

УДК 674.048

## БІОХІМІЧНА ТРАНСФОРМАЦІЯ ДЕРЕВИНИ ГРАБА ПІД ВПЛИВОМ ВИСОКИХ ТЕМПЕРАТУР

Пінчевська О.О., д-р техн. наук, Горбачова О.Ю., канд. техн. наук  
(Національний університет біоресурсів і природокористування України)

Ліханов А.Ф., канд. біол. наук  
(Інститут еволюційної екології НАН України)

*Наведено методику біохімічного аналізу і результати експериментальних досліджень впливу термічного модифікування на кількісний та якісний вміст сполук в деревині граба.*

**Вступ.** Властивості деревини обумовлені складом тканин ксилеми, геометрією і просторовим розташуванням клітин, біохімічним складом клітинних стінок. Важливу роль у формуванні клітинних стінок рослин виконують оксикоричні кислоти. Частина з них є біогенетичними попередниками лігніну та інших фенольних сполук. Серед оксикоричних кислот слід виділити ферулову, кавову, п-кумарову і сінапову кислоти. Вважається, що оксикоричні кислоти потрапляють у клітинні стінки у вигляді кон'югатів з залишками арабінози, ксилози та глюкози. Існують дані, щодо наявності ферулової кислоти у пектинах, де вони приєднуються до галактози і арабінози. Оксикоричні кислоти здатні утворювати цис-транс ізомери, що суттєво впливає на їх хімічні властивості та збільшує можливості до їх ймовірних взаємодій з біополімерами клітин. Ферулова кислота формує димери. Їх структура має певні специфічні властивості, які залежать від ізомерів. Диферулові мостики завдяки ефірним зв'язкам зшивають між собою лінійні молекули полісахаридів, а також останні з лігніном, що призводить до молекулярної структуризації клітинних стінок, збільшення їх цілісності і механічної міцності. Інші оксикоричні кислоти завдяки складним ефірним зв'язкам також зшивають між собою молекули полісахаридів.

Під час термооброблення деревини в її будові відбуваються деякі зміни структурних елементів, що призводить до зміни не тільки забарвлення, але і фізико-механічних властивостей [1–6].

**Метою дослідження** є визначення характеру трансформації хімічних компонентів деревини граба під час термічної обробки.

**Матеріали та методика досліджень.** Для дослідження використано зразки необробленої деревини граба та термооброблені в герметичній лабораторній камері за температур 160, 190 та 220°C упродовж 1, 10 та 20 год.

Хроматографію фенольних сполук проводили на силікагелі у системі розчинників хлороформ-оцтова кислота-метанол-вода (v/v/v/v – 60/32/12/8), фенілпропаноїдів – у системі розчинників (толуол-ацетон-мурашина кислота; v/v/v – 6/6/2) методом високоефективної тонкошарової хроматографії на

платівках з алюмінієвою підкладкою силікагель G 60 (Merck, Німеччина). У якості стандартів використовували ферулову, кавову, сирінгову і п-кумарову кислоти.

Флуоресцентний аналіз деревини виконували на мікроскопі Axio Scope A1 Carl Zeiss з використанням оптичних фільтрів за різних діапазонів довжини хвилі, нм,: 1) 465–495; 2) 480–520; 3) 445–495; 4) 530–580; 5) від 470; 6) 607–687.

Аналіз фенольних речовин в спиртових екстрактах деревини здійснювали методом спектрофотометрії на скануючому спектрофотометрі Optizen POP з використанням реактиву Фоліна-Чокальтеу. Вимірювання оптичної густини проводили за довжиною хвилі 765 нм у кварцових кюветах (10 мм). Загальний вміст фенольних сполук,  $\Phi_{\text{сп.спол.}}$ , мг/г, в екстрактах листків розраховували за формулою:

$$\Phi_{\text{сп.спол.}} = \frac{C \cdot V_{\text{екстракту}}}{m \cdot 1000}, \quad (1)$$

де  $C$  – концентрація фенольних сполук, л;

$V_{\text{екстракту}}$  – загальний об'єм екстракту, мл;

$m$  – маса наважки, г;

1000 – коефіцієнт переведення л в мл (об'єму екстракту) [7].

Кількісний вміст флавоноїдів у спиртових екстрактах деревини визначали за довжиною хвилі  $\lambda = 419$  нм послідовним внесенням до 100 мкл екстракту по 200 мкл 0,1М розчину  $\text{AlCl}_3$  і 1М  $\text{CH}_3\text{COONa}$  [8]. Розрахунок кількості флавоноїдів проводили за калібрувальним графіком, який побудовано по кверцетину.

**Результати досліджень.** Для з'ясування процесів біохімічної трансформації деревини, що пов'язані з вивільненням фенольних сполук отриману хроматограму обробляли 5 %-ним EtOH розчином  $\text{AlCl}_3$  і проводили ідентифікацію індивідуальних речовин УФ випромінюванням ( $\lambda = 365$  нм). Визначення речовин на хроматограмі оцінювали по характеру забарвлення плям та величинах  $R_f$  (показник відношення відстані від стартової лінії до плями, до відстані, що пройшла система розчинників від старту до фронту) – рис. 1.

Видно, що на вміст фенольних сполук у спиртових екстрактах впливає температура і тривалість термічної обробки деревини. У більшій кількості вони екстрагувались з деревини, яку обробляли за температури 190°C упродовж 10 і 20 годин.

Після обробки пластинки 10 %-им спиртовим розчином лугу (NaOH) з показниками  $R_f \sim 0,14$  і 0,28 визначено два флавоноїда. За результатом фотоденситометричного аналізу загальна кількість флавоноїдів, що переходять у вільну форму в результаті нагрівання дещо збільшується (рис. 2). Здатність флавоноїдів до хімічної реакції з лугом свідчить про відносну термостабільність молекули і можливу наявність катехінних гідроксильних

груп у С2' - С3' положеннях В кільця і присутності у складі флавоноїдів глікозидних груп, які обумовлюють відносно високу полярність молекул.

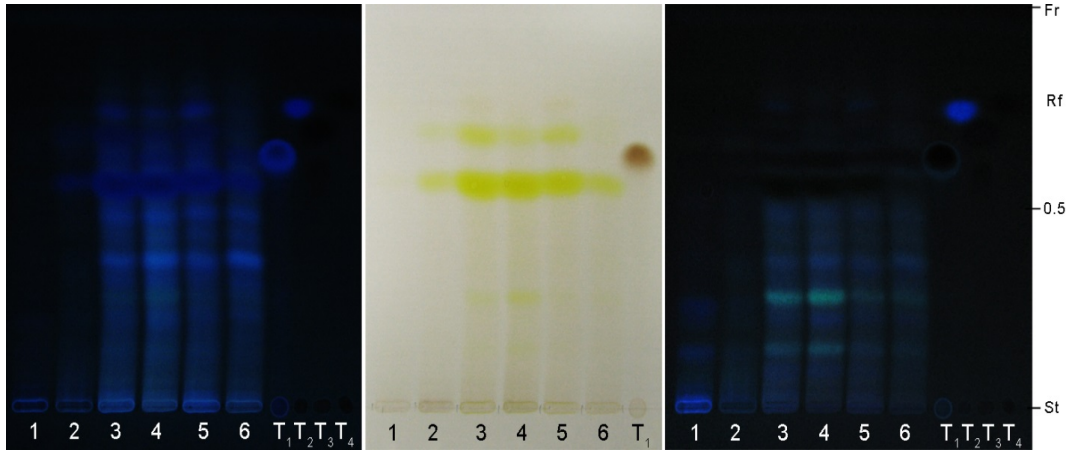


Рисунок 1 – Хроматограма фенольних сполук зі спиртових екстрактів деревини граба звичайного: 1 – необроблена деревина, 2 – оброблена за температури 160°C упродовж 20 год; 3 – 190°C 10 год; 4 – 190°C 20 год; 5 – 220°C 10 год; 6 – 220°C 20 год; стандарти Т<sub>1</sub> – ферулова кислота; Т<sub>2</sub> – протокатехова кислота; Т<sub>3</sub> – 3,4 метоксикорична кислота; Т<sub>4</sub> – п-кумарова кислота; Т<sub>5</sub> – сінапова кислота; Т<sub>6</sub> – кавова кислота

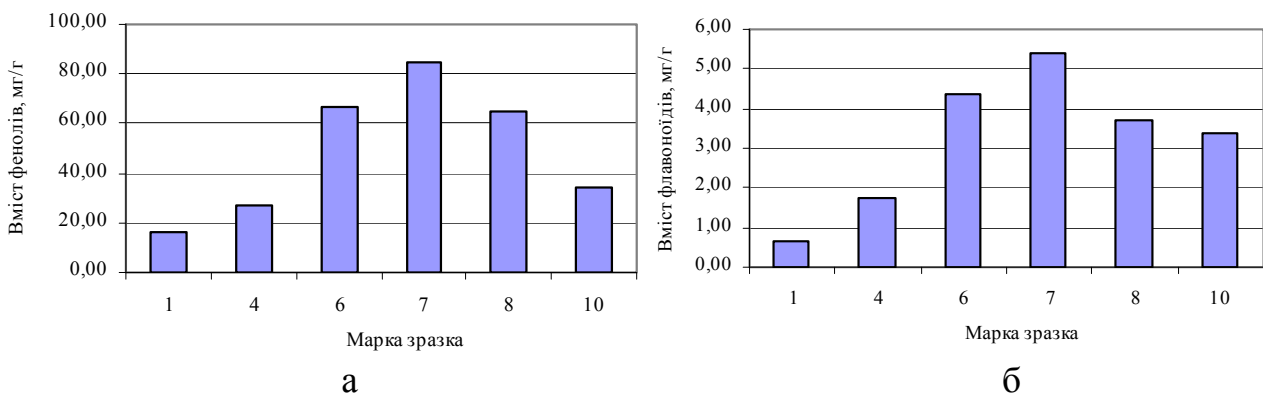


Рисунок 2 – Вплив режиму термообробки на динаміку вмісту спирторозчинних сполук у деревині граба: а – феноли; б – флавоноїди

Видно, що вміст фенолів і флавоноїдів у спиртових екстрактах є максимальним для зразків оброблених за температури 190°C упродовж 20 год. Збільшення температури нагрівання до 220°C викликає зменшення кількості спирторозчинних сполук.

Хроматографія фенілпропаноїдів деревини граба звичайного у іншій системі розчинників (толуол-ацетон-мурашина кислота; v/v/v – 6/6/2) виявила близьку закономірність розподілу оксикоричних і фенолкарбонових кислот, які вивільняються під впливом високих температур (рис. 3).

Також підтверджено наявність в екстрактах ферулової, кавової, п-кумарової, протокатехової, сінапової кислот. Крім того, в даній системі в контрольних зразках було виявлено речовини з  $R_f \sim 0,52$  і  $0,54$ . Для виділених сполук характерна блакитна флуоресценція. За положенням на хроматограмі речовини ймовірно є кон'югатами фенольних сполук з вуглеводами. За умов нагрівання загальний вміст даних сполук зменшується. За умови збільшення температури до  $190^\circ\text{C}$  вони виявляються в малих кількостях.

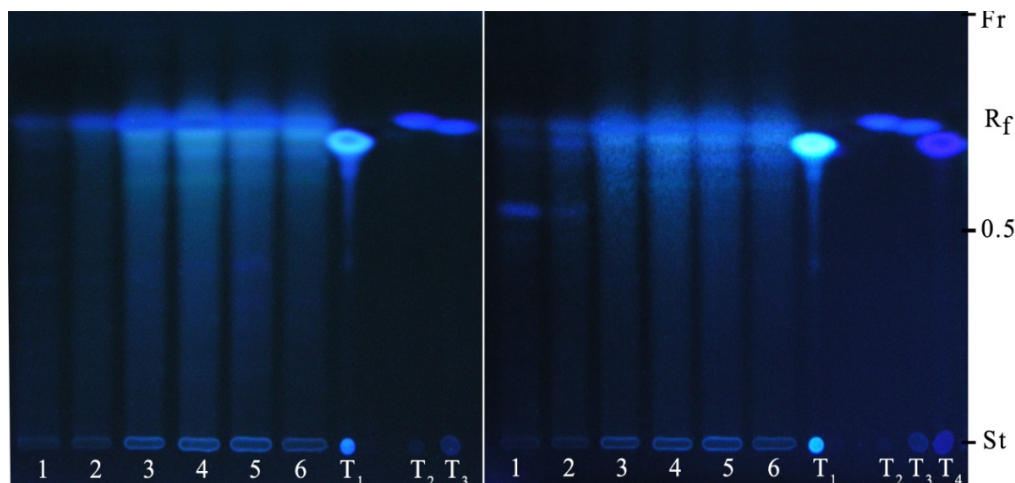


Рисунок 3 – Хроматограма фенольних сполук зі спиртових екстрактів деревини граба звичайного: 1 – необроблена деревина, 2 – оброблена за температури  $160^\circ\text{C}$  упродовж 20 год; 3 –  $190^\circ\text{C}$  10 год; 4 –  $190^\circ\text{C}$  20 год; 5 –  $220^\circ\text{C}$  10 год; 6 –  $220^\circ\text{C}$  20 год; стандарти  $T_1$  – ферулова кислота;  $T_2$  – протокатехова кислота;  $T_3$  – 3,4 метоксикорична кислота;  $T_4$  – п-кумарова кислота;  $T_5$  – сінапова кислота;  $T_6$  – кавова кислота

Даний ефект, ймовірно, пов'язаний з термічним розкладанням молекули, а не перетворенням на інші ароматичні сполуки. Вміст флавоноїдів в екстрактах за збільшеної температури на  $30^\circ\text{C}$  призводить до зменшення кількості вивільнених флавоноїдів у 2,0–2,3 рази (табл. 1).

Таблиця 1 – Фотоденситометричний аналіз інтенсивності флуоресценції індивідуальних сполук у спиртових екстрактах деревини граба звичайного ( $\lambda = 365 \text{ нм}$ )

Площа піків на фотоденситограмі, $S \times 10^3$ у.о.																
<b>Rfx 100</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>14</b>	<b>22</b>	<b>23</b>	<b>26</b>	<b>28</b>	<b>34</b>	<b>37</b>	<b>43</b>	<b>49</b>	<b>59</b>	<b>65</b>	<b>69</b>	<b>75</b>	<b>97</b>
Трек 1	55,1	20,4	30,9	–	7,3	20,4	–	–	–	–	3,9	–	–	–	–	–
Трек 2	15,5	24,9	18,7	5,9	2,1	9,6	–	19,4	–	–	1,9	2,0	4,9	–	–	1,9

Трек 3	32,0	43,6	56,2	—	40,1	—	93,1	—	62,6	25,2	40,0	4,4	3,9	—	7,3	—
Трек 4	19,2	41,7	71,8	—	54,8	—	109,8	—	68,0	35,8	35,1	4,4	4,4	—	—	—
Трек 5	21,5	33,4	49,4	—	29,2	—	40,5	—	44,8	18,7	30,1	4,5	2,8	—	8,3	—
Трек 6	14,5	8,6	34,2	—	26,4	—	47,3	—	48,0	22,8	26,5	4,8	3,2	—	6,3	—

Примітка. Трек 1 – необроблена деревина, Трек 2 – оброблена за температури 160°C упродовж 20 год; Трек 3 – 190°C 10 год; Трек 4 – 190°C 20 год; Трек 5 – 220°C 10 год; 6 – 220°C 20 год.

Характерна для багатьох оксикоричних і фенолкарбонічних кислот блакитна флуоресценція була виявлена на хроматограмі з  $R_f \sim 0,26-0,75$  (рис. 4).

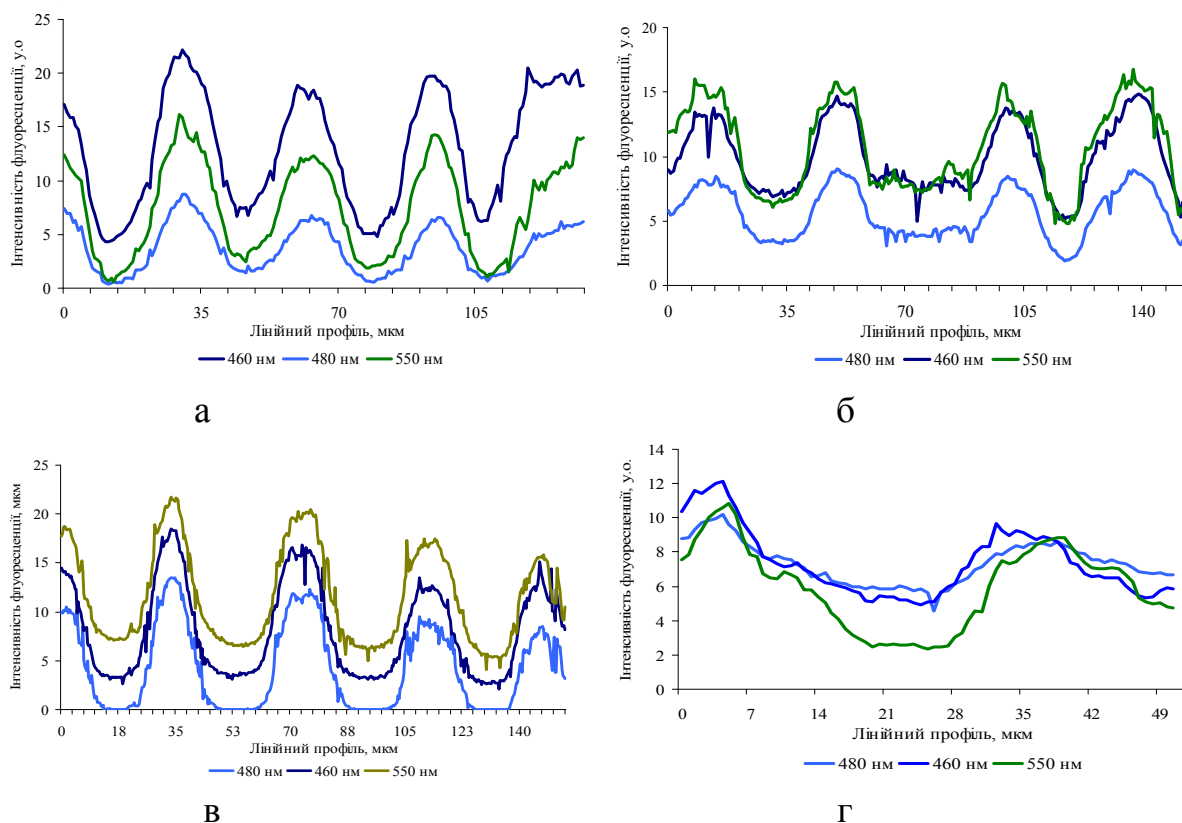


Рисунок 4 – Інтенсивність флуоресценції клітинних стінок деревини за різних режимів термообробки: а – необроблена; б – 160°C 20 год; в – 190°C 20 год; г – 220°C 20 год

За співвідношенням положення плям на хроматограмі і їх здатності до характерної флуоресценції, яка підсилюється або послаблюється під дією хромогенних реактивів у складі екстрактів нами визначено кавову, ферулову, п-кумарову, протокатехову кислоти. Після обробки хроматограми спиртовим розчином луку інтенсивність флуоресценції розділених сполук зменшилась. Речовини з  $R_f \sim 0,59$  і  $0,65$  втратили здатність до флуоресценції під УФ



променями ( $\lambda = 365$  нм), проте набули яскравого лимонно-жовтого кольору у видимому світлі. Властивість лактонового кільця зворотно розмикатись під дією луку є характерною для кумаринів і використовується для їх ідентифікації. Здатністю до флуоресценції володіють, головним чином, кумарини з оксигрупами у бензольному кільці, які у лужних розчинах набувають жовтого кольору.

У досліджених зразках за даними фотоденситометричного аналізу сумарний вміст фенілпропаноїдів та їх похідних на хроматограмі у залежності від режимів термообробки розподіляється логнормально (рис. 5).

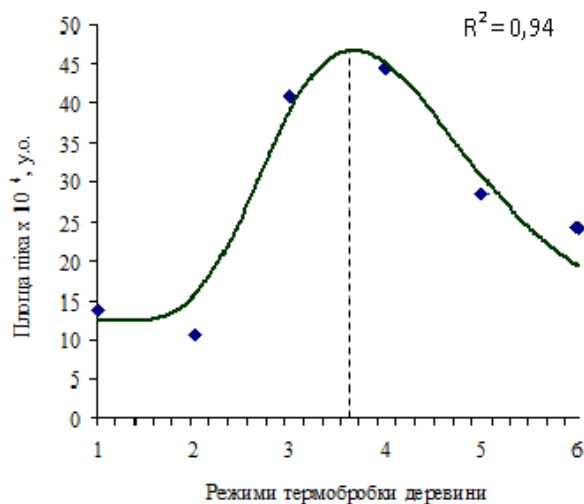


Рисунок 5 – Математична залежність вмісту фенольних сполук у спиртових екстрактах від режиму температури обробки деревини граба звичайного: 1 – необроблена деревина, 2 – оброблена за температури 160°C упродовж 20 год; 3 – 190°C 10 год; 4 – 190°C 20 год; 5 – 220°C 10 год; 6 – 220°C 20 год

Зниження вмісту фенольних сполук свідчить про те, що під дією високих температур (220°C) відбувається їх розкладання. Враховуючи, що фенольні сполуки також виконують захисні функції, які забезпечують стійкість деревини проти бактерій, лігнінруйнуючих і целюлозоруйнуючих грибів, а також личинок комах-ксилотрофів, важливим технологічним аспектом є збереження у складі деревини фенольних сполук слабкозв'язаних з біополімерами клітин.

На рис. 6 наведено вплив режиму оброблення на вміст фенольних сполук у спиртовому розчині. Видно, що вихід фенольних сполук у спиртовий розчин є максимальним у зразків деревини граба термооброблених за температури 160°C, а за температури 220°C – зменшується, що повторює дані, отримані нами в ході попереднього хроматографічного аналізу.

За результатами моделювання динаміки виходу фенілпропаноїдів та їх кон'югатів у спиртовий розчин підібрано дещо іншу функцію (рис. 7), яка з достатньо високою точністю описує зазначений процес ( $R^2 = 0,991$ ). Математичний вираз залежності має наступний вигляд:

$$y = y_0 + ae^{\left[-0,5\left(\frac{|x-x_0|}{b}\right)^c\right]} \quad (2)$$

Відповідні коефіцієнти для рівняння мають наступні значення:  $a = 72,0276$ ;  $b = 1,1729$ ;  $c = 1,0$ ;  $x_0 = 3,4469$ ;  $y_0 = -5,7987$ .

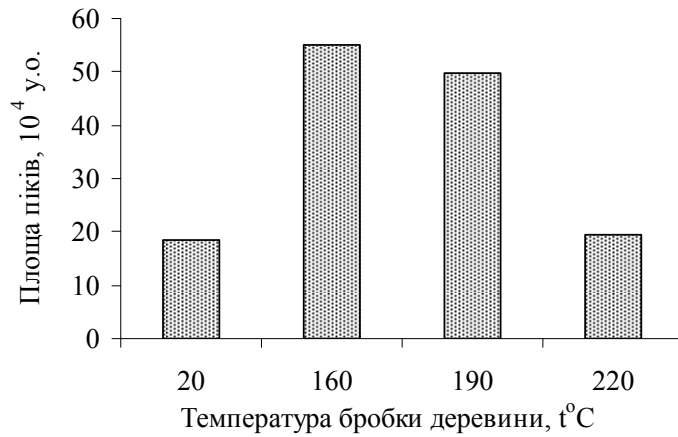


Рисунок 6 – Залежність вмісту фенольних сполук у спиртових екстрактах від температури обробки деревини граба звичайного упродовж 20 год

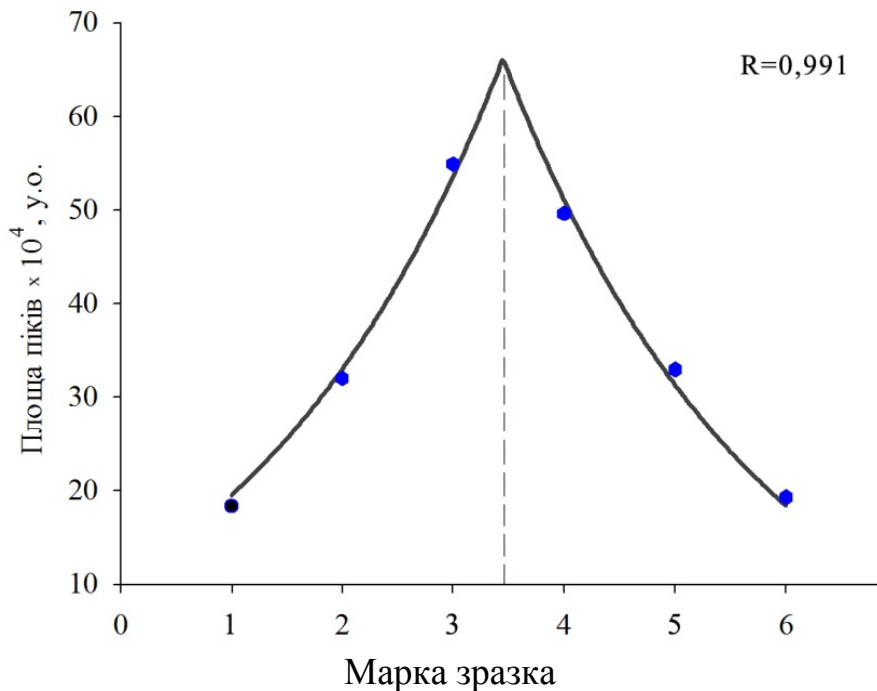


Рисунок 7 – Залежність вмісту фенольних сполук у спиртових екстрактах деревини граба звичайного від тривалості і температури обробки

Слід відзначити, що як і у попередній функції, максимум кількості вивільнених розчинних в етиловому спирті фенольних сполук спостерігається за умов підвищення температури до 190°C з нагріванням не більше 20 год.

**Висновки.** Під впливом високих температур у матриксі клітинних стінок відбувається розрив простих і складних ефірних зв'язків між біополімерами і оксикоричними кислотами. Унаслідок цього механічні властивості деревини погіршуються [9]. Враховуючи, що незворотність процесів руйнування цілісності матрикса клітинних стінок напряму залежить від температури та тривалості обробки деревини цілком очевидно, що існує можливість експериментальним шляхом визначити раціональні режими температурної обробки, які забезпечують підвищення декоративних якостей з найменшою втратою важливих фізико-хімічних властивостей цінного матеріалу.

### Список літератури

1. Boonstra M.J. Strength properties of thermally modified softwoods and its relation to polymeric structural wood constituents / Boonstra M.J., Van Acker J., Tjeerdsma B.F., Kegel E.V. // *Ann. For. Sci.*, 2007. – № 64. – P. 679 – 690.
2. Kacikova D. Effects of thermal treatment on chemical, mechanical and colour traits in Norway spruce wood / Kacikova D., Kacik F., Cabalova I., Durkovic J. // *Bioresource Technology*, 2013. – P. 669 – 674.
3. Hill C.A.S. Wood modification – chemical, thermal and other processes. John Wiley & Sons Ltd, Chichester UK, 2006. – P. 239.
4. Chen Y. The effect of heat treatment on the chemical and color change of black locust (*Robinia pseudoacacia*) wood flour / Chen Y., Fan Y., Gao J., Stark N.M. // *BioResources*, 2012. – № 7. P. 1157 – 1170.
5. Kocaefe D. Effect of thermal treatment on the chemical composition and mechanical properties of birch and aspen / Kocaefe D., Poncsak S., Boluk Y. // *BioResources*, 2008. – № 2. – P. 517 – 537.
6. Windeisen E. Relations between chemical changes and mechanical properties of thermally treated wood / Windeisen E., Bachle H., Zimmer B., Wegener G. // *Holzforschung*, 2009. – № 63. – P. 773 – 778.
7. Методы определения редокс-статуса культивируемых клеток растений / [Г.В. Сибгатуллина, Л.Р. Хаертдинова, Е.А. Гумерова и др.]. – Казань: Казанский (Приволжский) Федеральный университет, 2011. – 61 с.
8. Практикум по фармакогнозии / [В.Н. Ковалев, Н.В. Попова, В.С. Кисличенко и др.]; под ред. В.Н. Ковалева. – Х.: Изд-во НФаУ «Золотые страницы», 2003. – 512 с.
9. Пінчевська О.О. Властивості термомодифікованої деревини граба / О.О. Пінчевська, О.Ю. Горбачова // *Сучасні будівельні конструкції з металу, деревини та пластмас. – Збірник наукових праць Одеської державної академії будівництва та архітектури.* – Одеса: 2017. – № 21. – С. 71 – 77.



**Аннотация**

**БИОХИМИЧЕСКАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ДРЕВЕСИНЫ ГРАБА ПОД  
ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР**

Пинчевская Е.А., Горбачева А.Ю., Лиханов А.Ф.

*Приведена методика биохимического анализа и результаты экспериментальных исследований влияния термического модифицирования на количественное и качественное содержание веществ в древесине граба.*

**Abstract**

**BIOCHEMICAL TRANSFORMATION OF HORNBEAM WOOD  
UNDER THE INFLUENCE OF HIGH TEMPERATURES**

Pinchevska O.O., Gorbachova O.Yu., Likhanov A.F.

*Methodology of biochemical analysis and results of experimental studies of thermal modification effect on quantitative and qualitative content of hornbeam wood compounds are presented.*