

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Jure TOMAŽIČ

**DOLOČITEV VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV
V BELJAVI IN RDEČEM SRCU BUKVE Z UV/VIS
SPEKTROFOTOMETRIJO**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2013

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Jure TOMAŽIČ

**DOLOČITEV VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV V BELJAVI IN RDEČEM
SRCU BUKVE Z UV/VIS SPEKTROFOTOMETRIJO**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

**DETERMINATION OF CONTENTS OF TOTAL PHENOLS IN SAPWOOD AND
RED HEART OF BEECH BY UV/VIS SPECTROPHOTOMETRY**

GRADUATION THESIS

Higher Professional Studies

Ljubljana, 2013

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega strokovnega študija lesarstva. Opravljeno je bilo na katedri 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 prof. dr. Primoža Ovna, za somentorico doc. dr. Ido Poljanšek in za recezenta prof. dr. Marka Petriča.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Jure Tomažič

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Vs
- DK UDK 630*813.2:661.725.852
- KG les/bukev/beljavi/rdeče srce/fenoli/spektrofotometrija
- AV TOMAŽIČ, Jure
- 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 2013
- IN DOLOČITEV VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV
V BELJAVI IN RDEČEM SRCU BUKVE Z UV/VIS SPEKTROFOTOMETRIJO
- TD Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
- OP IX, 61 str., 10 pregl., 42 sl., 3 pril., 12 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Preiskovali smo 2 bukvi (*Fagus sylvatica* L.), požagani v urbanem gozdu na pobočju Rožnika, Ljubljana. Namen naše preiskave je bil ugotoviti vsebnost celokupnih fenolov in delež ekstraktibilnih snovi v beljavi, rdečem srcu in reakcijskih conah na različnih višinah vzdolž drevesa. Drevesa smo razžagali, odvzeli vzorčne kolote, jih skrbno pregledali, označili vzorce, jih izžagali, zmleli in posušili. Lesni prah smo nato ekstrahirali v hladni vodni raztopini 80 % metanola s pomočjo magnetnega mešala. Delež celokupnih fenolov smo določili spektrofotometrično po Folin-Ciocalteu metodi. Ugotovili smo, da je vsebnost celokupnih fenolov v drevesu št. 1 večja v beljavi in reakcijski coni, rdeče srce pa ima nižjo povprečno vsebnost celokupnih fenolov kot rdeče srce v drevesu 2. Najvišja povprečna vsebnost celokupnih fenolov je v lesu reakcijske cone (drevo št. 1). Drevo 2 ima največjo povprečno vsebnost celokupnih fenolov v lesu beljave, sledi ji reakcijska cona; najmanjši povprečni delež celokupnih fenolov pa je v lesu rdečega srca. Rdeče srce bukve je tkivo, ki vsebuje najmanj ekstraktibilnih snovi in najmanj fenolnih. Porazdelitev fenolnih snovi v drevesu odraža fiziološko funkcijo, ki jo imajo ta tkiva v drevesu.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Vs
- DC UDC 630*813.2:661.725.852
- CX wood/beech/sapwood/red heart/phenols/spectrophotometry
- AU TOMAŽIČ, Jure
- 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 2013
- TI DETERMINATION OF CONTENTS OF TOTAL PHENOLS IN SAPWOOD
AND RED HEART OF BEECH BY UV/VIS SPECTROPHOTOMETRY
- DT Graduation Thesis (Higher professional studies)
- NO IX, 61 p., 10 tab., 42 fig., 3 ann., 12 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB 2 beech trees (*Fagus sylvatica* L.), cut down in urban forest of Rožnik in Ljubljana, were investigated. The aim of our work was examination of content of total phenols and content of total extractable substances in sapwood, red heart and reaction zones at different heights along the trees. The trees were dissected and discs removed. They were carefully examined macroscopically; the samples were marked, dissected, milled and dried. Then wood powder was extracted in cold 80 % aqueous solution of methanol by aid of magnetic stirrer. Contents of total phenols were determined spectrophotometrically according to Folin-Ciocalteu method. We found out that the content of total phenols was higher in sapwood and reaction zone in the tree No. 1 than in the tree No. 2. Red heart in tree No. 1 had lower content of total phenols than the red heart in tree No. 2. The highest average content of total phenols was in reaction zones in tree No. 1. The tree No. 2 had the highest content of total phenols in sapwood, following by reaction zone, whereas the least phenolic compounds were found in red heart in both trees. Distribution of phenolic compounds in the tree reflects its physiological function of tissues in the living tree.

KAZALO

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA	V
KEY WORDS DOCUMENTATION	V
KAZALO.....	V
KAZALO SLIK	VIII
KAZALO PREGLEDNIC	XI
KAZALO PRILOG	XII
1 UVOD IN CILJ DIPLOMSKE NALOGE.....	1
2 PREGLED LITERATURE	2
2.1 BUKEV.....	2
2.2 ZGRADBA LESA BUKVE	3
2.3 MEHANSKE POŠKODBE DREVJA.....	3
2.4 RDEČE SRCE PRI BUKVI	4
2.5 NASTANEK RDEČEGA SRCA PRI BUKVI.....	5
2.6 EKSTRAKTIVI.....	7
3 MATERIAL IN METODE.....	10
3.1 POSTOPEK IZVAJANJA NALOGE.....	10
3.2 IZBOR DREVES.....	11
3.3 RAZREZ MATERIALA	11
3.4 MLETJE IN SEJANJE VZORCEV.....	12
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 filtra	16
3.6.3 Določitev deleža v metanolu (MeOH) topnih ekstraktivov.....	16
3.7 POSTOPEK DOLOČANJA CELOTNIH FENOLOV.....	18
3.7.1 Priprava raztopine Folin–Ciocâltău reagenta (FC reagenta).....	18
3.7.2 Priprava raztopine natrijevega karbonata	18
3.7.3 Priprava založne raztopine galne kisline.....	19
3.7.4 Priprava standardne raztopine galne kisline	19

3.7.5	Priprava zmesi reagenetov in metanolnega ekstrakta	20
3.8	DOLOČITEV CELOKUPNIH FENOLOV	20
3.9	MERJENJE ABSORBANC METANOLNIH EKSTRAKTOV LESA IN STANDARDNIH RAZTOPIN GALNE KILSINE Z UV-VIS SPEKTRFOTOMETROM	21
3.10	DOLOČITEV UMERITVENE KRIVULJE ZA STANDARDNE RAZTOPINE GALNE KISLINE IN IZRAČUN KONCENTRACIJ CELOKUPNIH FENOLOV V EKSTRAKTIH LESA	22
4	REZULTATI IN DISKUSIJA	26
4.1	VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V DEBLU NAVADNE BUKVE (<i>Fagus sylvatica</i> L.) ŠT. 1	26
4.1.1	Rezultati izračunov za vsebnost celokupnih fenolov v preiskanih tkivih v drevesu št. 1.....	26
4.2	VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V DEBLU NAVADNE BUKVE (<i>Fagus sylvatica</i> L.) ŠT. 2	37
4.2.1	Rezultati izračunov za vsebnost celokupnih fenolov v preiskanih tkivih v drevesu št. 2.....	37
4.3	POVPREČNE VREDNOSTI VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV V TKIVIH NAVADNE BUKVE (<i>Fagus sylvatica</i> L.) ŠT. 1	46
4.4	POVPREČNE VREDNOSTI VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV V TKIVIH V DREVESU NAVADNE BUKVE (<i>Fagus sylvatica</i> L.) ŠT. 2.....	50
4.5	PRIMERJAVA POVPREČNIH VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV MED PRESKOVANIMA DREVESOMA PO KATEGORIJI LESNEGA TKIVA (KLT)....	54
4.6	RAZPRAVA	55
5	SKLEP.....	58
6	POVZETEK.....	59
7	VIRI.....	60
ZAHVALA		
PRILOGA		

KAZALO SLIK

Slika 1: Osnovna struktura fenolnih spojin je fenol.....	8
Slika 2: Osnovna struktura flavonoidov je flavan, ki ga imenujemo tudi 2-fenilkroman. Z modro je označen fenilpropanoidni del molekule (C ₆ -C ₃), ki izvira iz šikimatno-cimetne poti, z rdečo pa del C ₆ , ki nastane po acetatno malonatni poti (Oven s sod. 2011).	9
Slika 3: Shematski prikaz delovnih operacij, ki smo jih opravili v okviru raziskave	10
Slika 4: Označevanje debela (levo) in razrez debela na kolute (desno).....	11
Slika 5: Razrez koluta na vzorce (levo) ter označitev vzorcev in določitev kategorije lesnega tkiva (desno).....	12
Slika 6: Pobiranje vzorca iz mlina (levo) in Mlin Retsch SM 2000 (desno).....	12
Slika 7: Laboratorijski mlinček in frakcija, ki je ostala na situ mreže 0,4 μm.....	13
Slika 8: Laboratorijska tehnica Mettler Toledo XS, ki smo jo uporabili za gravimetrično analizo vzorcev	13
Slika 9: Vzorci na magnetnih mešalih.....	15
Slika 10: Prikaz materiala, ki smo ga potrebovali za filtracijo.....	16
Slika 11: Prikaz suhe filterne pogače v eksikatorju (levo) ter tekoč filtrat in suha filterna pogača (desno).....	16
Slika 12: Priprava raztopin standarda galne kisline	19
Slika 13: Prikaz dodatka raztopine Na ₂ CO ₃ v časovnem razmerju 1 min do 8 min	20
Slika 14: 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	21
Slika 15: UV-Vis spektrofotometer in sveže pripravljene raztopine reagentov in lesnega ekstrakta, sveže pripravljene zmesi standardnih raztopin galne kisline in reagentov, ter slepi vzorec.	22
Slika 16: Umeritvena krivulja	23
Slika 17: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.) – prečni prerez, drevo št. 1, vzorci 2, 5, 8, 10 in 15.	26
Slika 18: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 2). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.	28
Slika 19: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa (kolut 2). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.	28
Slika 20: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 5). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.	30
Slika 21: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g	

absolutno suhega lesa (kolut 5). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	30
Slika 22: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 8). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	32
Slika 23: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 8). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	32
Slika 24: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 10). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	34
Slika 25: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/ 100 g absolutno suhega lesa (kolut 10). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	34
Slika 26: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 15). Vzorci označeni z B so vzorci beljave	36
Slika 27: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah kambijeve cone (KC) izražen kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 15). Vzorci označeni z B so vzorci beljave	36
Slika 28: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.) – prečni prerez, drevo št. 2, kolut 16, 20, 23 in 27..	37
Slika 29: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražen v % glede na suho snov (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.	39
Slika 30: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	39
Slika 31: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražen v % glede na suho snov (kolut 20). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.	41
Slika 32: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 20). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	41
Slika 33: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražen v % glede na suho snov (kolut 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.	43
Slika 34: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g	

absolutno suhega lesa (kolut 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	43
Slika 35: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražen kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov (kolut 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	45
Slika 36: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	45
Slika 37: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 1) deleža topnih snovi za posamezno kategorijo lesnega tkiva (koluti 2, 5, 8, 10, 15). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	47
Slika 38: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 1) celokupnih fenolov, izraženih kot ekvivalentov galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega, lesa za posamezno kategorijo kambijeve cone (koluti 2, 5, 8, 10, 15). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	48
Slika 39: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 2) deleža topnih snovi v % za posamezno kategorijo kambijeve cone (koluti 16, 20, 23, 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	51
Slika 40: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); povprečne vrednosti (drevo 2) celokupnih fenolov, izraženih kot ekvivalentov galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa za posamezno kategorijo kambijeve cone (koluti 16, 20, 23, 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	52
Slika 41: 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, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	54
Slika 42: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.); primerjava povprečnih vrednosti vsebnosti 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, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca	55

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Koncentracija standardnih raztopin galne kisline (mg/L)	19
Preglednica 2: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 2). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.	27
Preglednica 3: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 5). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.	29
Preglednica 4: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih kambijeve cone (kolut 8). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.	31
Preglednica 5: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 10). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.	33
Preglednica 6: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 15). Vzorci označeni z B so vzorci beljave. MeOH je metanol.	35
Preglednica 7: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.	38
Preglednica 8: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 20). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.	40
Preglednica 9: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.	42
Preglednica 10: Navadna bukev (<i>Fagus sylvatica</i> L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.	44

KAZALO PRILOG

PRILOGA A

PRILOGA B

PRILOGA C

1 UVOD IN CILJ DIPLOMSKE NALOGE

Sekundarni ksilem je proizvod dreves, ki ga v kemijskem smislu sestavljajo polimerni gradniki celične stene in ekstraktivi. V splošnem je kemijska sestava lesa izredno variabilna in odvisna od številnih dejavnikov kot so drevesna vrsta, rastišče, del drevesa ali debela in sekundarnih sprememb v lesnem tkivu (Oven s sod. 2009). Z izrazom sekundarne spremembe v lesu običajno opisujemo nastanek jedrovine in nastanek diskoloriranega lesa. Anatomija diskoloriranega lesa je pri večini lesnih vrst relativno dobro raziskana, manj pa je podatkov o vsebnosti in karakterju ekstraktivov v diskoloriranih tkivih.

Ena izmed najpogosteje preiskovanih lesnih vrst z diskoloriranim lesom je bukev, kjer nastaja značilno rdeče srce. Na voljo je le malo podatkov o pojavu ekstraktivov v različnih celicah diskoloriranega lesa, manjkajo pa tudi informacije o vsebnosti ekstraktivov v tkivih, ki nastanejo po mehanskem poškodovanju (Vek in sod. 2010).

Cilji pričujoče diplomske naloge so bili:

- Ugotoviti vsebnost ekstraktivov v beljavi, reakcijskih conah in rdečem srcu pri dveh preiskovanih bukvah,
- ugotoviti, kolikšna je vsebnost, snovi, ki so topne v raztopini metanola in vode,
- ugotoviti, kolikšna je vsebnost celokupnih fenolov v preiskovanih tkivih.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 BUKEV

Bukev je drevesna vrsta, ki jo marsikje imenujejo kraljica gozda, pri nas pa krušna mati slovenskega gozda, je doživljala pri ravnanju z gozdom različne usode, kar je pripeljalo do tega, da je njen današnji delež v gozdu ravno razpolovljen. Bukev bi prevladovala z 58%, če bi imeli današnji gozdovi v Sloveniji naravno sestavo drevesnih vrst, danes pa je v gozdovih 29 % bukve v skupni lesni zalogi. Bukov les je bil zelo cenjen pred tem, ko so začeli uporabljati premog in zemeljsko oglje, saj je bil pomemben vir energije. Prav tako je bila bukovina pomembna kot vir energije v plavžarstvu in surovina v steklarstvu. Stoletja dolgo vse do pričetka mineralnih gnojil je kmetijstvo temeljilo na naravnem (hlevskem gnoju). Za nastiljanje v hlevu so uporabljali listje bukve, ki so jo grabili v pozni jeseni. Opad so ljudje v gozdovih tako temeljito pograbili, da je dajal videz, kot da bi ga pometli. S tem stalnim odstranjevanjem listja je gozd izgubil naravno rodovitnost, saj so mu odvzeli gnojilo. Zato so se v takšen bukov gozd naselile vrste, ki so glede hranil manj zahtevne. Prav tako so bukovo listje uporabljali za krmo živine, saj je le te v prejšnjih stoletjih primanjkovalo. Bukov les je bil že nekaj sto let vsestransko uporaben, vendar je dosegal nizko ceno. Zato so bukev nadomeščali z drugimi drevesnimi vrstami. Danes so cene kakovostne bukovine izenačene ali pa celo presegajo ceno kakovostnega lesa iglavcev. Bukev je listopadna drevesna vrsta, ki zraste v naših krajih od 35 m do 40 m ter doseže debelino debla 60 cm - 80 cm. Listi bukve, ki v jeseni odpadejo, so kratkopeceljati, 6 cm - 10 cm dolgi, 3 cm - 5 cm široki, podolgovato jajčasti, zgoraj temno zeleni in bleščeči, spodaj svetlo zeleni. Dno lista je zaokroženo. V mladosti so listi dlakasti, pozneje pa goli, razen na robovih. Je senco zdržna drevesna vrsta, še posebej je to opazno v mladosti, ker oblikuje samo nežne senčne liste. Za dobro uspevanje potrebuje najmanj pet mesecev dolgo vegetacijsko dobo z zadostno toploto. Najlepše uspeva na globokih, zračnih, svežih, s kalcijem bogatih tleh, kjer je zračna vlaga velika in kjer so padavine obilne. Manjka tam, kjer je padavin manj kot 600 mm – 700 mm. Lastnost bukve je tudi, da lahko dolgo preživi v senci in nato normalno nadaljuje z rastjo, ko se pojavi dovolj svetlobe. Od rodovitnosti tal je odvisna hitrost rasti bukve, saj na Snežniku prirašča počasi v gozdnih gričevjih, kjer so talne razmere ugodne, pa veliko hitreje. S starostjo se pri bukvi osrednji del debla obarva, les dobi rdečerjavo barvo, v samem lesu pa tudi nastanejo spremembe, ki predvsem

preprečujejo impregnacijo lesa. Les bukve je skoraj nepogrešljiv pri izdelavi upognjenih lesnih izdelkov. Je trd in težak les (gostota lesa je $600 \text{ kg/m}^3 - 800 \text{ kg/m}^3$), ima izredno veliko tlačno trdnost, se dobro cepi in obdeluje, ima enakomerno strukturo in teksturo, je trajen, vendar samo na suhem ali v vodi. Ima pa majhno elastičnost, majhno upogibno trdnost ter nagnjenost k pokanju in krivljenju. Z obdelavo s paro lahko odpravimo nekatere njegove pomanjkljivosti. Plod bukve je žir in vsebuje do 40 % maščob, zato so ga uporabljali za izdelavo olj. Pri predelavi 100 kg žira dobimo okrog 8 litrov olja. (Brus 2005)

2.2 ZGRADBA LESA BUKVE

Opis zgradbe lesa je povzet po (Čufar 2006). Traheje so po prečnem prerezu razporejene difuzno. Lestvičaste in enostavne perforacije. Intervaskularne piknje nasprotne in/ali lestvičaste. Traheje pogosto zatiljene. Tangencialni premer trahej približno $100 \mu\text{m}$.

Osnovno tkivo: traheide z obokanimi piknjami, vidnimi v radialnem prerezu. Traheide sodelujejo pri prevajanju vode. Povezava prevodnega sistema preko letnic poteka po traheidah.

Trakovi dveh vrst: trakovi 2 do 4 redni in nizki, trakovi nad 10 redni in nad 1 mm visoki. Trakovno tkivo heterogeno, tip III (osrednji del iz ležečih celic, na robovih po ena vrsta kvadratastih celic). Piknje med trakovi in trahejami velike in ovalne (režaste).

Aksialni parenhim je apotrahealen. Difuzen. Lahko tudi difuzen v agregatih.

Bukev je evolucijsko primitiven listavec. Znaki, ki nakazujejo evolucijsko primitivnost: trahejni členi relativno dolgi in zašiljeni, pogosto z lestvičastimi perforacijami. Osnovno tkivo je sestavljeno iz traheid z različnimi obokanimi piknjami, ki skupaj s trahejami prevajajo vodo. Aksialni parenhim apotrahealen in redek. Trakovi na letnici razširjeni prečni prerez (Čufar 2006).

2.3 MEHANSKE POŠKODBE DREVJA

Zaradi svoje dolgoživosti je drevo nenehno izpostavljeno poškodbam. 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).

2.4 RDEČE SRCE PRI BUKVI

Povzeto po (Torelli 2001). Vzroki nastanka in razvoja rdečega srca so bili predmet številnih študij, predvsem z vidika citoloških, biokemičnih in biofizikalnih sprememb v procesu ojedritve (Torelli 1984). Ojedritev, t.j. transformacija beljave v jedrovino, je normalen fiziološki starostni proces, za katerega je značilna nekrobioza prečnega in aksialnega parenhima. Spremlja jo odlaganje jedrovinskih snovi in aspiracija obokanih pikenj pri iglavcih oz. tvorba til pri listavcih. (Torelli 1984). Jedrovina so notranje plasti lesa v rastočem drevesu, kjer so celice odmrle, rezervne snovi, ki so jih le-te vsebovale (npr. škrob), pa so se odstranile ali spremenile v jedrovinske snovi (Torelli 1984). Drevesne vrste z izrazito jedrovino so npr.: bor, macesen, tisa, kostanj, hrast, brest ipd.

Problematika navidezne podobnosti rdečega srca pri bukvi z jedrovino se zrcali tudi v terminoloških predlogih Bosshard-a (1968; cit. po Torelli 2001), ki jo je uvrstil v skupino drevesnih vrst z zadržano ojedritvijo oz. v skupino vrst s fakultativno obarvano jedrovino, podobno kot jelšo, gaber, brezo in jesen. (Shigo in Marx 1977) sta bukev uvrstila v skupino vrst, ki ne tvorijo jedrovine, pač pa le diskoloriran les (Torelli 2001). Diskoloracija oz. diskoloriran les je z ranitvijo spremenjen les (Shigo 1986). Z izrazom diskoloracija označujemo spremembo osnovne barve lesa.

2.5 NASTANEK RDEČEGA SRCA PRI BUKVI

Povzeto po (Torelli 1984). Pogoj za nastanek rdečega srca je predhodno razvita vidno fiziološko osušena sredica – sušina (Torelli 2001). Izsuševanje debelne sredice poteka najhitreje pri hitro rastočem drevju s kratkimi krošnjami, ki rastejo na rodovitnih tleh v gostem sklopu, počasneje pa poteka pri skromno rastočem drevju z globokimi krošnjami na nerodovitnih tleh v redkem sklopu. Sušina je odraz fiziološkega izsuševanja debela drevesa. Deblo se kljub temu debeli in porablja hrano iz sredice, ki na ta način dehidrira. S tem je razvit prvi pogoj za nastanek rdečega srca. Fiziološko sušenje v debelni sredici in v območju poškodb spremlja otiljenje, ki zmanjšuje permeabilnost lesa. V drugi fazi sledi globoka mehanska poškodba ali odlom veje brez predhodno nastale zaščitne cone. Če veja odmrne naravno, potem se v zadnji fazi nekajletnega hiranja v vejni bazi v bližini debela in vzporedno z njim izoblikuje do 5 milimetrov debela temno rjava zaščitna cona. Trohneča veja se slednjič odlomi tako, da ostane zaščitna cona na drevesu in zatesni mesto odloma. Veje, ki se odlomijo brez predhodno nastale zaščitne cone ali s prekinjeno zaščitno cono, predstavljajo globoke rane. Zlom lahko povzročita sneg ali veter, najpogosteje pa ga povzroči podiranje sosednjih dreves. Takšni odlomi vej predstavljajo prosto pot za izsuševanje, infekcijo in vdor zračnega kisika. Ker je parcialni tlak kisika zaradi dihanja v sredici nižji kot v ozračju, atmosferski kisik dobesedno vdre preko poškodovanega mesta v izsušeno sredico (Torelli 2001). Sledi encimatsko oksidativno obarvanje, ki je pogojeno s stikom encimov in fenolnih substratov z atmosferskim kisikom. Tako nastane rdeče srce abiotske narave, v nadaljevanju pa lahko sledijo še biološki procesi (glej poglavje 2.4.1 Časovno zaporedje sprememb v tkivu po poškodovanju). Rdeče srce se širi samo po sušini in se pojavlja v različnih oblikah, kot so koncentrični krogi ter jezikasta in oblakasta razširitev, ki so značilni za oblakasto ali mozaično rdeče srce (Torelli 2001). Temnejše "proge" je mogoče interpretirati kot reakcijske cone (glej poglavje 2.5 Model reakcijskih con).

Bukev torej nima jedrovine. Debelna sredica starejših dreves se vidno fiziološko izsušuje, pri čemer nastaja svetleje obarvana sušina, ki so jo do nedavnega enačili z močno dehidrirano neobarvano jedrovino pri smreki in jelki (Holzlexikon 1962; cit. po Torelli 2001). Danes je znano, da sušina pri smreki in jelki izpolnjuje kriterije jedrovine, sušina pri bukvi pa ne (Holzlexikon 1988; cit. po Torelli 2001). Tipično za proces ojedritve je med

drugim inkrustiranje celičnih sten z nizkomolekularnimi "jedrovinskimi" snovmi. Zaradi njih je lesna ravnovesna vlažnost nižja in krčenje jedrovine je manjše od krčenja beljave. Bukova sušina in rdeče srce, ki nastane na lokaciji sušine po poškodovanju, teh lastnosti nimata (Torelli 2001). Hipotetično bi bukev lahko tudi ojedrila, vendar je pri bukvi padanje vitalnosti parenhimskih celic v smeri proti strženu, razen v sušini, zelo počasno (Torelli 2001). V primeru, da bi bukev nepoškodovana dočakala zelo visoko starost (300-400 let), bi lahko ojedrila. Najverjetneje poškodba in zaradi nje nastalo rdeče srce preprosto prehitita ojedritev.

Iz navedenih dejstev sledi, da tvorba očitno poteka v dveh fazah, ki nujno ne koindicerata (Torelli 1984):

- v leta oz. desetletja trajajoči pripravljalni uvodni ali izsušitveni fazi, ki je povsem naraven proces in posledica postopne eliminacije centralnega dela debla iz funkcije prevajanja vode in vzporedno potekajočega in z njo vzročno povezanega prenehanja opravljanja vitalnih funkcij kot rezultat vse bolj napredujoče redukcije krošnje in hkratne debelitve debla. Iz biofizikalnih meritev vitalnosti parenhimskih celic v radialni smeri vemo, da ob prehodu v zrelo drastično pade vitalnost parenhimskih celic (Torelli 1984).
- v pigmentacijski ali oksidacijski fazi, ki ima (kot kažejo eksperimenti) značaj encimatskega rjavenja. Ta faza je izrazito fakultativna in je odvisna od eventuelnega vdora kisika v zrelo. To je v skladu z opazovanji številnih avtorjev, ki so izsušitvi tkiva v notranjem delu debla ali pa vdoru kisika v centralni del debla oz. obojemu pripisali nastanek rdečega srca (Torelli 1984).

2.6 EKSTRAKTIVI

Povzeto po (Oven 2011). Ekstraktivi predstavljajo veliko število spojin, ki jih iz lesa pridobivamo z različno uporabo polarnih in nepolarnih topil. Ekstraktivi so v velikem deležu 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.«

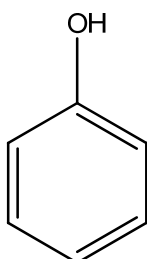
Sekundarni metaboliti se v živem drevesu skladiščijo pretežno v jedrovini, kjer imajo oporno vlogo. Med ekstraktive sodijo tudi molekule, ki se porabljajo za sintezo celične stene v najmanjših delih beljave, kjer se diferencirajo nove celice lesa, prav tako pa tudi tiste molekule, ki se v dormantnem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

Med drevesnimi ekstraktivi so prisotne tudi bioaktivne snovi, ki jih izkorišča farmacevtska industrija. 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 terpenoidne spojine in fenolne spojine in maščobe, voski, sladkorji in alkaloidi.

Fenolne spojine imenujemo vse tiste spojine, ki imajo najmanj en aromatski obroč in eno ali več – OH skupin direktno vezanih na aromatski obroč (slika 1). Fenolne spojine so sekundarni metaboliti, ki so prisotni v vseh rastlinah in nastanejo iz primarnih metabolitov. V naravi so običajno spojine z več – OH skupinami in zato se je zanje uveljavilo tudi drugo ime, polifenoli. Polifenoli so zelo heterogena skupina organskih spojin, ki v

rastlinskem svetu opravljajo funkcijo barvil, koencimov, protimikrobnih agensov in fitoalksinov (spojine, ki se pojavljajo v rastlinah, kot odgovor na infekcije).

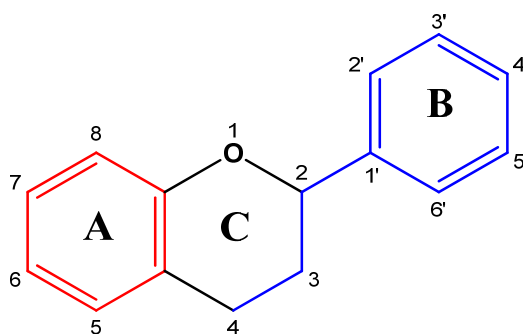


Slika 1: Osnovna struktura fenolnih spojin je fenol.

Polifenoli dajejo rastlinam karakteristični okus, prehransko vrednost in farmakološke učinke. V rastlinah se redko pojavljajo prosti, največkrat so vezani na sladkorje, amino skupine, lipide in terpenoide.

Vsebnost fenolnih spojin je odvisna od vrste rastlin, kultiviranja (pri sadju), deloma pa tudi od rastišča, vsebnosti hranljivih snovi v zemlji, podnebnih razmer (temperatura, svetloba, količina padavin) ter od načina predelave.

Flavonoidi so fenolne spojine, zgrajene iz 15 C atomov, osnovno strukturo flavana sestavlja ogrodje, ki ga označujemo s C₆-C₃-C₆ (slika 2).



Slika 2: Osnovna struktura flavonoidov je flavan, ki ga imenujemo tudi 2-fenilkroman. Z modro je označen fenilpropanoidni del molekule (C₆-C₃), ki izvira iz šikimatno-cimetne poti, z rdečo pa del C₆, ki nastane po acetatno malonatni poti (Oven s sod. 2011).

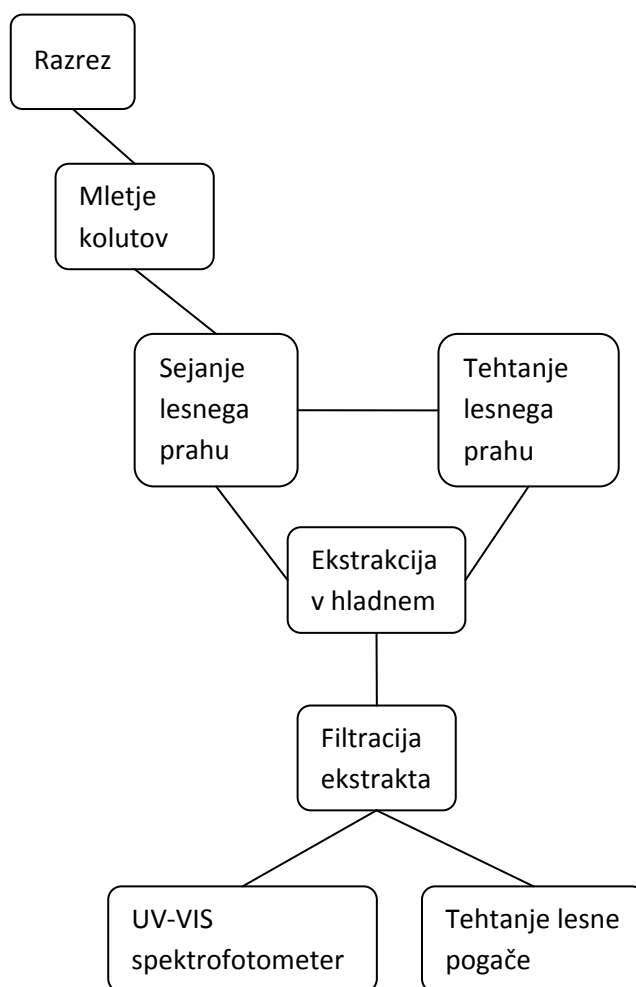
Biološki učinki: flavonoidi so zelo razširjeni v rastlinah in imajo več funkcij. So rastlinski pigmenti - dajejo rumeno, rdečo in modro barvo cvetovom, plodovom in redkeje tudi listom. Poleg tega ščitijo rastline pred mikrobi in insekti. Zaradi velike razširjenosti, raznolikosti in majhne toksičnosti (glede na ostale rastlinske snovi) flavonoidov, zaužijemo z normalnim prehranjevanjem znatne količine le teh. Flavonoidom pravimo »naravni prirojevalci bioloških odgovorov«, saj je dokazano, da imajo sposobnost prilagoditi reakcije organizmov na alergene, viruse in karcinogene. Imajo antialergijsko, antiinflamatorno, antimikrobno in antikancerogeno delovanje. Zaradi potencialnih učinkov, predvsem v preventivi rakavih obolenj in srčno-žilnih bolezni, so postali flavonoidi zanimivi za potrošnike in živilsko industrijo. Flavonoidi lahko absorbirajo UV svetlobo, delujejo kot zaščita rastline pred UV žarki.

Eden izmed pomembnih flavonoidov je kvarcentin. V študijah je bilo ugotovljeno, da je kvarcentin izmed vseh flavonoidov najbolj aktiven na biološke učinke. Učinkovito delovanje mnogih zdravnih rastlin je posledica visoke vsebnosti kvarcentina. Kvarcentin kaže protivnetno delovanje. Kvarcentin inhibira nastajanje in izločanje histamina ter drugih vnetih mediatorjev. Poleg tega je bilo dokazano, da je močan antioksidant, ugotovljeno pa je bilo tudi protitumorno delovanje.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 POSTOPEK IZVAJANJA NALOGE

Postopek določanja fenolov se je v našem primeru začel z izborom in posekom materiala, delo pa se je nadaljevalo v mizarski delavnici in nato v kemijskem laboratoriju (Slika 3). Opis posameznih delovnih faz sledi v nadaljevanju.



Slika 3: Shematski prikaz delovnih operacij, ki smo jih opravili v okviru raziskave

3.2 IZBOR DREVES

26 februarja 2009 sta bili požagani dve odrasli bukovi drevesi, ki sta bili mehansko poškodovani. Drevesi sta bili visoki 28 m, premer na prsni višini je bil 46 cm. Označevanje debla in razrez debla na kolute prikazuje (slika 4).



Slika 4: Označevanje debla (levo) in razrez debla na kolute (desno).

3.3 RAZREZ MATERIALA

Material za raziskavo smo razrezali na trakove iz kolotov, ki smo jih predhodno odžagali iz debla. Trakove smo zamrznili, ker smo jih naslednjič razrezali na manjše vzorce. Pregledali smo zamrznjene trakove in iz teh trakov smo izrezali vzorce. Vzorce smo izbrali in označili tako, da so vzorci vsebovali beljavo, rdeče srce in reakcijsko cono. Prikaz označevanja vzorcev prikazuje (slika 5). Vzorce smo sušili pri $35^{\circ}\text{C} - 36^{\circ}\text{C}$ (24 h).



Slika 5: Razrez koluta na vzorce (levo) ter označitev vzorcev in določitev kategorije lesnega tkiva (desno).

3.4 MLETJE IN SEJANJE VZORCEV

Na žagi Proxxon smo razrezali vzorce in jih z dletom še zazkosali na manjše kose. Sledilo je mletje, z mlinom Retsch SM 2000 (slika 6). Iz vzorcev smo odstranili oznake pisave, da ne bi vplivale na kasnejše meritve. Istočasno smo na prahovke napisali oznake vzorca. Mlin smo po vsakem mletju skrbno očistili tako, da ni prišlo do mešanja vzorcev. Mlin je vzorec zmel v 5 – 6 minutah. Pozneje smo morali zaradi ekstrakcije vzorce zmelati še z laboratorijskim mlinčkom (IKA A 10, anacysenmühle IKA Labortechnik). Za ekstrakcijo smo potrebovali 0,25 g vzorca. Mlinček smo po vsakem mletju očistili prav tako kot je opisano za mlin Retsch SM 2000. Po mletju smo vzorce še presejali skozi sito mreže 0,4 μm (slika 7).



Slika 6: Pobiranje vzorca iz mlina (levo) in Mlin Retsch SM 2000 (desno)



Slika 7: Laboratorijski mlinček in frakcija, ki je ostala na situ mreže 0,4 µm

3.5 DOLOČITEV VLAŽNOSTI VZORCEV IN DELEŽA SUHE SNOVI

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



Slika 8: Laboratorijska tehnica Mettler Toledo XS, ki smo jo uporabili za gravimetrično analizo vzorcev

Kot je opisano v (Gaber 2012), smo pripravili tehtiče (m_2), ki smo jih postavili v sušilnik pri 105°C za 15 min. Iz prahovk smo v tehtiče zatehtali po 1 g vlažnega lesnega prahu in tako pridobili podatek o skupni masi tehtiča in vlažnega lesa (m_3). Tehtič z vzorcem smo nato prestavili v sušilnik, kjer smo lesni prah sušili pri 105°C do absolutno suhega stanja. Po končanem sušenju smo tehtiče z lesnim prahom postavili v eksikator, da se ohladijo. Tako pripravljene vzorce smo nato ponovno tehtali in tako pridobili podatke o masi vzorca v absolutno suhem stanju (m_7).

V nadaljnjem izračunu smo uporabili samo mase lesnega prahu, ki smo jih pridobili tako, da smo od m_7 in m_3 odšteli m_2 (masa absolutno suhega tehtiča), (Glej priloge A in B).

Delež suhe snovi smo izračunali po naslednjih formulah.

$$\mathbf{s.s. = \frac{(m_7 - m_2)}{(m_3 - m_2)} * 100 \text{ (\%)} \quad \dots(1)}$$

Pri čemer je:

s.s......suha snov

m₂.....masa tehtiča

m₃.....masa vzorca s tehtičem

m₇.....masa vzorca s tehtičem po sušenju

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

$$\mathbf{m_9 = m_5 * s.s. \quad (g) \quad \dots(2)}$$

Pri čemer je :

m₉.....masa vzorca v absolutno suhem stanju (pred ekstrakcijo)

m₅.....masa vzorca pred ekstrakcijo

s.s......suha snov

3.6 EKSTRAKCIJA V 80 % METANOLU



Slika 9: Vzorci na magnetnih mešalih

Zmleti vzorec lesnega prahu smo uporabili za ekstrakcijo, na vzporednih vzorcih pa smo določili vsebnost suhe snovi. Za ekstrakcijo smo uporabili 80 % raztopino metanola (MeOH) v destilirani vodi. Za vsako serijo 10 vzorcev, ki smo jih ekstrahirali, smo potrebovali 325 mL 80 % raztopine metanola. Za izvedbo ekstrakcije smo v čaše zatehtali 0,25 g lesnega prahu in ga prelili z 25 mL raztopine MeOH. V čaše smo dali magnetke in jih postavili na magnetna mešala. Čaše smo prekrili s parafilmom, da ni ekstrakt izhlapeval. Ekstrakcija je potekala pri sobni temperaturi 6 ur. Po 6 urah, smo prenehali z mešanjem in s pomočjo magnetnih palčk iz čaš pobrali magnetke.

3.6.1 Filtracija vzorcev oz. ekstrakta

Po ekstrakciji smo morali vzorce prefiltrirati. Uporabili smo filter papir iz steklenih vlaken Watman GFC, Büchnerjeve lije, presesalno erlenmajerico, etanol za čiščenje in spatulo za odstranitev suhega ekstrakta iz lija (slika 10). Presesalno erlenmajerico smo povezali s pipo in odprli vodo, da smo ustvarili vakuum, vstavili filter papir v presesalno erlenmajerico in ulili ekstrakt. Tekoč ekstrakt smo po filtraciji prelili v označene stekleničke in ga za 24 ur postavili v hladilnik.



Slika 10: Prikaz materiala, ki smo ga potrebovali za filtracijo

3.6.2 Sušenje filtra

Na petrijevko smo postavili filter papir s suho filterno pogačo. Da ni prišlo do razpihovanja ekstrahiranega vzorca v sušilniku, smo filter papir s suho filterno pogačo delno prekrili z urnim steklom. Sušenje suhe filterne pogače je potekalo 24 ur pri 50 % ventilaciji in pri 105° C (slika 11).



Slika 11: Prikaz suhe filterne pogače v eksikatorju (levo) ter tekoč filtrat in suha filterna pogača (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, 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 (m_8).

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

$$m_{10} = m_8 - m_6 \quad (\text{g}) \quad \dots(3)$$

Pri čemer je :

m_{10}masa ekstrahiranega vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrakciji)

m_8masa petrijevke z vzorcem po ekstrakciji na filter papirju

m_6masa 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) (m_{11}).

$$m_{11} = m_9 - m_{10} \quad (\text{g}) \quad \dots(4)$$

Pri čemer je:

m_{11}masa topnih snovi

m_9masa vzorca v absolutno suhem stanju (pred ekstrakcijo)

m_{10}masa ekstrahiranega vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrakciji)

V nadaljevanju smo podatek o masi topnih snovi (m_{11}) uporabili za izračun deleža topnih ekstraktivov v 80 % vodni raztopini MeOH

$$\% = \frac{m_{11}}{m_9} * 100 \quad \dots(5)$$

Pri čemer je:

m_{11}masa topnih snovi

m_9masa vzorca v absolutno suhem stanju (pred ekstrakcijo)

3.7 POSTOPEK DOLOČANJA CELOTNIH FENOLOV

Povzeto po (Gaber 2012). Za določevanje koncentracije celokupnih fenolov smo potrebovali: raztopino FC reagenta (Folin–Ciocâltău reagent), raztopino natrijevega karbonata (Na_2CO_3), razredčen ekstrakt lesa proučevanih bukev in monohidrat galne kisline. Delež celokupnih fenolov smo nato določali po Folin–Ciocâltău metodi z UV-Vis spektrofotometrom. 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–Ciocâltău reagenta (FC reagenta)

Za analizo določanja celokupnih fenolov smo najprej določili skupno količino Folin–Ciocâltău reagenta (FC reagenta). Zmešali smo 5mL čistega FC reagenta in 45 mL destilirane vode (cca. 50 mL raztopine FC).

3.7.2 Priprava raztopine natrijevega karbonata

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

3.7.3 Priprava založne raztopine galne kisline

Pripravo založne raztopine galne kisline sem povzel po (Gaber 2012). Pri pripravi 200 mg/L koncentrirane raztopine galne kisline, smo najprej pripravili 500 mL merilno bučko, vanjo pa smo zatehtali 0,100 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 12: 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 reagenetov in metanolnega ekstrakta

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

3.8 DOLOČITEV CELOKUPNIH FENOLOV

Povzeto po (Gaber 2012). Na podoben način, kot smo opisali v poglavju 3.7, smo pripravili tudi mešanice standardnih raztopin galne kisline s Folin–Ciocâltău 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 13).

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



Slika 13: Prikaz dodatka raztopine Na_2CO_3 v časovnem razmerju 1 min 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 tudi preverili časovno odvisnost absorbance. Čas tvorjenja kompleksa polifenolov s FC reagentom je odvisen od temperature, pri višji temperaturi inkubacije je hitrost tvorjenja kompleksa višja.



Slika 14: Vzorci po dodanem Na₂CO₃ (spredaj na sliki) in osnovna raztopina standardne galne kisline (zadaj na sliki) – levo in tekoč ekstrakt in pripravljene vzorci za umeritveno krivuljo - desno

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

Povzeto po (Gaber 2012). Metoda določevanja celokupnih fenolov po Folin–Ciocâltău metodi, temelji na uporabi FC reagenta in meritvah absorbanc z UV-Vis spektrofotometrom (slika 15). Zato da lahko izračunamo koncentracijo celokupnih fenolov, je potrebno določiti tudi umeritveno krivuljo ustrezne referenčne spojine, ki je bila v našem primeru galna kislina oz. ustrezne koncentracija standardnih raztopin galne kisline. Absorbance ekstraktov in absorbance galne kisline merimo 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.

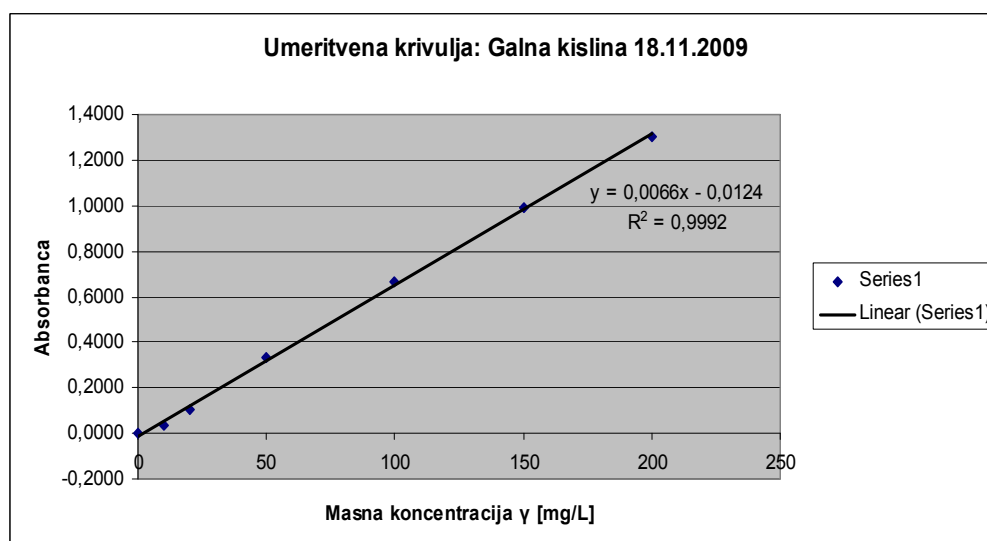
To je pomenilo, da smo v vsakem raziskovalnem dnevu izmerili absorbanco desetih sveže pripravljenih raztopin reagentov in ekstraktov lesa, ter šest sveže pripravljenih zmesi standardnih raztopin galne kisline in reagentov. Skupaj s slepim vzorcem smo torej imeli 17 vzorcev. V nadaljevanju je natančno opisan postopek merjenja absorbance z UV-Vis spektrofotometrom, ki ga povzamemo po (Vek 2009).



Slika 15: UV-Vis spektrofotometer in sveže pripravljene raztopine reagentov in lesnega ekstrakta, sveže pripravljene zmesi standardnih raztopin galne kislinske in reagentov, ter slepi vzorec.

3.10 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 absorbanc (slika 16), ki smo jih izmerili pri 765 nm.



Slika 16: Umeritvena krivulja

Na grafikonu je prikazana linearna zveza med masno koncentracijo (mg/L) in ustreznimi absorbancaми za niz vzorcev, ki smo jih izmerili 18.11.2009,

skupaj z enačbo premice:

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

kjer je:

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

Iz enačbe premice smo izrazili masno koncentracijo.

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

x.....masna koncentracija γ [mg/L]

To je bila osnova za izračun masnih koncentracij celokupnih fenolov v pripravljenih raztopinah ekstraktov lesa, ki smo jih merili pri absorbanca 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, saj takšne podatke pogosto zasledimo v literaturi.

Masna koncentracija je :

$$\gamma = \frac{m}{V} \quad \dots(8)$$

ker je :

$$n = \frac{m}{M} \quad \dots(9)$$

sledi, da je :

$$\gamma = \frac{n \times M}{V} \quad \dots(10)$$

Iz enačbe izrazimo št. molov :

$$n = \frac{\gamma \times V}{M} \quad \dots(11)$$

Ker želimo vsebnost celokupnih fenolov izraziti v mmol/100g lesa, zgornjo enačbo pomnožimo s 100 mg zatehtanega lesa.

$$n = \frac{\gamma \times V}{M} \times \frac{100}{m_g} \quad \dots(12)$$

$$C_i = \frac{\gamma_i \cdot 0,014695388}{m} \quad [\text{mmol/ } 100 \text{ g}_{\text{lesa}}] \quad \dots(13)$$

Obrazložitev zgornje enačbe: izpeljava enačbe, s katero pridemo do množine (mmol) fenolov, preračunanih na galno kislino, na 100 g lesa.

Glede na dinamiko spektrofotometrične analize smo tako pridobili 15 umeritvenih krivulj. Vsako krivuljo pa smo uporabili za izračun vsebnosti celokupnih fenolov, samo za tiste vzorce, ki smo jih merili na pripadajoči datum. Datumi meritev umeritvene krivulje in regresijski koeficienti so zbrani v prilogi C.

4 REZULTATI IN DISKUSIJA

4.1 VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V DEBLU NAVADNE BUKVE (*FAGUS SYLVATICA* L.) ŠT. 1

Makroskopski pregled je pokazal, da je v petih kolutih prvega drevesa reakcijska cona prisotna v štirih kolutih, rdeče srce je izrazito vidno v kolotu 10 (slika 17). Kolut 15 je vseboval le les beljave.



Slika 17: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) – prečni prerez, drevo št. 1, vzorci 2, 5, 8, 10 in 15.

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

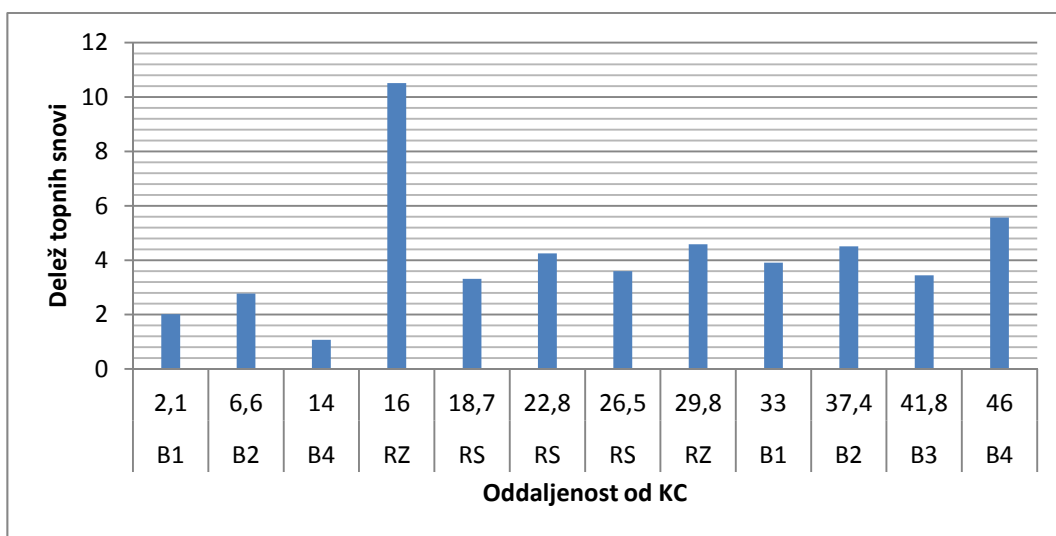
Preglednice 2, 3, 4, 5 in 6 prikazujejo vsebnost celokupnih fenolov, ki smo jih izrazili kot ekvivalente galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa. Delež v metanolu topnih ekstraktivov je izražen v % glede na suho snov.

Izmerjena koncentracija celokupnih fenolov v vzorcih 23, 85, 167, 236, 237, 238, 278 in 279 je znašala 0 %, kar pomeni, da je bila vsebnost celokupnih fenolov v teh vzorcih pod mejo detekcije. Koncentracija fenolov je bila v določenih ekstraktih tako nizka, da jih z našo napravo in z izbranimi eksperimentalnimi pogoji nismo zaznali.

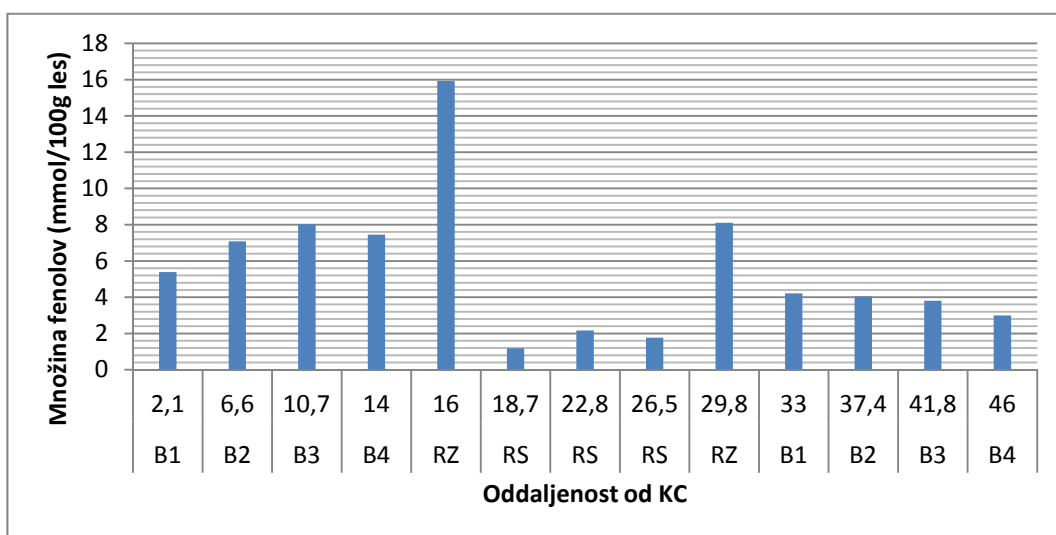
Preglednica 2: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 2). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT *	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
1	2	21	B1	0,55	5,38	2,01
1	2	22	B2	0,73	7,08	2,77
1	2	23	B3	0,83	8,02	0
1	2	24	B4	0,76	7,45	1,07
1	2	25	RZ	1,64	15,92	10,51
1	2	26	RS	0,22	1,19	3,31
1	2	27	RS	0,39	2,16	4,25
1	2	28	RS	0,32	1,76	3,59
1	2	29	RZ	1,43	8,10	4,58
1	2	210	B1	0,75	4,21	3,91
1	2	211	B2	0,74	4,04	4,50
1	2	212	B3	0,70	3,80	3,44
1	2	213	B4	0,55	2,99	5,57

* Kategorija lesnega tkiva



Slika 18: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 2). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



Slika 19: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa (kolut 2). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

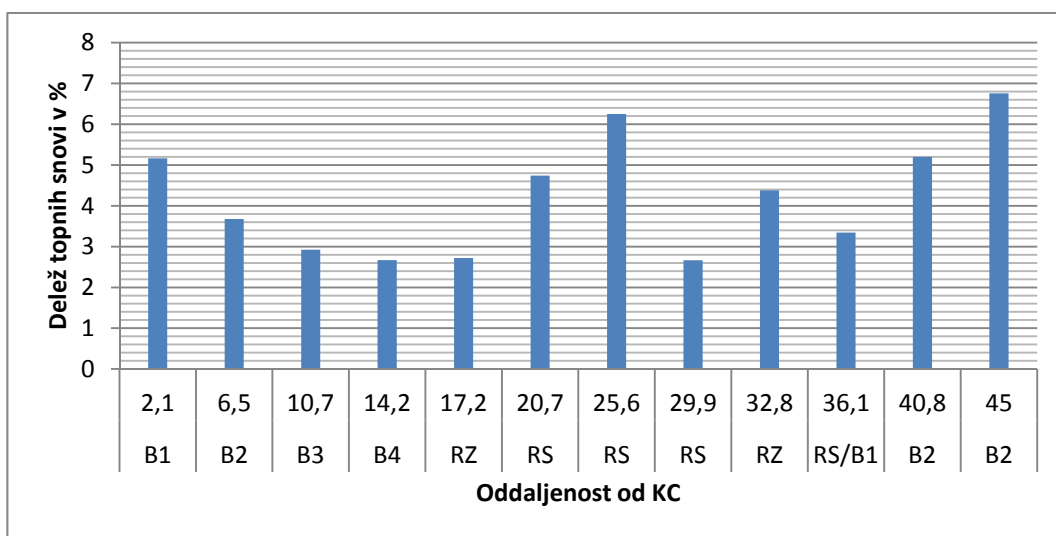
Največji delež celokupnih fenolov smo opazili v reakcijski coni (RZ), najnižje vrednosti v rdečem srcu (RS), ki ga zamejuje RZ. Beljava (B) ima presenetljivo višje vrednosti kot RS pri čemer pa se zdi da imajo najmlajši deli manjše vsebnosti fenolov kot starejši deli beljave. Delež topnih snovi je prav tako največji v območju RZ, večji delež topnih snovi pa je tudi v RS in B, glede na množino fenolov na sliki 19.

Povprečna vrednost fenolov v B je bila 5,37 mmol/100g lesa, v RZ 12,014 mmol/100g lesa v RS pa 1,707 mmol/100g lesa. Povprečna vrednost deleža topnih snovi v B je 3,32 % v RZ 7,55 % v RS pa 3,72 %

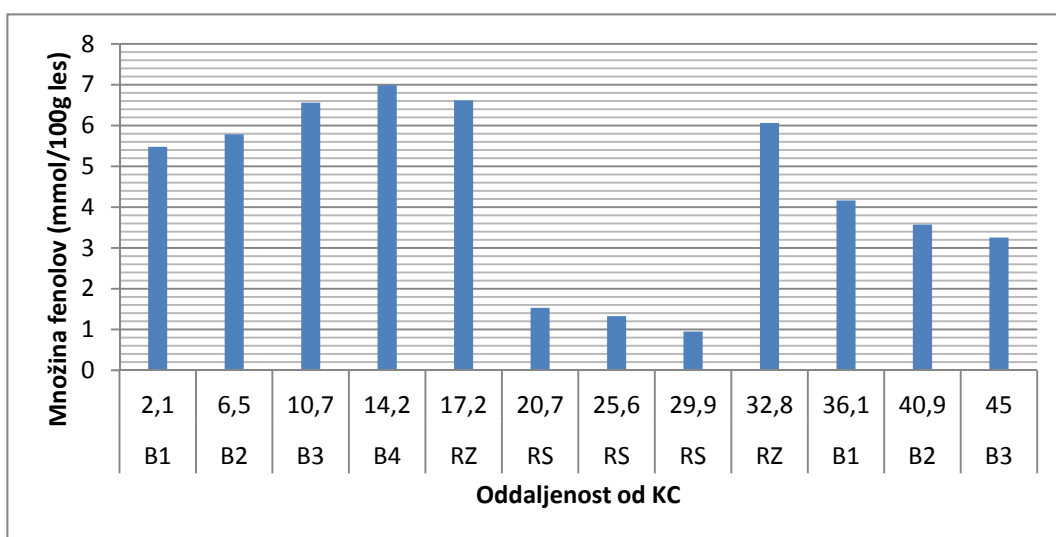
Preglednica 3: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 5). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT*	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
1	5	51	B1	0,57	5,47	5,16
1	5	52	B2	0,61	5,78	3,67
1	5	53	B3	0,69	6,55	2,92
1	5	54	B4	0,74	6,98	2,67
1	5	55	RZ	0,69	6,61	2,72
1	5	56	RS	0,28	1,53	4,74
1	5	57	RS	0,25	1,32	6,24
1	5	58	RS	0,18	0,95	2,66
1	5	59	RZ	1,05	6,06	4,37
1	5	510	B1	0,73	4,16	3,34
1	5	511	B2	0,63	3,56	5,20
1	5	512	B3	0,57	3,25	6,75

* Kategorija lesnega tkiva



Slika 20: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 5). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



Slika 21: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 5). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

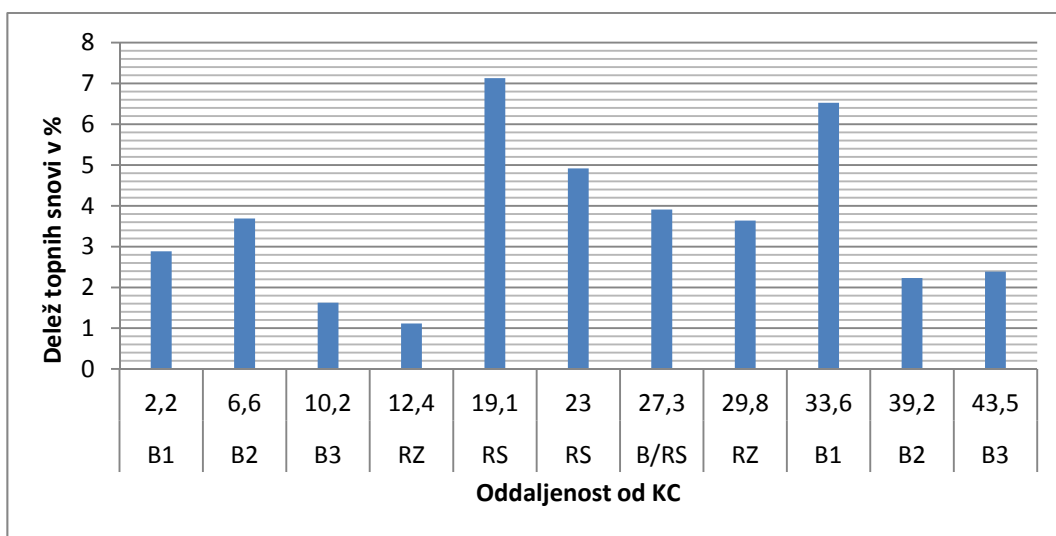
Najvišja množina fenolov je v B in RZ, najnižja pa v RS. Množina fenolov v B se od periferije proti centru debla povečuje. V primerjavi grafov pa ima RS najvišji delež topnih snovi, prav tako pa ima B na periferiji visoke deleže topnih snovi, ki proti centru debla padajo. Povprečna vrednost fenolov v B vzorcu 5 je 5,113 mmol/100g lesa v RZ, 6,338 mmol/100g lesa v RS pa 1,269 mmol/ 100g lesa. Delež topnih snovi v B je 4,39 % v RZ 3,54 % v RS pa 4,55 %

Preglednica 4 prikazuje vsebnosti celokupnih fenolov in v metanolu topnih ekstraktivov v kolutu 8, na načine izražanja ki smo jih opisali že pri preglednicah 2 in 3.

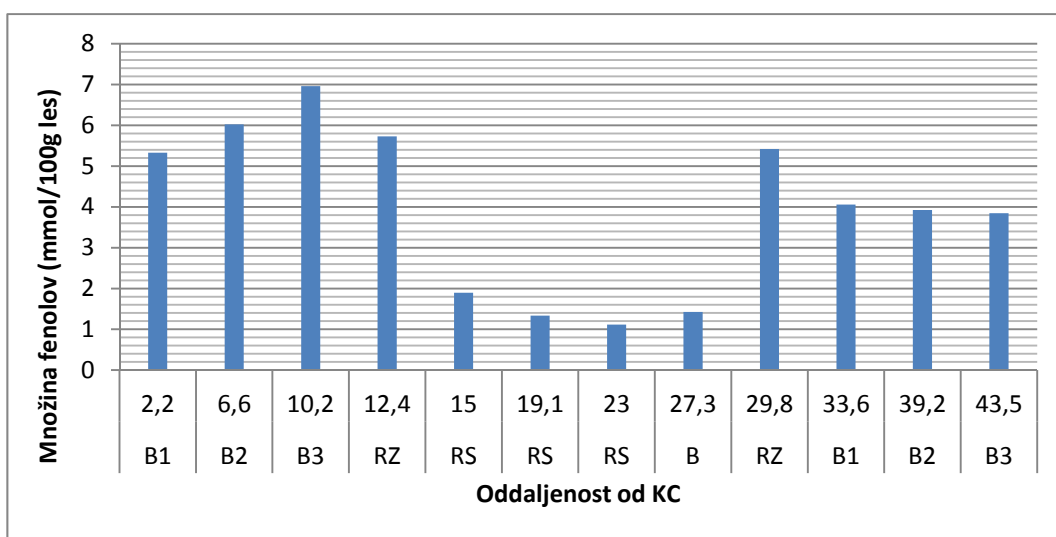
Preglednica 4: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih kambijeve cone (kolut 8). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT*	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
1	8	81	B1	0,53	5,32	2,88
1	8	82	B2	0,60	6,02	3,68
1	8	83	B3	0,70	6,95	1,62
1	8	84	RZ	0,57	5,72	1,11
1	8	85	RS	0,17	1,89	0
1	8	86	RS	0,25	1,33	7,12
1	8	87	RS	0,22	1,11	4,91
1	8	88	B	0,27	1,42	3,90
1	8	89	RZ	0,97	5,42	3,63
1	8	810	B1	0,74	4,05	6,52
1	8	811	B2	0,67	3,92	2,22
1	8	812	B3	0,66	3,84	2,38

* Kategorija lesnega tkiva



Slika 22: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 8). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



Slika 23: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 8). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

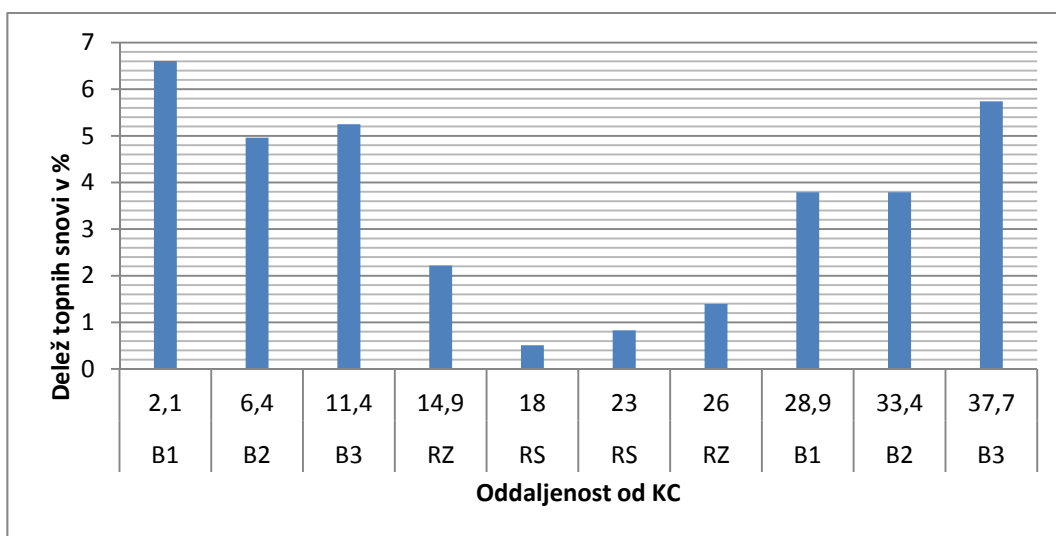
Pri vzorcu 8 je množina fenolov najvišja v B in prav tako narašča množina fenolov od periferije proti centru debla. Najnižje vrednosti so v RS, v RZ je množina fenolov v povprečju 5,57 mmol/ 100g lesa v B 5,022 mmol/ 100g lesa v RS pa 1,477 mmol/ 100g lesa. Delež topnih snovi je v povprečju v B 3,22 % v RZ 2,37 % v RS pa 5,31 %.

Na preglednici 5 vidimo, da je bil v kolutu 10 največji delež topnih ekstraktivov v B1.

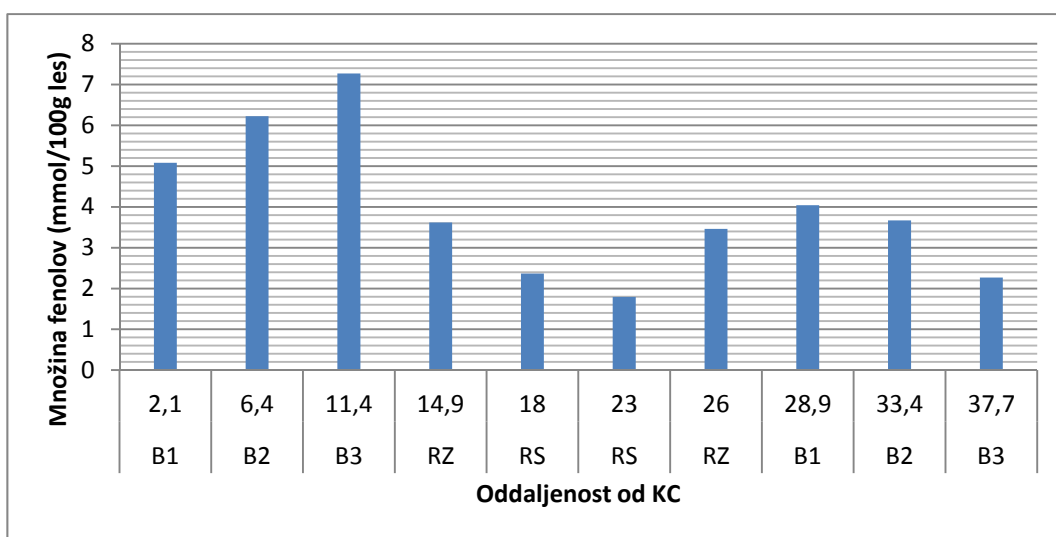
Preglednica 5: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 10). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT*	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
1	10	101	B1	0,53	5,08	6,60
1	10	102	B2	0,65	6,22	4,96
1	10	103	B3	0,77	7,27	5,25
1	10	104	RZ	0,37	3,61	2,21
1	10	105	RS	0,23	2,36	0,50
1	10	106	RS	0,31	1,79	0,83
1	10	107	RZ	0,59	3,45	1,39
1	10	108	B1	0,69	4,04	3,78
1	10	109	B2	0,64	3,67	3,79
1	10	1010	B3	0,40	2,26	5,74

* Kategorija lesnega tkiva



Slika 24: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 10). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



Slika 25: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/ 100 g absolutno suhega lesa (kolut 10). Vzorci označeni z B so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

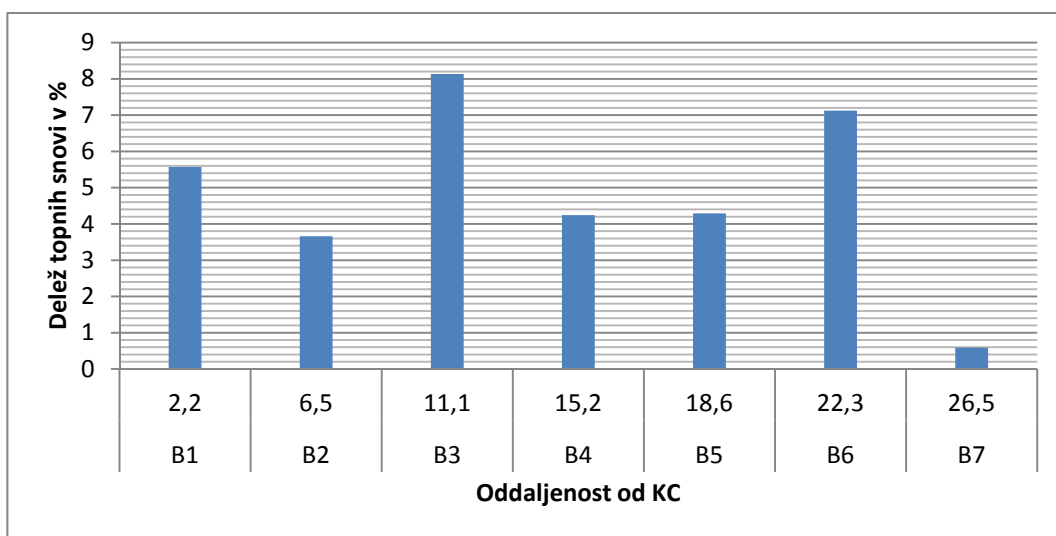
Povprečje celokupnih fenolov v vzorcu 10 za B je bilo 4,759 mmol/ 100g lesa v RZ 3,538 v RS pa 2,08 mmol/ 100g lesa. Množina fenolov je najvišja v B in najnižja v RS, v RZ je dokaj majhna količina fenolov glede na ostale vzorce. Povprečna vrednost deleža topnih snovi v B je 5,02 % v RZ 1,8 % v RS pa 0,67 %.

V preglednici 6 so predstavljeni podatki za kolut 15, ki je vseboval le les beljave.

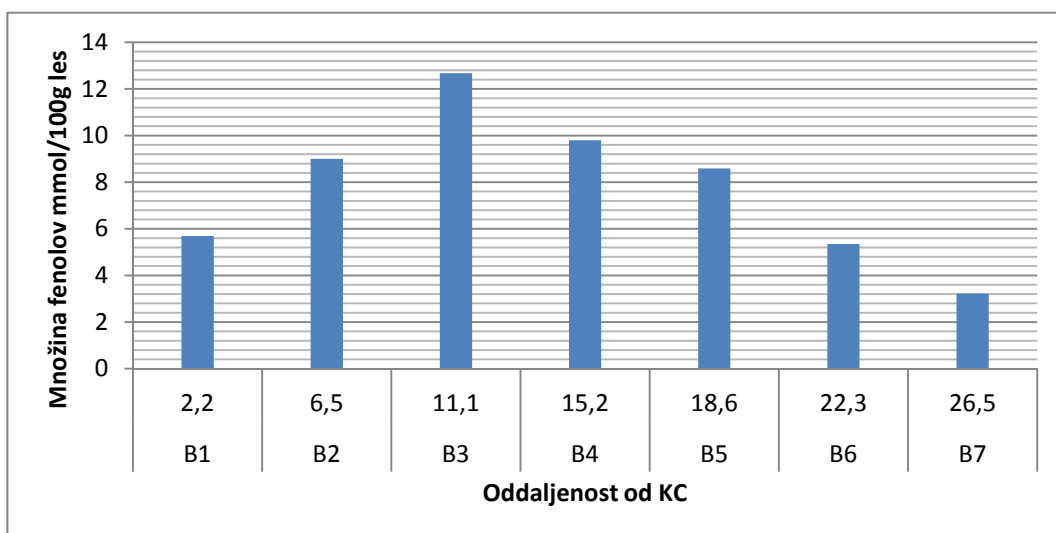
Preglednica 6: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 15). Vzorci označeni z B so vzorci beljave. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT*	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
1	15	151	B1	0,60	5,69	5,57
1	15	152	B2	0,94	9,00	3,65
1	15	153	B3	1,33	12,67	8,13
1	15	154	B4	1,03	9,79	4,24
1	15	155	B5	0,90	8,59	4,29
1	15	156	B6	0,93	5,35	7,12
1	15	157	B7	0,56	3,22	0,58

* Kategorija lesnega tkiva



Slika 26: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež topnih snovi v % glede na suho snov (kolut 15). Vzorci označeni z B so vzorci beljave.



Slika 27: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 1: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah kambijeve cone (KC) izražen kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 15). Vzorci označeni z B so vzorci beljave.

Vzorec 15 je bil najvišje odvzet kolot prvega drevesa in je vseboval samo beljavo. Množina fenolov je naraščala od periferije proti centru debla. Povprečna vrednost množine fenolov v B je bila 7,763 mmol/ 100g lesa. Povprečna vrednost deleža topnih snovi v B je bila 4,8 %.

4.2 VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V DEBLU NAVADNE BUKVE (*FAGUS SYLVATICA* L.) ŠT. 2

Makroskopski opis preiskovanih vzorcev v drevesu št. 2 je pokazal, da je v vseh štirih kolutih prisotno rdeče srce in reakcijska cona. Diskoloracija je odziv lesa na sekundarne spremembe, ki so jih sprožili zunanji dejavniki (npr. poškodba drevja). 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).



Slika 28: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.) – prečni prerez, drevo št. 2, kolut 16, 20, 23 in 27

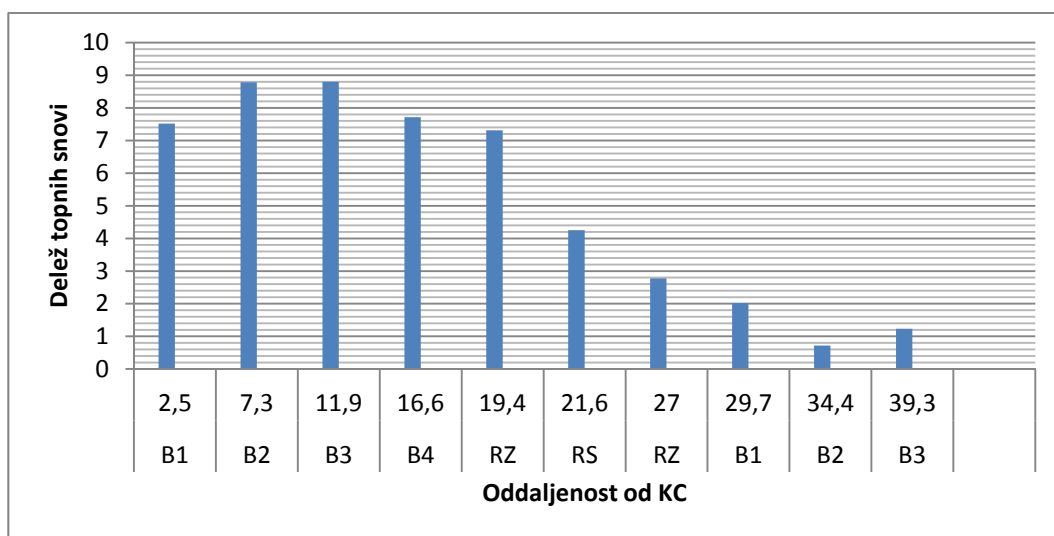
4.2.1 Rezultati izračunov za vsebnost celokupnih fenolov v preiskanih tkivih v drevesu št. 2

Preglednice 7, 8, 9 in 10 prikazujejo, delež celokupnih fenolov, ki smo jih izrazili v ekvivalentih galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa in delež v metanolu topnih ekstraktivov, ki je izražen v % glede na suho snov. Vsako preglednico spremljata tudi dva grafikona, ki grafično ponazarjata vsebnost ekstraktivov na način, ki smo ga uporabili že pri drevesu št. 1.

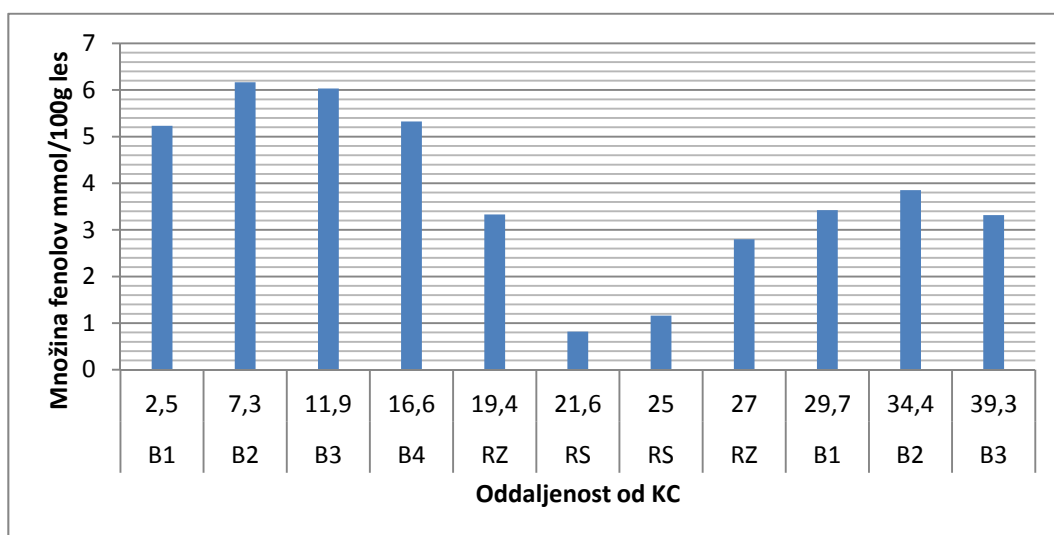
Preglednica 7: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT*	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
2	16	161	B1	0,57	5,23	7,52
2	16	162	B2	0,68	6,16	8,78
2	16	163	B3	0,66	6,03	8,79
2	16	164	B4	0,58	5,32	7,71
2	16	165	RZ	0,36	3,33	7,31
2	16	166	RS	0,15	0,81	4,25
2	16	167	RS	0,22	1,16	0
2	16	168	RZ	0,50	2,80	2,77
2	16	169	B1	0,61	3,42	2,01
2	16	1610	B2	0,69	3,85	0,71
2	16	1611	B3	0,59	3,31	1,23

* Kategorija lesnega tkiva



Slika 29: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražen v % glede na suho snov (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



Slika 30: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 16). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RC so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

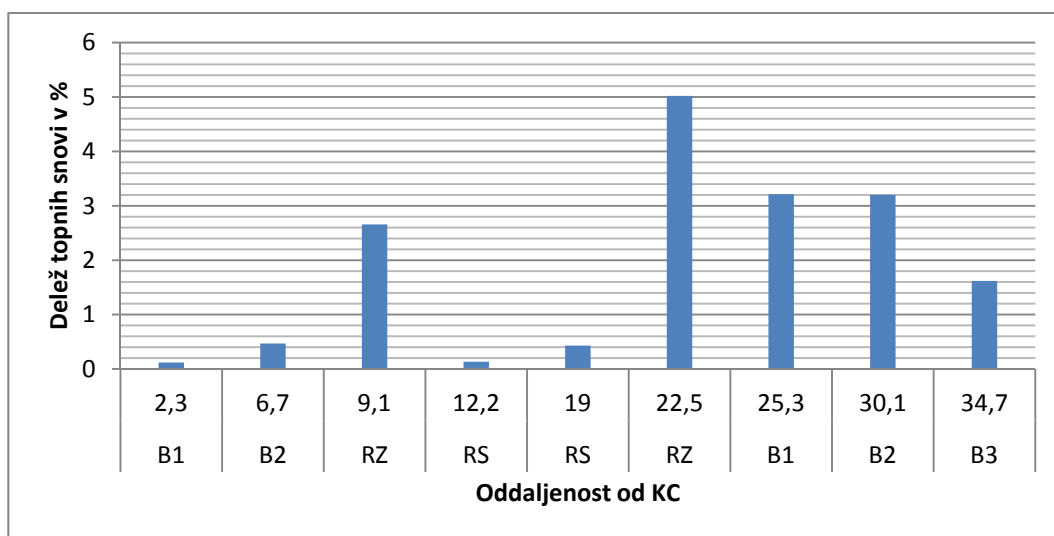
Vzorec 16 je bil najnižji del debla drugega drevesa. Povprečna množina fenolov v B je bila 4,764 mmol/ 100g lesa, v RZ 3,064 mmol/ 100g lesa, v RS pa 0,9905 mmol/ 100g lesa. Povprečna vrednost deleža topnih snovi v B je bila 5,25 %, v RZ 5,04 %, v RS pa 4,25 %.

V preglednici 8 so predstavljeni podatki za kolot 20: vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva in delež v MeOH topnih ekstraktivov.

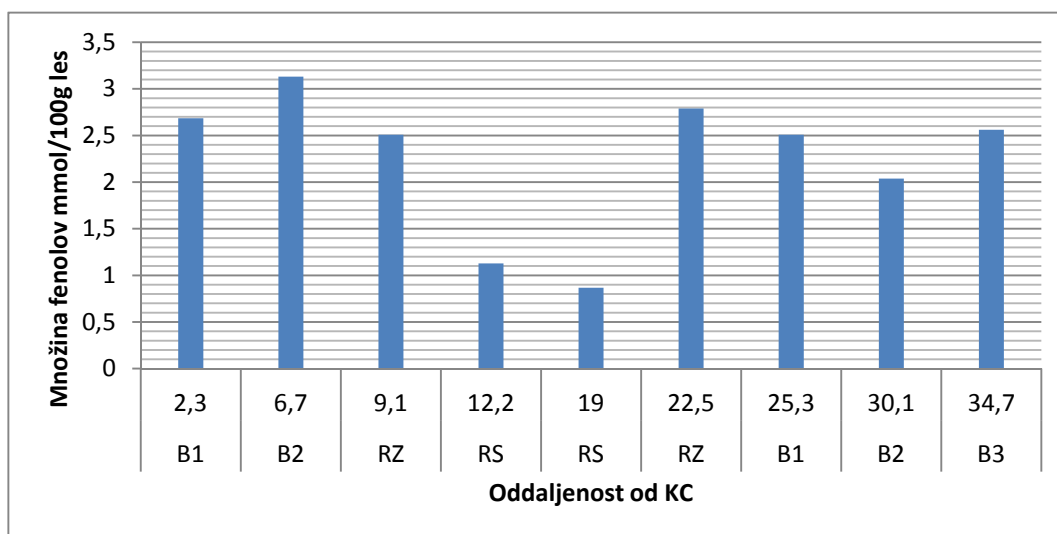
Preglednica 8: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolot 20). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT*	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
2	20	201	B1	0,47	2,68	0,11
2	20	202	B2	0,55	3,13	0,46
2	20	203	RZ	0,44	2,50	2,65
2	20	204	RS	0,20	1,12	0,13
2	20	205	RS	0,15	0,86	0,43
2	20	206	RZ	0,50	2,78	5,01
2	20	207	B1	0,45	2,50	3,21
2	20	208	B2	0,36	2,03	3,20
2	20	209	B3	0,46	2,56	1,61

*Kategorija lesnega tkiva



Slika 31: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražen v % glede na suho snov (kolot 20). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



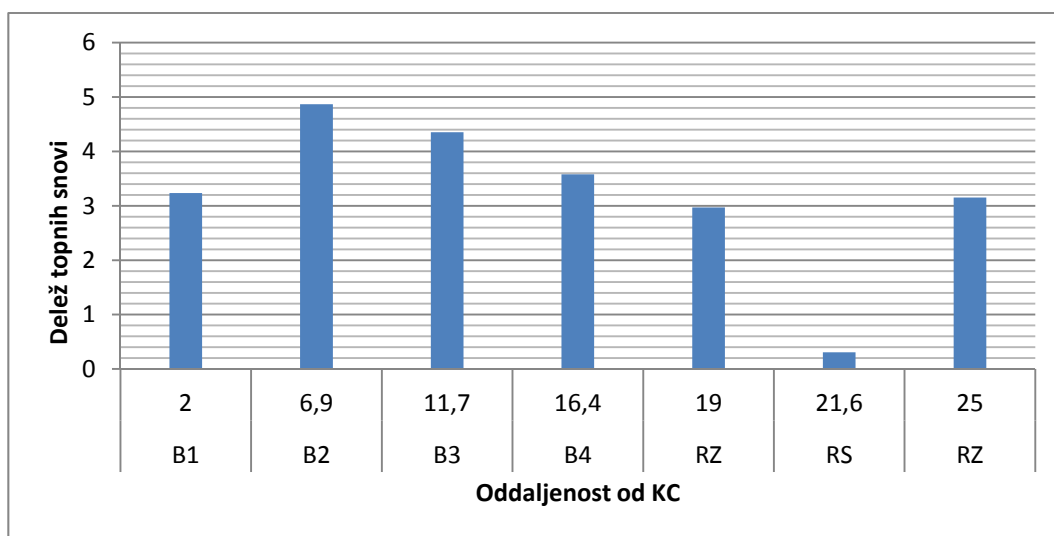
Slika 32: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolot 20). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

Povprečna množina fenolov v vzorcu 20 je bila v B 2,584 mmol/100g lesa, v RZ 2,648 mmol/100g lesa, v RS 0,9975 mmol/ 100g lesa. Povprečna vrednost deleža topnih snovi v B je bila 1,72 % v RZ 3,83 % v RS pa 0,28 %.

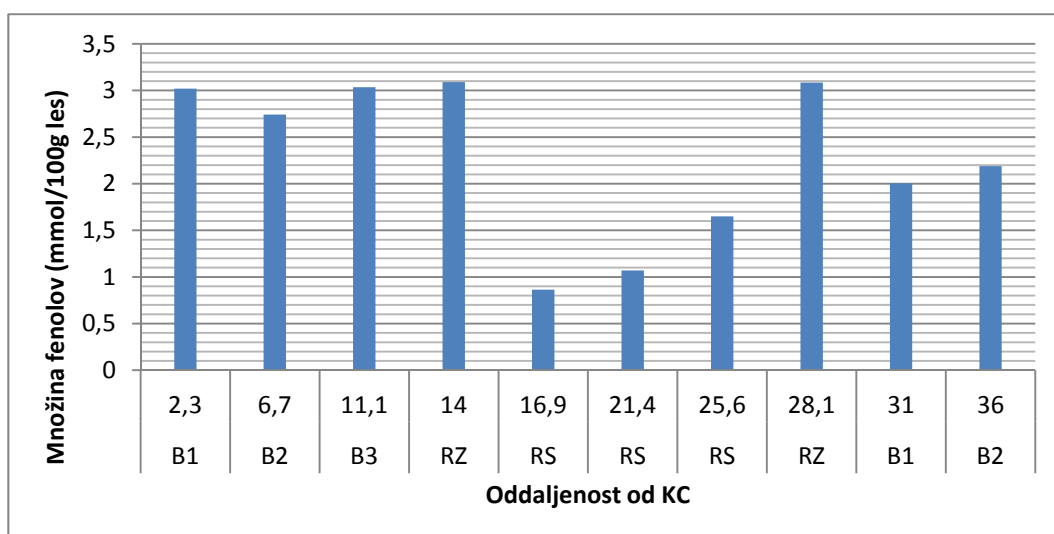
Preglednica 9: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (kolut 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT*	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
2	23	231	B1	0,50	3,02	3,49
2	23	232	B2	0,46	2,74	2,52
2	23	233	B3	0,50	3,03	4,95
2	23	234	RZ	0,51	3,08	12,31
2	23	235	RS	0,18	0,86	2,95
2	23	236	RS	0,20	1,07	0
2	23	237	RS	0,24	1,64	0
2	23	238	RZ	0,40	3,08	0
2	23	239	B1	0,35	2,00	0,97
2	23	2310	B2	0,38	2,19	0,80

* Kategorija lesnega tkiva



Slika 33: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražen v % glede na suho snov (kolut 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



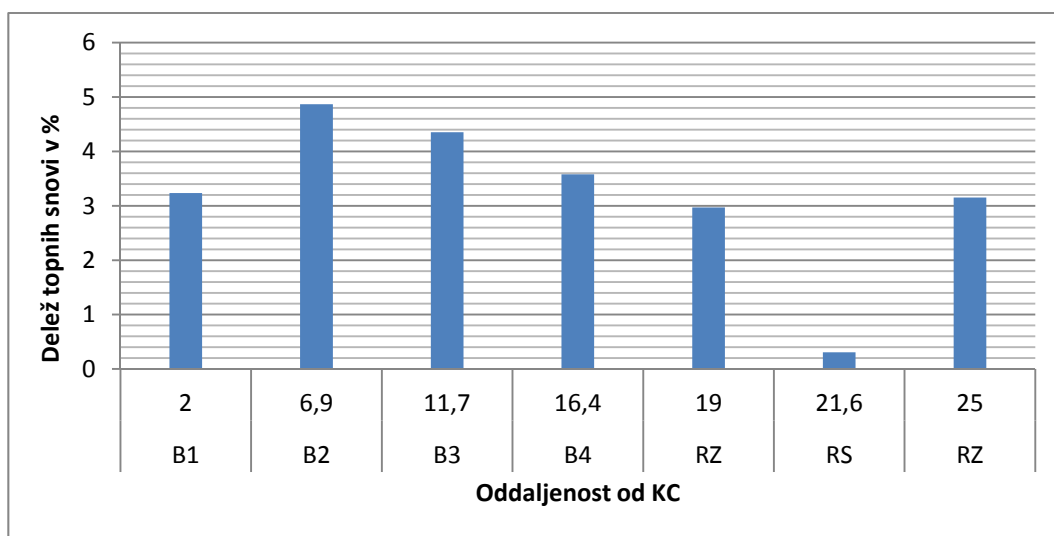
Slika 34: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 23). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

Povprečna množina fenolov v vzorcu 23 je bila v B 2,597 mmol/100g lesa, v RZ 3,086 mmol/100g lesa, v RS pa 1,194 mmol/100g lesa. Povprečna vrednost deleža topnih snovi v B je bila 2,55 %, visoka vsebnost topnih snovi je bila v RZ 12,31 %, v RS pa 2,95 %.

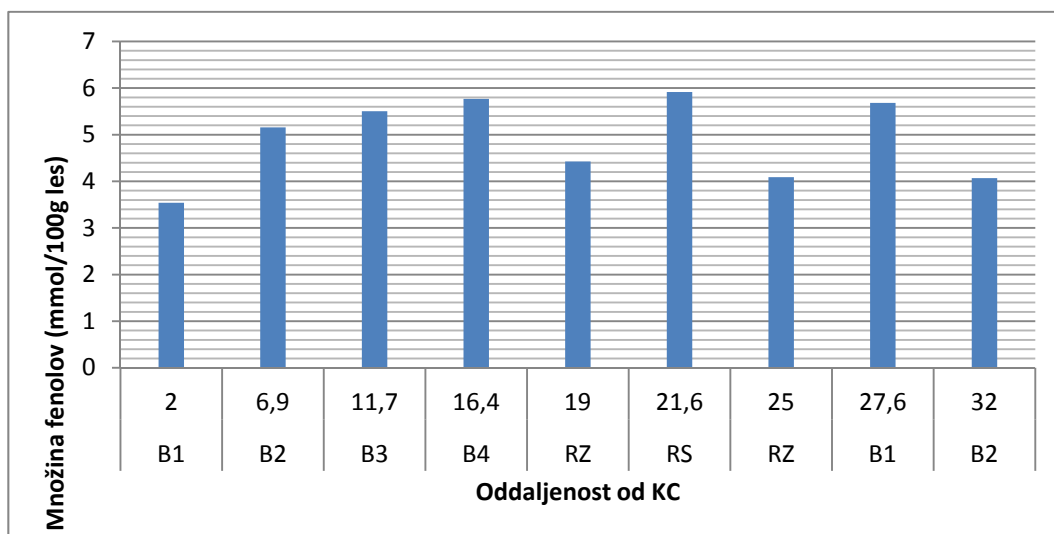
Preglednica 10: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva (kolut 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca. MeOH je metanol.

				absorbanca	Vsebnost celokupnih fenolov	Delež v MeOH topnih ekstraktivov
drevo	Št. Koluta	Oznaka Vz.	KLT*	A ₇₆₅	mmol/100g a.s.lesa	%
2	27	271	B1	0,64	3,53	3,23
2	27	272	B2	0,92	5,15	4,86
2	27	273	B3	0,98	5,50	4,35
2	27	274	B4	1,02	5,76	3,57
2	27	275	RZ	0,79	4,42	2,97
2	27	276	RS	0,98	5,91	0,30
2	27	277	RZ	0,70	4,09	3,15
2	27	278	B1	0,87	5,68	0
2	27	279	B2	0,55	4,06	0

* Kategorija lesnega tkiva



Slika 35: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Delež v metanolu topnih ekstraktivov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražen kot delež ekstraktivov v % glede na suho snov (kolut 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



Slika 36: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.), drevo št. 2: Vsebnost celokupnih fenolov v različnih oddaljenostih od kambijeve cone (KC), izražena kot delež kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g absolutno suhega lesa (kolut 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

Množina fenolov v B najvišje odvzetega koluta drugega drevesa vzorca 27 je bila 4,952 mmol/100g lesa, množina fenolov v B narašča od periferije proti centru debla, pri RZ upade, v RS pa naraste. Množina fenolov v RZ je bila 4,259 mmol/100g lesa, v RS pa 5,915 mmol/100g lesa. Povprečna vrednost deleža topnih snovi je bila v B 4 % v RZ 3,06 % v RS pa 0,3 %.

4.3 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 v metanolu (Me OH) topnih ekstraktivov, izražena v % glede na suho snov, in povprečna vsebnost celokupnih fenolov, izražena kot ekvivalent galne kislinev mmol/100g absolutno suhega lesa.

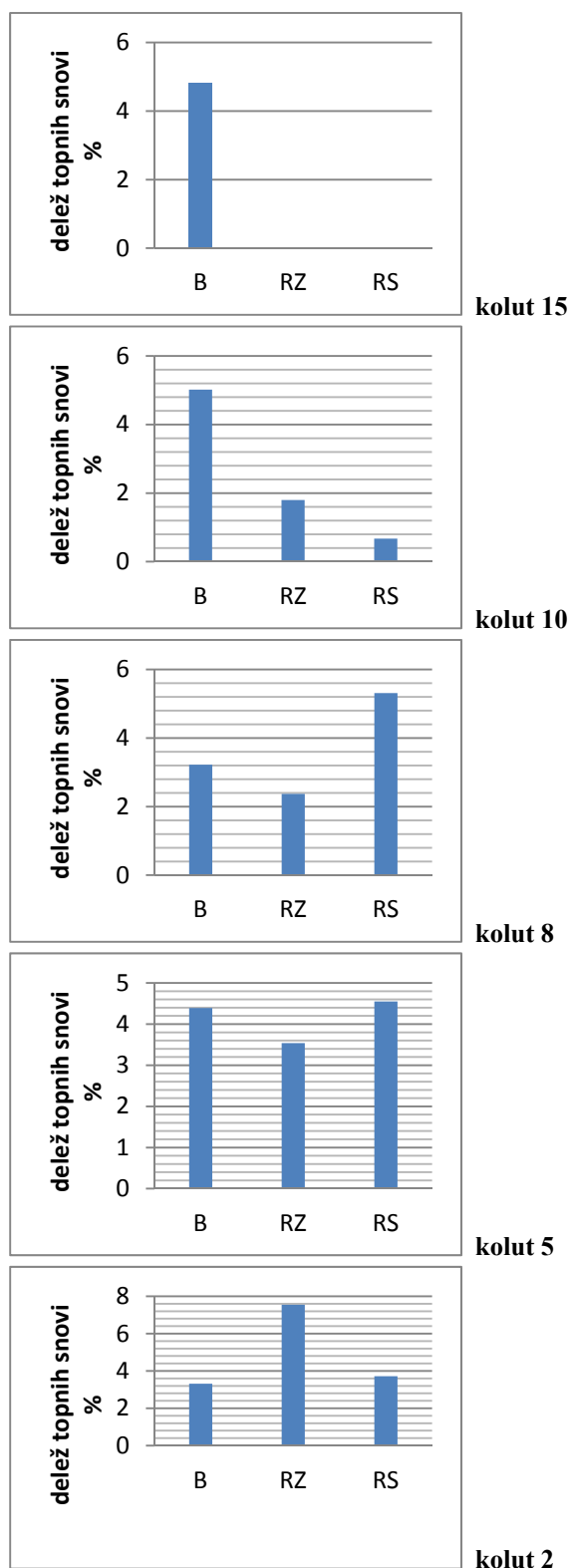
Slika 37 prikazuje povprečne deleže topnih snovi za pet kolotov drevesa 1. V beljavi (kolot 2) je bil povprečni delež v metanolu topnih ekstraktivov 3,32 %. Reakcijska cona je vsebovala najvišji 7,55 % povprečni delež v metanolu topnih snovi. Rdeče srce je imelo 3,72 % povprečni delež topnih snovi.

Kolot 5 je imel v beljavi 4,39 % povprečni delež v metanolu topnih snovi. Povprečni delež topnih snovi je bil v lesu reakcijske cone 3,54 %. Visok povprečni delež v metanolu topnih snovi 4,55 % pa je bil v lesu rdečega srca.

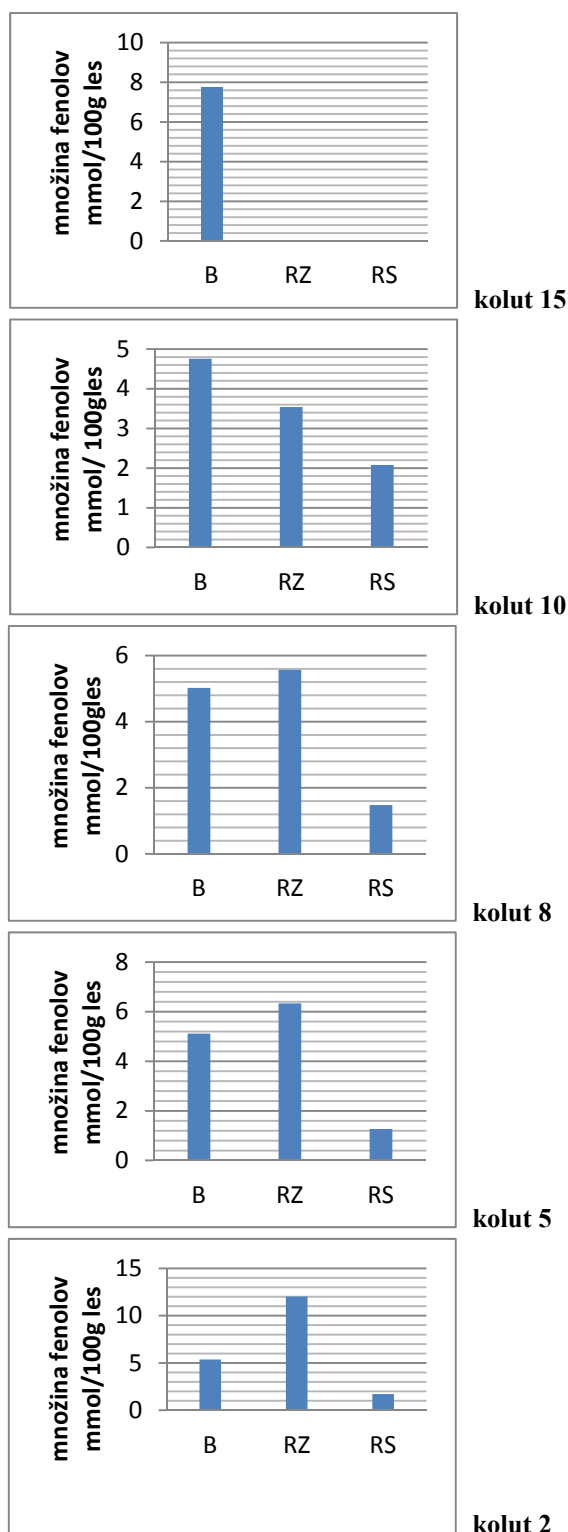
Kolot 8 je vseboval v beljavi 3,22 % delež v metanolu topnih snovi. Povprečni delež topnih snovi je bil v lesu reakcijske cone 2,37 %. Najvišji povprečni delež v metanolu topnih snovi je bil v rdečem srcu 5,31 %.

Kolot 10 je imel v beljavi 5,02 % povprečni delež v metanolu topnih snovi. V reakcijski coni je bil 1,8 % delež v metanolu topnih snovi. Rdeče srce je vsebovalo nizek 0,67 % delež v metanolu topnih snovi.

Kolot 15 je vseboval le les beljave, povprečni delež v metanolu topnih snovi je znašal 4,8 %.



Slika 37: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 1) deleža topnih snovi za posamezno kategorijo lesnega tkiva (koluti 2, 5, 8, 10, 15). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



Slika 38: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 1) celokupnih fenolov, izraženih kot ekvivalentov galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega, lesa za posamezno kategorijo kambijeve cone (koluti 2, 5, 8, 10, 15). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

V drevesu 1 je imel kolut 2 (slika 38), to je najnižji kolut drevesa 1, povprečno množino fenolov v beljavi 5,37 mmol/100 g absolutno suhega lesa, v reakcijski coni je znašala povprečna vrednost 12,01 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Rdeče srce je vsebovalo 1,70 mmol/100 g absolutno suhega lesa.

Naslednji kolut je imel oznako 5. Povprečna množina fenolov v lesu beljave je bila 5,11 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V reakcijski coni je bila malo višja vsebnost celokupnih fenolov kot v beljavi, 6,33 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V rdečem srcu je bila množina celokupnih fenolov 1,26 mmol/100 g absolutno suhega lesa.

Pri kolutu 8 je bila povprečna množina celokupnih fenolov v lesu beljave 5,02 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Les reakcijske cone izkazuje večjo vsebnost celokupnih fenolov, to je 5,57 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V rdečem srcu je bila povprečna vrednost celokupnih fenolov 1,47 mmol/100 g lesa.

Kolut 10 je imel najvišjo vsebnost celokupnih fenolov v lesu beljave, 4,75 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V reakcijski coni je bila vsebnost celokupnih fenolov 3,53 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V rdečem srcu je bila povprečna vsebnost celokupnih fenolov 2,08 mmol/100 g absolutno suhega lesa.

Najvišje odvzeti kolut drevesa 1 je bil kolut 15. Vseboval je le les beljave. Vsebnost celokupnih fenolov v beljavi je bila 7,76 mmol/100 g absolutno suhega lesa.

Najvišja vsebnost celokupnih fenolov je bila v lesu reakcijske cone (kolut 2). Najnižje vsebnosti celokupnih fenolov so bile v vseh petih kolutih drevesa 1 pri lesu rdečega srca.

4.4 POVPREČNE VREDNOSTI VSEBNOSTI CELOKUPNIH FENOLOV V TKIVIH V DREVESU NAVADNE BUKVE (*FAGUS SYLVATICA* L.) ŠT. 2

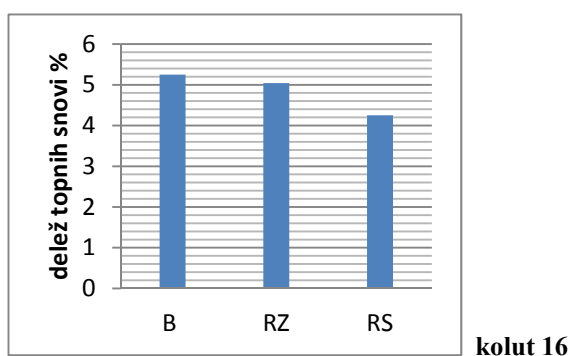
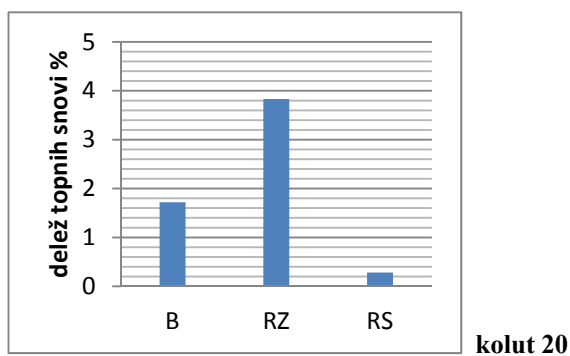
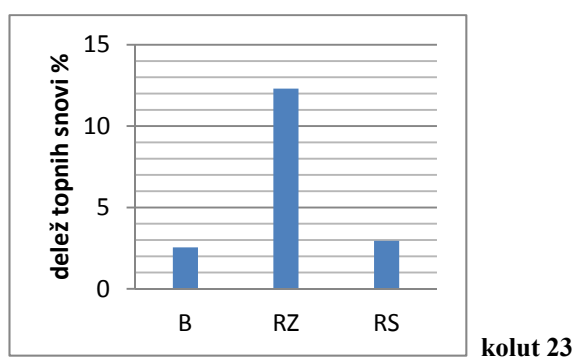
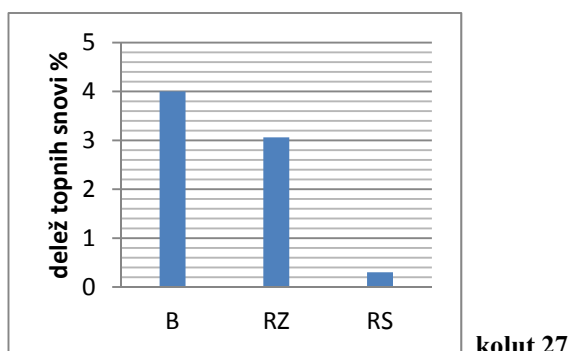
V nadaljevanju smo rezultate prikazali kot povprečne vrednosti primerjave deleža v metanolu topnih ekstraktivov in vsebnosti celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva za drevo 2. V grafikonih je povprečna vsebnost v metanolu (MeOH) topnih ekstraktivov, izražena v % glede na suho snov, in povprečna vsebnost celokupnih fenolov izražena kot ekvivalent galne kislinev mmol/100g absolutno suhega lesa.

Slika 39 prikazuje povprečne deleže topnih snovi za štiri kolute drevesa 2. V beljavi (kolut 16) je bil povprečni delež v metanolu topnih ekstraktivov 5,25 %. Reakcijska cona je vsebovala 5,04 % povprečni delež v metanolu topnih snovi. Rdeče srce je imelo najnižji, 4,25 % povprečni delež topnih snovi.

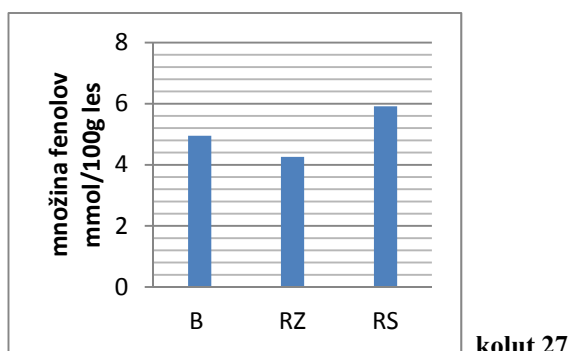
Kolut 20 je imel v beljavi 1,72 % povprečni delež v metanolu topnih snovi. Najvišji povprečni delež topnih snovi je bil v lesu reakcijske cone 3,83 %. Nizek povprečni delež v metanolu topnih snovi, 0,28 %, pa je bil v lesu rdečega srca.

Kolut 23 je vseboval v beljavi 2,55 % delež v metanolu topnih snovi. Najvišji povprečni delež topnih snovi je bil v lesu reakcijske cone 12,31 %, to pa je bil tudi najvišji povprečni delež od vseh štirih kolutov drevesa 2. Povprečni delež v metanolu topnih snovi je bil v rdečem srcu 2,95 %.

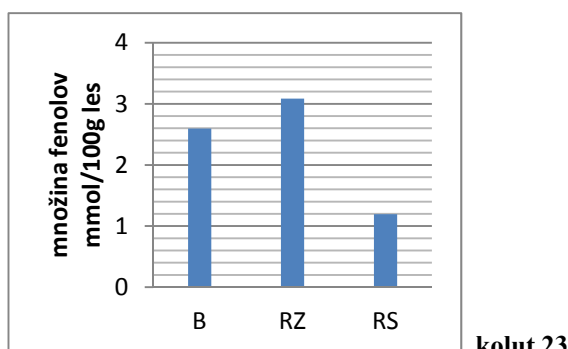
Kolut 27 je imel v beljavi 4,00 % povprečni delež v metanolu topnih snovi. V reakcijski coni je bil 3,06 % delež v metanolu topnih snovi. Rdeče srce je vsebovalo nizek 0,30 % delež v metanolu topnih snovi.



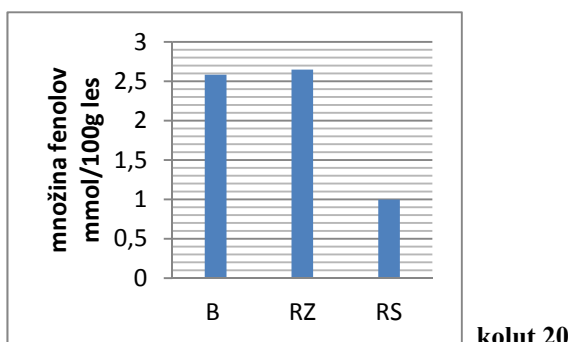
Slika 39: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 2) deleža topnih snovi v % za posamezno kategorijo kambijeve cone (koluti 16, 20, 23, 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.



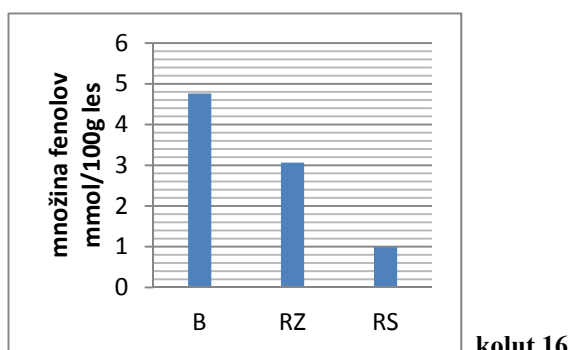
kolut 27



kolut 23



kolut 20



kolut 16

Slika 40: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); povprečne vrednosti (drevo 2) celokupnih fenolov, izraženih kot ekvivalentov galne kisline v mmol/100 g absolutno suhega lesa za posamezno kategorijo kambijeve cone (koluti 16, 20, 23, 27). Vzorci, označeni z B, so vzorci beljave, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

V drevesu 2 je imel kolut 16 (slika 40), to je najnižji kolut drevesa 2, povprečno množino fenolov v beljavi 4,76 mmol/100 g absolutno suhega lesa, v reakcijski coni je znašala povprečna vrednost 3,06 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Rdeče srce je vsebovalo 0,99 mmol/100 g absolutno suhega lesa.

Naslednji kolut je imel oznako 20. Povprečna množina fenolov v lesu beljave je bila 2,58 mmol/100 g absolutno suhega lesa, v reakcijski coni je bila malo višja vsebnost celokupnih fenolov kot v beljavi, 2,64 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V rdečem srcu je bila množina celokupnih fenolov 0,99 mmol/100 g absolutno suhega lesa.

Kolut 23: povprečna množina celokupnih fenolov v lesu beljave je bila 2,59 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Les reakcijske cone izkazuje največjo vsebnost celokupnih fenolov v vzorcu 23, to je 3,08 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V rdečem srcu je bila povprečna vrednost celokupnih fenolov 1,19 mmol/100 g lesa.

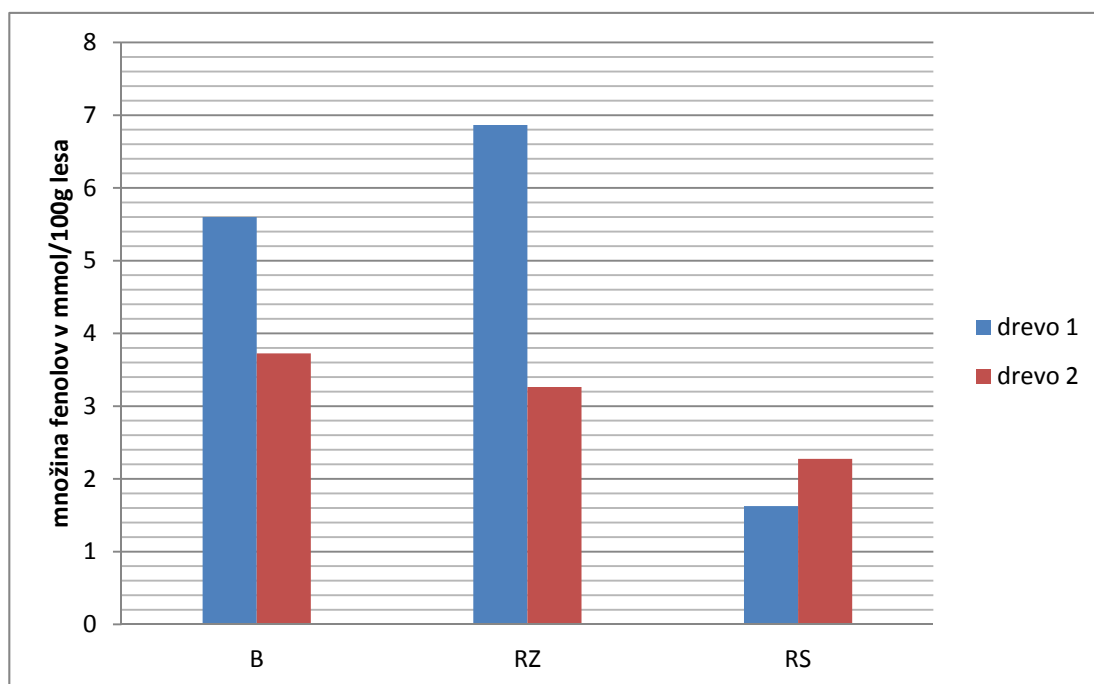
Najvišje odvzeti kolut drevesa 2 je bil kolut 27. V beljavi je bila vsebnost celokupnih fenolov 4,95 mmol/100 g absolutno suhega lesa. V reakcijski coni je bila vsebnost celokupnih fenolov 4,25 mmol/100 g absolutno suhega lesa. Največjo vsebnost celokupnih fenolov ima rdeče srce, 5,91 mmol/100 g absolutno suhega lesa.

Najnižjo vsebnost celokupnih fenolov v vseh štirih kolutih ima rdeče srce, izstopa kolut 27, kjer je vsebnost celokupnih fenolov 5,91 mmol/100 g absolutno suhega lesa.

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

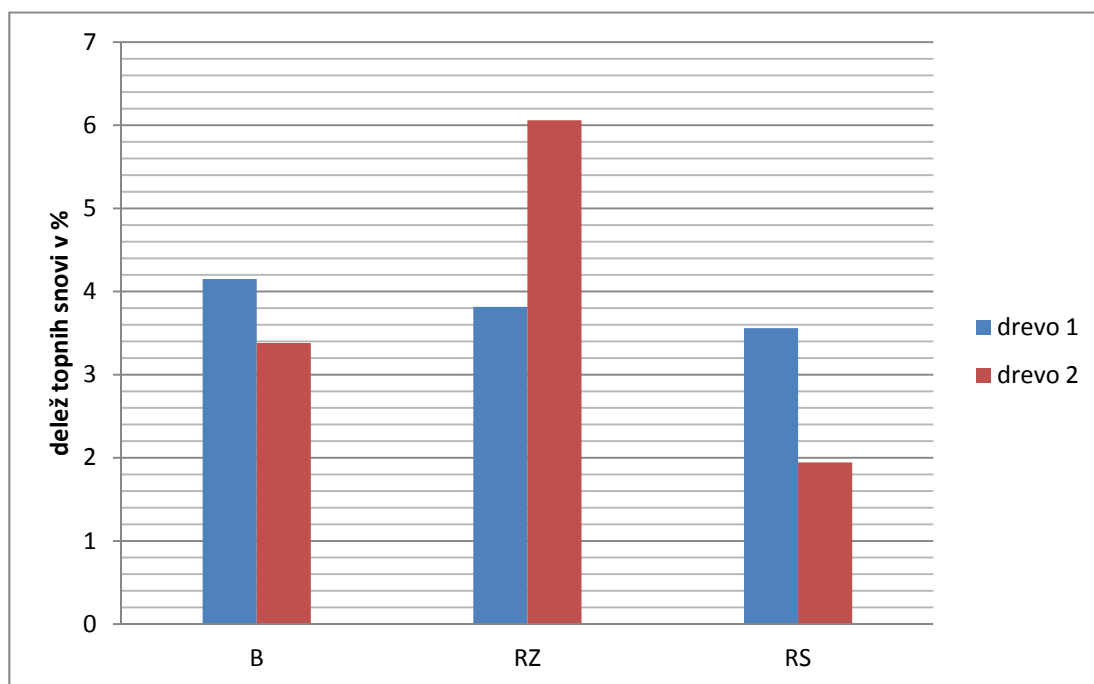
Na slikah 41 in 42 smo prikazali povprečne vsebnosti celokupnih fenolov med preiskovanima drevesoma za vsako kategorijo lesnega tkiva in povprečne deleže topnih snovi med preiskovanima drevesoma.

Vsebnost celokupnih fenolov v drevesu št. 1 je večja v beljavi in reakcijski coni, rdeče srce pa ima nižjo povprečno vsebnost celokupnih fenolov kot rdeče srce v drevesu 2. Najvišja povprečna vsebnost celokupnih fenolov je v lesu reakcijske cone (drevo št. 1). Drevo 2 ima največjo povprečno vsebnost celokupnih fenolov v lesu beljave, sledi ji reakcijska cona, najmanjši povprečni delež celokupnih fenolov pa je v lesu rdečega srca (za drevo št. 1 in 2).



Slika 41: 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, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

Povprečni delež topnih snovi je bil v vseh treh preiskovanih delih lesnega tkiva (drevo št. 1) skoraj enak, okrog 4 %. Drevo št. 2 ima od obeh preiskovanih dreves najvišji delež topnih snovi v reakcijski coni. Najnižji delež topnih snovi pa ima drevo št. 2 v rdečem srcu. V beljavi imata obe drevesi bolj enakomeren delež topnih snovi.



Slika 42: Navadna bukev (*Fagus sylvatica* L.); primerjava povprečnih vrednosti vsebnosti 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, RZ so vzorci reakcijske cone, RS so vzorci rdečega srca.

4.6 RAZPRAVA

V raziskavi smo proučevali vsebnost celokupnih fenolov v lesnih tkivih beljave in tkivih rdečega srca v lesu bukovine.

Delež spojin, ki so bile topne v hladni raztopini metanola in vode je bil pri dveh preiskovanih drevesih različen. Pri drevesu št. 1 je bilo največ ekstraktibilnih snovi prisotnih v beljavi. Pri drevesu št. 2 pa v reakcijskih conah. Pri obeh drevesih je bil delež ekstraktibilnih snovi najmanjši v rdečem srcu: 3,56 % v drevesu št. 1 in 1,94 % v drevesu

št. 2. Največja vsebnost celokupnih fenolov pri drevesu št. 1 je bila v reakcijski coni (6,86 mmol/100 g lesa), pri drevesu št. 2 pa v beljavi (3,72 mmol/100 g lesa).

V rdečem srcu obeh dreves je bila vsebnost celokupnih fenolov najnižja (1,62 mmol/ 100 g lesa) pri drevesu št.1 in (2,27 mmol/ 100 g lesa) pri drevesu št 2.

Vsebnost celokupnih fenolov je bila v najmlajših delih beljave praviloma manjša kot v starejših delih beljave, pri obeh drevesih. Takšna porazdelitev celokupnih fenolov je bila značilna tudi za kolut brez rdečega srca.

Povečana koncentracija skupnih fenolov kaže trend naraščanja iz periferije beljave do notranjih delov beljave.

Ker fenolne snovi verjetno sodelujejo pri nastanku barvnih substanc (proces oksidacije in polimerizacije fenolnih snovi), je posledično manjšo vsebnost celokupnih fenolov v lesu rdečega srca pripisati omenjenemu procesu.

Tako kot že navajajo tudi drugi avtorji (Vek in sod. 2010), lahko potrdim, da se pojavijo razlike v drevesu in med drevesoma v vsebnosti celokupnih fenolov (različna vsebnost celokupnih fenolov v proučevanih tkivih). Prav tako tudi avtorji navajajo nižje vsebnosti celokupnih fenolov v lesu rdečega srca, ter različno koncentracijo celokupnih fenolov med periferno in notranjo beljavo (Vek in sod. 2010). Povečan delež ekstraktibilnih snovi v lesu reakcijske cone, pa lahko pripišem k zaščitni funkciji tega tkiva. Mesto aktivnega odziva parenhimskih (živih) celic beljave na spremembe predstavlja les reakcijske cone.

Nastanek rdečega srca naj bi bil opisan kot dvodelni proces (Torelli 1984) . Prvi del procesa je dehidracijska faza, ki nastane zaradi starosti, fizioloških sprememb lesa, kar povzroča upadanje vsebnosti vode, naraščanja prisotnosti plina in upadanja vitalnosti parenhimskih celic. Drugi del procesa je diskoloracijska faza, katera je izrazito fakultativna, odvisna od potencialnega vstopa kisika v že obstoječo dehidracijsko jedro. Mrtve, zlomljene, poškodovane in razcepljene veje so možna področja, kjer lahko vstopi kisik. Domnevamo, da samo kisik ni edini vpleteni faktor v rdečem srcu lahko je tudi, da na obarvanje vplivajo mikroorganizmi. Raziskava kritosemenk je pokazala, da ranitev sprožijo začetna fizična dehidracija lesa, sledijo ji anatomske in kemijske spremembe in na koncu diskoloriran les.

V nadaljevanju bi bilo potrebno raziskati tudi sestavo hidrofilnih frakciji z eno od dostopnih kromatografskih metod. Raziskave nekaterih avtorjev kažejo, da se v normalnem lesu bukve pojavljajo velike količine katehina, podatkov o pojavu te spojine v reakcijskih conah pa praktično ni.

5 SKLEP

Delež spojin, ki so bile topne v hladni raztopini metanola in vode je bil pri dveh preiskovanih drevesih različen. Pri drevesu št. 1 je bilo največ ekstraktibilnih snovi prisotnih v beljavi. Pri drevesu št. 2 pa v reakcijskih conah.

Pri obeh drevesih je bil delež ekstraktibilnih snovi najmanjši v rdečem srcu: 3,56 % v drevesu št. 1 in 1,94 % v drevesu št. 2.

Največja vsebnost celokupnih fenolov pri drevesu št. 1 je bila v reakcijski coni (6,86 mmol/100 g lesa), pri drevesu št. 2 pa v beljavi (3,72 mmol/100 g lesa).

V rdečem srcu obeh dreves je bila vsebnost celokupnih fenolov najnižja (1,62 mmol/ 100 g lesa) pri drevesu št.1 in (2,27 mmol/ 100 g lesa) pri drevesu št 2.

Vsebnost celokupnih fenolov je bila v najmlajših delih beljave praviloma manjša kot v starejših delih beljave, pri obeh drevesih. Takšna porazdelitev celokupnih fenolov je bila značilna tudi za kolut brez rdečega srca.

6 POVZETEK

V februarju 2009 smo v urbanem okolju Ljubljane (na Rožniku) posekali dve bukvi (*Fagus sylvatica* L.). Namen naše raziskave je bil ugotoviti vsebnost ekstraktivov v beljavi, reakcijskih conah in rdečem srcu pri bukvi. Iz požaganih dreves smo na različnih višinah debela izrezali kolute, katere smo nato razrezali na manjše kose v mizarski delavnici. Na kolutih smo označili položaj vzorcev glede na različne oblike lesnega tkiva. Les smo osušili in ga nato zmleli. Lesni prah velikosti 0,4 μm smo uporabili za ekstrakcijo v 80 % vodni raztopini MeOH. Serijo desetih vzorcev smo ekstrahirali 6 ur na magnetnih mešalih. Sledilo je filtriranje vzorcev, nato pa smo vzorce lesnega ekstrakta, ki smo ga prej posušili, uporabili za določitev deleža v metanolu topnih snovi. Za izvedbo spektrofotometričnih meritev smo morali mešati lesni ekstrakt in reagente, ter zmesi standardnih raztopin galne kisline. Vsebnost celokupnih fenolov smo določili po Folin-Ciocalteu metodi, ki temelji na uporabi FC reagenta in meritvah absorbance z UV-Vis spektrofotometrom. Z ustrezno koncentracijo standardnih raztopin galne kisline smo določili umeritveno krivuljo, ki je potrebna, da izračunamo koncentracijo celokupnih fenolov. Absorbance ekstraktov in galne kisline merimo pri valovni dolžini 765 nm z UV-Vis spektrofotometrom. Umeritveno krivuljo smo določili grafično na osnovi koncentracij standardnih raztopin galne kisline in ustreznih reagentov, ter njihovimi pripadajočimi absorbancami, ki smo jih izmerili pri valovni dolžini 765 nm. Delež spojin, ki so bile topne v raztopini metanola in vode, je bil pri dveh preiskovanih drevesih različen. Pri drevesu št. 1 je bilo največ ekstraktibilnih snovi prisotnih v beljavi. Pri drevesu št. 2 pa v reakcijskih conah. Pri obeh drevesih je bil delež ekstraktibilnih snovi najmanjši v rdečem srcu: 3,36 % v drevesu št. 1 in 1,94 % v drevesu št. 2. Tudi vsebnost celokupnih fenolov izkazuje podoben rezultat. Pri drevesu št. 1 jih je bilo največ v reakcijski coni (6,86 mmol/100 g lesa). pri drevesu št. 2 pa v beljavi (3,72 mmol/100 g lesa). V rdečem srcu obeh dreves je bila vsebnost celokupnih fenolov najnižja (1,62 mmol/ 100 g lesa) pri drevesu št.1 in (2,27 mmol/100 g lesa) pri drevesu št 2. Vsebnost celokupnih fenolov je bila v najmlajših delih beljave praviloma večja kot v starejših delih beljave, pri obeh drevesih. Takšna porazdelitev celokupnih fenolov je bila značilna tudi za kolut brez rdečega srca.

7 VIRI

- Brus R. 2005. Dendrologija za gozdarje. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 408 str.
- Čufar K. 2006. Anatomija lesa- univerzitetni učbenik. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 185 str.
- Gaber K. 2012. Vsebnost celokupnih fenolov v lesu mehansko poškodovanih bukev (*Fagus sylvatica* L.). Diplomsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 77 str.
- Oven P. 2011. Kemična zgradba lesa. študijsko gradivo za leto 2011. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 147 str.
- Oven P., Vek V., Poljanšek I. 2011. Flavonoidi lesa in drevesne skorje. Les, 63, 11/12: 412-417
- Oven P., Rep G., Vek V. 2009. Strukturni gradniki celične stene in variabilnost kemijske sestave lesa. Les, 61, 6: 302-311
- Shigo A. L., Marx H. G, 1977. Compartmentalization of decay in trees. USDA Forest Service Agriculture Information Bulletin, 405,73
- Shigo A. L., 1986. A new tree biology- Dictionary. Durham, New Hampshire, Shigo and Trees Associates.
- Torelli N., 1984. The ecology of discoloured wood as illustrated by beech (*Fagus sylvatica* L., Iowa Bulletin, 5, 2:121-127
- Torelli N., 2001. Odziv drevja na globoke in površinske poškodbe na primeru bukve (*Fagus silvatica* L.) s poudarkom na nastanku in ekologiji ranitvenega lesa (rdeče srce). Gozdarski vestnik, 59, 2:85-94
- Vek V., Oven P., Rep G. 2010. Vsebnost skupnih fenolov v beljavi, rdečem srcu in poranitvenem lesu pri bukvi (*Fagus sylvatica* L.) = Total phenol content in sapwood, red heart and wound-wood in beech (*Fagus sylvatica* L.). Les-Wood, 62: 193-198

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

ZAHVALA

Želim se zahvaliti mentorju prof. dr. Primožu Ovnu za mentorstvo, vodenje in prijazno pomoč pri izdelavi diplomske naloge.

Za vso pomoč pri eksperimentalnem delu in pomoč pri UV-Vis spektrofotometričnih meritvah se zahvaljujem mlademu raziskovalcu Viljemu Veku.

Zahvaljujem se tudi somentorici doc. dr. Idi Poljanšek in prof. dr. Marku Petriču za recenzijo diplomske naloge.

Zahvala vsem družinskim članom za podporo pri nastanku diplomske naloge.

PRILOGA

V prilogi A in B so dodane vse meritve, ki so bile potrebne za izračun vsebnosti celokupnih fenolov v različnih kategorijah lesnega tkiva, izraženih kot ekvivalent galne kisline v mmol/100g 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

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
21	31,79	36,75	53,38	0,25	65,73	36,43	65,96	0,23	0,23	0,00	2,02	0,93	18.11.2009
22	27,89	32,88	52,30	0,25	67,04	32,55	67,27	0,23	0,23	0,01	2,77	0,93	18.11.2009
23	30,21	35,20	54,54	0,25	64,86	34,87	65,10	0,23	0,24	0,00	-0,58	0,93	18.11.2009
24	32,28	37,19	56,09	0,25	49,48	36,86	49,71	0,23	0,23	0,00	1,07	0,93	18.11.2009
25	25,73	30,55	54,83	0,25	69,17	30,20	69,37	0,23	0,21	0,02	10,51	0,93	18.11.2009
26	30,66	31,67	69,70	0,25	49,45	31,60	49,68	0,23	0,22	0,01	3,31	0,93	7.12.2009
27	30,21	31,22	53,68	0,25	62,83	31,15	63,05	0,23	0,22	0,01	4,25	0,93	7.12.2009
28	32,29	33,31	46,76	0,25	67,20	33,24	67,43	0,23	0,22	0,01	3,60	0,93	7.12.2009
29	25,73	26,74	54,54	0,25	67,02	26,66	67,24	0,23	0,22	0,01	4,59	0,92	7.12.2009
210	31,93	32,94	54,83	0,25	64,84	32,87	65,06	0,23	0,22	0,01	3,91	0,93	7.12.2009
211	29,89	32,94	54,54	0,25	64,18	30,83	64,40	0,23	0,22	0,01	4,51	0,93	8.12.2009
212	32,30	26,74	69,70	0,25	67,02	33,24	67,24	0,23	0,23	0,01	3,45	0,93	8.12.2009
213	32,92	33,93	56,09	0,25	67,21	33,87	67,43	0,23	0,22	0,01	5,57	0,93	8.12.2009

1	oznaka vzorca	m_8	masa petrijevke z vzorcem na filter papirju
m_2	masa tehtiča	m_9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m_3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m_{10}	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m_4	masa čaše	m_{11}	masa topnih snovi
m_5	masa vzorca pred ekstrakcijo	s.s.	delež topnih snovi
m_6	masa petrijevke+ filter papir	%	suha snov
m_7	masa vzorca +tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
51	30,21	31,26	69,69	0,25	62,85	31,19	63,07	0,23	0,22	0,01	5,16	0,93	19.11.2009
52	32,92	33,97	52,30	0,25	66,88	33,90	67,11	0,23	0,23	0,01	3,68	0,94	19.11.2009
53	32,39	33,41	53,14	0,25	69,16	33,35	69,39	0,23	0,23	0,01	2,92	0,94	19.11.2009
54	25,73	26,79	54,54	0,25	68,45	26,72	68,68	0,23	0,23	0,01	2,67	0,94	19.11.2009
55	32,28	33,34	56,09	0,25	49,48	33,27	49,71	0,23	0,23	0,01	2,72	0,93	19.11.2009
56	32,01	33,01	55,60	0,25	64,84	32,94	65,06	0,23	0,22	0,01	4,74	0,93	8.12.2009
57	32,41	33,41	46,76	0,25	65,70	33,35	65,92	0,23	0,22	0,01	6,25	0,93	8.12.2009
58	30,21	31,22	53,68	0,25	67,20	31,15	67,43	0,23	0,23	0,01	2,66	0,93	9.12.2009
59	29,89	30,90	53,14	0,25	64,84	30,83	65,06	0,23	0,22	0,01	4,38	0,93	9.12.2009
510	32,30	33,30	55,60	0,25	64,18	33,24	64,40	0,23	0,23	0,01	3,34	0,93	9.12.2009
511	32,92	33,93	52,30	0,25	67,02	33,87	67,24	0,23	0,22	0,01	5,20	0,94	9.12.2009
512	25,73	26,74	54,83	0,25	69,14	26,67	69,35	0,23	0,22	0,02	6,76	0,94	9.12.2009

1	oznaka vzorca	m8	masa petri.+vzorec na filter papi.
m2	masa tehtiča	m9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m10	masa ekstr. vzorca v asbsolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m4	masa čaše	m11	masa topnih snovi
m5	masa vzorca v čaši	%	delež topnih snovi
m6	masa petrijevke + filter papir	S.S.	suha snov
m7	masa vzorca + tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
81	31,79	32,84	56,09	0,25	68,45	32,77	68,67	0,23	0,23	0,01	2,88	0,93	24.11.2009
82	25,92	26,99	54,83	0,25	49,48	26,92	49,70	0,23	0,23	0,01	3,69	0,93	24.11.2009
83	31,94	33,00	54,54	0,25	64,20	32,93	64,43	0,23	0,23	0,00	1,63	0,93	24.11.2009
84	32,24	33,31	46,76	0,25	66,88	33,23	67,11	0,23	0,23	0,00	1,12	0,93	24.11.2009
85	32,55	33,60	53,68	0,25	67,04	33,53	67,29	0,23	0,25	-0,02	-8,98	0,93	24.11.2009
86	31,93	32,94	52,30	0,25	67,20	32,86	67,42	0,23	0,22	0,02	7,13	0,92	10.12.2009
87	30,66	31,67	54,83	0,25	64,17	31,60	64,40	0,23	0,22	0,01	4,92	0,93	10.12.2009
88	30,21	31,22	46,76	0,25	49,45	31,15	49,68	0,23	0,22	0,01	3,91	0,93	10.12.2009
89	27,89	28,90	53,38	0,25	67,01	28,83	67,24	0,23	0,22	0,01	3,64	0,93	10.12.2009
810	29,89	30,90	53,14	0,25	65,70	30,83	65,92	0,23	0,22	0,02	6,52	0,93	10.12.2009
811	32,93	33,00	52,30	0,25	64,84	32,93	65,06	0,23	0,23	0,01	2,23	0,93	11.12.2009
812	28,83	28,90	69,69	0,25	49,45	28,83	49,68	0,23	0,23	0,01	2,39	0,93	11.12.2009

1	oznaka vzorca	m_8	masa petrijevke z vzorcem na filter papirju
m_2	masa tehtiča	m_9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m_3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m_{10}	masa ekstr. vzorca v asbsolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m_4	masa čaše	m_{11}	masa topnih snovi
m_5	masa vzorca pred ekstrakcijo	s.s.	delež topnih snovi
m_6	masa petrijevke+ filter papir	%	suha snov
m_7	masa vzorca +tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
101	32,39	33,41	55,60	0,25	62,86	33,34	63,08	0,23	0,22	0,02	6,61	0,93	25.11.2009
102	29,89	30,90	53,68	0,25	67,24	30,83	67,46	0,23	0,22	0,01	4,96	0,93	25.11.2009
103	27,9	28,91	69,70	0,25	65,73	28,84	65,95	0,23	0,22	0,01	5,25	0,93	25.11.2009
104	31,93	32,94	54,83	0,25	66,88	32,87	67,11	0,23	0,23	0,01	2,22	0,93	25.11.2009
105	32,26	33,26	53,14	0,25	64,87	33,19	65,10	0,23	0,23	0,00	0,51	0,92	25.11.2009
106	33,86	33,93	56,08	0,25	64,17	33,86	64,40	0,23	0,23	0,00	0,83	0,93	11.12.2009
107	26,66	26,74	54,54	0,25	68,42	26,66	68,65	0,23	0,23	0,00	1,39	0,93	11.12.2009
108	31,15	31,22	54,82	0,25	62,83	31,15	63,05	0,23	0,22	0,01	3,79	0,93	11.12.2009
109	30,66	31,67	53,14	0,25	65,70	31,60	65,93	0,23	0,22	0,01	3,79	0,93	14.12.2009
1010	32,92	33,93	69,70	0,25	64,84	33,86	65,06	0,23	0,22	0,01	5,74	0,93	14.12.2009

1	oznaka vzorca	m_8	masa petrijevke z vzorcem na filter papirju
m_2	masa tehtiča	m_9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m_3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m_{10}	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m_4	masa čaše	m_{11}	masa topnih snovi
m_5	masa vzorca pred ekstrakcijo	s.s.	delež topnih snovi
m_6	masa petrijevke+ filter papir	%	suha snov
m_7	masa vzorca +tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
151	27,89	28,91	54,54	0,25	65,73	28,84	65,95	0,23	0,22	0,01	5,57	0,93	26.11.2009
152	31,93	32,94	52,30	0,25	49,48	32,87	49,71	0,23	0,22	0,01	3,66	0,93	26.11.2009
153	32,01	33,02	53,14	0,25	67,24	32,95	67,45	0,23	0,21	0,02	8,14	0,93	26.11.2009
154	29,89	30,90	69,70	0,25	68,46	30,83	68,68	0,23	0,22	0,01	4,24	0,93	26.11.2009
155	30,66	31,67	54,82	0,25	62,86	31,60	63,08	0,23	0,22	0,01	4,29	0,93	26.12.2009
156	30,21	31,22	55,60	0,25	69,14	31,15	69,36	0,23	0,22	0,02	7,13	0,93	14.12.2009
157	32,41	33,42	54,54	0,25	68,42	33,35	68,65	0,23	0,23	0,00	0,59	0,93	14.12.2009

1	oznaka vzorca	m_8	masa petrijevke z vzorcem na filter papirju
m_2	masa tehtiča	m_9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m_3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m_{10}	masa ekstr. vzorca v asbsolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m_4	masa čaše	m_{11}	masa topnih snovi
m_5	masa vzorca pred ekstrakcijo	s.s.	delež topnih snovi
m_6	masa petrijevke+ filter papir	%	suha snov
m_7	masa vzorca +tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

PRILOGA B

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
161	27,89	28,90	53,38	0,25	49,48	28,84	49,71	0,25	0,23	0,02	7,52	0,94	27.11.2009
162	25,73	26,74	56,09	0,25	62,85	26,66	63,08	0,25	0,23	0,02	8,78	0,92	27.11.2009
163	32,30	33,31	52,30	0,25	66,89	33,24	67,11	0,25	0,23	0,02	8,80	0,93	27.11.2009
164	32,01	33,02	55,60	0,25	67,05	32,95	67,28	0,25	0,23	0,02	7,71	0,94	27.11.2009
165	31,93	32,94	69,70	0,25	65,73	32,87	65,97	0,25	0,23	0,02	7,31	0,93	27.11.2009
166	32,00	33,00	53,38	0,25	62,83	32,94	63,05	0,23	0,22	0,01	4,25	0,93	14.12.2009
167	32,30	33,30	54,54	0,25	64,84	33,24	65,08	0,23	0,23	0,00	-0,26	0,94	15.12.2009
168	27,89	28,90	69,70	0,25	67,20	28,84	67,43	0,23	0,23	0,01	2,78	0,93	15.12.2009
169	31,99	33,00	54,82	0,25	64,17	32,94	64,40	0,23	0,23	0,00	2,02	0,94	15.12.2009
1610	30,21	31,22	52,30	0,25	65,70	31,16	65,93	0,23	0,23	0,00	0,72	0,94	15.12.2009
1611	25,73	26,74	46,76	0,25	69,14	26,68	69,37	0,23	0,23	0,00	1,23	0,94	15.12.2009

1	oznaka vzorca	m_8	masa petrijevke z vzorcem na filter papirju
m_2	masa tehtiča	m_9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m_3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m_{10}	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m_4	masa čaše	m_{11}	masa topnih snovi
m_5	masa vzorca pred ekstrakcijo	s.s.	delež topnih snovi
m_6	masa petrijevke+ filter papir	%	suha snov
m_7	masa vzorca +tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
201	29,89	30,90	56,08	0,25	49,49	30,83	49,72	0,23	0,23	0,00	0,12	0,93	1.12.2009
202	32,30	33,30	55,59	0,25	69,17	33,23	69,40	0,23	0,23	0,00	0,47	0,93	1.12.2009
203	32,92	33,93	54,82	0,25	63,19	33,87	63,42	0,23	0,23	0,01	2,66	0,93	1.12.2009
204	31,93	32,94	53,68	0,25	66,88	32,87	67,11	0,23	0,23	0,00	0,13	0,93	1.12.2009
205	30,66	31,67	54,53	0,25	67,05	31,61	67,28	0,23	0,23	0,00	0,43	0,94	1.12.2009
206	31,93	32,94	53,14	0,25	49,45	32,87	49,67	0,23	0,22	0,01	5,02	0,93	15.12.2009
207	30,66	31,67	56,09	0,25	62,82	31,60	63,05	0,23	0,23	0,01	3,21	0,93	15.12.2009
208	32,41	33,42	55,60	0,25	68,42	33,32	68,64	0,23	0,22	0,01	3,20	0,91	15.12.2009
209	29,88	30,89	53,68	0,25	66,85	30,82	67,08	0,23	0,23	0,00	1,62	0,93	15.12.2009

l	oznaka vzorca	m_8	masa petrijevke z vzorcem na filter papirju
m_2	masa tehtiča	m_9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m_3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m_{10}	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m_4	masa čaše	m_{11}	masa topnih snovi
m_5	masa vzorca pred ekstrakcijo	s.s.	delež topnih snovi
m_6	masa petrijevke+ filter papir	%	suha snov
m_7	masa vzorca +tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
231	32,07	33,07	54,82	0,25	67,36	33,01	67,59	0,23	0,23	0,01	3,50	0,93	3.12.2009
232	31,93	32,94	54,53	0,25	65,19	32,88	65,41	0,23	0,23	0,01	2,52	0,93	3.12.2009
233	32,01	33,02	69,69	0,25	69,48	32,95	69,70	0,23	0,22	0,01	4,95	0,93	3.12.2009
234	30,66	31,67	52,30	0,25	66,05	31,60	66,25	0,23	0,20	0,03	12,31	0,93	3.12.2009
235	27,89	28,90	55,59	0,25	63,17	28,83	63,40	0,23	0,22	0,01	2,96	0,92	3.12.2009
236	32,92	33,93	53,38	0,25	67,02	33,85	67,25	0,23	0,23	0,00	-1,65	0,92	15.12.2009
237	25,90	26,91	53,67	0,25	64,17	26,65	64,40	0,19	0,22	-0,04	-21,39	0,74	16.12.2009
238	30,90	31,90	69,73	0,25	67,01	31,58	67,26	0,17	0,24	-0,08	-44,72	0,67	16.12.2009
239	30,21	31,22	56,09	0,25	64,84	31,12	65,06	0,23	0,22	0,00	0,98	0,90	16.12.2009
2310	31,99	33,00	53,38	0,25	65,70	32,90	65,92	0,23	0,22	0,00	0,80	0,90	16.12.2009

1	oznaka vzorca	m_8	masa petrijevke z vzorcem na filter papirju
m_2	masa tehtiča	m_9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m_3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m_{10}	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m_4	masa čaše	m_{11}	masa topnih snovi
m_5	masa vzorca pred ekstrakcijo	s.s.	delež topnih snovi
m_6	masa petrijevke+ filter papir	%	suha snov
m_7	masa vzorca +tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g			
Vz.	m_2	m_3	m_4	m_5	m_6	m_7	m_8	m_9	m_{10}	m_{11}	s.s.	%	Datum.
271	32,29	33,30	69,70	0,25	67,02	33,24	67,24	0,23	0,23	0,01	3,24	0,93	4.12.2009
272	30,66	31,67	52,30	0,25	67,20	31,60	67,43	0,23	0,22	0,01	4,87	0,93	4.12.2009
273	31,93	32,94	55,60	0,25	69,13	32,87	69,36	0,23	0,22	0,01	4,35	0,93	4.12.2009
274	32,01	33,02	53,68	0,25	66,85	32,94	67,08	0,23	0,22	0,01	3,58	0,93	4.12.2009
275	29,89	30,90	54,54	0,25	64,84	30,83	65,06	0,23	0,23	0,01	2,97	0,93	4.12.2009
276	33,12	34,12	53,14	0,25	66,85	34,01	67,07	0,22	0,22	0,00	0,31	0,88	16.12.2009
277	31,94	32,95	54,83	0,25	67,20	32,86	67,42	0,23	0,22	0,01	3,15	0,91	16.12.2009
278	28,00	29,01	54,53	0,25	69,14	28,83	69,36	0,21	0,22	-0,02	-8,88	0,82	16.12.2009
279	32,46	33,47	55,60	0,25	62,82	33,17	63,05	0,18	0,22	-0,05	-25,59	0,71	16.12.2009

l	oznaka vzorca	m_8	masa petrijevke z vzorcem na filter papirju
m_2	masa tehtiča	m_9	masa vzorca v absolutnem suhem stanju (pred ekstrak.)
m_3	masa vzorca v tehtiču (pred suš.)	m_{10}	masa ekstr. vzorca v absolutno suhem stanju (po ekstrak.)
m_4	masa čaše	m_{11}	masa topnih snovi
m_5	masa vzorca pred ekstrakcijo	s.s.	delež topnih snovi
m_6	masa petrijevke+ filter papir	%	suha snov
m_7	masa vzorca +tehtiča (po suš.)	dat.	Datum določanja na UV-VIS

PRILOGA C

Datum	Vzorec	Absorbanca A_{765}	Masna koncentracija Mg/L	Množina na 100 g lesa Mmol/100g lesa	Grafični prikazi umeritvene krivulje
18.11.2009	21	0,5528	85,6364	5,3847	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 18.11.2009</p> <p>$y = 0,0066x - 0,0124$ $R^2 = 0,9992$</p>
	22	0,7320	112,7879	7,0835	
	23	0,8316	127,8788	8,0295	
	24	0,7699	118,5303	7,4563	
	25	0,8118	124,8788	7,9144	
	91	0,4939	76,7121	5,1120	
	92	0,6878	106,0909	7,4622	
	93	0,6482	100,0909	6,4169	
	94	1,0022	153,7273	9,0471	
95	1,0208	156,5455	9,6565		
19.11.2009	51	0,5760	87,2714	5,4762	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 19.11.2009</p> <p>$y = 0,007x - 0,0349$ $R^2 = 0,9981$</p>
	52	0,6108	92,2429	5,7852	
	53	0,6990	104,8429	6,5599	
	54	0,7440	111,2714	6,9895	
	55	0,6992	104,8714	6,6161	
	61	0,5411	82,2857	5,2361	
	62	0,7301	109,2857	6,9425	
	63	0,7377	110,3714	6,9919	
	65	1,0921	161,0000	10,2802	
66	0,8355	124,3429	7,8696		
24.11.2009	11	0,5744	91,0152	6,7707	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 24.11.2009</p> <p>$y = 0,0066x - 0,0263$ $R^2 = 0,9988$</p>
	12	0,8221	128,5455	8,1461	
	13	0,8248	128,9545	8,1738	
	14	0,9304	144,9545	9,2524	
	15	0,8915	139,0606	8,7898	
	81	0,5328	84,7121	5,3282	
	82	0,6065	95,8788	6,0231	
	83	0,7044	110,7121	6,9587	
	84	0,5730	90,8030	5,7270	
85	0,1726	30,1364	1,8949		
25.11.2009	161	0,4748	72,6029	4,6132	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 25.11.2009</p> <p>$y = 0,0068x - 0,0189$ $R^2 = 0,9965$</p>
	162	0,6626	100,2206	6,3574	
	163	0,6522	98,6912	6,2885	
	164	0,6462	97,8088	6,2275	
	165	0,9286	139,3382	8,8694	
	101	0,5308	80,8382	5,0823	
	102	0,6537	98,9118	6,2227	
	103	0,7673	115,6176	7,2712	
	104	0,3700	57,1912	3,6170	
	105	0,2338	37,1618	2,3664	

26.11.2009	231	0,5439	82,7015	5,2634	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 26.11.2009</p> <p>$y = 0,0067x - 0,0102$ $R^2 = 0,9995$</p>
	232	0,6428	97,4627	6,2002	
	233	0,7738	117,0149	7,4602	
	234	0,4838	73,7313	4,6987	
	235	0,3615	55,4776	3,5663	
	151	0,5959	90,4627	5,6957	
	152	0,9458	142,6866	9,0032	
	153	0,6617	100,2836	6,3412	
	154	1,0322	155,5821	9,7958	
	155	0,9042	136,4776	8,5929	
27.11.2009	211	0,4882	76,0455	4,4629	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 27.11.2009</p> <p>$y = 0,0066x - 0,0137$ $R^2 = 0,9996$</p>
	212	0,7579	116,9091	6,8721	
	213	0,7555	116,5455	6,8452	
	214	0,4867	75,8182	4,4531	
	215	0,0964	16,6818	0,9790	
	161-J	0,5738	89,0152	5,2324	
	162-J	0,6802	105,1364	6,1677	
	163-J	0,6639	102,6667	6,0325	
	164-J	0,5848	90,6818	5,3262	
	165-J	0,3604	56,6818	3,3292	
1.12.2009	201	0,4723	42,7431	2,6857	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 01.12.2009</p> <p>$y = 0,0109x + 0,0064$ $R^2 = 0,9989$</p>
	202	0,5477	49,6606	3,1309	
	203	0,4422	39,9817	2,5073	
	204	0,2008	17,8349	1,1277	
	205	0,1572	13,8349	0,8673	
	96	0,6540	59,4128	3,7851	
	97	0,6412	58,2385	3,7221	
	98	0,5040	45,6514	2,9158	
	9A1	0,9229	84,0826	5,3927	
	9A2	0,4584	41,4679	2,6522	

3.12.2009	231	0,5055	48,0217	3,0197	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 03.12.2009</p> <p> $y = 0,0092x + 0,0637$ $R^2 = 0,9717$ </p>
	232	0,4655	43,6739	2,7416	
	233	0,5086	48,3587	3,0344	
	234	0,5151	49,0652	3,0893	
	235	0,1890	13,6196	0,8646	
	9A3	0,3594	32,1413	2,0474	
	9B1	1,1571	118,8478	7,6467	
	9B2	0,4859	45,8913	2,9321	
	9B3	0,4476	41,7283	2,6627	
	66	0,7987	79,8913	5,0540	
4.12.2009	67	0,9055	80,0450	5,0702	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 04.12.2009</p> <p> $y = 0,0111x + 0,017$ $R^2 = 0,9984$ </p>
	68	0,5639	49,2703	3,1169	
	6A1	0,6113	53,5405	3,3928	
	6A2	0,6484	56,8829	3,6109	
	6A3	0,4300	37,2072	2,3487	
	271	0,6425	56,3514	3,5389	
	272	0,9238	81,6937	5,1569	
	273	0,9830	87,0270	5,5030	
	274	1,0282	91,0991	5,7679	
	275	0,7945	70,0450	4,4273	
7.12.2009	6B2	0,7875	69,6429	4,4018	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 07.12.2009</p> <p> $y = 0,0112x + 0,0075$ $R^2 = 0,9995$ </p>
	6B3	0,3763	32,9286	2,0867	
	6B4	1,9627	174,5714	11,1831	
	16-L	0,9019	79,8571	5,0561	
	26	0,2183	18,8214	1,1901	
	27	0,3916	34,2946	2,1648	
	28	0,3208	27,9732	1,7681	
	29	1,4371	127,6429	8,1061	
	210	0,7567	66,8929	4,2135	
	8.12.2009	211	0,7456	68,7685	
212		0,7019	64,7222	3,8090	
213		0,5524	50,8796	2,9944	
56		0,2839	26,0185	1,5325	
57		0,2462	22,5278	1,3258	
1A1		0,9628	88,8796	5,2308	
1A2		0,5833	53,7407	3,1640	
1A3		0,6009	55,3704	3,2574	
1B1		0,8707	80,3519	4,7346	
17		0,6228	57,3981	3,3780	

9.12.2009	166L	0,6480	58,5370	3,6983	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 09.12.2009</p> <p>$y = 0,0108x + 0,0158$ $R^2 = 0,9987$</p>
	167L	0,5833	52,5463	3,3298	
	1B2	0,7807	70,8241	4,5056	
	1B3	0,7703	69,8611	4,4482	
	1B4	1,8280	167,7963	10,7024	
	58	0,1787	15,0833	0,9509	
	59	1,0532	96,0556	6,0609	
	510	0,7315	66,2685	4,1635	
	511	0,6312	56,9815	3,5693	
	512	0,5749	51,7685	3,2539	
10.12.2009	168L	0,1228	9,1964	0,5840	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 10.12.2009</p> <p>$y = 0,0112x + 0,0198$ $R^2 = 0,9983$</p>
	169L	0,1196	8,9107	0,5664	
	16AL	0,6369	55,0982	3,5701	
	16BL	0,9827	85,9732	5,4883	
	21A	0,4520	38,5893	2,4581	
	86	0,2551	21,0089	1,3336	
	87	0,2169	17,5982	1,1147	
	88	0,2721	22,5268	1,4263	
	89	0,9782	85,5714	5,4203	
	810	0,7410	64,3929	4,0578	
11.12.2009	211	0,5349	49,0467	3,1215	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 11.12.2009</p> <p>$y = 0,0107x + 0,0101$ $R^2 = 0,9995$</p>
	212	0,8013	73,9439	4,7286	
	213	0,8515	78,6355	5,0003	
	214	0,4991	45,7009	2,9086	
	21B	1,2041	111,5888	7,1860	
	811	0,6744	62,0841	3,9224	
	812	0,6637	61,0841	3,8443	
	106	0,3136	28,3645	1,7943	
	107	0,5935	54,5234	3,4596	
	108	0,6979	64,2804	4,0420	
14.12.2009	109	0,6454	58,2778	3,6709	<p>Umeritvena krivulja: Galna kislina 14.12.2009</p> <p>$y = 0,0108x + 0,016$ $R^2 = 0,9994$</p>
	1010	0,4038	35,9074	2,2676	
	156	0,9313	84,7500	5,3521	
	157	0,5663	50,9537	3,2247	
	166J	0,1566	13,0185	0,8186	
	23AL	0,4214	37,5370	2,4290	
	23BL	0,4709	42,1204	2,7473	
	236L	0,2017	17,1944	1,0996	
	237L	0,1291	10,4722	0,6682	
	216	0,1277	10,3426	0,6571	