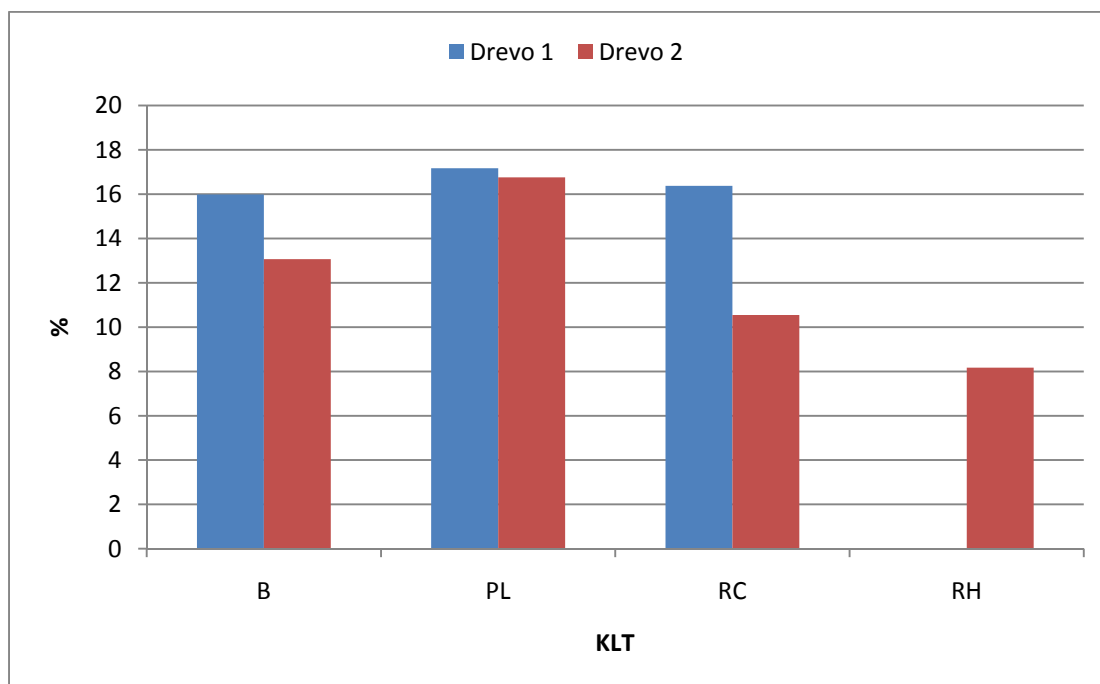
Slika 42: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); primerjava povprečnih vrednosti celokupnih fenolov med preiskovanima drevesoma, izraženih kot masna koncentracija v mg/L za posamezno kategorijo lesnega tkiva (KLT). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Vsebnost celokupnih fenolov je v drevesu št. 1 večja ne glede na kategorijo lesnega tkiva. Večje vsebnosti in razlike celokupnih fenolov opazimo v lesu beljave in v lesu reakcijske cone. Pri poranitvenem lesu pa so razlike minimalne. Vsebnosti celokupnih fenolov v lesu rdečega srca ne moremo komentirati, saj je le-ta pri drevesu št. 1 umanjkal (slika 42).



Slika 43: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); primerjava povprečnih vrednosti celokupnih fenolov med preiskovanima drevesoma, izraženih kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa za posamezno kategorijo lesnega tkiva (KLT). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Les reakcijske cone drevesa št. 1 izkazuje največje vsebnosti celokupnih fenolov. V primerjavi z drevesom št. 2 je bila vsebnost celokupnih fenolov skoraj za polovico manjša v drevesu št. 2. Večjo vsebnost celokupnih fenolov izkazuje tudi les beljave drevesa št. 1, pri drevesu št. 2 pa zaznamo nekoliko manjšo prisotnost vsebnosti celokupnih fenolov. V poranitvenem lesu ni bistvenih razlik v vsebnosti celokupnih fenolov med preiskovanima drevesoma. Vsebnost celokupnih fenolov v lesu rdečega srca je bila le v drevesu št. 2, ker je le-ta pri drevesu št. 1 umanjkal (slika 43).



Slika 44: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); primerjava povprečnih vrednosti deleža v metanolu topnih ekstraktivov med preiskovanima drevesoma, izraženih kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov za posamezno kategorijo lesnega tkiva (KLT). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, PL so vzorci poranitvenega lesa, RH so vzorci rdečega srca.

Večji delež v metanolu topnih ekstraktivov izkazuje drevo št. 1. Večje povprečne vrednosti deleža v metanolu topnih ekstraktivov izkazuje tudi les reakcijske cone in les beljave in poranitveni les drevesa št. 1. Opazna je minimalna razlika v povprečnih vrednostih deleža v metanolu topnih ekstraktivov za poranitveni les med preiskovanima drevesoma. Tudi les rdečega srca izkazuje velik delež v metanolu topnih ekstraktivov (slika 44).

5 SKLEP

Makroskopski pregled kolotov obeh preiskanih dreves, ki smo ju posekali, je razkril dokaj tipično razporeditev tkiv za mehansko poškodbo. Poškodovan les je bil diskoloriran ali razkrojen ali izvotljen. Tako spremenjeno tkivo je od zdrave beljave ločevala reakcijska cona. Po poškodovanju je nastal poranitveni les, ki poizkuša prerasti poškodbo.

Vsebnost celokupnih fenolov v tkivih v dveh preiskanih bukvah (*Fagus sylvatica* L.) se razlikuje znotraj drevesa in med drevesoma.

Pri drevesu št. 1 je bila vsebnost celokupnih fenolov največja v lesu reakcijske cone – RC1 (283,92 mg/L), ki razmejuje prizadeto in zdravo tkivo.

Pri obeh preučevanih drevesih je bila vsebnost celokupnih fenolov večja v beljavi – B (271,10 mg/L) – kot pri lesu, ki je nastal po poškodbi oz. poranitvenem lesu – PL (186,39 mg/L).

V diskoloriranem lesu je bila povprečna vsebnost celokupnih fenolov najmanjša (36,39 mg/L).

Pri obeh drevesih pa smo opazili, da je v lesu beljave nakazan trend zmanjšanja vsebnosti celokupnih fenolov z naraščajočo višino vzorcev v drevesu.

Povečana vsebnost celokupnih fenolov v lesu reakcijske cone najverjetneje prispeva h kompartmentalizacijski učinkovitosti teh tkiv.

6 POVZETEK

Za preučevanje vsebnosti celokupnih fenolov smo na jugozahodnem pobočju Rožnika v Ljubljani, v urbanem okolju, posekali dve bukvi (*Fagus sylvatica* L.), ki sta bili izpostavljeni mehanski poškodbi.

Poseku dreves je sledil razrez materiala v mizarški delavnici. Pri pregledu kolotov smo se osredotočili na identifikacijo rastnih značilnosti in tkiv. Na vsakem kolotu smo označili položaj bodočih vzorcev tako, da smo pridobili tri ali štiri skupine vzorcev; vzorec beljave, poranitvenega lesa, reakcijskih con in diskoloriranega lesa, če je bil prisoten. Po sušenju vzorcev je sledila priprava vzorcev za mletje. Za ekstrakcijo smo uporabili zmlete vzorce lesnega prahu, za katerega smo na vzporednih vzorcih določili vsebnost suhe snovi. Ekstrakcija za serijo desetih vzorcev v 80 % vodni raztopini MeOH (v volumskem razmerju 8 : 2) je potekala 6 ur. Po zaključku ekstrakcije je sledilo filtriranje vzorcev. Po končanem postopku filtracije pa smo vzorce lesa po ekstrakciji uporabili za določitev deleža v metanolu topnih snovi. Delež celokupnih fenolov smo določali po Folin-Ciocalteau-jevi metodi na UV-Vis spektrometru. Za izvedbo spektrofotometričnih meritev je bilo najprej potrebno pripraviti ustrezne zmesi (mešanje lesnega ekstrakta in pripravljenih reagentov) ter zmesi standardnih raztopin galne kisline. Metoda določevanja celokupnih fenolov po Folin-Ciocalteau-jevi metodi temelji na uporabi FC reagenta in meritvah absorbanc z UV-Vis spektrofotometrom. Za izračun koncentracije celokupnih fenolov je potrebno določiti tudi umeritveno krivuljo ustrezne referenčne spojine, ki je bila v našem primeru galna kislina, oz. ustrezna koncentracija standardnih raztopin galne kisline. Absorbance ekstraktov, absorbance galne kisline merimo pri valovni dolžini 765 nm z UV-Vis spektrofotometrom. Umeritveno krivuljo standardnih raztopin galne kisline smo določili grafično na osnovi koncentracij standardnih raztopin galne kisline in ustreznih reagentov ter njihovih pripadajočih absorbanc, ki smo jih izmerili pri 765 nm.

Vsebnost celokupnih fenolov v tkivih v dveh preiskanih bukvah (*Fagus sylvatica* L.) se razlikuje znotraj drevesa in med drevesoma. Pri drevesu št. 1 je bila vsebnost celokupnih fenolov največja v lesu reakcijske cone – RC1 (283,92 mg/L), ki razmejuje prizadeto in zdravo tkivo. Pri obeh preučevanih drevesih je bila vsebnost celokupnih fenolov večja v

beljavi – B (271,10 mg/L) – kot pri lesu, ki je nastal po poškodbi oz. poranitvenem lesu – PL (186,39 mg/L). V diskoloriranem lesu je bila povprečna vsebnost celokupnih fenolov najmanjša (36,39 mg/L). Pri obeh drevesih pa smo opazili, da je v lesu beljave nakazan trend zmanjšanja vsebnosti celokupnih fenolov z naraščajočo višino vzorcev v drevesu. Povečana vsebnost celokupnih fenolov v lesu reakcijske cone najverjetneje prispeva h kompartmentalizacijski učinkovitosti teh tkiv.

7 VIRI

Brus R. 2005. Dendrologija za gozdarje. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 408 str.

Čufar K. 2002. Anatomija lesa – nerecenzirano študijsko gradivo za leto 2002/2003. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 120 str.

Oven P. 2001. Mehanske poškodbe drevja. *Proteus*, 63, 8: 366–370

Oven P., Zupančič M., Merela M., Torelli N. 2004. Zgradba reakcijskih con pri bukvi: (*Fagus sylvatica* L.). *Zbornik gozdarstva in lesarstva*, 73: 51–62

Oven P. 2011. Kemična zgradba lesa. Študijsko gradivo za leto 2011. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 147 str.

Vek V. 2009. Določanje vsebnosti celokupnih fenolov – interno gradivo za leto 2009. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo.

PRILOGE

V prilogah A in B so podane vse meritve, ki so bile potrebne za izračun vsebnosti celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva, izraženih kot masna koncentracija v mg/L in kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa. Delež v metanolu topnih ekstraktivov pa smo izrazili v % glede na suho snov. Meritve so rezultat sprotnega računanja in beleženja pridobljenih rezultatov tekom eksperimentalnega dela.

PRILOGA A - REZULTATI MERITEV ZA DREVO ŠT. 1

	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)		
VZOREC	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8	m9	m10	%	s.s.
11	29,90	30,90	30,69	69,70	0,25	65,72	65,95	0,20	0,22	-0,02	0,79	-12,05
12	33,08	34,15	34,07	55,60	0,25	69,15	69,37	0,23	0,22	0,02	0,93	7,67
13	27,71	28,77	28,69	53,38	0,25	62,85	63,06	0,23	0,22	0,01	0,92	5,82
14	30,21	31,26	31,18	53,14	0,25	67,23	67,45	0,23	0,22	0,01	0,92	5,49
15	30,65	31,70	31,63	52,30	0,25	64,86	65,06	0,23	0,20	0,04	0,93	16,43
16	32,93	33,93	33,86	55,60	0,25	64,18	64,40	0,23	0,22	0,01	0,93	4,42
17	27,90	28,90	28,83	53,68	0,25	68,42	68,64	0,23	0,22	0,01	0,93	5,27
1A1	31,93	32,94	32,86	52,30	0,25	49,45	49,67	0,23	0,22	0,01	0,92	5,46
1A2	25,74	26,74	26,66	53,38	0,25	69,14	69,36	0,23	0,22	0,01	0,93	4,67
1A3	30,22	31,22	31,15	54,82	0,25	62,82	63,05	0,23	0,22	0,01	0,93	3,64
1B1	30,66	31,67	31,59	53,14	0,25	66,85	67,07	0,23	0,22	0,01	0,92	4,43
1B2	32,00	33,00	32,93	69,70	0,25	49,45	49,67	0,23	0,22	0,01	0,92	3,43
1B3	31,93	32,94	32,86	56,09	0,25	65,70	65,92	0,23	0,22	0,01	0,92	5,52
1B4	32,41	33,42	33,34	46,76	0,25	66,85	67,07	0,23	0,22	0,01	0,92	6,25

m1	masa tehtiča	m7	masa petrijevke z vzorcem po ekstrakciji na filter papirju.
m2	masa vzorca s tehtičem pred suš.	m8	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m3	masa vzorca s tehtičem po suš.	m9	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m4	masa čaše	m10	masa topnih snovi
m5	masa vzorca pred ekstrakcijo	%	delež topnih snovi
m6	masa petrijevke+ filter papir	s.s.	suha snov

	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)		
VZOREC	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8	m9	m10	%	s.s.
61	29,90	30,96	30,88	53,68	0,25	65,73	65,96	0,23	0,23	0,00	0,92	0,91
62	32,55	33,56	33,49	46,76	0,25	67,04	67,27	0,23	0,23	0,01	0,93	3,05
63	30,31	31,33	31,26	54,83	0,25	64,20	64,43	0,23	0,23	0,01	0,93	2,74
65	31,79	32,83	32,74	55,60	0,25	64,87	65,09	0,23	0,23	0,01	0,92	2,24
66	27,90	28,92	28,84	53,38	0,25	67,23	67,45	0,23	0,22	0,01	0,93	5,85
67	32,93	33,93	33,85	54,82	0,25	62,83	63,05	0,23	0,22	0,01	0,93	5,67
68	27,90	28,90	28,83	53,38	0,25	49,45	49,68	0,23	0,22	0,01	0,93	4,04
6A1	30,56	31,56	31,49	56,09	0,25	68,42	68,64	0,23	0,22	0,01	0,93	5,26
6A2	25,73	26,74	26,66	53,14	0,25	65,70	65,92	0,23	0,22	0,01	0,93	5,68
6A3	32,07	33,08	33,01	46,75	0,25	64,17	64,40	0,23	0,22	0,01	0,93	3,72
6B1	32,40	33,40	33,22	46,76	0,25	68,42	68,63	0,21	0,21	-0,01	0,82	-4,65
6B2	32,01	33,01	32,94	53,14	0,25	65,70	65,90	0,23	0,20	0,04	0,93	15,37
6B3	32,41	33,42	33,34	56,09	0,25	68,42	68,65	0,23	0,22	0,01	0,93	3,95
6B4	27,90	28,90	28,82	53,38	0,25	69,14	69,35	0,23	0,21	0,02	0,92	7,17

m1	masa tehtiča	m7	masa petrijevke z vzorcem po ekstrakciji na filter papirju
m2	masa vzorca s tehtičem pred suš.	m8	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m3	masa vzorca s tehtičem po suš.	m9	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m4	masa čaše	m10	masa topnih snovi
m5	masa vzorca pred ekstrakcijo	%	delež topnih snovi
m6	masa petrijevke+ filter papir	s.s.	suha snov

	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)		
VZOREC	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8	m9	m10	%	s.s.
91	29,90	35,48	34,82	46,76	0,25	62,85	63,06	0,22	0,20	0,02	0,88	7,32
92	32,93	37,93	37,10	53,68	0,25	66,88	67,09	0,21	0,21	0,00	0,84	-0,58
93	32,40	37,39	36,98	53,15	0,25	64,20	64,43	0,23	0,23	0,00	0,92	0,78
94	32,55	37,53	37,52	55,60	0,25	68,45	68,68	0,25	0,23	0,02	1,00	8,40
95	30,31	35,27	35,04	69,70	0,25	67,23	67,46	0,24	0,23	0,01	0,95	3,19
96	25,74	26,74	26,66	53,38	0,25	68,45	68,68	0,23	0,23	0,00	0,92	1,98
97	32,01	33,02	32,94	69,69	0,25	65,73	65,96	0,23	0,23	0,00	0,92	1,29
98	32,07	33,08	32,99	46,76	0,25	64,54	64,74	0,23	0,21	0,02	0,92	10,43
9A1	27,90	28,90	28,82	53,14	0,25	67,57	67,78	0,23	0,21	0,02	0,92	6,94
9A2	30,56	31,56	31,48	52,30	0,25	64,87	65,10	0,23	0,23	0,00	0,92	2,03
9A3	32,30	33,31	33,23	46,75	0,25	64,52	64,74	0,23	0,22	0,01	0,92	2,71
9B1	30,56	31,56	31,47	53,38	0,25	68,79	69,07	0,23	0,28	-0,05	0,91	-21,72
9B2	29,89	30,90	30,82	53,68	0,25	67,20	67,40	0,23	0,21	0,02	0,92	10,72
9B3	32,93	33,94	33,86	56,09	0,25	67,54	67,96	0,23	0,42	-0,19	0,92	-80,69

m1	masa tehtiča	m7	masa petrijevke z vzorcem po ekstrakciji na filter papirju
m2	masa vzorca s tehtičem pred suš.	m8	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m3	masa vzorca s tehtičem po suš.	m9	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m4	masa čaše	m10	masa topnih snovi
m5	masa vzorca pred ekstrakcijo	%	delež topnih snovi
m6	masa petrijevke+ filter papir	s.s.	suha snov

PRILOGA B - REZULTATI MERITEV ZA DREVO ŠT. 2

	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)		
VZOREC	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8	m9	m10	%	s.s.
16 1	30,57	31,58	31,50	53,38	0,25	49,49	49,71	0,23	0,22	0,01	0,92	4,03
16 2	31,32	32,33	32,25	54,54	0,25	68,46	68,67	0,23	0,21	0,02	0,92	7,06
16 3	25,74	26,74	26,66	56,09	0,25	69,18	69,39	0,23	0,21	0,02	0,92	7,63
16 4	32,30	33,31	33,23	46,76	0,25	64,21	64,43	0,23	0,22	0,01	0,92	5,59
16 5	31,69	32,70	32,62	52,30	0,25	67,05	67,25	0,23	0,20	0,03	0,92	12,22
16 6	27,90	28,90	28,83	53,38	0,25	62,82	63,05	0,23	0,23	0,01	0,93	2,40
16 7	32,30	33,30	33,24	54,54	0,25	64,84	65,08	0,24	0,23	0,00	0,94	0,12
16 8	25,74	26,74	26,66	56,09	0,25	62,83	63,05	0,23	0,23	0,01	0,93	2,40
16 9	32,41	33,41	33,34	69,70	0,25	62,83	63,05	0,23	0,23	0,01	0,93	2,19
16 A	32,93	33,93	33,84	54,54	0,25	69,14	69,35	0,23	0,21	0,02	0,91	6,93
16 B	32,30	33,30	33,22	55,60	0,25	68,42	68,64	0,23	0,22	0,02	0,92	6,59

m1	masa tehtiča	m7	masa petrijevke z vzorcem po ekstrakciji na filter papirju
m2	masa vzorca s tehtičem pred suš.	m8	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m3	masa vzorca s tehtičem po suš.	m9	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m4	masa čaše	m10	masa topnih snovi
m5	masa vzorca pred ekstrakcijo	%	delež topnih snovi
m6	masa petrijevke+ filter papir	s.s.	suha snov

	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)		
VZOREC	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8	m9	m10	%	s.s.
21 1	32,41	33,42	33,34	53,37	0,25	67,01	67,23	0,23	0,22	0,01	0,92	3,96
21 2	30,67	31,67	31,59	53,68	0,25	65,70	65,92	0,23	0,23	0,00	0,92	1,48
21 3	31,94	32,94	32,86	53,14	0,25	67,20	67,43	0,23	0,23	0,00	0,92	1,64
21 4	32,30	33,30	33,23	55,60	0,25	66,85	67,07	0,23	0,22	0,01	0,93	6,28
21 6	25,74	26,74	26,66	54,82	0,25	49,45	49,68	0,23	0,23	0,00	0,92	2,00
21 A	32,00	33,00	32,92	53,68	0,25	64,84	65,06	0,23	0,22	0,02	0,92	6,55
21 B	32,00	33,00	32,92	53,68	0,25	64,84	65,06	0,23	0,22	0,01	0,91	5,53

m1	masa tehtiča	m7	masa petrijevke z vzorcem po ekstrakciji na filter papirju
m2	masa vzorca s tehtičem pred suš.	m8	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m3	masa vzorca s tehtičem po suš.	m9	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m4	masa čaše	m10	masa topnih snovi
m5	masa vzorca pred ekstrakcijo	%	delež topnih snovi
m6	masa petrijevke+ filter papir	s.s.	suha snov

	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)	(g)		
VZOREC	m1	m2	m3	m4	m5	m6	m7	m8	m9	m10	%	s.s.
23 1	32,07	33,07	33,01	54,82	0,25	67,36	67,59	0,23	0,23	0,01	0,93	3,20
23 2	31,93	32,94	32,88	54,53	0,25	65,19	65,41	0,23	0,23	0,01	0,93	2,15
23 3	32,01	33,02	32,95	69,69	0,25	69,48	69,70	0,23	0,22	0,01	0,93	4,56
23 4	30,67	31,67	31,60	52,30	0,25	66,05	66,25	0,23	0,20	0,03	0,93	12,17
23 5	27,90	28,90	28,83	55,59	0,25	63,17	63,40	0,23	0,22	0,01	0,92	2,47
23 6	27,90	28,90	28,82	46,76	0,25	67,02	67,25	0,23	0,23	0,00	0,91	0,09
23 7	32,30	33,30	33,23	56,09	0,25	67,21	67,43	0,23	0,22	0,01	0,92	3,08
23 A	31,94	32,94	32,85	52,30	0,25	66,85	67,07	0,23	0,22	0,01	0,90	3,41
23 B	29,89	30,89	30,79	53,68	0,25	64,18	64,39	0,23	0,22	0,01	0,90	4,12

m1	masa tehtiča	m7	masa petrijevke z vzorcem po ekstrakciji na filter papirju
m2	masa vzorca s tehtičem pred suš.	m8	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m3	masa vzorca s tehtičem po suš.	m9	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m4	masa čaše	m10	masa topnih snovi
m5	masa vzorca pred ekstrakcijo	%	delež topnih snovi
m6	masa petrijevke+ filter papir	s.s.	suha snov

PRILOGA C- POSTOPEK MERJENJA ABSORBANCE Z UV-VIS SPEKTROFOTOMETROM

V prilogi je opisan tudi natančen postopek merjenja absorbance z UV-Vis spektrofotometrom, ki ga povzamemo po Veku (2009).

Najprej je bilo potrebno prižgati UV-Vis spektrometer (Perkin-Elmer), nato pa smo zagnali ustrezen »software« oziroma program Lambda 2. Program Lambda 2 smo lahko zagnali, ko je na UV-Vis instrumentu izginil napis »Busy«.

Ko je na UV-Vis spektrometru izginil napis »Busy« in se je na instrumentu izpisalo »Remote Standard«, smo lahko zagnali program Lambda 2.

Po zagonu smo kliknili na zavihek »Wp« in odprli že predhodno shranjeno metodo oziroma nastavitve »fenoli-Q.mwp« (V.d.→ 765 nm, cikel→ 1, Avtosave→ On, Avtoprint→ Off, Response→ 0,1s), pri čemer nastavljene nastavitve, če ni potrebno, ne spreminjamo.

Z miško smo kliknili na zavihek »Sample« in najprej spremenili ime dokumenta v »kj1811«, določili število vzorcev »number of samples« na 17 (10 vzorcev, 6 različno koncentriranih raztopin galne kisline za določitev umeritvene krivulje ter 1 slepi vzorec – »Blank«). Po določitvi vzorcev smo v 17 mest vnesli okrajšana imena za vzorce.

Nato smo odpipetirali 3 µL slepega vzorca »Blank« v kiveti, ki smo ju nato vstavili v prvo in drugo merilno mesto, ter nato pritisnili »Avtozero«. Slepa vzorca »Blank« smo pustili v prvem in drugem merilnem mestu ter pritisnili »Start« in »O.k.«. Med samo analizo vzorcev z UV-Vis spektrometrom v drugem merilnem mestu vedno pustimo slepi vzorec »Blank«, medtem ko v prvem merilnem mestu menjamo vzorce, o čemer nas program sam obvešča.

Kot smo že omenili, nas tekom analize program sam obvešča, kateri vzorec je naslednji, tako, da se po izvedeni predhodni meritvi pokaže obvestilno okno, kjer je podatek o naslednjem vzorcu. Ustrezen vzorec nato odpipetiramo (3 µL) v očiščeno in suho kiveto, ki jo vstavimo v prvo merilno mesto. Z miško pritisnemo na »O.k.«. V ustreznem okencu

Gaber K. Vsebnost celokupnih fenolov v lesu mehansko poškodovanih bukev (*Fagus sylvatica* L.).

Dipl. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo, 2012

programa Lambda 2 se izpiše vrednost absorbance vzorcev. Opisani postopek smo ponovili za vse vzorce.

ZAHVALA

Najlepše se zahvaljujem mentorju prof. dr. Primožu Ovnu za pomoč in vzpodbudo pri nastajanju tega diplomskega dela ter za strokovno znanje, ki ste mi ga posredovali.

Zahvaljujem se tudi somentorici doc. dr. Idi Poljanšek za pomoč in opombe pri izdelavi diplomske naloge, recenzentu prof. dr. Marku Petriču pa se zahvaljujem za recenzijo.

Zahvala gre tudi Viljemu Veku za pomoč pri UV-Vis spektrofotometričnih meritvah in nasvete, ki so mi bili v pomoč tekom eksperimentalnega dela.

Za uspešen zaključek šolanja pa gre zahvala vsem mojim bližnjim, ki so mi ves čas stali ob strani, me podpirali in ves čas sledili mojim sanjam, ki sem jih tudi dosegla. Hvala vam!