

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Boštjan SINKAR

**VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V JELOVIH
IN SMREKOVIH GRČAH**

DIPLOMSKO DELO

Visokošolski strokovni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA LESARSTVO

Boštjan SINKAR

**VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V JELOVIH IN SMREKOVIH
GRČAH**

DIPLOMSKO DELO
Visokošolski strokovni študij

TOTAL PHENOL CONTENT IN FIR AND SPRUCE KNOT WOOD

GRADUATION THESIS
Higher professionals studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek Visokošolskega strokovnega študija lesarstva na Oddelku za lesarstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Podatki so bili pridobljeni po obdelavi in meritvah vzorcev iz Lesna tip Otiški Vrh d.d.

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

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik:

Član:

Član:

Datum zagovora:

Diplomsko delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Boštjan Sinkar

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Vs
DK	UDK 630*813.12
KG	navadna smreka/ <i>Picea abies</i> /navadna jelka/ <i>Abies alba</i> /grče/Soxhlet/UV-VIS spektroskopija/ekstraktivi/fenoli
AV	SINKAR Boštjan
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	2011
IN	VSEBNOST CELOKUPNIH FENOLOV V JELOVIH IN SMREKOVIH GRČAH
TD	Diplomsko delo (visokošolski strokovni študij)
OP	VIII, 57 str., 10 pregl., 44 sl., 13 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	Določevali smo vsebnost ekstraktivov in delež celokupnih fenolov v grčah in okoliškem lesu debela iglavcev. Z napravo po Soxhletu smo najprej ekstrahirali hidrofobne (lipofilne) komponente s cikloheksanom, nato pa še hidrofilne z zmesjo aceton/voda. Delež celokupnih fenolov v grčah in okoliškem lesu iglavcev v acetonskem ekstraktu smo določevali z UV/VIS spektroskopijo. Rezultate smo izrazili v ekvivalentih masne koncentracije monohidrata galne kisline. Delež suhe snovi je bil v grčah 93,33 %, v lesu pa 92,08 %. Lipofilnih in hidrofilnih snovi je bilo v grčah več kot v okoliškem lesu. Povprečni delež celokupnih ekstrahiranih snovi je bil v grčah 14,73 %, v okoliškem lesu pa 2,59 %. Povprečna vsebnost celokupnih fenolov je bila v grčah približno šestkrat večja kot v okoliškem lesu. Fenolne snovi na bazi živih in mrtvih vej (grč) verjetno ščitijo drevesna tkiva pred vdorom patogenih mikroorganizmov po odlomu veje.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN	Vs
DC	UDC 630*813.12
CX	Spruce/ <i>Picea abies</i> /fir/ <i>Abies alba</i> /knots/Soxhlet/UV-VIS spectroscopy/extractives/phenols
AU	SINKAR Boštjan
AA	OVEN, Primož (supervisor)/POLJANŠEK, Ida (co-supervisor)/PETRIČ, Marko (reviewer)
PP	SI-1000 Ljubljana, Rožna dolina, c. VIII/34
PB	University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Wood Science and Technology
PY	2011
TI	TOTAL PHENOL CONTENT IN FIR AND SPRUCE KNOT WOOD
DT	Graduation thesis (Higher professional studies)
NO	VIII, 57 p., 10 tab., 44 fig., 13 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	The main task was to define contents of extractives and portions of entire phenols in wood knots and in its surrounding wood of coniferous trees. We used Soxhlet method device firstly to extract hydrophobic (lipophilic) components with cyclohexane and then to extract hydrophilic components with a mixture of water and acetone. UV/VIS spectroscopy method based on acetone extract was used to define portions of entire phenols in wood knots and in its surrounding wood. The results were presented in equivalents of gallic acid mass concentration. The dry substance share in wood knots was 93.33 %, and in its surrounding wood it was 92.08 %. Lipophilic and hydrophilic substance shares in wood knots was 14.73 %, and in its surrounding wood 2.59 %. The average content of entire phenols was about six times higher in knots than in its surrounding wood. It is assumed that phenol substances protect wood tissue after breaking of branches against irruption of pathogenic microorganisms.

KAZALO VSEBINE

str.

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA.....	III
KEY WORDS DOCUMENTATION	IV
KAZALO.....	V
KAZALO PREGLEDNIC.....	VI
KAZALO SLIK.....	VII

1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	2
2.1 OPIS NAVADNE JELKE	2
2.1.1 Makroskopski opis lesa jelke	3
2.2 OPIS NAVADNE SMREKE	4
2.2.1 Makroskopski opis lesa smreke.....	5
2.3 GRČE	5
2.4 EKSTRAKTIVI.....	6
3 MATERIALI IN METODE	9
3.1 MATERIAL	9
3.1.1 Izvor testnega materiala.....	9
3.1.2 Kemikalije	10
3.2 METODE	11
3.2.1 Vizualni pregled vzorcev.....	11
3.2.2 Grob razrez vzorcev	12
3.2.3 Mletje vzorcev	13
3.2.4 Gravimetrična analiza vzorcev	15
3.2.5 Soxhletova ekstrakcija	15
3.2.6 Izvedba ekstrakcije.....	17
3.2.7 UV/VIS spektrofotometrija	20
3.2.7.1 Beer – Lambertov zakon	21
3.2.8 Določitev deleža celokupnih fenolov	22
3.2.9 Priprava vzorcev za spektrofotometrične meritve	24
3.2.10 Izračuni.....	28
4 REZULTATI IN RAZPRAVA.....	30
4.1 DOLOČITEV DELEŽA SUHE SNOVI	30
4.2 DOLOČITEV DELEŽA EKSTRAKTIVOV	33
4.3 TRAJANJE CIKLOV PRI SOXHLETOVI EKSTRAKCIJI.....	44
4.3 DOLOČITEV DELEŽA CELOKUPNIH FENOLOV	46
5 SKLEPI	53
6 POVZETEK	54
7 VIRI	56
ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

str.

Preglednica 1: Uporabljene kemikalije (Sigma-Aldrich, 2011; Sodium carbonate, 2011).	10
Preglednica 2: Delež suhe snovi v vzorcih.....	31
Preglednica 3: Delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu in acetonu in celokupni delež ekstrahiranih snovi.....	34
Preglednica 4: Masa ekstraktivov na 1g absolutno suhega lesa (dw) v cikloheksanu.	40
Preglednica 5: Masa ekstraktivov na 1g absolutno suhega lesa (dw) v acetonu.	41
Preglednica 6: Čas enega cikla Soxhletove ekstrakcije s cikloheksanom.....	44
Preglednica 7: Čas enega cikla Soxhletove ekstrakcije z acetonom.	45
Preglednica 8: Absorbanca pri A_{765} nm, slepega vzorca in različnih raztopin monohidrata galne kisline.....	46
Preglednica 9: Vsebnost celokupnih fenolov v 30 vzorcih grč in 6 vzorcev lesa.	48
Preglednica 10: Primerjalna tabela mas ekstraktivov v acetonu + cikloheksanu in deleža fenolov, določenega z UV-VIS spektroskopijo.....	51

KAZALO SLIK

str.

Slika 1: Grče, ki smo jih uporabili za izvedbo eksperimentov.....	9
Slika 2: Lupa, ki smo jo uporabili za makroskopsko ločevanje vzorcev.	11
Slika 3: Ročno sekanje grč na manjše dele.....	12
Slika 4: Velikost delcev po ročnem sekanju.....	12
Slika 5: Mlin za mletje Retsch SM 2000.....	13
Slika 6: Notranjost mlina po mletju.....	13
Slika 7: Velikost delcev po mletju.....	13
Slika 8: Mlin za metje vzorcev v prah.....	14
Slika 9: Razstavljen mlin.....	14
Slika 10: Tehtiči, v katere smo natehtali po 1 g vzorca.....	15
Slika 11: Laboratorijska tehtnica Mettler Toledo XS, na kateri smo izvajali vsa tehtanja.	15
Slika 12: Soxhletov aparat (Classic Kit: Soxhlet extractor, 2011).....	16
Slika 13: Celulozni tulec, ki smo ga uporabili za ekstrakcijo.	17
Slika 14: Priprava Soxhletovega aparata.....	18
Slika 15: Bučke, v katere smo nalili topilo.....	18
Slika 16: Stekleničke, v katere smo nalili aceton.	19
Slika 17: Folin-Ciocaltau fenolni reagent.....	22
Slika 18: Folin-Ciocaltau redčen z destilirano H ₂ O.	22
Slika 19: Monohidrat galne kisline.....	22
Slika 20: Aceton, redčen z destilirano H ₂ O v razmerju 95:5.....	23
Slika 21: Osnovna raztopina monohidrata galne kisline in slepi vzorec.....	24
Slika 22: Priprava vzorcev za pipetiranje.	24
Slika 23: Odvzemanje vzorca s pipeto.	25
Slika 24: Dodajanje reagenta FC.....	25
Slika 25: Brezvodni natrijev karbonat.....	26
Slika 26: Priprava raztopine natrijevega karbonata.....	26
Slika 27: Vzorci po dodatku natrijevega karbonata.....	26
Slika 28: UV-VIS spektrofotometer.....	27
Slika 29: Aceton, razredčen z destilirano H ₂ O, ki je služil kot referenčni vzorec.	27
Slika 30: Vstavljanje vzorca v kivete.	28
Slika 31: Graf prikazuje delež suhe snovi za vsak vzorec posebej.	32
Slika 32: Povprečna vrednost deleža suhe snovi za grče in okoliški les.	33
Slika 33: Delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu.....	35
Slika 34: Delež ekstrahiranih snovi v acetonu.....	36
Slika 35: Celokupni delež ekstrahiranih snovi.....	37
Slika 36: Povprečni delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu.....	38
Slika 37: Povprečni delež ekstrahiranih snovi v acetonu.....	38
Slika 38: Povprečni celokupni delež ekstrahiranih snovi.....	38
Slika 39: Prikaz deleža suhe snovi [%], deleža ekstrahiranih snovi v acetonu [%] in deleža ekstrahiranih snovi v cikloheksanu [%] za vsak tulec posebej.	42
Slika 40: Prikaz povprečnega deleža suhe snovi [%], povprečni delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu [%] in povprečni delež ekstrahiranih snovi v acetonu [%].	43

Slika 41: Umeritvena krivulja za monohidrat galne kisline z enačbo premice in vrednostjo koeficienta determinacije R^2	46
Slika 42: Stolpčni prikaz deleža celokupnih fenolov. V vzocih grč je veliko več celokupnih fenolov kot v vzorcih lesa, kar je bilo tudi pričakovano.	49
Slika 43: Povprečni delež fenolov v grčah in v lesu okrog grč.	50
Slika 44: Primerjalni graf mas ekstraktivov v acetonu + cikloheksanu in deležev fenolov, določenih z UV-VIS spektroskopijo.	52

1 UVOD

Grče so deli vej, ki so vklopljeni v deblo drevesa. Nekatere imajo lahko dekorativno vlogo, vendar se jim v večini primerov skušamo izogibati, ker les izgubi mehanske lastnosti (trdnost, plastičnost in elastičnost) ali zmanjšuje njegovo estetsko vrednost (Vek in Oven, 2011).

Grče iglavcev so domnevno prepojene s smolo, s katero se drevo zaščiti pred vdorom tujkov, poleg tega pa grče vsebujejo lesne ekstraktive. Ti v lesu sicer predstavljajo le nekaj odstotkov, vendar je vpliv na lastnosti lesa zelo velik. Prispevajo k značilnemu vonju lesa, povečujejo odpornost proti insektom in glivam, povečujejo gostoto, trdoto in odpornost lesa. (Vek in Oven, 2010; Vek in sod., 2010a).

Cilji diplomske naloge so bili:

- priprava vzorcev za ekstrakcijo,
- priprava cikloheksanskih in acetonskih ekstraktov s Soxhletovo ekstrakcijo,
- določiti definicijsko območje linearnega regresijskega modela, ki ga določa standardna raztopina monohidrata galne kisline,
- določiti absorbanco acetonskih ekstraktov z UV/VIS spektroskopijo,
- izračun masne koncentracije celokupnih fenolov v acetonskih ekstraktih in
- izračun deleža celokupnih fenolov na osnovi deleža suhe snovi.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OPIS NAVADNE JELKE

Opis drevesa je povzet po Brusu (2005). Navadna ali bela jelka (*Abies alba* Mill.) je do 50 m visoko in do 2 m debelo vednozeleno drevo. Mala drevesa imajo stožčasto krošnjo, ki pozneje postane valjasta ali jajčasta, veje so plosko razvite. Za starejše ali slabše vitalne jelke je značilen gnezdast ali ploščati vrh, tako imenovano štorkljino gnezdo. Koreninski sistem je močen, poleg nekaj stranskih je skoraj vedno močno razvita tudi glavna korenina. Deblo je polnolesno, skorja je v mladosti tanka, gladka in siva, v starosti razpoka v bolj ali manj pravilne pravokotne luske. Brsti so jajčasti, do 5 mm dolgi, rdečkastorjavi in niso smolnati, poganjki so sivorjavi in rahlo dlakavi. Igllice so ploščate, 10 mm – 35 mm dolge in 2 mm - 3 mm široke, v zgornjem delu krošnje zašiljene, v spodnjem delu na vrhu izrezane in na spodnjih, zasenčenih vejah razporejene v dveh redeh. Na zgornji strani so temno zelene in bleščeče, spodaj imajo dve značilni beli progi; če je drevo zdravo ostanejo na drevesu 8 do 12 let, sicer manj. Moški cvetovi so rumenkasti, valjasti, do 2 cm dolgi in sestavljeni iz številnih spiralasto nameščenih prašnikov. Ženska storžasta socvetja so pokončna, do 6 cm dolga in rastejo na koncu lanskih poganjkov v zgornji tretjini krošnje. Po oprašitvi postanejo modrozeleni, med 5-mesečnim zorenjem se spremenijo v temno rjave, valjaste, pokončne, do 20 cm dolge in 5 cm debele storže, pri katerih krovne luske z zašiljeno konico gledajo izpod plodnih lusk. Zreli storži razpadejo na drevesu.

Je enodomna, ni vetrocvetna vrsta, cveti od aprila do junija, v naravi in drevesnicah se jelka razmnožuje s pomočjo semen. Polni obrodi so vsakih 3 do 8 let.

Ustrezajo ji sveža, globoka in s hranili bogata tla na karbonatnih in nekarbonatnih matičnih podlagah. Potrebuje veliko fosforja in kalcija, nujno tudi dovolj zračne vlage. Slabše prenaša poletno sušo in vročino, ne prenese nizkih zimskih temperatur. Najbolj znana lastnost jelke je njena sencozdržnost, saj lahko tako preživi tudi do 200 let, ko pa se izboljšajo svetlobne razmere je še vedno sposobna reagirati in se vključiti v zgornjo drevesno plast.

Navadna jelka je evropska vrsta, samoniklo raste skoraj po vsej Sloveniji, najpogosteje v dinarskem in predalpskem svetu, manjka samo v panonskem in sredozemskem svetu. Ob bukvi je najbolj razširjena drevesna vrsta dinarskega kraškega sveta pri nas. Najpogosteje raste na karbonatnih tleh. Poleg mešanih gradi jelka tudi čiste sestoje, večinoma na nekarbonatnih tleh na osojnih področjih med 350 in 900 m n. v.

Jelka je z 9,1 % v skupni lesni zalogi naša tretja gospodarsko najpomembnejša drevesna vrsta. Njen les je mehak, elastičen, lahek in ima dobro izražene letnice. Razen na poškodovanih drevesih v bližini ran je brez smolnih kanalov. Je pomembna medonosna vrsta, skoraj vsi njeni deli vsebujejo dišča, v zdravstvu ali v kozmetični industriji uporabna eterična olja.

Med biotskimi dejavniki, ki lahko škodujejo jelki, so pogosti napadi različnih gliv, na primer štorovke (*Armillaria mellea*) ali jelovega raka (*Melampsorella caryophyllacearum*) in osip jelovih iglic (*Lophodermium nervisequium*), med žuželkami so jelki najnevarnejše jelova uš (*Dreyfusia musslini*), jelov lubadar (*Ips curvidens*) in druge.

2.1.1 Makroskopski opis lesa jelke

Jelka ima neobarvano jedrovino, zato se beljava in jedrovina barvno ne ločita. Les je rdečkastobelega preko rumenkastobelega do skoraj bele barve, pogosto s sivkastovijoličnim nadihom. Na lokaciji mokrega srca se les rahlo obarva. Branike so razločne. Rani les je svetel ter belkast in postopoma prehaja v rdečkastorumen kasni les. Normalnih smolnih kanalov ni, zato jedrovina nima značilnega vonja po smoli. Sveže mokro srce ima neprijeten kiselkast vonj.

Jelovina je zelo podobna smrekovini. Najpomembnejši znak za njuno makroskopsko razločevanje so normalni smolni kanali, ki se pojavljajo samo pri smreki. Aksialne smolne kanale na zglajenem prečnem prerezu vidimo kot svetle pike. Jelovina je brez leska, veje potekajo skoraj pravokotno na os drevesa, zato ima zažgana jelovina bolj okrogle grče kot smreka. (Čufar, 2002)

2.2 OPIS NAVADNE SMREKE

Opis drevesa je povzet po Brusu (2005). Navadna smreka (*Picea abies* (L.) Karsten) je vednozeleno, do 50 m visoko in do 1 m debelo iglasto drevo. Ima stožčasto krošnjo in plitev koreninski sistem. Globina koreninskega sistema je močno odvisna od vrste tal. Na plitvih ali zelo mokrih, zbitih tleh so korenine povsem na površini ali le do nekaj decimetrov globoke in čeprav pokrivajo veliko površino, drevesu ne omogočajo dobre stabilnosti. Na globokih in rahlih tleh so lahko korenine tudi globlje in včasih segajo do globine 3 m. Deblo je ravno in polnolesno, veje izraščajo v izrazitih vejnih vencih. Skorja na deblu je rdečkasta, sprva gladka, pozneje pa začne odstopati v obliki okroglastih ploščic. Brsti so jajčasto zašiljeni, rjavkasti in niso pokriti s smolo. Igllice so dolge 1 cm - 2,5 cm, široke do 1 mm, v prečnem prerezu rombaste, na poganjku razvrščene spiralno. Iz vejice izraščajo na značilnih nastavkih in na drevesu ostanejo 5 do 7 let. V zgornjem, osvetljenem delu krošnje so ščetkasto razporejene okrog vejice, v zasenčenih delih so razčesane. Moški cvetovi so do 2 cm dolgi, sprva rdečkasti in pozneje rumenorjavi, ženska storžasta socvetja so rdeča ali zelena, pokončna in rastejo na koncu poganjkov v zgornji tretjini krošnje. Po oploditvi se razvijejo v storže, ki se med zorenjem povesejo in so sprva zelenkasti ali rdečkasti, nato rjavkasti. Storži so dolgi 10 cm - 16 cm in debeli 3 cm - 4 cm.

Je enodomna in vetrocvetna vrsta, cveti aprila in maja. Večinoma se razmnožuje s semenom. Plodni obrod je vsaka 3 do 4 leta, na hladnih rastiščih redkeje, tudi na 4 do 8 let.

Navadna smreka je zelo prilagodljiva vrsta s široko ekološko amplitudo. Najraje ima sveža in zračna tla na vseh podlagah in nima prevelikih potreb po hranilih. Potrebuje visoko zračno vlago in skozi vse leto enakomerno razporejene padavine. Suše in vročine ne prenaša, občutljiva je na onesnažen zrak. Je značilna vrsta hladnih rastišč z zelo majhnimi potrebami po poletni toploti. Odporna je proti mrazu in nizkim zimskim temperaturam. Je polsvetloljubna vrsta.

Navadna smreka je značilna borealno alpska vrsta. Njen areal običajno delimo na tri ločene dele. V alpsko-ilirsko-balkanskem delu je gorska vrsta in raste v srednji in jugovzhodni Evropi, predvsem v Alpah in v Dinarskem gorovju. V hercinsko-karpatskem delu raste v

Hercinskem gorovju in v Karpatih. V skandinavsko-sarmatskem delu raste v severni Evropi in sega skoraj do severa Skandinavije, od tam pa strnjeno proti vzhodu v Rusijo. V Sloveniji je naravnih rastišč smreke malo, saj smrekovja predstavljajo le 1,4 % vseh gozdnih rastišč, razširjena pa so le v Alpah in Dinaridih.

2.2.1 Makroskopski opis lesa smreke

Smrekovina ima neobarvano jedrovino, zato se beljava in jedrovina barvno ne ločita. Les je večinoma rumenkastobel, v starosti tudi rumenorjav. Branike od ozkih do zelo širokih, so raznolčne. Prehod iz svetlega, belkastega ranega lesa do rdečkastorumenega kasnega lesa je večinoma postopen, poskobljane površine imajo svilnat lesk. Svež les diši po smoli. Pogost je pojav smolnatih žepkov.

Smrekovina je zelo podobna jelovini. Glavni znak za ločevanje obeh vrst so normalni smolni kanali, ki jih ima samo smrekovina. Poleg tega je jelovina bolj bela, pogosto z modrikastim nadihom.

2.3 GRČE

Povzeto po Čermak (1998): Grče so ostanki vej in prav zato so to v lesu najpogostejše napake. Starejše veje se sušijo in lomijo, njihove ostanke pa postopoma prerašča lesno tkivo debla. Pri iglavcih se suhe veje ne lomijo tik ob deblu, štrclji vej so dolgi in praviloma ne trohnijo.

Grče delimo na:

- vrasle grče in
- izpadne grče.

Vrasle grče so ostanki zdravih, živih vej. Trdno so zraščene s tkivom debla, zato govorimo o vraslih grčah, ki pri predelavi ne izpadejo. Po predelavi jih včasih odstranjujemo in krpamo, lahko pa imajo tudi estetski pomen.

Izpadne grče so ostanki suhih in polomljenih vej, ki se počasi vraščajo v lesno maso debla. Te grče so značilne za iglavce, niso zraščene z lesom debla in zato pri obdelavi izpadejo. To so izpadajoče grče – nevrastle grče.

Grče so bolj ali manj pravilno razporejene v posamezna področja po celotni višine debla. Spodnji zunanji del debla je brez grč, nato sledi področje izpadnih grč, ki zajema spodnji, notranji in srednji del debla, najobsežnejše pa je področje vraslih in zdravih grč, ki so v zgornjem delu debla in zajamejo celoten premer. S starostjo drevesa narašča velikost in številčnost grč.

Grče, ki so temnejše in gostejše od preostalega lesa, negativno vplivajo na vse tehnične, predvsem pa mehanske lastnosti (zmanjšujejo cepljivost, trdnost, elastičnost in plastičnost). Zmanjšujejo tudi materialno vrednost sortimentov, ker jih uvrščamo v nižje kakovostne razrede.

2.4 EKSTRAKTIVI

Povzeto po Vek in Oven (2010) ter Vek in sod. (2010b): Vse vrste lesa kot tudi druga rastlinska tkiva vsebujejo poleg osnovnih gradnikov celične stene olesenelega vlakna, torej celuloze, polioz in lignina, tudi večje ali manjše količine drugih snovi, ki jih imenujemo akcesorne oziroma ekstraktivne sestavine lesa. Ekstraktivne snovi so med posameznimi vrstami različne, torej lahko vrstam vsake od družin pripišemo karakteristično spojino. Različna porazdelitev teh komponent oziroma kvalitativne razlike ekstraktivov med drevesnimi vrstami lahko služijo za namene kemo-taksonomije, ki predstavlja rastlinsko taksonomijo na osnovi razlik v kemijski sestavi. Ekstraktivne snovi, ki so karakteristične za določeno drevesno vrsto, imenujemo indeksne komponente oziroma spojine. Za drevesne vrste npr. rodu borov (*Pinus*) so indeksne komponente pinosilvin, pinosilvin monometil eter, pinocembrin in pinobanksin, torej se te spojine ne pojavljajo v lesovih drugih drevesnih vrst.

Za ekstraktivne snovi je značilna tudi različna porazdelitev po radialnem prerezu, pri čemer sladkor in snovi, topne v rastlinskem soku ter škrob in maščobe (rezervna hrana) najdemo v beljavi, medtem ko so fenolne snovi značilne za jedrovino.

Poleg omenjenega obstajajo razlike znotraj strukture lesa, pri čemer so maščobe locirane v parenhimskih celicah (trakovno tkivo), medtem ko so smolne kisline produkt epitelnih celic, ki z njimi polnijo smolne kanale. Osnovni gradniki celične stene, torej celuloza, lignin in polioze, prispevajo k mehanskim lastnostim lesa, medtem ko ekstraktivne snovi vplivajo na barvo, vonj, trajnost lesa ter nadalje še na sušenje, lastnosti lepilnega spoja, kvaliteto površinskega sistema ...

Ekstraktivi predstavljajo snovi v lesu, ki jih je mogoče z različnimi topili (polarnimi in nepolarnimi), kot sta na primer aceton in diklorometan, ekstrahirati iz lesa. Predstavljajo heterogeno skupino snovi, med katere uvrščamo terpene, polifenole (lignani, stilbeni, flavonoidi in drugi aromati) ter druge snovi, kot so na primer maščobe, maščobne kisline ...

Kot že omenjeno, imajo lesni ekstraktivi velik vpliv na fizikalne in mehanske lastnosti lesa, s tem pa tudi na njegovo uporabnost pri nadaljnji predelavi. Pomembno je poznavanje njihovega vpliva na sorpcijske lastnosti pri sekundarnih spremembah lesa, torej pri transformaciji beljave v jedrovino. Ekstraktivi, ki se nahajajo v celičnih lumnih in v mikrorazpokah celičnih sten, imajo velik vpliv na gostoto, trdnost, elastičnost, permeabilnost in higroskopsnost lesa. Poznana je odvisnost termičnih lastnosti lesa od vsebnosti ekstraktivov oziroma njihov vpliv na toplotno prevodnost, ki je definirana kot sorazmernostni koeficient med temperaturnim gradientom in gostoto toplotnega toka. Tako se toplotna prevodnost λ [W/mK] večja z večanjem deleža ekstraktivnih snovi. Ker je lignoceluloza brezbarvna, pripisujemo barvo lesa oziroma obarvano jedrovino, npr. pri češnji, ebenovini in mahagoniju, ekstraktivnim snovem. Prav tako je posledica ekstraktivnih snovi tudi vonj, ki ga pripisujemo predvsem hlapljivim snovem. Ekstraktivi se veliko uporabljajo na farmacevtskem področju (npr. kinin), v naravi pa se pojavljajo tudi kot alergeni in toksini. V preteklosti so starodavna ljudstva toksične ekstraktive uporabljala pri lovu in ribolovu. V papirni industriji ekstraktivi povzročajo velike nevšečnosti in se pojavljajo v obliki usedlin na celuloznih vlaknih papirne kaše. Pri tem negativno vplivajo na potek proizvodnje, ker povzročajo penjenje pri izdelavi papirne kaše

in zmanjšajo žilavost papirja. Negativno vplivajo tudi pri uporabi lesa kot konstrukcijskega materiala, saj korodirajo kovinske spoje, ki so v stiku z lesom. Problemi se pojavljajo tudi pri površinski obdelavi, saj ekstraktivi negativno vplivajo na adhezijo površinskega sistema. Najpomembnejši pa je vpliv ekstraktivov oziroma drevesnih izločkov na trajnost in naravno odpornost lesa, saj imajo določeni ekstraktivi fungicidne in insekticidne lastnosti. Na podlagi omenjenega je razvidno, da imajo ekstraktivi pomemben vpliv na izbiro načina uporabe lesa.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Izvor testnega materiala

Material, ki smo ga potrebovali za izvedbo eksperimentov, smo dobili iz podjetja Lesna TIP, Otiški vrh, kjer izdelujejo iverne plošče. Grče (slika 1) pred mletjem lesa v iveri odstranijo, zaradi prevelike gostote in trdote, kar povzroči krhanje rezil.



Slika 1: Grče, ki smo jih uporabili za izvedbo eksperimentov.

3.1.2 Kemikalije

V preglednici 1 so prikazane kemikalije, ki smo jih uporabili v eksperimentu in njihove osnovne značilnosti.

Preglednica 1: Uporabljene kemikalije (Sigma-Aldrich, 2011; Sodium carbonate, 2011).

Vrsta kemikalije	Formula	Proizvajalec	Vrsta topila	Molska masa [g/mol]	Tališče [°C]	Vrelišče [°C]
Cikloheksan	C_6H_{12}	Sigma-Aldrich	nepolarno	86,16	4-7	80,7
Aceton	CH_3COCH_3	Sigma-Aldrich	polarno	58,08	-94	56
Destilirana voda	H_2O	/	polarno	18,02	0	100
Monohidrat galne kisline	$C_7H_6O_5$	Fluka	/	188,13	/	/
Reagent FC	/	Sigma	/	/	/	/
Natrijev karbonat	Na_2CO_3	Riedel-deHaen	/	105,99	851	1600

3.2 METODE

3.2.1 Vizualni pregled vzorcev

Grče, ki smo jih dobili za izpeljavo eksperimenta, smo ločili po zgradbi lesa na grče iglavcev in listavcev ter vzorce, za katere nismo bili prepričani ali jih lahko uvrstimo med grče. Nekje je bilo lesno tkivo samo zavito in ni vsebovalo grče ali pa le ta ni bila vidna.

Grče iglavcev in listavcev smo med seboj ločevali po makroskopski metodi:

- vonj – grče iglavcev so imele vonj po smoli,
- prisotnost smole – tu smo s povečevalno lupo (slika 2) iskali smolne kanale pri smreki in travmatske smolne kanale pri jelki. Najprej smo morali vzorec orientirati in potem v aksialni smeri iskati majhne bele pike, ki predstavljajo te kanale,
- barva lesa, ki je obdajal grčo in
- vidnost ranega in kasnega lesa, ki je viden pri jelki in smreki.



Slika 2: Lupa, ki smo jo uporabili za makroskopsko ločevanje vzorcev.

Za izpeljavo eksperimenta smo uporabili samo grče iglavcev. Tako smo izbrali 54 vzorcev.

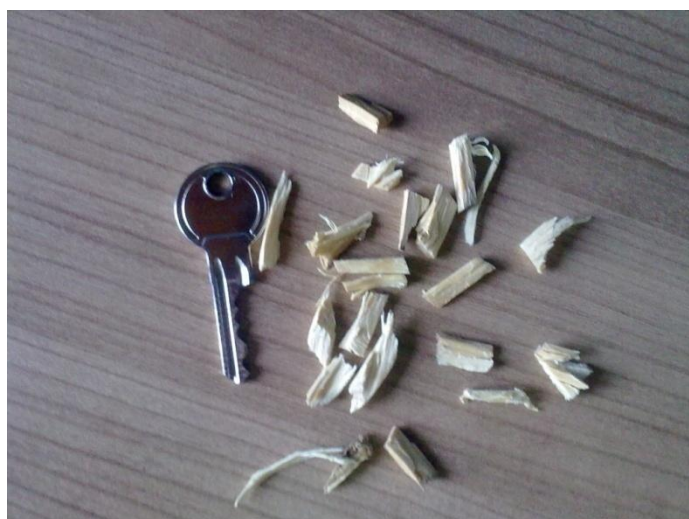
3.2.2 Grob razrez vzorcev

Najprej je bilo treba grče grobo razrezati. Mlina za mletje iveri nismo uporabili, saj ga nismo mogli popolnoma očistiti med mletjem posameznih vzorcev, to pa je za naš eksperiment nujno potrebno, saj se iveri posameznih grč med seboj ne smejo pomešati.

Vzorci smo najprej z dletom ročno razsekali na manjše dele (slika 3) in jih potem mleli v mlinih. Na sliki 4 je predstavljena velikost delcev po ročnem sekanju.



Slika 3: Ročno sekanje grč na manjše dele.



Slika 4: Velikost delcev po ročnem sekanju.

3.2.3 Mletje vzorcev

Grče in les, ki smo jih razsekali na manjše dele, smo kasneje zmleli še na manjše delce (slika 7) z mlinom Retsch SM 2000 (slika 5, slika 6) v Laboratoriju za patologijo iz zaščito lesa. Pri mlinu, ki smo ga uporabili, smo lahko izbirali velikost sita, glede na velikost delcev, ki smo jih želeli dobiti, v našem primeru 3 mm – 4 mm. Pomembno je bilo, da smo po vsakem mletju grče ali lesa mlin očistili s čopičem in krpo, da se delci posameznih grč med seboj ne bi pomešali.



Slika 5: Mlin za mletje Retsch SM 2000.



Slika 6: Notranjost mlina po mletju.



Slika 7: Velikost delcev po mletju.

Po končanem grobem mletju je bilo potrebno vzorce zmleti še v fin prah. To smo naredili na Oddelku za lesarstvo z mlinom Retsch ZM 200 (slika 8), ki je imel velikost sita 0,5 mm. Pri mletju so se pojavljale velike težave, če je bila grča preveč smolnata ali pa smo prehitro dozirali vzorce v mlin. V takih primerih se je sito zamazalo oz. mašilo in je bilo njegovo čiščenje zamudno. Poleg tega pa lahko nepravilno mletje vodi do pregrevanja vzorca in do kemijskih sprememb snovi v lesu. Na sliki 9 je prikazan razstavljen mlin, ki smo ga uporabili za fino mletje vzorcev.

Mlin smo čistili tako, da smo ga razstavili, v ultrazvočno kopel IKA nalili etanol in vanj vstavili dele, ki so bili onesnaženi s smolo, tam smo jih pustili približno 10 min, vzeli ven, obrisali, zdrgnili ostanke s sirkovo krtačo in posušili s stisnjenim zrakom.



Slika 8: Mlin za metje vzorcev v prah.



Slika 9: Razstavljen mlin.

3.2.4 Gravimetrična analiza vzorcev

Pri tehtanju je bila potrebna velika natančnost, saj so podatki služili za nadaljnje izračune. Tehtali smo z laboratorijsko tehtnico Mettler Toledo XS (slika 11) na 4 decimalna mesta natančno. Delo je potekalo tako, da smo najprej pripravili in ustrezno označili tehtiče (slika 10), jih tehtali in zapisali njihovo težo. Tehtnico smo starirali in v tehtiče natehtali približno po 1 g vzorca. Tehtiče z vzorci smo vstavili v laboratorijski sušilnik za 24 ur pri temperaturi 105 °C. Po sušenju smo vzorce skupaj s tehtiči tehtali in izračunali delež suhe snovi (glej poglavje Izračuni).



Slika 10: Tehtiči, v katere smo natehtali po 1 g vzorca.

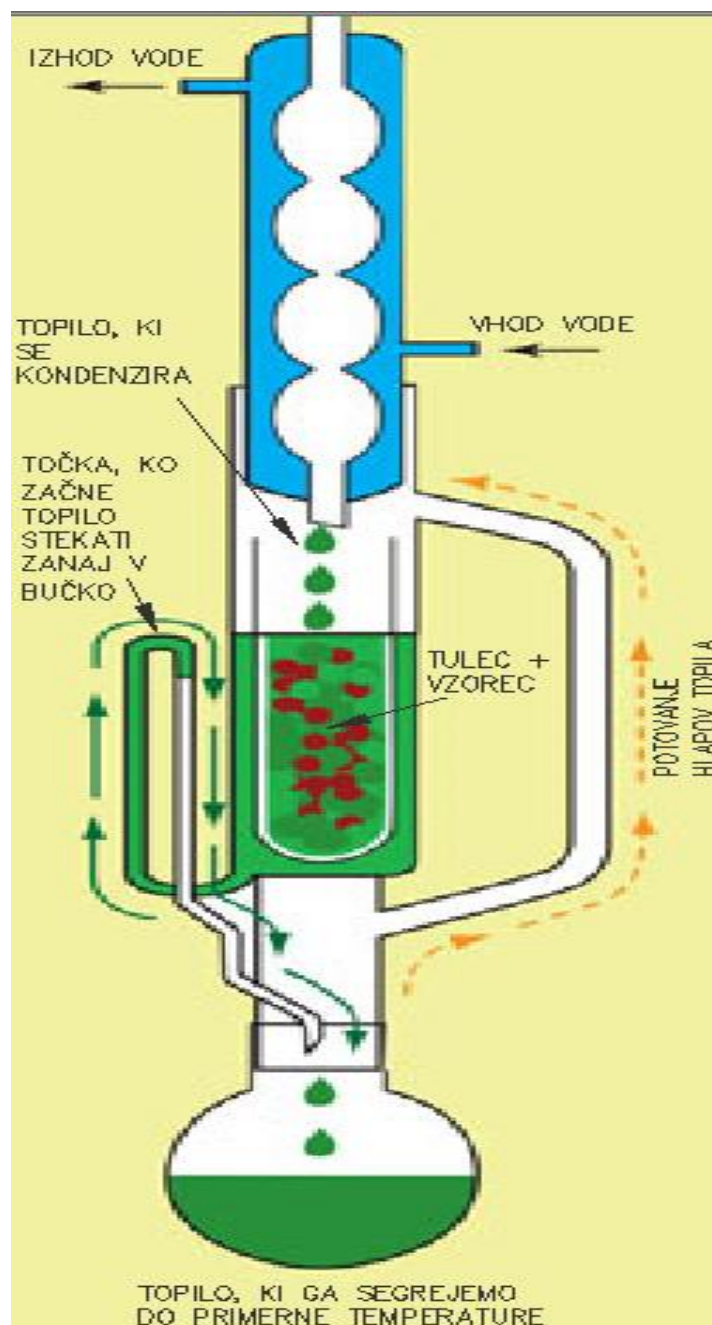


Slika 11: Laboratorijska tehtnica Mettler Toledo XS, na kateri smo izvajali vsa tehtanja.

3.2.5 Soxhletova ekstrakcija

Ekstrakcijski aparat Soxhlet (slika 12) je leta 1879 izumil Franz von Soxhlet. Prvotno je bil načrtovan za ekstrakcijo lipidov iz trdnih materialov, vendar ni omejen samo za to vrsto ekstrakcije. Značilno za Soxhletovo ekstrakcijo je, da ima želena spojina omejen delež topnih snovi, ki so topne v topilu in nečistoče, ki so netopne v topilu. (Soxhlet extractor, 2011)

Delovanje aparata (slika 12): v bučko nalijemo topilo, ki ga segrevamo s pomočjo grelnika. Topilo odpareva, hlapi potujejo po cevki (smer poteka prikazujejo rumene puščice) do hladilnika, katerega hladimo z mrzlo vodo. Hlapi (zelene kapljice) se kondenzirajo in padejo na vzorec (rdeča barva) iz katerega se izpirajo topne snovi. Ko topilo doseže najvišjo višino, steče nazaj v bučko (smer toka kažejo zelene puščice). Če je vretje premočno, nastane prevelik fluks in topilo steče nazaj, preden doseže maksimalno višino.



Slika 12: Soxhletov aparat (Classic Kit: Soxhlet extractor, 2011)

3.2.6 Izvedba ekstrakcije

1. Za izvedbo ekstrakcije smo uporabili celulozne tulce (slika 13), jih zaprli z vato, označili s številko, ki je pripadala vzorcu, jih stehali ter dali v sušilnik za 24 ur in nastavili temperaturo na 105 °C. Po končanem sušenju smo tulce zložili v eksikator, da se ne bi navlažili in jih stehali ter dali nazaj v eksikator. Pri tehtanju je bilo potrebno paziti, da tulec ni bil predolgo na zraku, ker se je začel vlažiti, posledično se mu je teža povečevala.



Slika 13: Celulozni tulec, ki smo ga uporabili za ekstrakcijo.

2. Od vseh 54 vzorcev je bilo potrebno izbrati 30 vzorcev grč in 6 vzorcev lesa, ki jih je obdajal, skupaj smo za poskus tako imeli 36 vzorcev. Tehtanje je potekalo tako, da smo na papir natrosili 2,5 g vzorca, ga stresli v tulec in zaprli z vato. Za vsako tehtanje smo uporabili nov papir, da se vzorci med seboj ne bi pomešali. Tulce z vzorci smo takoj po tehtanju vstavili v eksikator, da se ne bi navlažili.
3. Za ekstrakcijo smo uporabili dve različni topili:
 - cikloheksan (C_6H_{12}), ki je nepolarno topilo, brez barve, ima značilen vonj in je lahko gorljiv.
 - zmes acetona (C_3H_6O), ki je polarno topilo brez barve in je lahko gorljivo, in vode.

Naše vzorce smo ekstrahirali zaporedno, naprej s cikloheksanom, zatem pa še z acetonom.

V laboratoriju lahko naenkrat ekstrahiramo 12 vzorcev. Tako smo v 12 bučk nalili po 250 mL cikloheksana (slika 15), dodali po 3 vrelnе kamenčke, v ekstraktorje vstavili tulce z vzorci in sestavili aparaturo (slika 14). Temperatura, pri kateri je potekal postopek, je bila 135 °C, čas ekstrakcije pa 24 ur.



Slika 14: Priprava Soxhletovega aparata.



Slika 15: Bučke, v katere smo nalili topilo.

Pri prvi ekstrakciji smo merili čas enega cikla, ki smo ga definirali od začetka kondenziranja hlapov do točke, ko začne topilo teči nazaj v bučko. Čas merjenja je bil 1 uro.

Po končani ekstrakciji smo aparat razdrli in iz bučk odvzeli po 50 mL ekstrakta. Vzorce smo shranili v zamrzovalnik, kjer so zamrznili, preostali del topila pa zavrgli med odpadna topila.

Aparat smo očistili in nadaljevali ekstrakcijo s polarni topilom aceton/voda, razmerje (v/v). Vzorca so ostali enaki. Temperatura je bila 110 °C, čas ekstrakcije pa 24 ur. Enako kot pri cikloheksanu, smo tudi pri acetonu merili čas enega cikla.

Po končani ekstrakciji smo aceton nalili v stekleničke (slika 16) in jih shranili v zamrzovalnik.



Slika 16: Steklениčke, v katere smo nalili aceton.

Postopek ekstrakcije smo ponovili trikrat in tako dobili vzorce, ki smo jih potrebovali za nadaljnjo analizo.

Na osnovi mas tulcev, vate in vzorcev pred sušenjem in po njem, smo lahko izračunali celokupni delež ekstrahiranih snovi (glej poglavje Izračuni).

Ugotoviti smo želeli tudi delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu in delež snovi, ki so se ekstrahirale v acetonu.

Delež snovi, ki so se ekstrahirale v cikloheksanu smo določili tako, da smo iz cikloheksanskih ekstraktov v petrijevke nalili približno po 10 ml ekstrakta in to stehali, zatem pa prestavili v sušilnik pri 105 °C za 24 ur. S tem smo lahko pridobili podatek o masi suhega ostanka (glej poglavje Izračuni).

Delež snovi, ki so se ekstrahirale v acetonu smo določili tako, da smo iz acetonskih ekstraktov v petrijevke nalili približno po 10 ml ekstrakta in to stehali, zatem pa prestavili v sušilnik pri 105 °C za 24 ur. S tem smo lahko pridobili podatek o masi suhega ostanka (glej poglavje Izračuni).

3.2.7 UV/VIS spektrofotometrija

Povzeto po Lobnik (2010). Spektralna fotometrija se uporablja za določevanje koncentracij v raztopinah, temelji pa na absorpciji svetlobe (UV, vidne) v raztopini. Če vemo, kateri del spektra absorbirajo iskani elementi oz. spojine, lahko iz količine absorbirane svetlobe (merjenje intenzivnosti svetlobe, ki je prodrla skozi vzorec) ugotovimo njihovo koncentracijo v raztopini.

UV/VIS spektroskopija temelji na absorpciji ultravijolične in vidne svetlobe. Absorpcija je proces, pri katerem kemijske substance v za svetlobo prepustnem mediju selektivno sprejmejo točno določene frekvence elektromagnetnega sevanja.

Absorbanca A je definirana kot:

$$A = \log_{10} T = \log \frac{I_0}{I} \quad \dots(1)$$

I_0 = začetna intenziteta sevanja,

I = izhodna intenziteta sevanja,

T = transmisija,

A = absorbanca.

3.2.7.1 Beer – Lambertov zakon

Povzeto po Lobnik (2010). Absorbanca je odvisna od količine molekul, ki absorbirajo elektromagnetno valovanje, ko le-to preide skozi raztopine. Z drugimi besedami, absorbanca je odvisna tako od koncentracije raztopine kot tudi od dolžine poti svetlobe pri prehodu skozi raztopine; neodvisna pa je od intenzitete elektromagnetnega sevanja. Razmerje med absorbanco, koncentracijo in dolžino poti sevanja je definirano kot Beer-Lambertov zakon:

$$A = C \times l \times \varepsilon \quad \dots(2)$$

Kjer je:

C = koncentracija raztopine [mol/L],

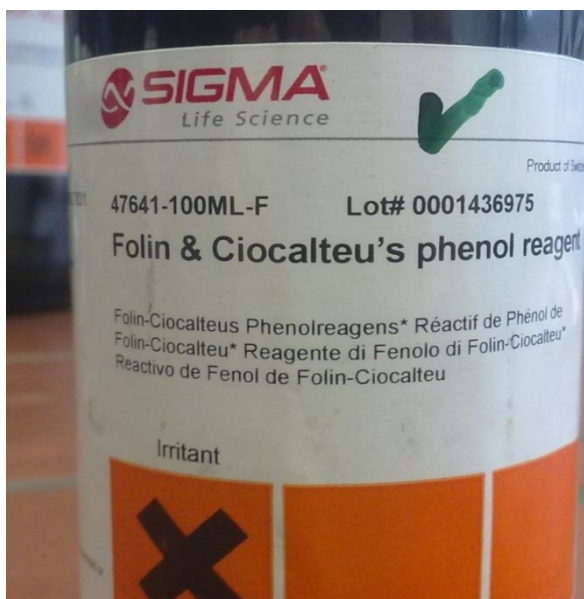
l = dolžina poti valovanja skozi raztopino [cm],

ε = molarna absorptivnost,

A = absorbanca.

3.2.8 Določitev deleža celokupnih fenolov

Delež celokupnih fenolov v ekstraktih grč smreke in jelke smo določili spektrofotometrično z UV-VIS spektrofotometrijo, z uporabo reagenta Folin Ciocaltau (FC) (slika 17) po postopku Folin-Ciocaltau. (Scalbert in sod., 1989, cit. po Vek in sod., 2010a). Pripravili smo vodno raztopino reagenta Folin-Ciocaltau (slika 18), ki smo jo redčili z destilirano vodo v razmerju 1/9, (v/v).



Slika 17: Folin-Ciocaltau fenolni reagent.



Slika 18: Folin-Ciocaltau redčen z destilirano H₂O.

Za standardno raztopino smo uporabili monohidrat galne kisline (slika 19). Natehtali smo 0,2821 g monohidrata galne kisline, prelili s 5 mL metanola, da se je monohidrat raztopil in prelili z destilirano H₂O, do oznake 500 ml na merilni bučki.



Slika 19: Monohidrat galne kisline.

Za slepi vzorec smo uporabili aceton, ki smo ga mešali v razmerju 95:5 (aceton : destilirana H₂O) (slika 20). To je zmes topila, ki smo ga uporabili pri ekstrakciji.

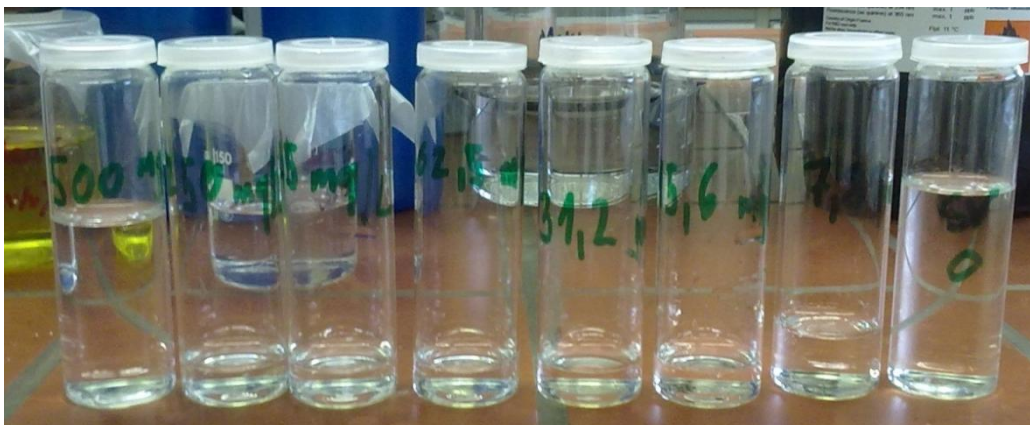


Slika 20: Aceton, redčen z destilirano H₂O v razmerju 95:5.

Za določitev umeritvene krivulje smo uporabili različne koncentracije monohidrata galne kisline (slika 21) in aceton, razredčen z destilirano H₂O, ki nam je služil kot slepi vzorec.

Koncentracije monohidrata galne kisline:

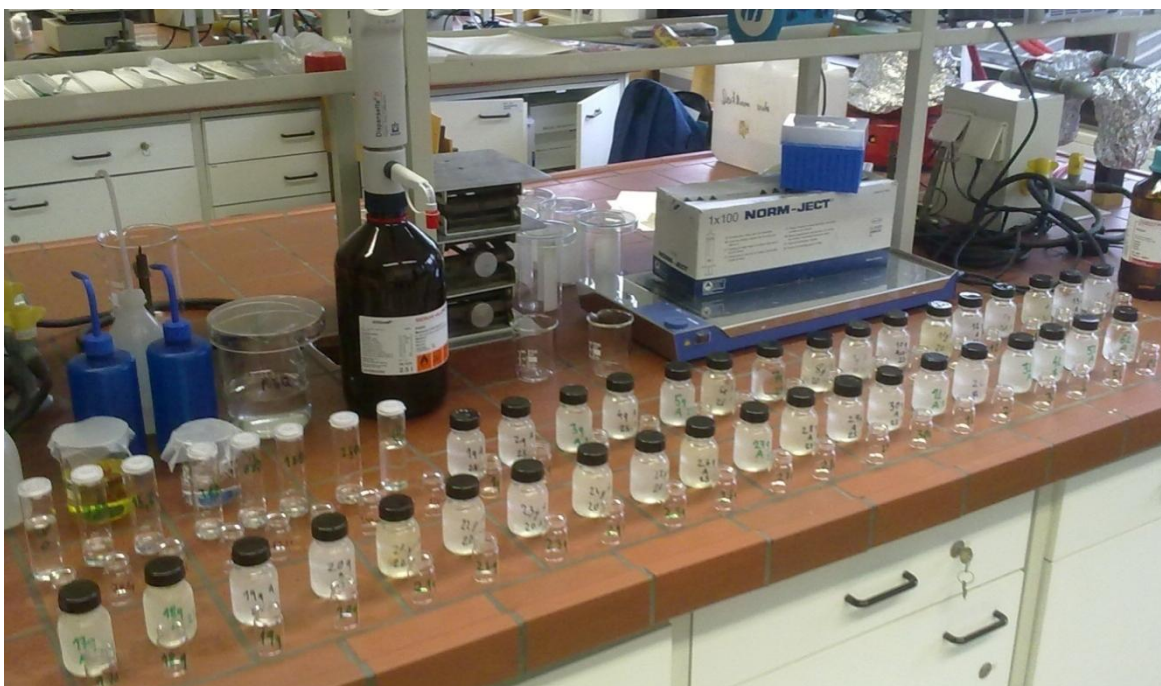
1. 500 mg/L – tu smo natočili samo zgoraj opisano raztopino monohidrata galne kisline,
2. 250 mg/L – odvzeli smo 5 mL raztopine monohidrata galne kisline s koncentracijo 500 mg/L in dodali 5 mL destilirane H₂O,
3. 125 mg/L – odvzeli smo 5 mL raztopine monohidrata galne kisline s koncentracijo 250 mg/L in dodali 5 mL destilirane H₂O,
4. 62,5 mg/L – odvzeli smo 5 mL raztopine monohidrata galne kisline s koncentracijo 125 mg/L in dodali 5 mL destilirane H₂O,
5. 31,2 mg/L - odvzeli smo 5 mL raztopine monohidrata galne kisline s koncentracijo 62,5 mg/L in dodali 5 mL destilirane H₂O,
6. 15,6 mg/L - odvzeli smo 5 mL raztopine monohidrata galne kisline s koncentracijo 31,2 mg/L in dodali 5 mL destilirane H₂O,
7. 7,81 mg/L - odvzeli smo 5 mL raztopine monohidrata galne kisline s koncentracijo 15,6 mg/L in dodali 5 mL destilirane H₂O.



Slika 21: Osnovna raztopina monohidrata galne kisline in slepi vzorec.

3.2.9 Priprava vzorcev za spektrofotometrične meritve

Iz zamrzovalnika smo vzeli vzorce, ki smo jih dobili z acetonsko ekstrakcijo (slika 22).



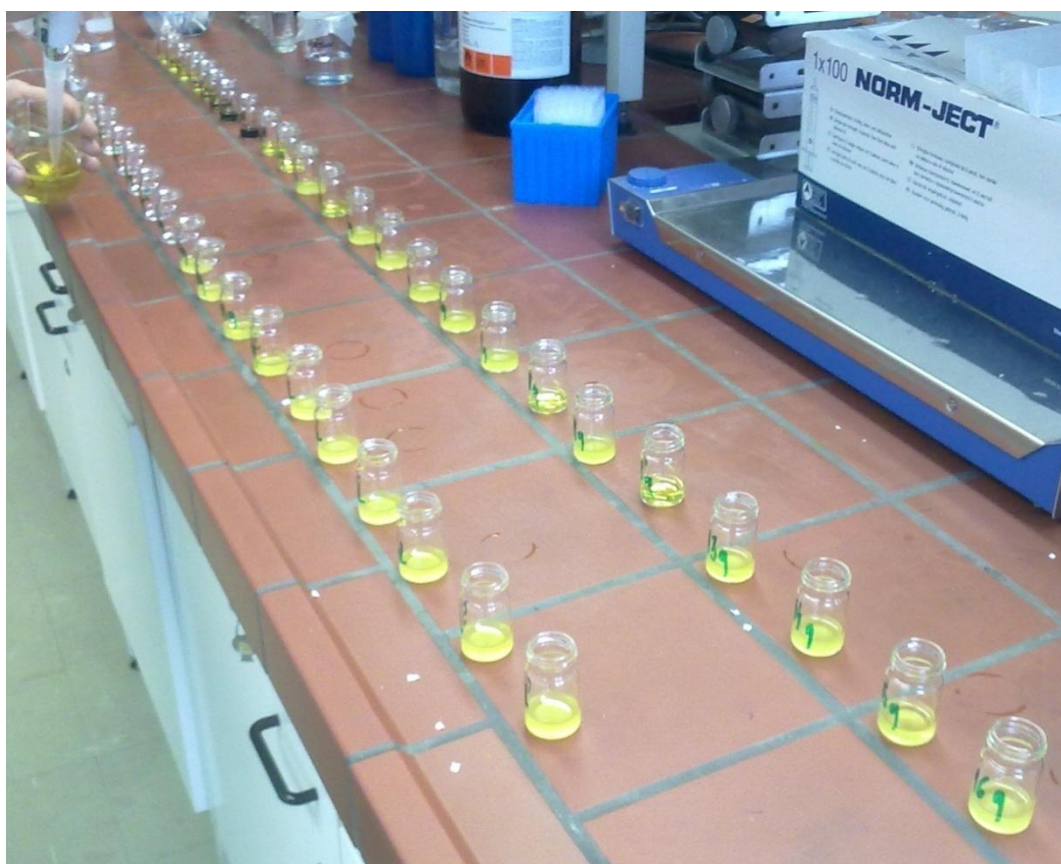
Slika 22: Priprava vzorcev za pipetiranje.

Iz vsake stekleničke (tudi iz raztopine monohidrata galne kisline in slepega vzorca), smo s pipeto odvzeli po 0,5 mL vzorca (slika 23).



Slika 23: Odvzemanje vzorca s pipeto.

Po odvzemu vseh vzorcev smo dodali po 2,5 mL reagenta FC (slika 24).



Slika 24: Dodajanje reagenta FC.

Po 30 sekundah smo dodali še 2 mL raztopine natrijevega karbonata Na_2CO_3 (slika 25), ki smo jo predhodno pripravili tako, da smo natehtali 7,5 g natrijevega karbonata in ga razredčili s 100 mL destilirane H_2O ter postavili na mešalnik (slika 26). Slika 27 prikazuje obarvanost vzorcev po tem, ko smo dodali natrijev karbonat.



Slika 25: Brezvodni natrijev karbonat.



Slika 26: Priprava raztopine natrijevega karbonata.



Slika 27: Vzorca po dodatku natrijevega karbonata.

Po končanem pipetiranju smo vzorce dobro premešali, jih vstavili v zaprt in temen prostor, kjer je sledila dvourna inkubacija.

Po končani inkubaciji smo z UV-VIS spektrofotometrom Perkin-Elmer Lambda 2 (slika 28) določili absorbance vzorcev pri valovni dolžini 765 nm. Pri tem smo uporabili kvarčne kivete z 10 mm optične poti. Kot smo že omenili, smo kot referenčni vzorec uporabili zmes aceton/voda v razmerju 95:5 (v/v) (slika 29). Slika 30 prikazuje pipetiranje vzorca v kivete.

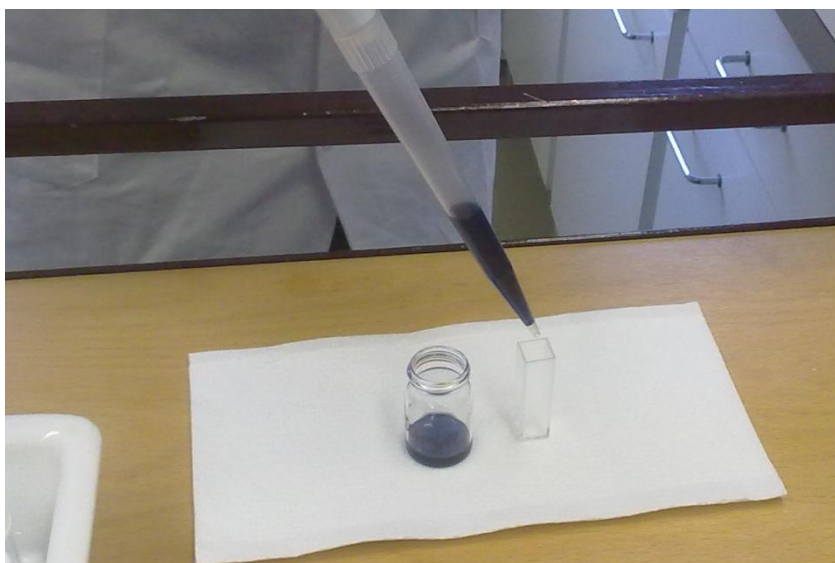
Vsebnost skupnih fenolnih snovi v vzorcih smo določili na osnovi absorbance A_{765} .



Slika 28: UV-VIS spektrofotometer.



Slika 29: Aceton, razredčen z destilirano H_2O , ki je služil kot referenčni vzorec.



Slika 30: Vstavljanje vzorca v kivete.

3.2.10 Izračuni

1. Postopek gravimetrične analize vzorcev je opisan na strani 15, v poglavju: Gravimetrična analiza vzorcev.
2. Delež suhe snovi (s.s.) smo izračunali po sledeči enačbi:

$$\text{delež suhe snovi (s.s.)} = \frac{\text{masa absolutno suhega lesa [g]}}{\text{masa vlažnega lesa [g]}} \quad \dots(3)$$

3. Iz deleža suhe snovi (s.s.) smo izračunali tudi maso absolutno suhega lesa celotnega vzorca (d_w), ki jo potrebujemo pri nadaljnjih izračunih:

$$d_w = m_{vz} \times s.s. \quad \dots(4)$$

4. Masno koncentracijo celokupnih fenolov (γ) v acetonskih ekstraktih [mg/L] pa smo izračunali na podlagi enačbe premice regresijskega modela:

$$\gamma \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] = \frac{\text{absorbanca} - 0,071}{0,0094} \quad \dots(5)$$

5. Iz umeritvene krivulje smo za vsako izmerjeno absorbanco (A_{765}) vzorcev izračunali masno koncentracijo celokupnih fenolov. Delež celokupnih fenolov pa smo izračunali na podlagi predhodno izračunanih masnih koncentracij celokupnih fenolov (γ), pri čemer smo upoštevali volumen topila pri ekstrakciji in maso vzorca v absolutno suhem stanju:

$$\text{vsebnost celokupnih fenolov } \left[\frac{\text{mg}}{\text{g}} \text{ lesa} \right] = \frac{\gamma \left[\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right] * 0,250 \text{ L}}{dw} \quad \dots(6)$$

6. Celokupni delež ekstrahiranih snovi smo izračunali iz razlike tež tulcev pred ekstrakcijo in po ekstrakciji, deljeno z maso absolutno suhega vzorca lesa (dw):

$$\text{celokupni delež ekst. snovi } [\%] = \frac{\Delta m}{dw} \quad \dots(7)$$

$$\Delta m = m_{\text{pred e.}} - m_{\text{po e.}} \quad \dots(8)$$

Pri čemer je:

$m_{\text{pred e.}}$ = masa tulca + vate + lesa pred ekstrakcijo,

$m_{\text{po e.}}$ = masa tulca + vate + lesa po ekstrakciji.

7. Delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu smo izračunali kot kvocient med maso suhega ostanka cikloheksanskega ekstrakta po sušenju v sušilniku pri temperaturi 105 °C in času sušenja 24 ur ter med maso cikloheksanskega ekstrakta:

$$\text{delež ekst. snovi v cikloheksanu} = \frac{m_{\text{suhega ostanka cikloheksan}}}{m_{\text{cikloheksanskega ekstrakta}}} \quad \dots(9)$$

8. Delež ekstrahiranih snovi v acetonu smo izračunali kot kvocient med maso suhega ostanka acetonskega ekstrakta po sušenju v sušilniku pri temperaturi 105 °C in času sušenja 24 ur ter maso acetonskega ekstrakta:

$$\text{delež ekst. snovi v acetonu} = \frac{m_{\text{suhega ostanka ,aceton}}}{m_{\text{acetonskega ekstrakta}}} \quad \dots(10)$$

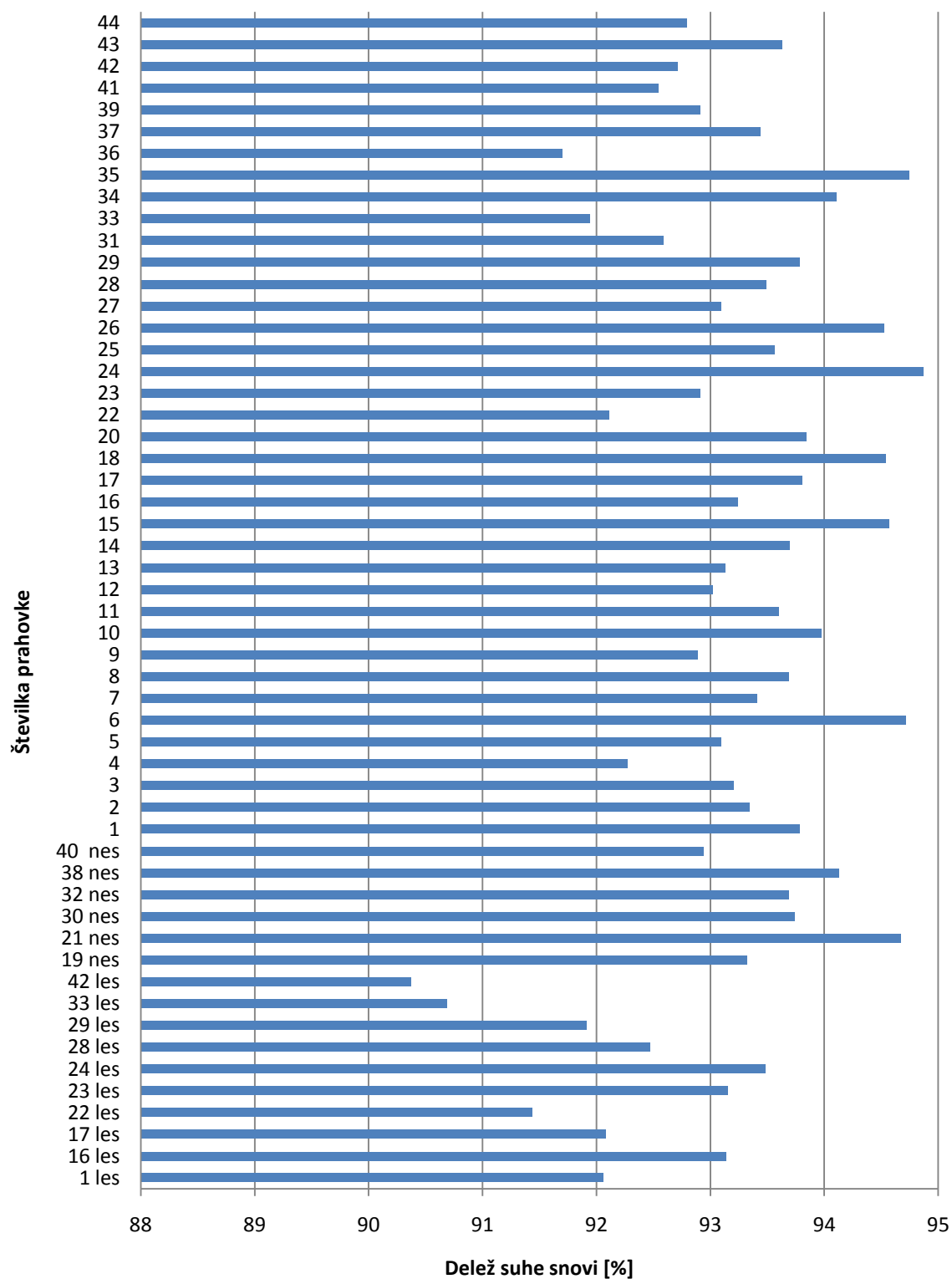
4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 DOLOČITEV DELEŽA SUHE SNOVI

V preglednici 2 so predstavljeni rezultati določanja deleža suhe snovi za posamezne vzorce: največji delež suhe snovi je imel vzorec št. 29; 94,87 %, najmanjši delež pa št. 42 les; 90,38 %. Na sliki 31 je graf, ki prikazuje delež suhe snovi za vsak vzorec posebej. Graf na sliki 32 pa prikazuje povprečno vrednost deleža suhe snovi za les in grče. Povprečna vrednost za les je 92,08% za grče pa 93,33%. Le-te imajo večjo povprečno vrednost deleža suhe snovi zaradi večje gostote.

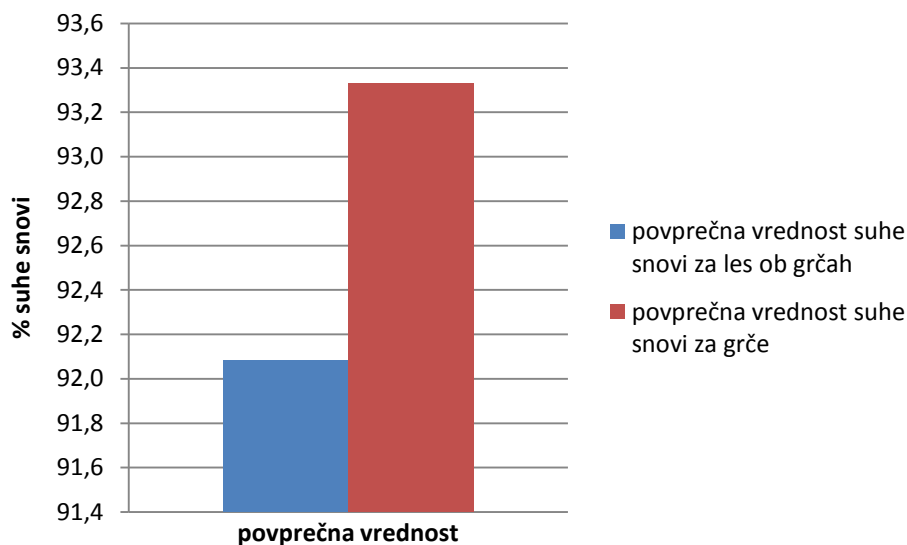
Preglednica 2: Delež suhe snovi v vzorcih.

Št. prahovke	Masa tehtiča [g]	Masa vlažnega lesa [g]	Meritev po 24 urnem sušenju (tehtič + vzorec) [g]	Masa vzorca [g]	Delež suhe snovi (s.s.) [%]
1 les	29,5058	1,0012	30,4275	0,9217	92,06
1	28,4443	1,0024	29,3844	0,9401	93,78
2	29,3969	1,0059	30,3359	0,9390	93,35
3	27,9332	1,0027	28,8678	0,9346	93,21
4	32,3011	1,0106	33,2336	0,9325	92,27
5	30,6939	1,0063	31,6307	0,9368	93,09
6	32,0181	1,0014	32,9666	0,9485	94,72
7	34,3541	1,0053	35,2932	0,9391	93,41
8	31,4360	1,0022	32,3750	0,9390	93,69
9	31,0252	1,0131	31,9663	0,9411	92,89
10	31,0401	1,0006	31,9804	0,9403	93,97
11	32,2938	1,0071	33,2365	0,9427	93,61
12	31,8124	1,0059	32,7481	0,9357	93,02
13	32,1438	1,0095	33,0840	0,9402	93,14
14	31,0059	1,0089	31,9512	0,9453	93,70
15	31,8832	1,0055	32,8341	0,9509	94,57
16	31,7865	1,0005	32,7194	0,9329	93,24
16 les	31,7510	1,0030	32,6852	0,9342	93,14
17	27,4846	1,0065	28,4288	0,9442	93,81
17 les	29,3186	1,0026	30,2418	0,9232	92,08
18	30,1502	1,0039	31,0993	0,9491	94,54
19 nes	28,5259	1,0062	29,4649	0,9390	93,32
20	29,5147	1,0070	30,4597	0,9450	93,84
21 nes	31,1860	1,0000	32,1327	0,9467	94,67
22	31,5025	1,0042	32,4275	0,9250	92,11
22 les	32,5240	0,9998	33,4382	0,9142	91,44
23	31,2800	1,0111	32,2194	0,9394	92,91
23 les	33,3667	1,0083	34,3060	0,9393	93,16
24	33,3124	1,0000	34,2611	0,9487	94,87
24 les	32,8632	0,9957	33,7940	0,9308	93,48
25	28,4597	1,0108	29,4055	0,9458	93,57
26	27,9273	0,9993	28,8719	0,9446	94,53
27	28,0517	1,0084	28,9905	0,9388	93,10
28	29,2221	1,0008	30,1578	0,9357	93,50
28 les	28,8935	1,0040	29,8219	0,9284	92,47
29	27,5448	1,0072	28,4894	0,9446	93,78
29 les	27,8467	1,0044	28,7699	0,9232	91,92
30 nes	29,1004	0,9996	30,0374	0,9370	93,74
31	29,7156	1,0014	30,6428	0,9272	92,59
32 nes	30,6369	1,0081	31,5814	0,9445	93,69
33	32,6851	1,0052	33,6093	0,9242	91,94
33 les	25,9301	0,9997	26,8367	0,9066	90,69
34	32,2737	1,0082	33,2225	0,9488	94,11
35	28,9170	1,0026	29,8669	0,9499	94,74
36	32,6882	1,0073	33,6119	0,9237	91,70
37	20,1779	1,0090	21,1207	0,9428	93,44
38 nes	19,1864	1,0083	20,1355	0,9491	94,13
39	19,2069	1,0014	20,1373	0,9304	92,91
40 nes	18,3642	1,0042	19,2975	0,9333	92,94
41	20,2597	1,0023	21,1873	0,9276	92,55
42	26,9100	1,0035	27,8404	0,9304	92,72
42 les	26,8375	1,0049	27,7457	0,9082	90,38
43	21,3695	1,0068	22,3122	0,9427	93,63
44	21,9312	0,9966	22,8560	0,9248	92,80



Slika 31: Graf prikazuje delež suhe snovi za vsak vzorec posebej.

Vzorci, ki imajo oznako npr. "42 les" so vzorci lesa okrog grč, vzorci z oznako npr. "40 nes" so neidentificirani vzorci, vzorci, označeni samo s številko so grče.



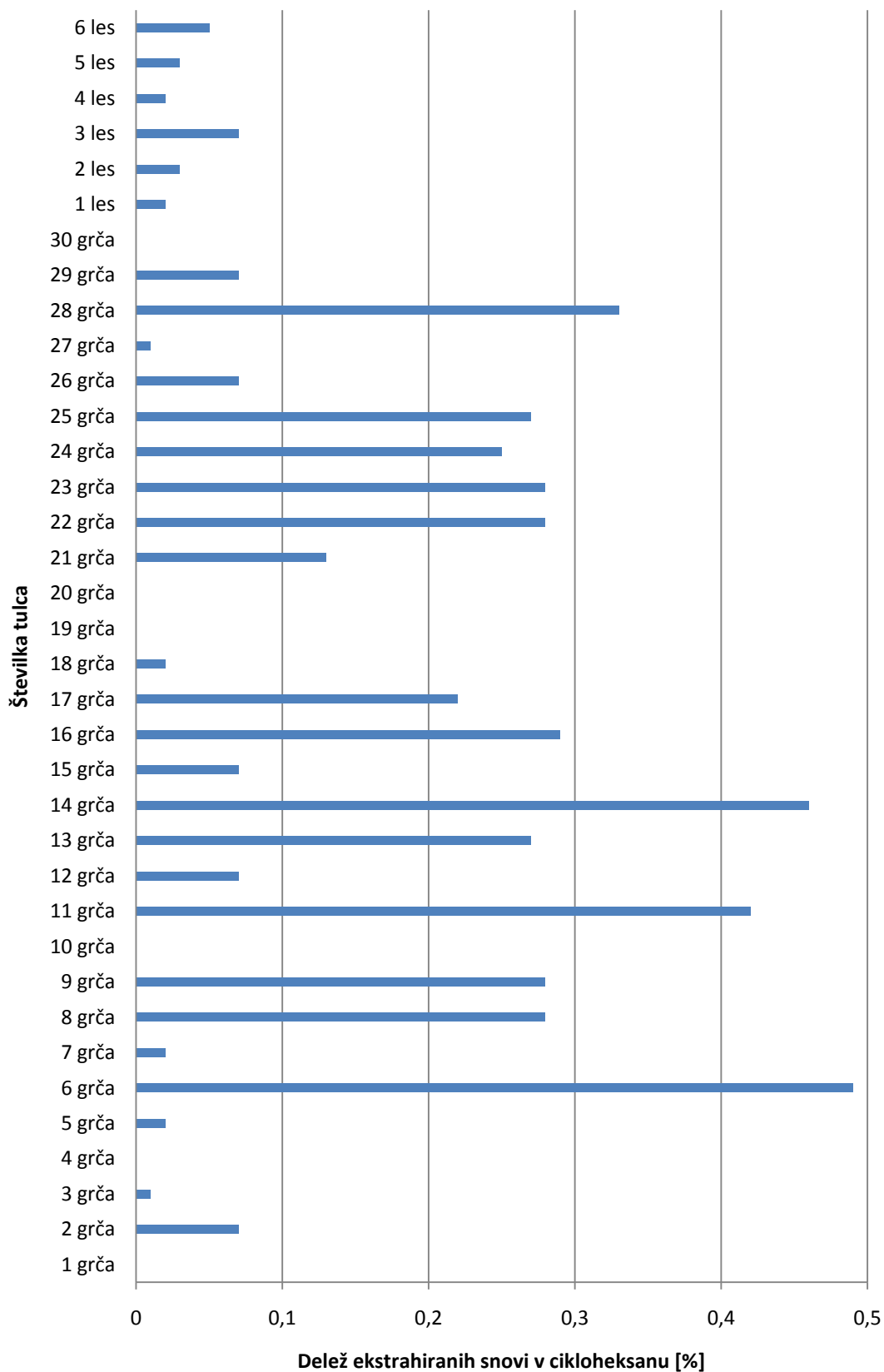
Slika 32: Povprečna vrednost deleža suhe snovi za grče in okoliški les.

4.2 DOLOČITEV DELEŽA EKSTRAKTIVOV

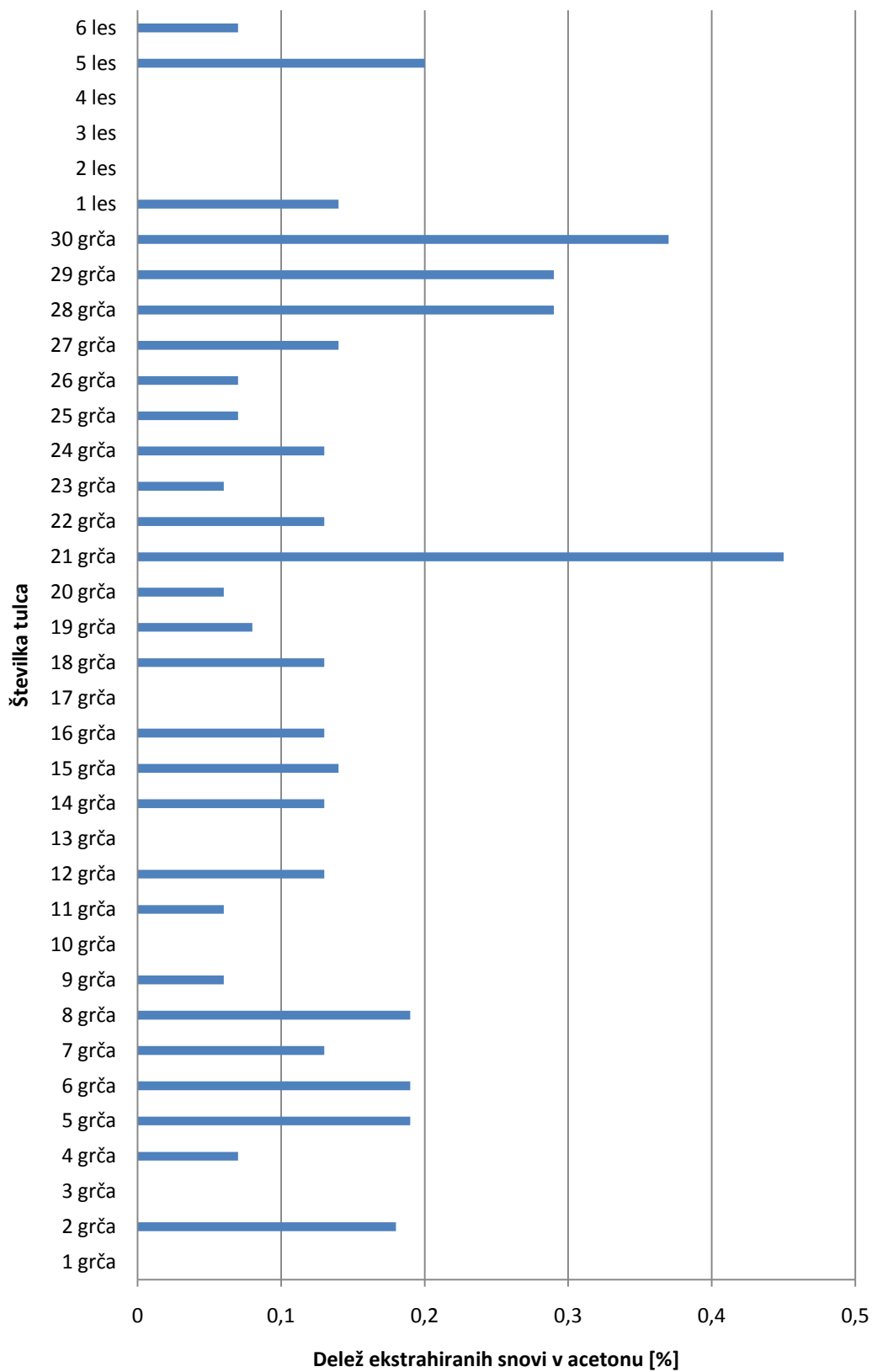
V preglednici 3 so zbrani rezultati meritev tehtanja za (sušene) celulozne tulce. Povprečna razlika med masama je 0,3167 g, največja razlika je bila 0,3919 g, najmanjša pa 0,1473 g. Deleže ekstrahiranih snovi v cikloheksanu in acetonu smo določili gravimetrično iz suhega ostanka, vendar je eksperimentalna napaka zelo velika, ker je topilo med pripravo zelo hitro hlapelo. Celokupni delež ekstrahiranih snovi pa smo izračunali iz razlike tež tulcev pred ekstrakcijo in po ekstrakciji, deljene z maso absolutno suhega vzorca lesa. Na sliki 33 je graf, ki prikazuje delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu. Največji delež ekstrahiranih snovi je bil v vzorcu 6 grča, 0,49 %, najmanjši delež pa 0% v večjem številu vzorcev zaradi eksperimentalne napake. Iz grafa, ki je na sliki 34 je razvidno, da ima največji delež ekstrahiranih snovi v acetonu vzorec 21 grča, 0,45 %, najmanjši delež pa 0% v večjem številu vzorcev, pri čemer zopet lahko predvidevamo, da gre za eksperimentalno napako. Na sliki 35 so prikazani celokupni deleži ekstrahiranih snovi. Največji delež ima vzorec 11 grča, 34,22 %, najmanjši delež pa vzorec 20 grča, 0,22 % pri katerem je najverjetneje šlo za vzorec lesa.

Preglednica 3: Delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu in acetonu in celokupni delež ekstrahiranih snovi.

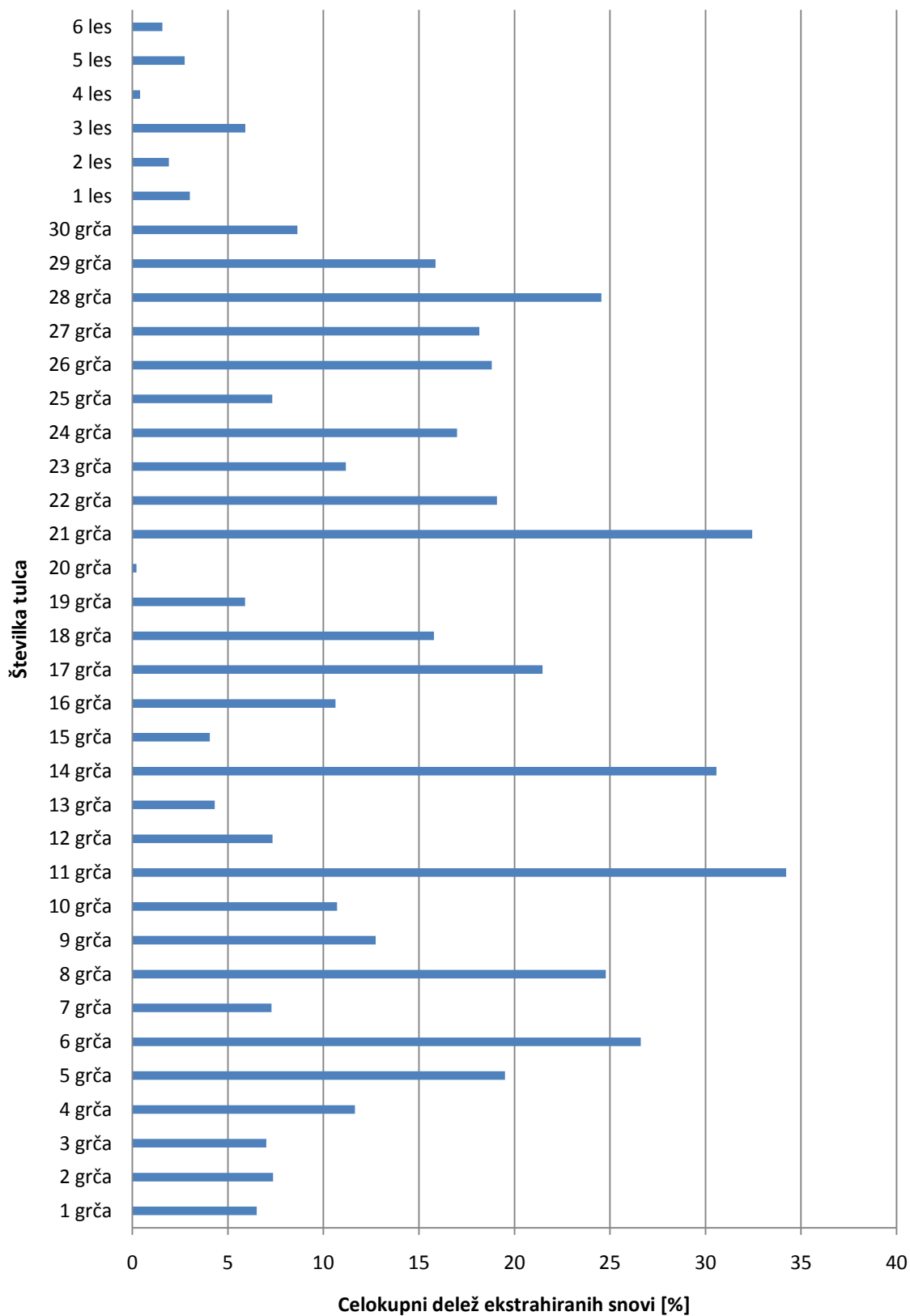
Št. tulca	Razlika mase [g]	Masa tulcev + vzorca po e. T= 105 °C t= 24h [g]	Masa vzorca (dw)	Masa zatehtanega vzorca [g]	Celokupni delež ekst. snovi [%]	Delež ekst. snovi v cikloheksanu [%]	Delež ekst. snovi v acetonu [%]
1 grča	0,3010	6,8135	2,3397	2,5025	6,51	0,00	0,00
2 grča	0,2914	6,6479	2,3447	2,5024	7,37	0,07	0,18
3 grča	0,2907	6,8974	2,3307	2,5036	7,01	0,01	0,00
4 grča	0,2936	6,7699	2,3456	2,5010	11,65	0,00	0,07
5 grča	0,2905	6,4661	2,3645	2,5003	19,51	0,02	0,19
6 grča	0,2916	6,2691	2,3346	2,5047	26,61	0,49	0,19
7 grča	0,3130	6,9472	2,3627	2,4995	7,28	0,02	0,13
8 grča	0,2895	6,4790	2,3803	2,5374	24,78	0,28	0,19
9 grča	0,3057	6,8670	2,3578	2,5090	12,74	0,28	0,06
10 grča	0,2733	6,6809	2,3246	2,5020	10,72	0,00	0,00
11 grča	0,3370	6,7176	2,3071	2,5003	34,22	0,42	0,06
12 grča	0,3055	6,9147	2,3253	2,5028	7,34	0,07	0,13
13 grča	0,3285	7,4365	2,3349	2,5013	4,32	0,27	0,00
14 grča	0,2873	6,1689	2,2953	2,5030	30,57	0,46	0,13
15 grča	0,3148	7,1817	2,3229	2,5054	4,06	0,07	0,14
16 grča	0,3143	7,0205	2,3462	2,5017	10,63	0,29	0,13
17 grča	0,3213	6,7122	2,3163	2,5017	21,47	0,22	0,00
18 grča	0,3778	7,6129	2,3736	2,5020	15,79	0,02	0,13
19 grča	0,3394	7,1809	2,3396	2,5039	5,90	0,00	0,08
20 grča	0,3410	7,6759	2,3471	2,5067	0,22	0,00	0,06
21 grča	0,3446	7,4567	2,3721	2,5044	32,45	0,13	0,45
22 grča	0,1473	7,4641	2,3335	2,5065	19,09	0,28	0,13
23 grča	0,3200	7,8264	2,3413	2,5110	11,17	0,28	0,06
24 grča	0,3515	7,8135	2,3397	2,5005	16,99	0,25	0,13
25 grča	0,3235	7,7944	2,3431	2,5083	7,32	0,27	0,07
26 grča	0,3220	7,3995	2,3163	2,5028	18,81	0,07	0,07
27 grča	0,3395	7,7985	2,3710	2,5025	18,16	0,01	0,14
28 grča	0,3528	7,4729	2,3687	2,5055	24,55	0,33	0,29
29 grča	0,3224	7,4005	2,3223	2,5000	15,87	0,07	0,29
30 grča	0,3182	7,7589	2,3425	2,5002	8,64	0,00	0,37
1 les	0,3261	8,0197	2,2989	2,5011	3,01	0,02	0,14
2 les	0,3494	8,2227	2,3319	2,5032	1,91	0,03	0,00
3 les	0,3919	7,5795	2,3380	2,5010	5,92	0,07	0,00
4 les	0,3085	7,8281	2,3026	2,5012	0,41	0,02	0,00
5 les	0,3684	7,9889	2,3434	2,5160	2,74	0,03	0,2
6 les	0,3070	7,4553	2,3139	2,5023	1,57	0,05	0,07



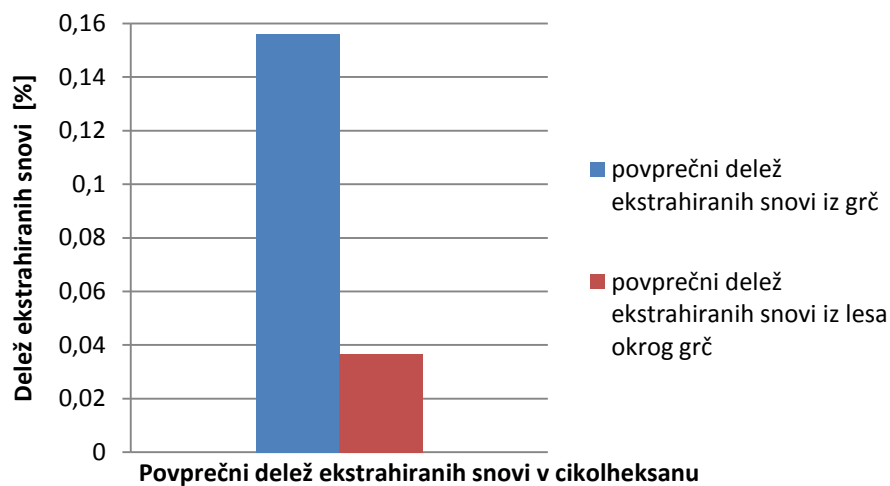
Slika 33: Delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu.



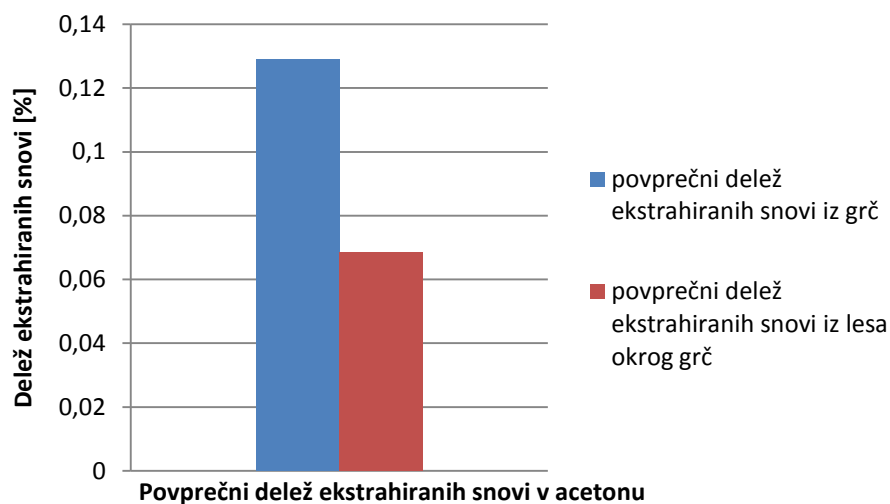
Slika 34: Delež ekstrahiranih snovi v acetonu.



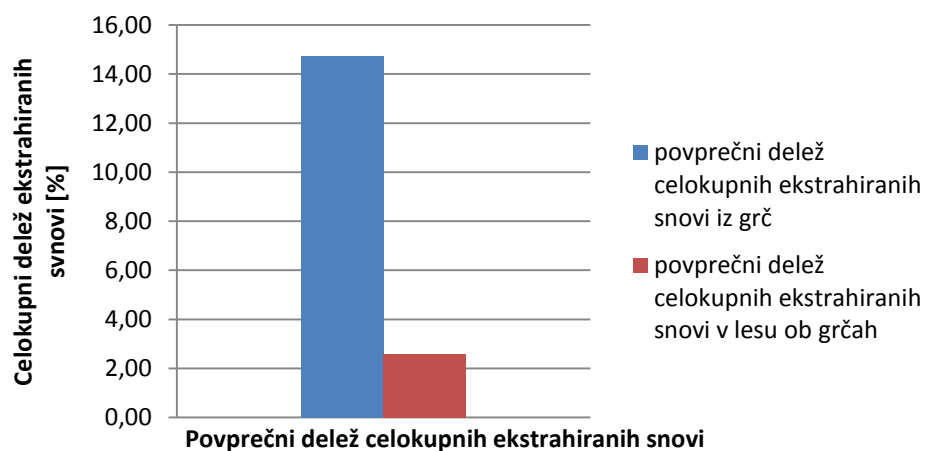
Slika 35: Celokupni delež ekstrahiranih snovi.



Slika 36: Povprečni delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu.



Slika 37: Povprečni delež ekstrahiranih snovi v acetonu



Slika 38: Povprečni celokupni delež ekstrahiranih snovi.

Na slikah 36 in 37 sta prikazana grafa s povprečnima deleža ekstrahiranih snovi v cikloheksanu in acetonu. V obeh primerih je največji povprečni delež snovi v grčah in sicer 0,16 % pri cikloheksanu in 0,13 % pri acetonu. Najmanjši povprečni delež snovi pa v lesu in sicer pri cikloheksanu 0,04 % in pri acetonu 0,07 %. Na sliki 38 je graf, ki prikazuje povprečni celokupni delež ekstrahiranih snovi. Največji povprečni celokupni delež ekstrahiranih snovi je enako kot v predhodnih primerih pri grčah in sicer 14,73 % najmanjši povprečni celokupni delež pa pri lesu, 2,59 %.

V preglednici 4 so prikazane vsebnosti ekstraktivov v cikloheksanu, ki so podane kot masa ekstraktivov na 1g absolutno suhega lesa. Vsebnosti so zelo majhne zaradi eksperimentalne napake, ki se je pojavila pri tehtanju cikloheksana pred sušenjem in po njem, zaradi hitrega izhlapevanja topila. Največjo vsebnost ekstraktivov je imel vzorec 6g, 29,98 [mg/g, dw]. Najmanjšo 0 % pa večje število vzorcev, kar lahko kot že prej omenjeno pripišemo eksperimentalni napaki.

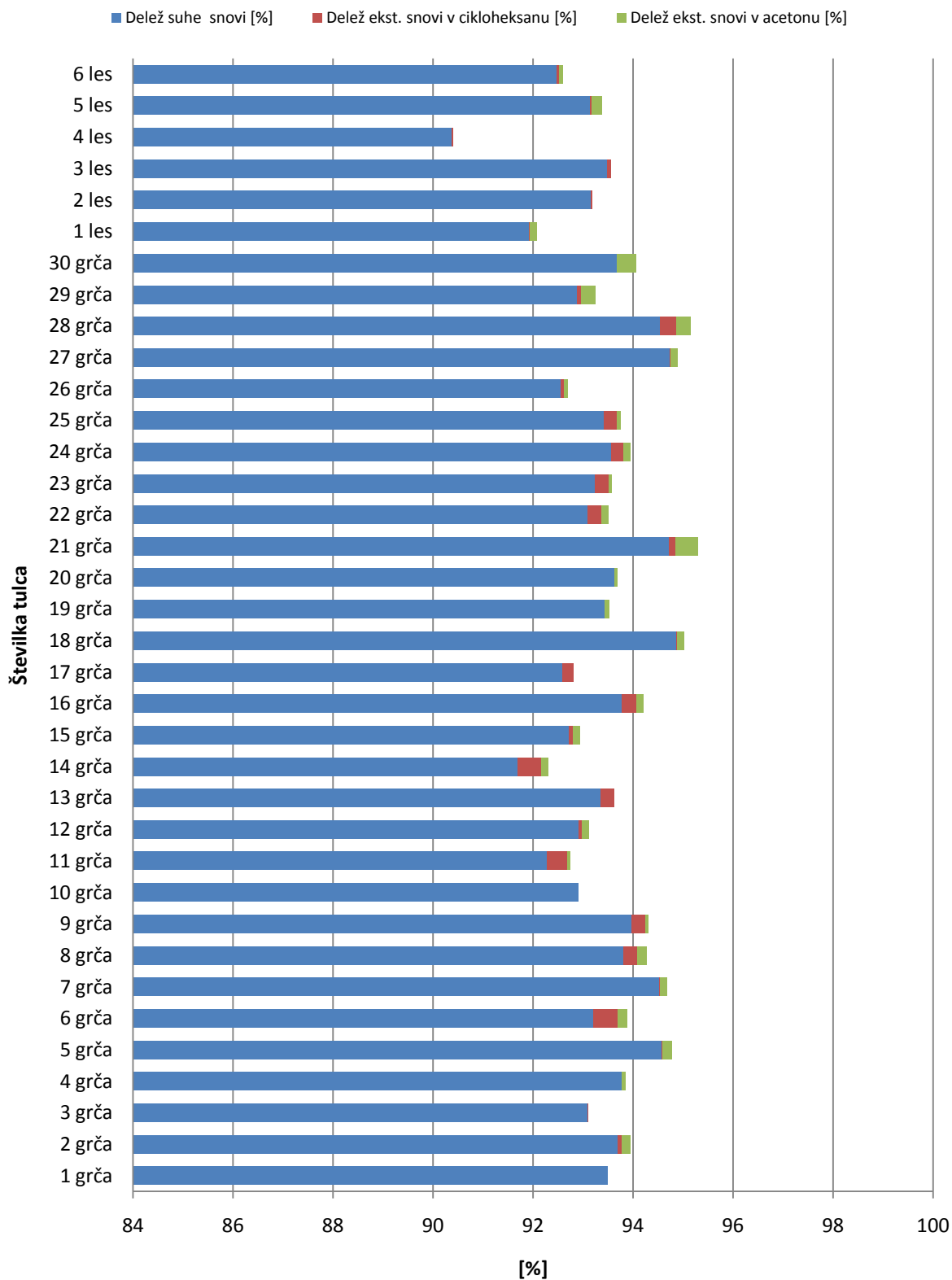
Preglednica 4: Masa ekstraktivov na 1g absolutno suhega lesa (dw) v cikloheksanu.

Št. tulca	Masa petrijevke [g]	Masa cikloheksana pred sušenjem [g]	Masa cikloheksana + petrijevke po sušenju [g]	Masa vzorca [g]	Masa zatehtanega vzorca [g]	Delež suhe snovi [%]	Masa ekstraktivov na 1g dw v cikloheksanu [mg/g]
1g	115,03	15,79	115,03	0,0000	2,5025	93,50	0,00
2g	107,12	15,08	107,13	0,0100	2,5024	93,70	4,27
3g	54,82	15,50	54,82	0,0018	2,5036	93,09	0,77
4g	112,8	15,49	112,80	0,0000	2,5010	93,78	0,00
5g	53,38	15,91	53,38	0,0032	2,5003	94,57	1,35
6g	107,07	14,40	107,14	0,0700	2,5047	93,21	29,98
7g	49,23	15,59	49,23	0,0029	2,4995	94,53	1,23
8g	112,83	14,45	112,87	0,0400	2,5374	93,81	16,80
9g	108,83	14,34	108,87	0,0400	2,5090	93,97	16,96
10g	108,91	14,97	108,91	0,0000	2,5020	92,91	0,00
11g	111,26	14,22	111,32	0,0600	2,5003	92,27	26,01
12g	108,87	14,39	108,88	0,0100	2,5028	92,91	4,30
13g	106,77	14,60	106,81	0,0400	2,5013	93,35	17,13
14g	110,23	15,31	110,30	0,0700	2,5030	91,70	30,50
15g	110,29	14,98	110,3	0,0100	2,5054	92,72	4,30
16g	110,27	13,79	110,31	0,0400	2,5017	93,78	17,05
17g	50,66	15,67	50,69	0,0346	2,5017	92,59	14,94
18g	50,59	15,18	50,60	0,0028	2,5020	94,87	1,18
19g	111,29	15,2	111,29	0,0000	2,5039	93,44	0,00
20g	106,82	14,92	106,82	0,0000	2,5067	93,63	0,00
21g	109,09	15,38	109,11	0,0200	2,5044	94,72	8,43
22g	110,23	14,18	110,27	0,0400	2,5065	93,10	17,14
23g	108,86	14,17	108,90	0,0400	2,5110	93,24	17,08
24g	112,76	15,76	112,80	0,0400	2,5005	93,57	17,10
25g	114,98	14,90	115,02	0,0400	2,5083	93,41	17,07
26g	109,12	15,15	109,13	0,0100	2,5028	92,55	4,32
27g	46,75	15,56	46,76	0,0021	2,5025	94,74	0,89
28g	112,85	15,01	112,90	0,0500	2,5055	94,54	21,11
29g	110,27	15,33	110,28	0,0100	2,5000	92,89	4,31
30g	110,3	15,04	110,3	0,0000	2,5002	93,69	0,00
1les	49,62	15,17	49,62	0,0035	2,5011	91,92	1,52
2les	48,54	15,69	48,54	0,0043	2,5032	93,16	1,84
3les	49,63	15,60	49,64	0,0103	2,5010	93,48	4,41
4les	50,41	15,63	50,41	0,0027	2,5012	90,38	1,19
5les	54,54	15,53	54,54	0,0040	2,5160	93,14	1,71
6les	44,88	15,20	44,89	0,0075	2,5023	92,47	3,24

V preglednici 5 so prikazane vsebnosti ekstraktivov za aceton, ki so podane enako kot pri cikloheksanu: masa ekstraktivov na 1g absolutno suhega lesa. Vsebnosti so zelo majhne zaradi eksperimentalne napake, ki se je pojavila pri tehtanju acetona pred sušenjem in po njem zaradi hitrega izhlapevanja topila. Največjo vsebnost ekstraktivov ima vzorec 21g, 29,51 [mg/g, dw], najmanjšo 0 % pa večje število vzorcev zaradi eksperimentalne napake.

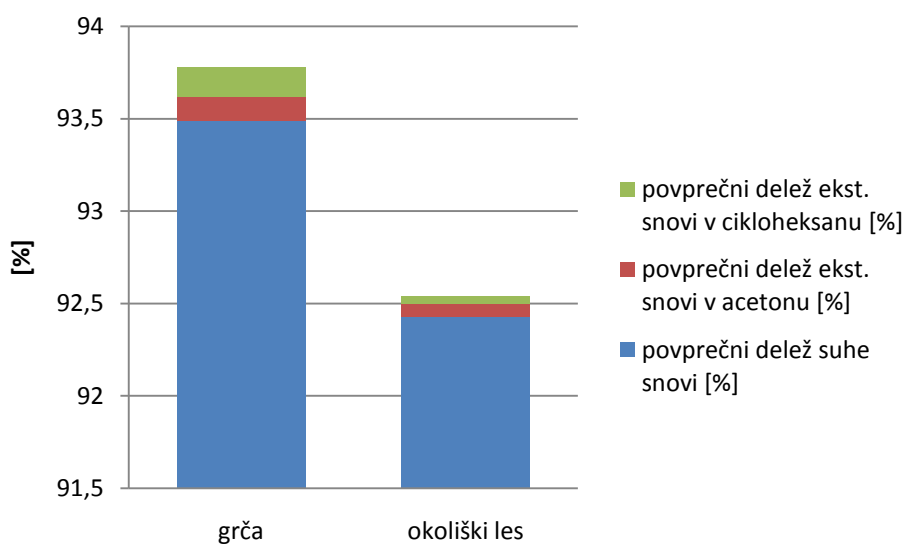
Preglednica 5: Masa ekstraktivov na 1g absolutno suhega lesa (dw) v acetonu.

Št. tulca	Masa petrijevke [g]	Masa acetona pred sušenjem [g]	Masa acetona + petrijevke po sušenju [g]	Masa vzorca [g]	Masa zatehtanega vzorca [g]	Delež suhe snovi [%]	Masa ekstraktivov na 1g dw v acetonu [mg/g]
1g	115,03	14,13	115,03	0,0000	2,5025	93,50	0,00
2g	108,87	16,84	108,9	0,0300	2,5024	93,70	12,80
3g	112,81	14,72	112,81	0,0000	2,5036	93,09	0,00
4g	110,31	14,07	110,32	0,0100	2,5010	93,78	4,26
5g	107,11	15,91	107,14	0,0300	2,5003	94,57	12,69
6g	110,26	15,89	110,29	0,0300	2,5047	93,21	12,85
7g	108,87	14,83	108,89	0,0200	2,4995	94,53	8,46
8g	107,11	15,43	107,14	0,0300	2,5374	93,81	12,60
9g	108,91	15,5	108,92	0,0100	2,5090	93,97	4,24
10g	110,31	14,26	110,31	0,0000	2,5020	92,91	0,00
11g	115,03	15,48	115,04	0,0100	2,5003	92,27	4,33
12g	106,81	15,99	106,83	0,0200	2,5028	92,91	8,60
13g	110,28	15,71	110,28	0,0000	2,5013	93,35	0,00
14g	112,85	15,47	112,87	0,0200	2,5030	91,70	8,71
15g	111,27	13,96	111,29	0,0200	2,5054	92,72	8,61
16g	110,31	15,37	110,33	0,0200	2,5017	93,78	8,52
17g	111,30	13,44	111,3	0,0000	2,5017	92,59	0,00
18g	110,28	15,13	110,3	0,0200	2,5020	94,87	8,43
19g	108,91	13,22	108,92	0,0100	2,5039	93,44	4,27
20g	107,12	16,74	107,13	0,0100	2,5067	93,63	4,26
21g	111,28	15,56	111,35	0,0700	2,5044	94,72	29,51
22g	106,82	15,74	106,84	0,0200	2,5065	93,10	8,57
23g	112,81	15,62	112,82	0,0100	2,5110	93,24	4,27
24g	109,11	15,59	109,13	0,0200	2,5005	93,57	8,55
25g	108,88	15,35	108,89	0,0100	2,5083	93,41	4,27
26g	112,86	14,57	112,87	0,0100	2,5028	92,55	4,32
27g	110,30	14,35	110,32	0,0200	2,5025	94,74	8,44
28g	110,27	13,85	110,31	0,0400	2,5055	94,54	16,89
29g	112,78	13,98	112,82	0,0400	2,5000	92,89	17,22
30g	109,11	16,18	109,17	0,0600	2,5002	93,69	25,61
1les	112,86	14,57	112,88	0,0200	2,5011	91,92	8,70
2les	108,91	14,88	108,91	0,0000	2,5032	93,16	0,00
3les	106,82	15,22	106,82	0,0000	2,5010	93,48	0,00
4les	110,29	15,52	110,29	0,0000	2,5012	90,38	0,00
5les	109,11	14,69	109,14	0,0300	2,5160	93,14	12,80
6les	115,03	14,79	115,04	0,0100	2,5023	92,47	4,32



Slika 39: Prikaz deleža suhe snovi [%], deleža ekstrahiranih snovi v acetonu [%] in deleža ekstrahiranih snovi v cikloheksanu [%] za vsak tulec posebej.

Na sliki 39 je prikazana odstotna porazdelitev vsebnosti posameznih snovi za vsak tulec posebej. Največji odstotek predstavlja delež suhe snovi. Vsebnost ekstraktivov, ki so se izpirali s cikloheksanom ali acetonom pa je pri vsakem vzorcu različna. Na sliki 40 je graf, ki prikazuje povprečni odstotni delež suhe snovi za grče in les, ter povprečni delež ekstraktivov v acetonu in cikloheksanu. Iz njega je razvidno, da največji delež predstavlja suha snov in sicer pri grčah 93,49 %, pri lesu pa 92,42 %. Drugi največji povprečni delež predstavlja vsebnost ekstraktivov v grčah pri cikloheksanu in acetonu, najmanjši delež pa vsebnost ekstraktivov v okoliškem lesu.



Slika 40: Prikaz povprečnega deleža suhe snovi [%], povprečni delež ekstrahiranih snovi v cikloheksanu [%] in povprečni delež ekstrahiranih snovi v acetonu [%].

4.3 TRAJANJE CIKLOV PRI SOXHLETOVI EKSTRAKCIJI

Preglednica 6 prikazuje čase ciklov pri Soxhletovi ekstrakciji s cikloheksanom. Iz nje je razvidno, da je najdaljši cikel trajal 12 min, najkrajši pa 7 min. V povprečju je cikel trajal 8 min in 47 s.

Preglednica 6: Čas enega cikla Soxhletove ekstrakcije s cikloheksanom.

Št. ciklov	1	2	3	4	5	6	7	
Št. tulca	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Vsota (min)
6g	11	12	10	11	11	0	0	55
9g	8	8	9	9	9	8	8	59
13g	11	11	10	10	11	10	0	63
23g	9	8	7	7	7	9	8	55
8g	8	7	8	7	7	7	0	44
22g	8	8	8	8	8	8	7	55
24g	9	10	8	9	9	9	0	54
14g	12	12	11	10	12	0	0	57
16g	9	8	7	8	7	0	0	39
21g	8	8	9	9	8	8	8	58
25g	9	10	7	7	7	7	8	55
11g	9	12	9	9	0	0	0	39
							Vsota	633

Čas 1 cikla
povprečno: 8,79

Povprečno: 8min 47sekund

Iz preglednice 7 je razvidno, da je najdaljši cikel ekstrakcije z acetonom trajal 21 min, najkrajši pa 9 min. V povprečju je cikel trajal 12 min in 11 s.

Preglednica 7: Čas enega cikla Soxhletove ekstrakcije z acetonom.

Št. ciklov	1	2	3	4	5	6	/	
Št. tulca	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	Čas cikla (min)	/	Vsota (min)
6g	14	14	14	14	0	0	/	56
9g	10	9	11	10	10	10	/	60
13g	10	12	10	11	11	0	/	54
23g	13	13	14	0	0	0	/	40
8g	10	10	10	14	12	0	/	56
16g	11	11	21	9	0	0	/	52
21g	10	13	12	14	0	0		49
							Vsota	367

Čas 1 cikla
povprečno: 11,84

Povprečno: 12 min 11 sekund

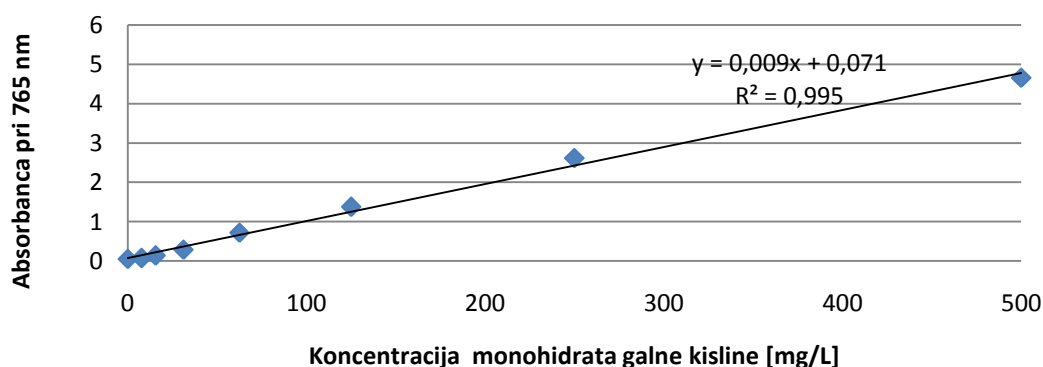
Podatki o trajanju ciklov so pomembni za načrtovanje in nadaljevanje poteka ekstrakcije.

4.3 DOLOČITEV DELEŽA CELOKUPNIH FENOLOV

Za izračun deleža celokupnih fenolov upoštevamo masno koncentracijo, ki smo jo določili iz umeritvene krivulje za vsak vzorec posebej. Izračunali smo enačbo umeritvene krivulje iz različnih koncentracij monohidrata galne kisline (slika 41). Različne koncentracije monohidrata galne kisline so služile kot standardno definicijsko območje linearnega regresijskega modela, ki ga določa standardna raztopina monohidrata galne kisline z različnim masnimi koncentracijami (zgornja meja 500 mg/L, spodnja meja 7,81 mg/L). Z linearnim regresijskim modelom smo določili enačbo umeritvene krivulje. V preglednici 8 so prikazane absorbance monohidrata galne kisline za različne masne koncentracije. Največjo absorbanco je imel vzorec z masno koncentracijo 500 mg/L, 4,6545, najmanjšo pa slepi vzorec, 0,0538.

Preglednica 8: Absorbanca pri A_{765} nm, slepega vzorca in različnih raztopin monohidrata galne kisline.

Vzorec	Absorbanca A_{765}
SV-0,00	0,0538
GK-7,81	0,0721
GK-15,6	0,1374
GK-31,2	0,2851
GK-62,5	0,7191
GK-125	1,3736
GK-250	2,6152
GK-500	4,6545



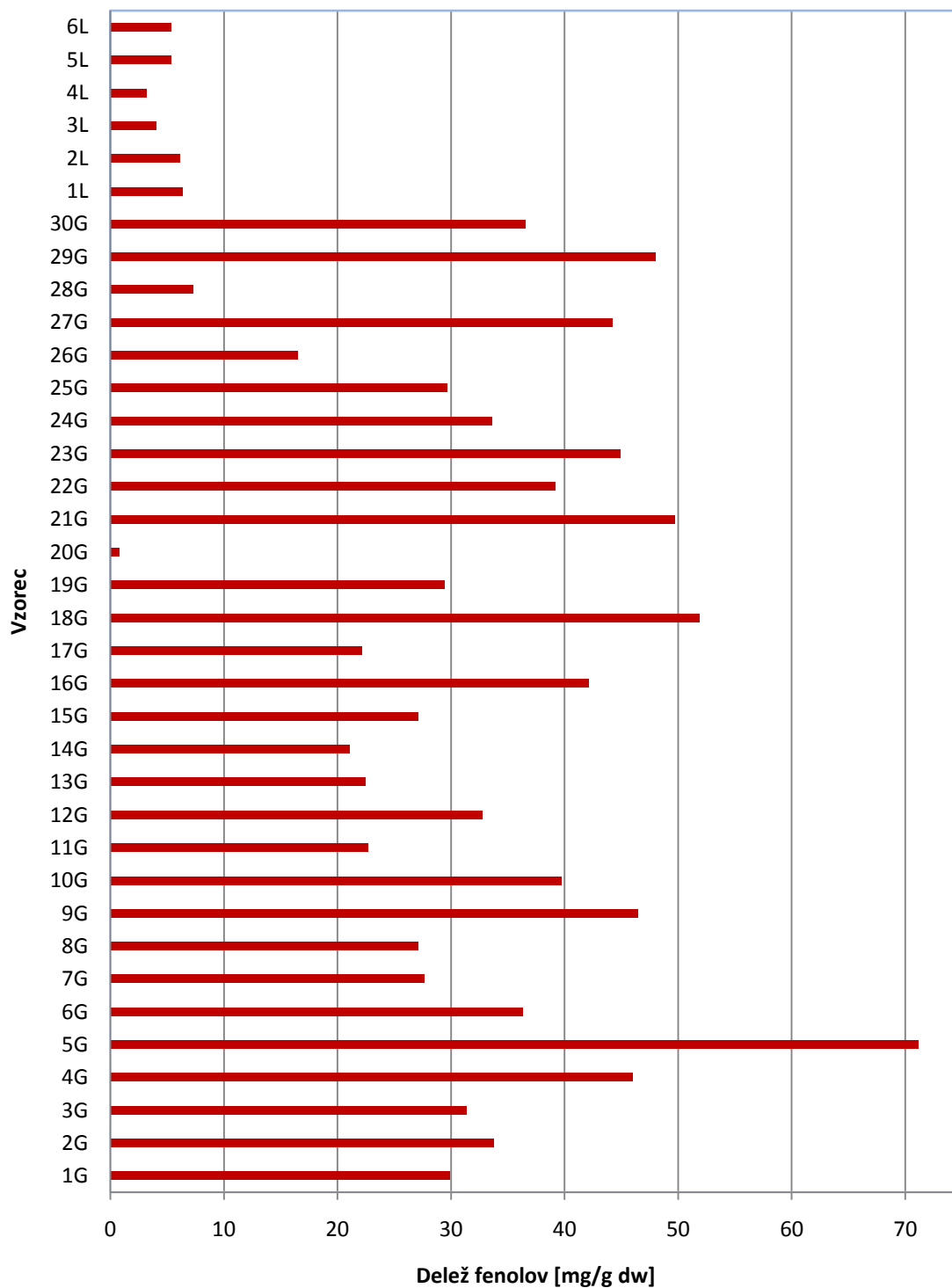
Slika 41: Umeritvena krivulja za monohidrat galne kisline z enačbo premice in vrednostjo koeficienta determinacije R^2 .

V preglednici 9 so podane vrednosti absorbanca za vzorce od 1G do 30 G in 1L-6L, deleži suhe snovi in mase zatehtanih vzorcev. Poleg tega je podana masna koncentracija celokupnih fenolov v acetonskih ekstraktih.

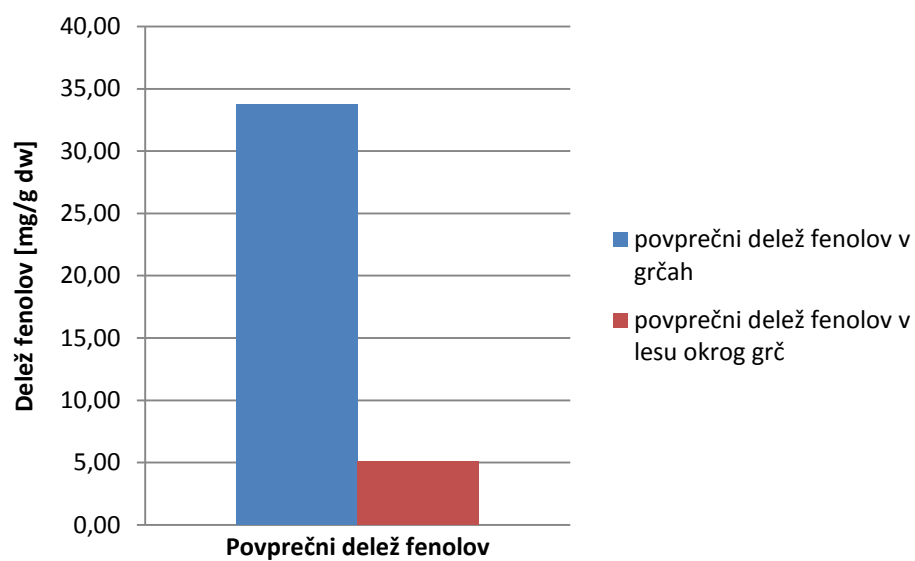
Iz grafa, ki je na sliki 42, lahko razberemo, kateri vzorci pripadajo lesu in kateri grčam. Vsebnost celokupnih fenolov pri lesu je v območju od 4,10 mg/g dw do 6,36 mg/g dw, medtem ko se vsebnosti celokupnih fenolov v grčah bistveno razlikujejo med seboj in se gibljejo v mejah od 7,34 mg/g dw do 71,18 mg/g dw . Slika 43 pa prikazuje povprečno vsebnost celokupnih fenolov. Povprečna vsebnost pri grčah je pričakovano večja in sicer 33,75 mg/g dw pri lesu okrog grč pa 5,10 mg/g dw.

Preglednica 9: Vsebnost celokupnih fenolov v 30 vzorcih grč in 6 vzorcev lesa.

Vzorec	Absorbanca A ₇₆₅	Masa vzorca (m _{vz}) [g]	Delež suhe snovi (s.s.) [%]	Masa abs. suhega vzorca (dw) [g]	Masna koncentracija celokupnih fenolov (γ) [mg/L]	Delež celokupnih fenolov [mg/g dw]
1G	2,7024	2,5025	93,4952	2,3397	279,94	29,91
2G	3,0500	2,5024	93,6961	2,3447	316,91	33,79
3G	2,8192	2,5036	93,0935	2,3307	292,36	31,36
4G	4,1317	2,5010	93,7849	2,3456	431,99	46,04
5G	3,2351	2,5003	94,5699	2,3645	673,21	71,18
6G	3,2625	2,5047	93,2083	2,3346	339,52	36,36
7G	2,5312	2,4995	94,5262	2,3627	261,72	27,69
8G	2,4972	2,5374	93,8102	2,3803	258,11	27,11
9G	4,1921	2,5090	93,9736	2,3578	438,41	46,49
10G	3,5473	2,5020	92,9087	2,3246	369,82	39,77
11G	2,0418	2,5003	92,2719	2,3071	209,66	22,72
12G	2,9407	2,5028	92,9099	2,3253	305,29	32,82
13G	2,0476	2,5013	93,3492	2,3349	210,28	22,51
14G	1,8897	2,5030	91,7006	2,2953	193,48	21,07
15G	2,4424	2,5054	92,7155	2,3229	252,28	27,15
16G	3,7868	2,5017	93,7847	2,3462	395,30	42,12
17G	2,0056	2,5017	92,5904	2,3163	205,81	22,21
18G	4,7001	2,5020	94,8700	2,3736	492,46	51,87
19G	2,6582	2,5039	93,4390	2,3396	275,23	29,41
20G	0,1441	2,5067	93,6333	2,3471	7,78	0,83
21G	4,5034	2,5044	94,7174	2,3721	471,53	49,70
22G	3,5137	2,5065	93,0980	2,3335	366,24	39,24
23G	4,0289	2,5110	93,2434	2,3413	421,05	44,96
24G	3,0274	2,5005	93,5694	2,3397	314,51	33,61
25G	2,6884	2,5083	93,4149	2,3431	278,45	29,71
26G	1,5095	2,5028	92,5471	2,3163	153,03	16,52
27G	4,0165	2,5025	94,7437	2,3710	419,73	44,26
28G	0,7249	2,5055	94,5413	2,3687	69,56	7,34
29G	4,2659	2,5000	92,8931	2,3223	446,27	48,04
30G	3,2921	2,5002	93,6939	2,3425	342,67	36,57
1L	0,6207	2,5011	91,9156	2,2989	58,48	6,36
2L	0,6095	2,5032	93,1568	2,3319	57,29	6,14
3L	0,4311	2,5010	93,4820	2,3380	38,31	4,10
4L	0,3495	2,5012	92,0595	2,3026	29,63	3,22
5L	0,5441	2,5160	93,1406	2,3434	50,33	5,37
6L	0,5397	2,5023	92,4701	2,3139	49,86	5,39



Slika 42: Stolpčni prikaz deleža celokupnih fenolov. V vzocih grč je veliko več celokupnih fenolov kot v vzocih lesa, kar je bilo tudi pričakovano.

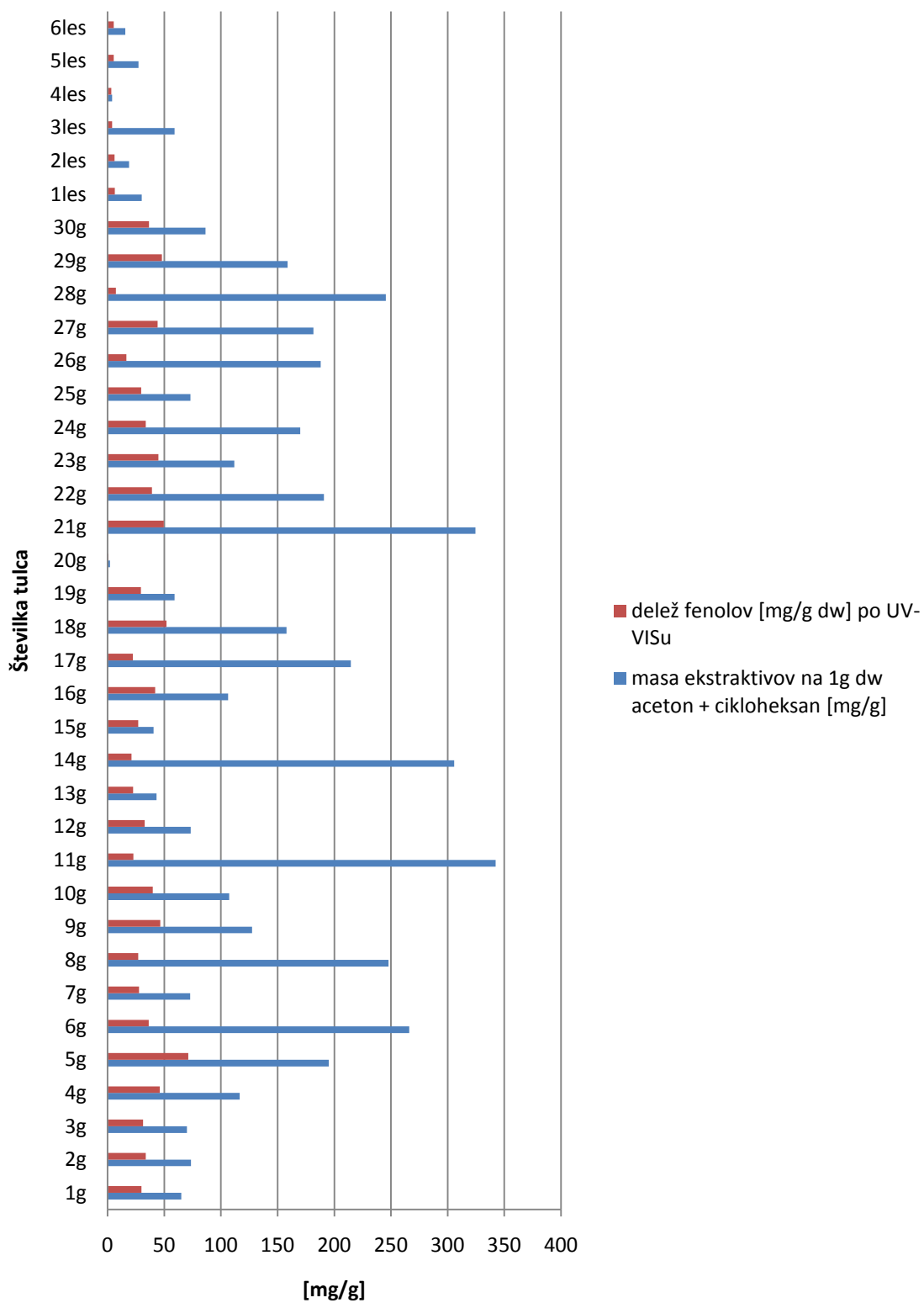


Slika 43: Povprečni delež fenolov v grčah in v lesu okrog grč.

V preglednici 10 so zbrani podatki, ki prikazujejo vsebnost ekstraktivov v mg/g absolutno suhega lesa (dw) v acetonu in cikloheksanu skupaj in delež fenolov, ki smo jih določili z UV-VIS spektroskopijo. Celokupne ekstraktive smo določili gravimetrično s tehtanjem tulcev kot je že opisano na strani 15. Pri acetonskih in cikloheksanskih ekstraktih opazimo večje odstopanje izmerjenih vrednosti, kar pripisujemo eksperimentalni napaki. Na sliki 44 pa je graf, ki prikazuje podatke, ki so zbrani v preglednici 10.

Preglednica 10: Primerjalna tabela mas ekstraktivov v acetonu + cikloheksanu in deleža fenolov, določenega z UV-VIS spektroskopijo.

Št tulca	Masa ekstraktivov na 1g dw aceton + cikloheksan [mg/g]	Delež fenolov [mg/g lesa, dw] po UV-VISu
1g	65,1	29,91
2g	73,7	33,79
3g	70,1	31,36
4g	116,5	46,04
5g	195,1	71,18
6g	266,1	36,36
7g	72,8	27,69
8g	247,8	27,11
9g	127,4	46,49
10g	107,2	39,77
11g	342,2	22,72
12g	73,4	32,82
13g	43,2	22,51
14g	305,7	21,07
15g	40,6	27,15
16g	106,3	42,12
17g	214,7	22,21
18g	157,9	51,87
19g	59	29,41
20g	2,2	0,83
21g	324,5	49,70
22g	190,9	39,24
23g	111,7	44,96
24g	169,9	33,61
25g	73,2	29,71
26g	188,1	16,52
27g	181,6	44,26
28g	245,5	7,34
29g	158,7	48,04
30g	86,4	36,57
1les	30,1	6,36
2les	19,1	6,14
3les	59,2	4,10
4les	4,1	3,22
5les	27,4	5,37
6les	15,7	5,39



Slika 44: Primerjalni graf mas ekstraktivov v acetonu + cikloheksanu in deležev fenolov, določenih z UV-VIS spektroskopijo.

5 SKLEPI

Povprečna vrednost deleža suhe snovi za les je bila 92,08 % za grče pa 93,33 %.

Največji povprečni delež snovi, ekstrahiranih s cikloheksanom, je bil v grčah, 0,16 %, v okoliškem lesu pa 0,04 %.

V acetonu je bil največji delež ekstrahiranih snovi v grčah (0,13 %) večji kot v okoliškem lesu (0,07 %).

Povprečni delež celokupnih ekstrahiranih snovi je bil pri grčah 14,73 %, v okoliškem lesu pa 2,59 %.

Povprečna vsebnost celokupnih fenolov je bila v grčah večja kot v okoliškem lesu: v grčah 33,75 mg/g, v okoliškem lesu pa 5,10 mg/g, izraženo na maso absolutno suhega lesa.

Relativno velik delež ekstraktivov oziroma celokupnih fenolnih snovi na bazi živih in mrtvih vej (grč) lahko pojasnimo z zaščitno funkcijo, ki jo imajo te snovi na mestu potencialnega odloma veje pred vdorom patogenih mikroorganizmov v drevesna tkiva.

6 POVZETEK

V diplomski nalogi smo raziskovali vsebnost celokupnih fenolov v jelovih in smrekovih grčah. Cilji naloge so bili:

- priprava vzorcev za ekstrakcijo,
- priprava cikloheksanskih in acetonskih ekstraktov s Soxhletovo ekstrakcijo,
- določiti definicijsko območje linearnega regresijskega modela, ki ga določa standardna raztopina monohidrata galne kisline,
- določiti absorbance acetonskih ekstraktov z UV/VIS spektroskopijo,
- izračun masne koncentracije celokupnih fenolov v acetonskih ekstraktih in
- izračun deleža celokupnih fenolov na osnovi deleža suhe snovi.

Na razpolago smo imeli 30 vzorcev grč in 6 vzorcev lesa, ki so obdajali grče. Vzorce smo najprej zmeli v fin prah, natehtali v tehtiče po 1 g vzorca ter jih dali v sušilnik za 24 ur. Temperaturo smo nastavili na 105 °C, ponovno stehtali in določili deleže suhe snovi. Za Soxhletovo ekstrakcijo smo natehtali 2,5 g vzorca v celulozne tulce. Najprej smo ekstrahirali hidrofobne (lipofilne) komponente s cikloheksanom, nato pa še hidrofilne z zmesjo aceton/vode. Delež celokupnih fenolov v grčah in lesu iglavcev v aceton/voda ekstraktih smo določevali z UV/VIS spektroskopijo. Vzorcem smo dodali reagent Folin-Ciocaltau (FC) (protokol Scalbert in sod., 1989), ki smo ga mešali z destilirano vodo v razmerju 1:9 (v/v) in vodno raztopino Na₂CO₃. Za umeritveno krivuljo smo uporabili raztopino monohidrata galne kisline različnih koncentracij. Iz rezultatov smo določili definicijsko območje linearnega regresijskega modela in določili enačbo premice, ki smo jo uporabili za izračun masne koncentracije celokupnih fenolov. Delež celokupnih fenolov smo izračunali na osnovi deleža suhe snovi, iz masne koncentracije in maso absolutno suhega lesa.

Povprečna vrednost deleža suhe snovi za les je 92,08 % za grče pa 93,33 %.

Največji povprečni delež snovi, ekstrahiranih s cikloheksanom, je bil v grčah, 0,16 %, v okoliškem lesu pa 0,04 %.

V acetonu je bil največji delež ekstrahiranih snovi v grčah (0,13 %) večji kot v okoliškem lesu (0,07 %).

Povprečni delež celokupnih ekstrahiranih snovi je bil pri grčah 14,73 %, v okoliškem lesu pa 2,59 %.

Povprečna vsebnost celokupnih fenolov je bila v grčah večja kot v okoliškem lesu: v grčah 33,75 mg/g, v okoliškem lesu pa 5,10 mg/g izraženo na maso absolutno suhega lesa.

Relativno velik delež ekstraktivov oziroma celokupnih fenolnih snovi na bazi živih in mrtvih vej (grč) lahko pojasnimo z zaščitno funkcijo, ki jo imajo te snovi na mestu potencialnega odloma veje pred vdorom patogenih mikroorganizmov v drevesna tkiva.

7 VIRI

- Brus R. 2005. Dendrologija za gozdarje. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za gozdarstvo in obnovljive gozdne vire: 49-53, 61-63.
- Classic Kit: Soxhlet extractor. (2011)
<http://www.rsc.org/chemistryworld/Issues/2007/September/ClassicKitSoxhletExtractor.asp> (26.3.2011).
- Čermak M. 1998. Tehnologija lesa 1. Železniki, PAMI: 82-84.
- Čufar K. 2002. Anatomija lesa – nerecenzirano študijsko gradivo za leto 2002-2003. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo: 87 str.
- Lobnik A. 2010. Okoljska analitika – navodila za vaje. Univerza v Mariboru, Fakulteta za strojništvo: 2-4.
- Scalbert A., Monties B., Janin G. 1989. Tanins in wood: comparison of different estimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37, 5: 1324-1329.
- Sigma-Aldrich. (2011)
<http://www.sigmaaldrich.com/european-export.html> (6.6.2011).
- Sodium Carbonate. (2011)
http://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_carbonate (6.6.2011).
- Soxhlet extractor. (2011)
http://en.wikipedia.org/wiki/Soxhlet_extractor (26.3.2011).
- Vek V., Oven P. 2011. Vpliv različnih polarnih topil na delež celokupnih fenolov v lesnih ekstratih = Influence of different polar solvents on contents of total phenols in wood extracts. *Les*, 63, 3: 45-48.

- Vek V., Oven P. 2010. Variability in Content of Phenols in Beech Steam V: First Serbian Forestry Congress: Future With Forests. 2010. Ristić R. (ur.), Medarović M. (ur.), Popivić Z. (ur.). Balgrade, University of Belgrade, Faculty of Forestry [and] Institute for Nature Conservation of Serbia. pp.9.
- Vek V., Oven P., Rep G. 2010a. Vsebnost skupnih fenolov v beljavi, rdečem srcu in poranitvenem lesu pri bukvi (*Fagus sylvatica*). Les, 62, 5: 192-197.
- Vek V., Oven P., Rep, G. 2010b. UV/VIS spectrophotometric analysis of total phenols content in beech-wood V: The 4th conference on hardwood research and utilisation in Europe. 2010. V: NEMETH, R. (ur.), TEISCHINGER, A. (ur). Sopron: University of West Hungary press, cop.: 87-93.

ZAHVALA

Za pomoč pri izdelavi, oblikovanju in urejanju diplomske naloge se zahvaljujem vsem, ki ste mi kakorkoli pomagali pri mojem delu.

Posebej se želim zahvaliti mentorju prof. dr. Primožu Ovnu, somentorici doc. dr. Idi Poljanšek in recenzentu prof. dr. Marku Petriču. Doc. dr. Sergeju Medvedu za pomoč pri pridobivanju materiala in podjetju Lesna TIP, Otiški vrh od katerega smo dobili vzorce.

Očetu za pomoč pri pripravi vzorcev za mletje in sodelavcem katedre za Patologijo in zaščito lesa pri mletju vzorcev. Mlademu raziskovalcu Vijemu Veku za pomoč pri UV VIS spektrofotometričnih meritvah in puncni, ki me je podpirala pri izdelavi diplomske naloge.