

EKSTRAKTIVI V TKIVIH EVROPSKEGA MACESNA (*LARIX DECIDUA* MILL.)

Extractives in the tissues of European larch (*Larix decidua* Mill.)

Izvleček: Predstavljena je kemijska karakterizacija lipofilnih in hidrofilnih ekstraktivov v tipičnih lesnih tkivih evropskega macesna (*Larix decidua* Mill.) kot so beljava, jedrovina, grča in segmenti veje. Analiza je pokazala, da je lipofilna struktura tkiv zelo podobna, medtem ko se vsebnosti hidrofilnih fenolnih spojin v posameznih tkivih med seboj precej razlikujejo. Največje koncentracije fenolov so bile izmerjene v grči, zato bi grče lahko služile kot surovina za pridobivanje bioaktivnih spojin z visoko dodano vrednostjo.

Ključne besede: evropski macesen, odpadna lesna biomasa, lipofilni in fenolni ekstraktivi, flavonoidi, lignani, produkti z dodano vrednostjo

Abstract: Chemical characterization of lipophilic and hydrophilic extractives in typical wood tissues of European larch (*Larix decidua* Mill.), such as sapwood, heartwood, knot and branch segments is presented. The analysis indicated similar lipophilic structure of all tissues, while the content of hydrophilic phenolic compounds in individual tissues proved to be significantly different. The highest phenolic concentrations were determined in knotwood, which classifies it as suitable raw material for large scale production of bioactive compounds with high added value.

Key words: european larch, waste wood biomass, lipophilic and phenolic extractives, flavonoids, lignans, products with added value

UVOD

Evropski macesen (*Larix decidua* Mill.) pripada zvrsti macesnov, katerih tipično rastišče so hladni, gorati predeli. Macesnovo jedrovino karakterizira precejšnja biološka odpornost, prav tako pa je zelo obstojna proti vremenskim vplivom, kislinam in vodi. Številni avtorji povezujejo obstojnost lesa z vsebnostjo nekaterih vrst ekstraktivov. Ti so v splošnem nestrukturne komponente drevesnih tkiv, zato je njihova vsebnost precej nižja od vsebnosti osnovnih gradbenih elementov, to je polisaharidov in lignina in v povprečju doseže le do nekaj % suhe mase lesa. Vrste in koncentracije ekstraktivov so odvisne od drevesne vrste, tipa tkiva, geografske lege rastišča, klimatskih pogojev, letnega časa odzema, starosti in zdravstvenega stanja drevesa. Ekstraktivi vplivajo na barvo, vonj ter manj na gostoto in trdnost lesa. Njihova funkcija v živih tkivih še ni

povsem raziskana. Znano je, da so nekatere spojine, kot npr. steroli in sterolni estri komponente celičnih membran in sodelujejo pri različnih biokemičnih procesih v celicah, medtem ko druge, npr. trigliceridi in digliceridi, predstavljajo hranilne zaloge. Najpomembnejša funkcija ekstraktivov pa je najverjetneje mehanska in kemijska zaščita lesnih tkiv pred vdorom mikroorganizmov, gliv in insektov. Tipično mehansko zaščitno plast oz. hidrofobno bariero lahko tvorijo smolne komponente in voski, medtem ko bolj polarni fenoli (lignani, flavonoidi, stilbeni) izkazujejo biocidne lastnosti in so zelo toksični za številne organizme (Hawley in sod., 1924; Scheffer in Cowling, 1966; Fengel in Wegener, 1984; Schultz in sod., 1990, 1995).

Ekstraktivi so dobro topni v bolj ali manj polarnih organskih topilih, zato jih je možno izolirati iz lesnega matriksa s pomočjo ekstrakcije. Vsebnost ekstrakta običajno določimo gravimetrično, kemijsko sestavo pa s pomočjo kromatografskih in spektroskopskih analiznih tehnik kot so TLC, GC-FID, GC-MS, HPLC, UV-VIS, FTIR in NMR (Sjöstrom in Alen, 1999; Willför in sod., 2006).

dr. Inštitut za celulozo in papir, Bogišičeva 8, SI-1000 Ljubljana,
e-pošta: janja.zule@icp-lj.si

* prof. dr., Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za lesarstvo,
Jamnikajeva 101, SI-1000 Ljubljana

Med najbolj raziskanimi zvrstmi macesna sta sibirski macesen (*Larix sibirica* Lebed.) in japonski macesen (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carr). Avtorji so se osredotočali predvsem na določanje vrst in koncentracij ekstraktivov v jedrovini na reprezentativni višini 1,5 m (Gripenberg, 1952; Brewerton 1956; Nair in von Rudloff 1960; Gierlinger in sod., 2002;). Nekateri so definirali radialno porazdelitev ekstraktivov v jedrovini (Sasaya in sod., 1970; Keith in Chauret, 1988; Chui in Mackinnon-Peters 1995), drugi so poskušali ugotoviti povezavo med vsebnostjo ekstraktivov in biološko odpornostjo jedrovine (Doi in sod., 1998; Ohmura in sod., 1999; Windeisen in sod., 2002). Nekaj raziskav je bilo posvečenih pridobivanju tehnološko uporabnih ekstraktivov iz lesa in skorje sibirskega macesna (Babkin in sod., 2001; Aleksandrova in sod., 2002;). Holmbom in sodelavci (2003, 2007) so identificirali hidrofilne ekstrakte v grčah evropskega in sibirskega macesna ter tamaraka, pri čemer se je pokazalo, da slednje vsebujejo visoke vsebnosti fenolov.

Namen naše raziskave je bil primerjalna določitev kemijske sestave in koncentracijske porazdelitve lipofilnih in hidrofilnih ekstraktivov v različnih lesnih tkivih kot so beljava, jedrovina, grča in veje, ki imajo različno morfološko strukturo in biološko funkcijo v drevesu. Grče in veje običajno predstavljajo odpadke lesnopredelovalne industrije, zato nas je zlasti zanimalo ali bi lahko služile kot vir za pridobivanje tehnološko pomembnih ekstraktivnih komponent kot so lipidi in fenoli.

MATERIALI IN METODE

VZORČENJE IN PRIPRAVA VZORCEV

Ob koncu pomladnega obdobja smo vzorčili tkiva zdravega, 100 let starega in 25 m visokega macesna, in sicer na območju gore Pece v občini Črna na Koroškem. Na višini 13 m vzdolž debla smo odvzeli povprečne vzorce beljave, jedrovine, grčo in 10 cm dolge segmente veje na razdaljah (0-10) cm, (50-60) cm in (110-120) cm od debla. Grčo smo razdelili na dve, po masi enaki polovici, in sicer zunanjo in notranjo. Vse vzorce smo kmalu po odvzemu zamrznili pri -24 °C (slika 1).



Slika 1. Vzorci lesnih tkiv na višini 13 m (beljava, jedrovina, grča, segmenti veje)

Pred analizo smo vzorce odtajali, razrezali na drobne trske in slednje 24 ur sušili z liofilizacijo. Nato smo trske zmelili v lesno moko s pomočjo laboratorijskega mlina.

EKSTRAKCIJA

Ekstrakcije smo izvajali na avtomatskem ASE ekstraktorju (Dionex ASE 200). Okrog 5 g posušenih vzorcev smo zahtevali v kovinske ekstrakcijske celice in izvedli sekvenčne ekstrakcije, in sicer najprej z nepolarnim heksanom (V-50 ml), da smo izolirali lipofilne komponente. Po odstranitvi slednjih smo lesne vzorce ekstrahirali še s 95 % etanolom (V-50 ml), pri čemer smo selektivno odstranili še hidrofilne fenolne spojine, ki so dobro topne v etanolu.

DERIVATIZACIJA EKSTRAKTOV

Vse heksanske in etanolne ekstrakte smo derivatizirali pred snemanjem plinskih kromatogramov (GC-FID, GC-MS), s čimer smo pretvorili spojine s prostimi fenolnimi skupinami v odgovarjajoče trimetilsililne (TMS) derivate, in sicer etre in estre. Odgovarjajoči količini ekstrakta (v 10 ml epruveti s pokrovčkom), ki je vsebovala pribl. 0,5 mg ekstraktivov, smo dodali 2 ml raztopine internih standardov, in sicer heneikozanojske kisline (S1), betulnola (S2) holesteril heptadekanoata (S3) in 1,3-dipalmitil-2-oleil glicerola (S4), katerih koncentracije so znašale 0,02 mg/ml. Zmes vzorca in standardnih spojin smo posušili v toku dušika in v vakuumskem sušilniku pri 40 °C, nakar smo dodali ustrezne reagente za sililacijo, in sicer 80 μl BSTFA (bis-trimetilsilil-trifluoroacetamid), 20 μl TMCS (trimetil-klorosilan) in 20 μl piridina. Reakcijsko zmes smo segrevali 1 uro pri 70 °C, nato smo jo ohladili in prenesli v avtomatski injektor plinskega kromatografa.

IDENTIFIKACIJA SPOJIN V EKSTRAKTIH (GC-MS)

Karakteristične spojine v heksanskih in etanolnih ekstraktih smo identificirali s pomočjo GC-MS kromatogramov in ustreznih masnih spektrov kromatografskih vrhov. Analize smo izvajali na aparatu HP 6890-5973 GC-MSD. Ločba je potekala na koloni HP-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) ob uporabi programiranega segrevanja kolone: 80 °C, 8 °C/

min, 290 °C; nosilni plin He (0,9 ml/min); split injektor (1:15) - 260 °C; MS-EI detektor (280 °C, 70 eV).

KVANTITATIVNA ANALIZA LIPOFILNIH SKUPIN

Analizo lipofilnih skupin v heksanskih ekstraktih smo izvedli z metodo plinske kromatografije na aparatu Perkin Elmer Clarus 500. Ločba je potekala na kratki koloni HP-1 (6 m x 0,53 mm x 0,15 μm), pri čemer smo uporabili naslednje eksperimentalne pogoje - temperaturni program segrevanja kolone: 100 °C (1,5 min), 12 °C/min, 340 °C (5 min); nosilni plin H₂ (7 ml/min, programiran pretok); PSS injektor - temperaturni program segrevanja: 80 °C (0,1 min), 50 °C/min, 110 °C, 15 °C/min, 330 °C (7 min); FID detektor: 340 °C; volumen injeciranja 0,5 μl (na kolono). Heneikozanojsko kislino (S1) smo uporabili za kvantifikacijo prostih maščobnih in smolnih kislin ter diterpenoidov, betulinol (S2) za kvantifikacijo sterolov in dimernih fenolov, holesteril heptadekanoat (S3) za določitev sterolnih estrov in 1,3-dipalmitil-2-oleil glicerol (S4) za določitev trigliceridov. Pri izračunih koncentracij lipofilov nismo uporabili korekcijskega faktorja. Vsebnosti posameznih skupin ekstraktivov so podane kot mg/g suhe mase lesa, pri čemer so bile meje določljivosti okrog 0,01 mg/g.

KVANTITATIVNA ANALIZA ETANOLNIH EKSTRAKTOV (GC-FID)

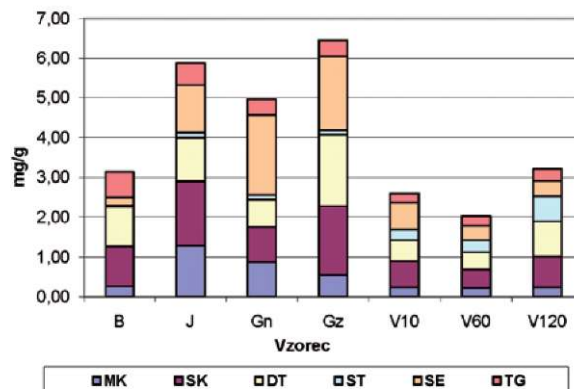
Kvantitativno določitev fenolov smo izvedli s plinsko kromatografijo na aparatu Perkin Elmer AutoSystem XL. Ločba je potekala na koloni HP-1 (25 m x 0,20 mm x 0,11 μm), pri čemer smo uporabili naslednje eksperimentalne pogoje - temperaturni program segrevanja kolone: 120 °C, 6 °C/min, 300 °C (10 min); nosilni plin H₂ (0,8 ml/min); split injektor (1:20) - 160 °C, 8 °C/min, 260 °C (15 min); FID detektor: 320 °C; volumen injeciranja 1 μl. Za kvantifikacijo fenolov smo uporabili interni standard S2 (betulinol). Vse izračunane vrednosti so podane kot mg/g suhe mase lesa.

Vse analize ekstraktivov v vzorcih drevesnih tkiv so bile izvedene v vsaj dveh ponovitvah. Rezultati so podani kot povprečne vrednosti posameznih določitev v mg na g suhe mase lesa.

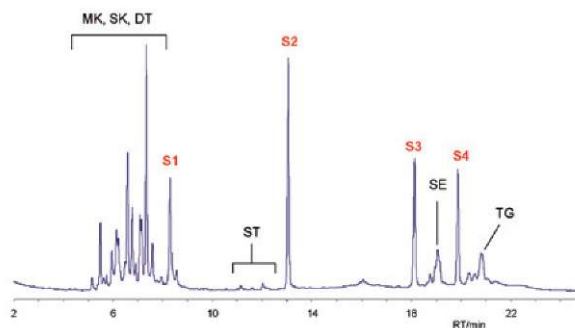
REZULTATI IN DISKUSIJA

LIPOFILNI EKSTRAKTIVI

Analiza heksanskega ekstrakta oz. lipofilne frakcije je pokazala, da se v vseh preiskovanih vzorcih nahajajo iste lipofilne skupine, in sicer proste maščobne in smolne kisline, diterpenoidne komponente, steroli, sterolni estri in trigliceridi, poleg teh pa še sledovi maščobnih alkoholov ter diterpenoidnih alkoholov in aldehydov. Celokupne koncentracije lipofilnih komponent so se gibale v ob-



Slika 2. Sestava lipofilne frakcije v lesnih tkivih na višini 13 m (B-beljava, J-jedrovina, Gn, Gz-notranja in zunanja polovica grče, v10, v60, v120-segmenti veje, MK-maščobne kisline, sK-smolne kisline, dt-diterpenoidi, st-steroli, se-sterolni estri, TG-trigliceridi)



Slika 3. GC-FID kromatogram heksanskega ekstrakta beljave na višini 13 m (MK-maščobne kisline, sK-smolne kisline, dt-diterpenoidi, st-steroli, SE-sterolni estri, tg-trigliceridi, s1-s4-interni standardi)

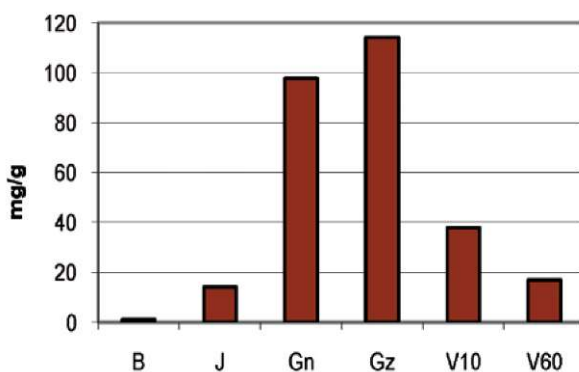
močju med 2 mg/g in 6,5 mg/g. Najnižje koncentracije so bile izmerjene v beljavi in segmentih veje, medtem ko so bile nekoliko višje koncentracije zaznane v jedrovini in grči. Koncentracije lipofilnih skupin so prikazane na sliki 2, tipičen kromatogram heksanskega ekstrakta, posnet na kratki kapilarni koloni pa na sliki 3.

Med zaznanimi maščobnimi kislinami so bile v macesnovih tkivih daleč najpomembnejše nenasičene, in sicer oleinska (C18:1), linolna (C18:2) in pinolenska (C18:3), medtem ko so glavne predstavnice smolnih kislin izopimarna, palustrinska in abietinska kislina. V vseh tkivih sta se pojavljala tudi diterpenoida epimanol in larksil acetat. Slednji je bil praktično v vseh vzorcih najpomembnejša lipofilna komponenta. Koncentracije prostih sterolov so bile zelo nizke, med njimi je prevladoval β-sitosterol. Med višjimi lipidi so

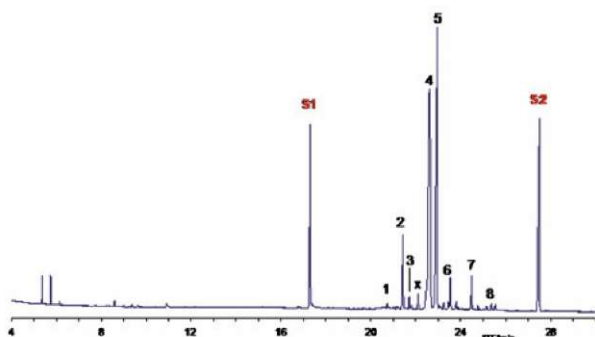
izstopali sterolni estri, medtem ko so bile koncentracije trigliceridov v preiskovanih tkivih na višini 13 m dokaj nizke.

HIDROFILNIEKSTRAKTIVI

Večje razlike v kvalitativni in kvantitativni sestavi tkiv so bile zaznane v primeru hidrofilne, torej v etanolu topne ekstraktivne frakcije. Iz GC-FID kromatogramov izračunane vsebnosti fenolov so se močno razlikovale. V beljavi so bile fenolne komponente prisotne praktično le v sledovih, saj njihova celokupna vsebnost ni preseгла vrednosti 0,2 mg/g. V jedrovini in segmentih veje so bile koncentracije fenolov dokaj podobne, in sicer so se gibale med 10 mg/g (V120) in 38 mg/g (V10), pri čemer je povprečna vsebnost v jedrovini znašala 14,4 mg/g. Precej višje koncentracije fenolnih ekstraktivov pa so bile izmerjene v grči, kjer je vsebnost v zunanjem delu grče preseгла celo 100 mg/g. Koncentracijska porazdelitev fenolne frakcije



Slika 4. Koncentracije fenolov v različnih tkivih na višini 13 m (B-beljava, J-jedrovina, Gn, Gz-notranja in zunanja polovica grče, v10, v60, v120-segmenti veje)



slika 5. GC-FID kromatogram etanolnega ekstrakta grče (GZ) na višini 13 m (1-naringenin, 2-dihidrokemferol, 3-taksifolin (iz.), x-neznan fenol, 4-taksifolin, 5-sekoizolaricirezinol, 6-nortrakelogenin, 7-laricirezinol, 8-kvercetin, s1, s2-interna standarda)

v tkivih na višini 13 m je prikazana na sliki 4, GC-FID kromatogram etanolnega ekstrakta macesnove grče (Gz) na višini 13 m pa na sliki 5.

Tudi kvalitativna sestava fenolne frakcije se je med posameznimi tkivi precej razlikovala. Tipično prevladujeta v jedrovini predvsem dve komponenti, in sicer flavonoida taksifolin in dihidrokemferol, medtem ko je fenolna sestava grče in segmentov veje precej bolj raznolika, saj so poleg obeh flavonoidov prisotni tudi lignani. Delež dihidrokemferola se močno zmanjša, poveča se delež lignana sekoizolaricirezinola, hkrati pa je večja tudi vsebnost ostalih fenolnih spojin, kot so naringenin, todolaktol A, izoliovil, nortrakelogenin, laricirezinol in kvercetin. Slednji so v jedrovini komaj zaznavni. Tako je utežno razmerje med flavonoidi in lignani v jedrovini 98 : 2, medtem ko je v grči (Gz) 56 : 44. V vseh tkivih, razen v jedrovini, je bila koncentracijsko najpomembnejša fenolna komponenta flavonoid taksifolin. Kvantitativna sestava fenolne frakcije preiskovanih tkiv je prikazana v preglednici 1.

Izrazito fenolno nehomogenost lesnih tkiv je možno pojasniti tako, da gre koncentriranje fenolov oz. polifenolov v grčah pripisati njihovim antibakterijskim in antioksidativnim lastnostim. Grče so dokaj izpostavljena tkiva, saj pogosto prihaja do ranitev oz. do odlomov vej tik ob deblu. Odrpna rana je občutljiva in dovzetna za vdor najrazličnejših mikroorganizmov, prav tako pa premikanje veje ustvarja napetosti in vpliva na kemizem v neposredni okolici oz. na sproščanje prostih radikalov. Nevtralizacija prostih radikalov je pomembna zaščitna sposobnost fenolne molekule, saj mikrobi kot so npr. glive bele trohnobe in glive rjave trohnobe lahko razkrajajo rastlinske celične stene le s pomočjo prostih radikalov. Ker vsebujejo grče pretežno mrtva tkiva, se ne morejo aktivno zoperstaviti infekciji. Najboljša obramba v tem primeru je preventivno skladiščenje velike količine bioaktivnih ekstraktivov, ki so toksični za številne mikroorganizme (Rennerfelt in Nacht, 1955; Hart, 1989; Willför, 2002). Pomembne pa niso zgolj koncentracije temveč tudi sinergistično delovanje fenolnih spojin, saj izkazujejo ustrezne kombinacije flavonoidov in lignanov močnejše bioaktivne lastnosti in zaščitno delovanje kot posamezne spojine.

Analiza fenolnih spojin v lesnih tkivih macesna je pokazala, da je jedrovina slabše kemijsko zaščitena kot grče in veje, saj vsebuje nižje koncentracije in »šibkejše« kombinacije fenolov v primerjavi z ostalimi tkivi. Dokazano je, da je tipični jedrovinski flavonoid dihidrokemferol šibkejši antioksidant kot lignan sekoizolaricirezinol, ki je prisoten v jedrovini zgolj v sledovih, se pa kopiči v grči in segmentih veje, ki so bolj izpostavljena tkiva in potrebujejo učinkovitejšo kemijsko zaščito (Pietarinen in sod., 2006) (slika 6).

Preglednica 1. Vsebnost fenolnih spojin v tkivih macesna na višini 13 m

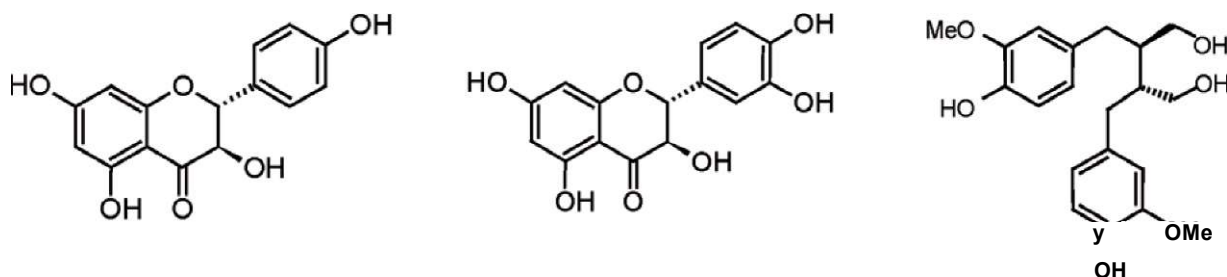
Spojina	Beljava mg/g	Jedrovina mg/g	Grča (n) mg/g	Grča (z) mg/g	Veja (10) mg/g	Veja (60) mg/g	Veja (120) mg/g
Naringenin	0,002	0,19	0,71	0,44	0,42	0,10	0,08
Dihidrokemferol	0,060	8,0	10	7,7	2,0	1,9	1,7
Taksifolin (izomera)	0,001	0,07	1,1	1,0	1,8	0,66	0,29
Todolaktol A	0,008	0,06	0,08	0,11	0,44	0,18	0,24
Neznana spojina	< 0,001	0,02	1,3	1,3	1,4	0,02	0,01
Taksifolin	0,067	5,8	57	54	25	10	5,4
Sekoizolaricirezinol	0,006	0,10	20	40	3,2	1,8	0,46
Izoliovil	0,002	< 0,01	0,12	0,19	0,58	0,36	0,25
Nortrakelogenin	< 0,001	< 0,01	0,78	2,5	0,25	0,07	0,01
Laricirezinol	0,005	0,06	0,27	3,4	0,48	0,12	0,05
Kvercetin	< 0,001	< 0,01	0,04	0,54	< 0,01	0,08	0,01
Ostale spojine	0,040	0,1	5,1	2,0	2,3	2,1	1,6
Skupaj	0,191	14,4	98	114	38	17	10

Taksifolin in sekoizolaricirezinol sodita med najmočnejše antioksidante, ki jih najdemo v rastlinskih tkivih. Sta učinkovitejša od večine znanih vitaminov in karotenoidov. Izkazujeta številne zdravilne lastnosti tudi za človeški organizem, saj delujeta protivnetno, znižujeta visok krvni tlak, krepita imunski sistem, varujeta pred degenerativnimi spremembami v celicah, izboljšujeta umske sposobnosti in podobno, skratka sta spojini z visokim bioaktivnim potencialom in zato z visoko dodano vrednostjo.

Bogata fenolna sestava grčje značilna tudi za druge iglavce, npr. smreko, jelko in borovce. Grče in veje predstavljajo pomemben odpadke lesnopredelovalne industrije, ki ostaja na mestu nastanka v gozdovih oz. se uporablja kot energent v industriji in kurilnicah, pri čemer se uničijo zelo velike količine visoko bioaktivnih spojin, ki bi jih lahko izolirali in uporabili za različne tehnološke namene, npr. v farmaciji ter prehrabeni, kozmetični in kemični industriji kot naravna zaščitna sredstva.

SKLEP

Kemijska karakterizacija lipofilnih in hidrofilnih ekstraktivnih komponent v beljavi, jedrovini, grči in segmentih veje evropskega macesna je pokazala, da se posamezna tkiva razlikujejo tako po celokupni vsebnosti kot tudi glede na sestavo ekstraktivov. Najmanj lipofilnih in hidrofilnih ekstraktivnih spojin v suhi masi vsebujeta beljava (< 0,4 %) in jedrovina (2 %) medtem ko se največje koncentracije nahajajo v grči (12 %) in segmentu veje tik ob deblu (4 %). Za macesen najbolj karakteristična in prevladujoča lipofilna komponenta, ki se pojavlja v vseh tkivih, je diterpenoid lariksil acetat, medtem ko med fenolnimi spojinami v jedrovini prevladujeta flavonoida dihidrokemferol in taksifolin, ki se jima v grčah in vejah pridruži še lignan sekoizolaricirezinol. Bogata ekstraktivna sestava predstavlja učinkovito fizikalno in kemijsko zaščito bolj izpostavljenih lesnih tkiv. Koncentracije visoko biološko aktivnih fenolnih komponent v grčah in vejah so dovolj visoke, da bi



slika 6. Najpomembnejši fenoli v macesnovih tkivih (dihidrokemferol, taksifolin in sekoizolaricirezinol)

bilo smotrno tehnološko pridobivanje omenjenih spojin iz odpadne lesne biomase, ki bi tako postala surovina za proizvodnjo vsestransko uporabnih »zelenih« kemikalij z visoko dodano vrednostjo.

ZAHVALA

Raziskava je bila izvedena na finski univerzi Åbo Akademi v Turkuju. Za pomoč in sodelovanje se iskreno zahvaljujemo prof. Bjarnu Holmbomu in sodelavcem Jarlu Hemmingu, Markku Reunanenu in Andreyu Pranovichu. Za dragoceno pomoč pri vzorčenju lesnih tkiv se zahvaljujemo Martinu Zupančiču in Luki Kržetu iz Oddelka za lesarstvo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

LITERATURA

1. **Aleksandrova N.B., Kuznetsova S.A., Kuznetsov B.N., Danilov V.G., Tarabank,V.E., shambazov v.K. 2002.** Integrated processing of larch wood biomass to fine chemicals. V: 7th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp, Turku: 495-498
2. **Babkin v.A., ostroukhova L.A., Malkov Yu,A., Babkin D.V., onuchina N.A., Ivanova s.Z. 2001.** Isolation of biologically active compounds from larch wood. V: 11th ISWPC International Symposium on Wood and Pulping Chemistry, Nice, June 11-14: 119-12
3. **Brewerton H.V. 1956.** Extractives of *Larixdecidua* and *Larixleptolepis*. New ZealandJournal of Science and Technology, 37B: 626-63
4. **chui Y.H., MacKinnon-peters G. 1995.** Wood properties of exotic larch grown in eastern Canada and north-eastern United States. The Forestry Chronicle, 71, 5: 639-646
5. **Doi s., Kurimoto Y., ohmura Y., Aoyama M., ohara s. 1998.** Attractive factors of steam-treated larch wood to termite feeding. V: 29th Annual Meeting of the IRG, Maastricht, Netherlands, 14-19 June: 1-9
6. **Fengel D., Wegener G. 1984.** Wood chemistry, ultrastructure, reactions. Berlin, New York, Walter de Gruyter: 613 str.
7. **Gierlinger N., schwanninger M., hinterstoisser B., Wimmer R. 2002.** Rapid determination of heartwood extractives in *Larix* sp. by means of Fourier transform near infrared spectroscopy. Journal of Near Infrared Spectroscopy,10: 203-214
8. **Gripenberg J. 1952.** Flavanones from the heartwood of *Larix decidua* Mill. Acta Chemica Scandinavica, 6: 1152-1156
9. **hart J. 1989.** Role of wood exudates and extractives in protecting wood from decay. V: Natural products of woody plants II. Berlin, Springer: 1120 str.
10. **hawley L.F., fleck L.c., Richard, c.A. 1924.** The relation between natural durability andchemical composition in wood. Ind. Eng. Chem., 16: 699-706
11. **holmbom B., Eckerman c., Eklund p., hemming J., Nisula L., Reunanen M., sjöholm R., sundberg A., sundberg K., Willför s. 2003.** Knots in trees - a new rich source of lignans. Phytochemistry Reviews 2: 331-340
12. **holmbom B., Willför s., hemming J., pietarinen s., Nisula s., Eklund p., sjöholm R. 2007.** Knots in trees - a rich source of bioactive polyphenols. Materials, chemicals and energy from forest biomass - AC S Symposium Series, 954, ACS: 350-362
13. **Keith C.T., chauret G. 1988.** Basic wood properties of European larch from fast-growth plantations in eastern Canada. Canadian Journal of Forest Research, 18: 1325-1331
14. **Nair G.v., von Rudloff E. 1960.** Chemical composition of the heartwood extractives of *Larixlyalii*. Canadian Journal of Chemistry, 38: 177-181
15. **Ohmura W., Doi s., Aoyama M., Ohara s. 1999.** Components of steamed and non-steamed Japanese larch (*Larix leptolepis* (Sieb. et Zucc.) Gord) heartwood affecting the feeding behavior of the subterranean termite, *Coptotermes formosanus shiraki* (Isoptera: Rhinotermitidae). Holzforschung, 53, 6: 569-57
16. **pietarinen s. p., Willför s.M., Ahotupa M.O., hemming J.E., holmbom B.R. 2006.** Knotwood and bark extracts: strong antioxidants from waste materials. Journal of Wood Science, 52: 436 - 444
17. **Rennerfelt E., Nacht G. 1955.** The fungicidal activity of some constituents from heartwood of conifers. Svensk. Bot. Tidskr., 49: 419-432
18. **sasaya T., Demachi s., Terazawa M. 1970.** Studies on the extractives of larch. Report 2. Determination of flavonoids in *Larix leptolepis*. Research Bulletins of the Experiment Forest Hokkaido University, 27, 2: 429-443
19. **scheffer T.C., Cowling E.B. 1966.** Natural resistance to microbial deterioration. Annual Review of Phytopathology, 4: 147-170
20. **schultz T.p., hubbard T.F., J. L, Fisher J.L., Nicholas D.D. 1990.** Role of stilbenes in the natural durability of wood: fungicidal structure-activity relationships. Phytochemistry, 29: 1501-1507
21. **schultz T.p., harms W.B., Fisher T.H., McMurtrey K.D., Minn J., Nicholas D.D. 1995.** Durability of angiosperm heartwood: the importance of extractives. Holzforschung, 49: 29-34
22. **sjöstrom E., Alen R. 1999.** Analytical methods in wood chemistry, pulping and papermaking. Berlin Heidelberg, Springer: 316 str.
23. **Willför s. 2002.** Water-soluble polysaccharides and phenolic compounds in Norway spruce and Scots pine stemwood and knots. Åbo Akademi University, Doctoral thesis
24. **Willför s.M., smeds A.I., holmbom B.R. 2006.** Chromatographic analysis of lignans. Journal of Chromatography A., 1112: 64-77
25. **Windeisen E., Wegener G., Lesnino G., schumacher p. 2002.** Investigation of the correlation between extractives content and natural durability in 20 cultivated larch trees. Holz als Roh- und Werkstoff, 60: 373-374