

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades

**Auswirkungen verschiedener
Lagerungsbedingungen auf die Qualität
von Fichtenschleifholz**

Heiko Winter

Hamburg 2009

Universität Hamburg
Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften
Department Biologie
Zentrum Holzwirtschaft

Genehmigt vom Department Biologie
der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften
an der Universität Hamburg
auf Antrag von Professor Dr. R. PATT
Weiterer Gutachter der Dissertation:
Herr Priv.-Doz. Dr. G. KOCH
Tag der Disputation: 21. November 2008

Hamburg, den 07. November 2008




Professor Dr. Jörg Ganzhorn
Leiter des Departments Biologie

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde im Zeitraum Mai 2005 bis Oktober 2008 am Institut für Holztechnologie und Holzbiologie (HTB) des Johann Heinrich von Thünen-Instituts (vTI, Hamburg) vormals Institut für Holzchemie und Chemische Technologie des Holzes der Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft (BFH) durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen des Projektes „Einfluss der Lagerungsbedingungen von Papierholz auf die Holzstoffqualität unter Berücksichtigung ökonomischer und ökologischer Aspekte (Folienkonservierung)“ (FNR 220 151 02).

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. J. Puls für die intensive Betreuung und die ständige Diskussionsbereitschaft.

Herrn Prof. em. Dr. R. Patt danke ich für die Anleitung und die Begutachtung der vorliegenden Arbeit. Herrn PD Dr. G. Koch drücke ich meinen Dank aus für die Betreuung der mikroskopischen Untersuchungen sowie für die Begutachtung der Dissertation.

Herr Dr. S. Willför, Frau Dr. S. Pietarinen und Frau Dr. A. Smeds vom Laboratory of Wood and Paper Chemistry an der Åbo Akademi University in Turku (Finnland) möchte ich für die herzliche Aufnahme danken. Im Rahmen eines von COST Action E41 finanzierten Forschungsaufenthaltes wurde ich im Mai 2006 in Turku in die gaschromatographische Inhaltsstoffanalyse eingeführt.

Des Weiteren sei den Mitarbeitern des HTB für ihre Unterstützung meiner Analysen und für ein angenehmes, offenes Arbeitsklima gedankt. Mein besonderer Dank gilt Frau N. Erasmy (Zucker-Chromatographie), Frau M. Schirmacher (Gaschromatographie), Frau T. Potsch (UMSP-Probenvorbereitung) und Frau M. Lenz (Pilzabbau).

Den Projektpartnern der TU Darmstadt (Herr Dr. U. Hamm und Herr J. Bösner), von WoodPacker (Herr Dr. T. Maier) und von Stora Enso Maxau (Herr Dr. Gabriel und Herr Harzen) bin ich für die gute Zusammenarbeit dankbar. Das Projekt wurde von der Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe (FNR) finanziert.

Außerordentlicher Dank gilt meiner Frau Katrin, die mich immer wieder neu motiviert und daran erinnert hat, dass auch noch ein Leben abseits von Labor und Schreibtisch existiert.

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	IX
Abbildungsverzeichnis	XI
1 Einleitung	1
2 Allgemeiner Teil	3
2.1 Zusammensetzung von Fichtenholz	3
2.1.1 Chemische Zusammensetzung von Fichtenholz	3
2.1.2 Auswirkungen gelöster Holzkomponenten bei der Schliifherstellung	6
2.2 Holz als Papierrohstoff	8
2.2.1 Herstellung von Faserstoffen	8
2.2.2 Vorgänge beim Holzschleifen	8
2.2.3 Vorgänge bei der Holzerfaserung im Refiner	11
2.2.4 Zusammensetzung von Holzstoffen	12
2.2.5 Eigenschaften von Holzstoffen	13
2.2.6 Einfluss der Holzlagerung auf die Holzschliffeigenschaften	17
2.3 Lagerungsarten von Schleifholz	18
3 Material und Methoden	21
3.1 Lagerungsversuche	21
3.2 Material	23
3.2.1 Holz	23
3.2.2 Holzschliff	23
3.2.3 Organische Lösungsmittel	23
3.3 Holzfeuchte	23
3.4 Freie Zucker und Stärke	24
3.5 Sukzessive Extraktion	25
3.6 Gaschromatographie (GC)	26
3.6.1 Stoffgruppenbestimmung	26
3.6.2 Substanzidentifizierung	29
3.7 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	31
3.7.1 HPLC-MS	31
3.7.2 HPLC-UV und HPLC-Fluoreszenz	31
3.7.3 Auswertung HPLC	32
3.7.4 Externe Kalibrierung	32
3.8 Pilzabbauversuche	33
3.9 Enzymaktivität	34

3.9.1	Sauerstoffverbrauch	35
3.9.2	Oxidation von Syringaldazin	35
3.10	Mikroskopie	38
3.10.1	Universal-Mikrospektral-Photometrie (UMSP)	38
3.10.2	Lichtmikroskopie (LM)	38
4	Ergebnisse und Diskussion	39
4.1	Holzfeuchte	39
4.1.1	Mittlere Holzfeuchte	39
4.1.2	Holzfeuchteprofile	42
4.2	Freie Zucker und Stärke	47
4.2.1	Freie Zucker	47
4.2.2	Stärke	49
4.3	Lipophile Inhaltsstoffe	50
4.3.1	ASE-Vorversuche	50
4.3.2	Einführung der GC-Stoffgruppenbestimmung in Hamburg	52
4.3.3	Methodenvergleich: ASE und GC in Turku und Hamburg	54
4.3.4	Darstellung der Ergebnissen als Box-Plot	55
4.3.5	Identifizierung von Einzelsubstanzen und Stoffgruppen	57
4.3.6	Abhängigkeit des Gehalts an lipophilen Inhaltsstoffen von der Probenart	60
4.3.7	Zusammensetzung der lipophilen Extrakte	63
4.3.8	Abhängigkeit des Gehalts an lipophilen Inhaltsstoffe von der Lagerungsdauer	69
4.3.9	Abhängigkeit des Gehalts an lipophilen Inhaltsstoffen von der Lagerungsart	72
4.3.10	Abhängigkeit des Gehalts an lipophilen Inhaltsstoffen von der Berindung	77
4.4	Lignane	81
4.4.1	Identifizierung der einzelnen Lignane	81
4.4.2	Lignangehalte der verschiedenen Proben	84
4.4.3	Zusammensetzung der Lignane	87
4.4.4	Lignangehalt im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer	89
4.4.5	Lignangehalt im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsart	90
4.4.6	Lignangehalt im Kernholz bei Lagerung mit und ohne Rinde	92
4.5	Nicht-lignanstämmige phenolische Substanzen	92
4.5.1	Identifizierung der nicht-lignanstämmigen Substanzen	92
4.5.2	Gehalt und Herkunft der nicht-lignanstämmigen Substanzen	96
4.5.3	„Rindensubstanz“-Gehalte in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer	100
4.5.4	„Rindensubstanz“-Gehalte in Abhängigkeit von der Lagerungsart	102
4.5.5	Einfluss der „Rindensubstanzen“ auf den Weißgrad	104
4.6	Enzymversuche	106
4.6.1	Pilzabbauversuche	106

Inhaltsverzeichnis

4.6.2	Bestimmung der Enzymaktivität durch Messung des Sauerstoffverbrauchs	107
4.6.3	Bestimmung der Enzymaktivität durch Messung der Oxidation von Syringaldazin	110
4.7	Mikroskopische Untersuchungen	116
4.7.1	Fichtensplintholz	116
4.7.2	Pilzbehandeltes Fichtensplintholz	118
4.7.3	Splintholz von NKo 3	120
4.7.4	Fichtensplintholz in Rinde gelagert	121
4.7.5	Holzschliffe	125
5	Zusammenfassung und Bewertung	129
5.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	129
5.2	Bewertung der Lagerungsmethoden für Schleifholz	132
	Literaturverzeichnis	135

Tabellenverzeichnis

2.1	Dimensionen der Holzstoffpartikel (Brecht und Klemm, 1953).	13
3.1	Für verschiedene Untersuchungen eingesetzte organische Lösungsmittel. .	23
3.2	Bedingungen der sukzessiven Extraktion mittels ASE.	26
3.3	Standardsubstanzen, welche für die Zuordnung der Retentionszeiten bei der GC-Methode zur Stoffgruppenbestimmung eingesetzt wurden.	30
3.4	Gradient der HPLC-ESI-MS ⁿ -Untersuchungen mit den Eluenten A und B (siehe Text).	31
3.5	Gradient der HPLC-UV-Fluoreszenz-Untersuchungen mit den Eluenten A und B (siehe Text).	32
3.6	Standardsubstanzen der HPLC-Untersuchungen. Mit angegeben sind die Wiederfindungswerte bei UV- und Fluoreszenzdetektion. Einige Substanzen wiesen bei den gegebenen Fluoreszenzbedingungen keine messbare Emission auf.	33
3.7	Bedingungen der Kryomühle zur Mahlung des Holzes für die Bestimmung der Enzymaktivität.	34
4.1	Gehalte an freien Zuckern im Splintholz kurz nach der Holzernte (0 Monate) sowie nach drei und sechs Monaten Lagerung. Die eingeklammerten Werte sind die zugehörigen Standardabweichungen.	48
4.2	Stärkegehalte im Splintholz kurz nach der Holzernte (0 Monate) sowie nach drei und sechs Monaten Lagerung. Die eingeklammerten Werte sind die zugehörigen Standardabweichungen.	49
4.3	Gesamtgehalte einzelner Proben an lipophilen Stoffgruppen nach Extraktion in Hamburg und in Turku. Alle Werte wurden im Zuge der GC-Stoffgruppen-Bestimmung während des Aufenthalts in Turku bestimmt. .	54
4.4	Gesamtgehalte einzelner Proben an lipophilen Stoffgruppen nach Extraktion in Turku. Die Extrakte wurden in Turku sowie in Hamburg analysiert.	54
4.5	Werte für die beispielhaft in Abbildung 4.8 dargestellten Box-Plots. . . .	56
4.6	Wissenschaftliche Bezeichnungen, Trivialnamen und Abkürzungen der wichtigsten in Holz und Holzschliff detektierten freien Fettsäuren.	58
4.7	Bezeichnungen und Abkürzungen der identifizierten Lignane und Sesquilignane. Die hier identifizierten Sesquilignane bestehen aus Lignanen mit zusätzlicher Guaiacylglycerylether-Seitengruppe. Des Weiteren ist die Abkürzung für ein mögliches Dilignan mit aufgelistet.	81

4.8	Fragmentierungsmuster von Lignan- und Oligolignan- bei der Analyse mittels HPLC-ESI-MS ⁿ im negativen Modus. Die Muster der Lignane entsprechen Eklund et al. (2005, 2008). Die Daten für die Sesquilignane wurden von Willför et al. (2004c) ermittelt. Die ConA- und die DiLig-Werte stammen aus den eigenen Versuchen. Die Hauptfragmente sind fett gedruckt.	82
4.9	Identifizierung der Lignane und Oligolignane mittels verschiedener chromatographischer Techniken. Bei HPLC-UV-DAD sind nur die Lignane mit „x“ markiert, welche anhand von Standardsubstanzen bestimmt wurden (vergleiche Tabelle 3.6). Substanzen mit „(x)“ wiesen nur sehr schwache Fragmentierungsmuster auf.	83
4.10	Stilbene und Stilbenglucoside, die in Aceton/Wasser-Extrakten von Splintholzproben detektiert wurden. Die Abkürzungen sind in Klammern angegeben.	94
4.11	Fragmentierungsmuster der phenolischen Extraktstoffe im Splintholz aus den Untersuchungen mittels HPLC-ESI-MS ⁿ im negativen Modus. Die Hauptfragmente sind fett gedruckt. In den meisten Referenzen wird nur M-H angegeben.	94
4.12	Prozentuale Masseverluste von Fichten- und Buchenholz nach vier und acht Wochen Aktivität von <i>Trametes versicolor</i>	107
4.13	Quantitative Auswertung der Syringaldazin-Oxidation mit Extrakten von pilzbehandelten Holzproben. Neben der spezifischen Enzymaktivität ist auch die Steigung des spektralen Absorptionsmaßes mit angegeben. Der Verlauf der Absorption ist in Abbildung 4.40 dargestellt.	113

Abbildungsverzeichnis

2.1	Strukturformel von Hydroxymatairesinol (HMR).	6
2.2	Die grundlegenden Verfahren der Holzstofferzeugung sowie die international verwendeten Bezeichnungen und Abkürzungen der verschiedenen Holzstoffarten nach Blechschmidt und Heinemann (2006b).	9
2.3	Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Holzoberflächen, die in einem Labor-Holzschleifer angeschliffen wurden (Atack und Pye, 1964). Die Pfeile geben die Rotationsrichtung des Schleifsteins wieder.	10
2.4	Vergleich einiger Faserstoffeigenschaften nach Heikkurinen und Leskelä (1999). Angeführt werden die Werte von Holzschliffen (GW und PGW), Refiner-Holzstoffen (TMP und CTMP), Sulfat-Zellstoffen (hardwood kraft, softwood kraft, pine kraft und birch kraft) und deinktem Altpapier (DIP).	14
3.1	Nomenklatur der unterschiedlichen Lagerungsarten und Lagerungszeiträume.	21
3.2	Festlegung der vier Holzfeuchtestufen A – D aus den ermittelten vier bis acht Holzfeuchteabschnitten über den Radius der Stammscheibe. Die Zählung der Abschnitte begann mit 1 beim äußersten Abschnitt und wurde nach innen zum Mark hin aufsteigend fortgesetzt. Dementsprechend bildete A die äußerste und D die innerste Stufe des Holzfeuchteprofils.	24
4.1	Mittelwerte der Holzfeuchte und deren Standardabweichungen in Abhängigkeit von der Lagerungsart und Lagerungszeit. Die gestrichelte Linie deutet bei der Holzfeuchte die 100 %-Marke an.	40
4.2	Holzfeuchteprofil des frischen Holzes (FEi) vor Installation der verschiedenen Lagerungsarten. Die Profile reichen vom äußersten (A) bis zum innersten Bereich (D) der beprobten Stammscheiben.	42
4.3	Holzfeuchteprofile vom äußersten (A) bis zum innersten (D) Stammbereich der Lagerungsvarianten UFi, UWi, FAi und FAo nach 3 – 12 Monaten Lagerung.	44
4.4	Holzfeuchteprofile vom äußersten (A) bis zum innersten (D) Stammbereich der Lagerungsvarianten NKi, NKo, FKi und FKo nach 3 – 12 Monaten Lagerung.	45
4.5	Holzfeuchteprofile der Lagerungsvarianten NKi, FKi und FKo nach 24 Monaten Lagerung. Die Profile reichen vom äußersten (A) bis zum innersten Bereich (D) der beprobten Stammscheiben.	46

4.6	Extraktgehalt nach sukzessiver Extraktion bei Anwendung verschiedener Extraktionstemperaturen und unterschiedlicher Anzahl von Zyklen. Beim Petroletherextrakt (a) wurde der Gehalt gravimetrisch bestimmt und der Aceton/Wasser-Extrakt (b) wurde mit dem Folin-Ciocalteu-Test analysiert.	51
4.7	Chromatogramme der Petroletherfraktion der Probe NKi 9/3-2 Kern nach Stoffgruppenbestimmung mittels GC. Die Probe wurde in Turku (a) und in Hamburg mit normaler splitloser Injektion (b) sowie mit On-Column-Aufgabe (c) analysiert. Angegeben sind neben den wichtigsten Stoffgruppen auch die internen Standards (IS1 – IS4), welche Abschnitt 3.6.1 entnommen werden können.	53
4.8	Beispiele für die Darstellung von Daten (siehe Tabelle 4.5) mittels Box-Plots. Die einzelnen beschrifteten Komponenten der Box-Plots werden im Text (Abschnitt 4.3.4) kommentiert.	56
4.9	Gesamtgehalte der verschiedenen Proben an lipophilen Inhaltsstoffen.	60
4.10	Zusammensetzung der lipophilen Extraktstoffe der unterschiedlichen Materialien. Ausreißer werden in dieser Darstellung aufgrund der Übersichtlichkeit nicht dargestellt.	64
4.11	Gehalte der verschiedenen lipophilen Stoffgruppen aufgeschlüsselt nach der Probenart.	67
4.12	Nach Lagerungsdauer aufgeteilte Gehalte der verschiedenen Proben an lipophilen Bestandteilen.	70
4.13	Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer.	70
4.14	Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Splintholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer.	70
4.15	Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Holzschliff in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer.	71
4.16	Gehalte an lipophilen Substanzen im Kernholz, Splintholz und Holzschliff in Abhängigkeit von der Lagerungsart.	73
4.17	Gehalte der vier wichtigsten Stoffgruppen im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsart.	73
4.18	Gehalte der vier wichtigsten Stoffgruppen im Splintholz in Abhängigkeit von der Lagerungsart.	74
4.19	Gehalte der vier wichtigsten Stoffgruppen im Holzschliff in Abhängigkeit von der Lagerungsart.	75
4.20	Gehalte an lipophilen Stoffgruppen nach zweimonatiger Lagerung von gefriergetrocknetem Industrieholzschliff bei -20°C und bei Raumtemperatur. Dargestellt werden Mittelwerte und Standardabweichungen aus Doppelbestimmungen.	77
4.21	Gesamtgehalte an lipophilen Substanzen nach der Lagerung in bzw. ohne Rinde bei Kernholz, Splintholz und Holzschliff.	78
4.22	Gesamtgehalte an lipophilen Substanzen im Splintholz nach Lagerung in und ohne Rinde bei Folienabdeckung (a), Folienkonservierung (b) und Nasskonservierung (c).	78

Abbildungsverzeichnis

4.23	Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Splintholz nach Lagerung in und ohne Rinde bei Folienkonservierung.	79
4.24	Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Splintholz nach Lagerung in und ohne Rinde bei Nasskonservierung.	79
4.25	Chromatogramme der Aceton/Wasser-Extrakte von FEi Kernholz, welche in Åbo (a) and Hamburg (b) per HPLC analysiert wurden. Die detektierten Lignane sind Isolio (1), cLari (2), TodoA (3), HMR (4), Seco (5), Lari (6), Lari-sesqui (7), Oxo (8), Pino (9), Con (10), DiLig (11) und MR (12). Bei fett gedruckten Ziffern wurde für (b) die Identifizierung anhand von Standardsubstanzen bestätigt.	85
4.26	Lignangehalte in Abhängigkeit von der Probenart.	86
4.27	Lignanzusammensetzung der unterschiedlichen Probenarten.	88
4.28	Lignangehalt des Kernholzes in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer. Während bei (a) alle Werte dargestellt werden, enthält (b) nur Werte < 10 mg/g.	90
4.29	Lignangehalt des Kernholzes in Abhängigkeit von der Lagerungsart. Zwischen einer Lagerung mit und ohne Rinde wird nicht unterschieden. Während (a) alle Werte darstellt, enthält (b) nur Werte < 10 mg/g.	91
4.30	Lignangehalt im Kernholz bei Lagerung mit und ohne Rinde. Während (a) alle Werte darstellt, enthält (b) nur Werte < 10 mg/g.	92
4.31	Strukturformeln von Dihydroquercetin, Astringenin, Isorhapontigenin und Resveratrol.	93
4.32	Chromatogramme der Aceton/Wasser-Extrakte von FK1 3 Splintholz, welche in Åbo (a) and Hamburg (b) per HPLC analysiert wurden. Die detektierten Substanzen sind Dihydroquercetin (1), Astringenin A + Dihydroastringenin (2), Astringenin B (3), Resveratrol + Dihydroresveratrol (4), Isorhapontigenin A + Dihydroisorhapontigenin (5), Isorhapontigenin B (6).	95
4.33	Abhängigkeit der nicht-lignanstämmigen phenolischen Extraktstoffe von der Probenart (a) sowie von der Lagerung mit und ohne Rinde (b). Zusammensetzung der nicht-lignanstämmigen phenolischen Substanzen im Splintholz mit Rinde (c).	97
4.34	Gehalt an „Rindensubstanzen“ im Splintholz, wobei das Holz in Rinde gelagert wurde. Die Box-Plots (a) stellen die Verteilung der Rindensubstanzen bei verschiedener Lagerungsdauer dar. In der zweiten Abbildung (b) ist die Zahl der analysierten Proben mit bzw. ohne „Rindensubstanzen“ aufgeführt.	101
4.35	Häufigkeit des Vorkommens von „Rindensubstanzen“ im Splintholz aufgeschlüsselt nach den untersuchten Lagerungsarten. Zusätzlich werden bei jeder Lagerungsart die individuellen „Rindensubstanz“-Gehalte der untersuchten Proben mit angegeben.	102
4.36	Darstellung des Verlaufs des Sauerstoffgehalts in der Laccaselösung bei unterschiedlichen Laccasekonzentrationen. Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der 4-Methylcatechol-Zugabe.	108

4.37	Sauerstoffverbrauch der Laccaselösungen in Abhängigkeit von deren Enzymaktivität. Die lineare Regression erfolgte mit SigmaPlot 9.	109
4.38	Sauerstoffverbrauch in der Behandlungslösung bei Fichten- und Buchenholz, das mit <i>Trametes versicolor</i> behandelt wurde (a), und bei Fichtenholz kurz nach der Holzernte sowie nach dreimonatiger Lagerung (b). . .	109
4.39	Verlauf des spektralen Absorptionsmaßes bei unterschiedlichen Laccasemengen (a) sowie bei gleichbleibender Enzymmenge und variierenden Syringaldazinkonzentrationen (Syr., b + c).	111
4.40	Verlauf des spektralen Absorptionsmaßes bei der Oxidation der Extrakte von pilzbehandeltem Fichten- und Buchenholz mit Syringaldazin. Die Versuche wurden mit Wasser (Laccaseaktivität) sowie mit H_2O_2 (Laccase + Peroxidaseaktivität) durchgeführt (vergleiche Tabelle 4.13).	113
4.41	Enzymaktivität im Splintholz nach 3 Monaten Lagerung durch Messung der Syringaldazin-Oxidation.	114
4.42	Enzymaktivität im Splintholz nach 12 Monaten Lagerung durch Messung der Syringaldazin-Oxidation.	114
4.43	Enzymaktivität im Splintholz nach 24 Monaten Lagerung durch Messung der Syringaldazin-Oxidation.	114
4.44	Fichtensplintholz im Querschnitt: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – e) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert; (f) UMSP-Punktspektren von verschiedenen, durch farbige Pfeile markierte Zellwandschichten.	117
4.45	Von <i>Trametes versicolor</i> angegriffenes Fichtensplintholz im Querschnitt: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – e) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert; (f) UMSP-Punktspektren von verschiedenen, durch farbige Pfeile markierte Zellwandschichten.	119
4.46	NKo 3 Splintholz im Querschnitt mit Löchern in der Sekundärwand einiger Tracheiden: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – e) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert.	121
4.47	In Rinde gelagertes Fichtensplintholz mit auffälligen Strukturen im Holzstrahl und am Hoftüpfel: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – f) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert; (g + h) UMSP-Punktspektren der mit farbigen Pfeilen markierten Zellstrukturen.	122
4.48	UV-DAD-Spektren der „Rindensubstanzen“. Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren mit den UMSP-Spektren wurde nur der Wellenlängenbereich 240 bis 400 nm abgebildet.	124
4.49	Schnitte von eingebetteten Holzschliffen: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – f) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert; (g + h) UMSP-Punktspektren der verschiedenen, mit farbigen Pfeilen markierten Holzschliffstrukturen. . . .	126

1 Einleitung

Die deutschen und europäischen Wälder waren in den letzten Jahren immer wieder von orkanartigen Stürmen betroffen. Beispiele sind etwa die Orkane „Vivian/Wiebke“ (Februar/März 1990), „Lothar“ (Dezember 1999) oder „Kyrill“ (Januar 2007). Dabei fielen jeweils innerhalb weniger Tage deutschlandweit zwischen 26 und 73 Mio m³ Sturmholz an (Nüßlein, 2007). Zusätzlich waren bestimmte Regionen oft wesentlich stärker als andere betroffen. Bei „Lothar“ fielen allein in Baden-Württemberg 25 der insgesamt 34 Mio m³ Holz an und „Kyrill“ verursachte in Nordrhein-Westfalen 12 der 26 Mio m³ Sturmholz (Kronauer, 2000; Nüßlein, 2007). Besonders die Baumart *Picea abies* (Fichte, Rotfichte) war von den Sturmkalamitäten überproportional betroffen.

Da der Markt die enormen Holzmengen nicht auf einmal aufnehmen bzw. verarbeiten kann, muss ein Großteil des Sturmholzes über einen längeren Zeitraum gelagert werden, um den Markt nach und nach bedienen zu können.

Die deutsche Holzschliffindustrie setzt als Rohstoff zu 100 % Fichtenrundholz ein, so dass die Sturmkalamitäten die Versorgungssituation dieser Betriebe erheblich beeinflussen. Hierbei muss die Holzschliffindustrie eine Zeit lang auf das Sturmholzreservoir zurückgreifen, da der reguläre Holzeinschlag im Falle von Sturmkalamitäten häufig reduziert wird, und infolgedessen keine alternativen Versorgungsmöglichkeiten vorhanden sind. Die Qualitätsansprüche der Holzschliffindustrie an das Holz sind hoch, da sich die Qualität des Holzes direkt auf die optischen und mechanischen Eigenschaften des Holzschliffs auswirkt (Manner et al., 1999; Blechschmidt und Heinemann, 2006e). Die Lagerung von Schleifholz führt generell zu Schliffen, die im Vergleich zu solchen aus waldfischem Holz schlechtere Eigenschaften aufweisen, wobei die Lagerungsbedingungen das Maß der Qualitätsverringerung wesentlich beeinflussen (Keller, 1973; Strauß und Bär, 1995; Blechschmidt und Heinemann, 2006e). Besonders bei der langen Lagerung von Schleifholz infolge von Sturmkalamitäten müssen daher Maßnahmen ergriffen werden, die den Qualitätsverlust des Holzes im Zuge der Lagerung minimieren.

Da sich die Qualität des Fichtenholzes direkt auf die Eigenschaften des Holzschliffs und auf den Prozess der Holzschliffherstellung auswirkt, wurden vier unterschiedliche Lagerungsarten zur Lagerung von Schleifholz verglichen. Als Lagerungsmethoden kamen die ungeschützte Lagerung, die Nasslagerung, die Folienabdeckung und die Folienkonservierung zum Einsatz. Dabei wurden Lagerungszeiträume von 3 – 12 Monaten und in Einzelfällen bis zu 24 Monaten untersucht.

Die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit waren vor allem auf die Holzinhaltsstoffe von *Picea abies* fokussiert. Veränderungen der Gehalte und der Zusammensetzung der Holzinhaltsstoffe von Fichtenholz im Laufe der Lagerung wurden in Abhängigkeit von der Lagerungsart und der Lagerungsdauer verfolgt. Auf diese Weise wurden bezüglich der Holzinhaltsstoffe von Fichtenholz Abweichungen zwischen den verschiedenen Lagerungsmethoden analysiert und bewertet.

2 Allgemeiner Teil

2.1 Zusammensetzung von Fichtenholz

2.1.1 Chemische Zusammensetzung von Fichtenholz

Die Hauptbestandteile von Fichtenholz (*Picea abies*) sind die Gerüstkomponenten der verholzten Zellwand. Eine Fichtenholzzellwand besteht hauptsächlich aus den Polymeren Cellulose (40 – 45 %), Hemicellulosen (24 – 32 %) und Lignin (27 – 31 %), wobei die Werte aufgrund der natürlichen Variabilität, aber auch der gewählten Bestimmungsmethoden die vorliegende Schwankungsbreite aufweisen (Timell, 1967; Fengel und Grosser, 1975; Puls und Rademacher, 1986; Bertaud und Holmbom, 2004). Die Gerüstkomponenten garantieren die mechanischen Festigkeiten einer einzelnen Tracheide¹⁾, die im Verbund mit anderen Gewebekomponenten das Holzgewebe bilden. Die Hemicellulosen von *Picea abies* setzen sich, bezogen auf extraktfreies Holz, aus 14,1 – 20,6 % Mannanen (Acetylgalactoglucomannan und Glucomannan), 8,1 – 8,9 % Xylan (Arabino-4-O-Methylglucuronoxylan) und 0,3 – 0,4 % Arabinogalactan zusammen (Fengel et al., 1978; Puls und Rademacher, 1986; Willför et al., 2005b). Weitere strukturelle Polymere, wie Pektine, Proteine und Xyloglucane sind in geringen Mengen im Holz vorhanden und in lignifizierten Tracheiden vor allem auf Mittellamelle und Primärwand beschränkt (Westermarck et al., 1986; Hafrén et al., 2000; Stevanic und Salmén, 2008). Zwischen 0,9 und 1,9 % Pektine detektierten Westermarck et al. (1986) und Willför et al. (2005b) im Fichtenholz .

Auch die Konzentration der Hauptstrukturbestandteile der verholzten Tracheidenzellwand variiert in Abhängigkeit von der Zellwandschicht. Donaldson (2001) und Saka (2001) fassen in ihren Übersichtsartikeln die Verteilung der verschiedenen Strukturkomponenten in der Zellwand zusammen. Die Zellzwickel weisen mit über 70 % die höchsten Ligningehalte auf, gefolgt von Mittellamelle/Primärwand (>50 %) und Sekundärwand (≈20 %). Dementsprechend variieren auch die Mengen der Polysaccharide. Hierbei hat Cellulose in der Mittellamelle die geringsten und in der Sekundärwand die höchsten Konzentrationen. Die Verteilung der Mannane zeigt die gleiche Tendenz wie die der Cellulose. Die Xylane zeichnen sich dagegen durch eine relativ gleichmäßige Verteilung über alle Zellwandschichten hinweg aus. Die Arabinogalactane konzentrieren sich überwiegend auf den Bereich von Mittellamelle/Primärwand.

Die Gerüstsubstanzen werden durch die akzessorischen Bestandteile ergänzt, auch Holzinhaltsstoffe oder Extraktstoffe genannt. Dabei sind diese Bezeichnungen jedoch nicht völlig deckungsgleich, da nicht alle Holzinhaltsstoffe durch Extraktion isoliert und bestimmt werden können. Die organischen und anorganischen Holzinhaltsstoffe kommen in unterschiedlichen Mengen vor. Für das Holz von *Picea abies* werden in der Litera-

¹⁾ in der Praxis der Papierhersteller auch „Faser“ genannt

tur meistens Gesamtgehalte in der Größenordnung von 2 – 3 % angegeben (Fengel und Grosser, 1975; Kubel et al., 1988; Pranovich et al., 2005). Die Mengen hängen unter anderem von der Gewebeart (z. B. Splint- oder Kernholz), dem Baumalter, der Jahreszeit, den genetischen Faktoren und den örtlichen Wuchsbedingungen des Baumes wie Boden und Klima ab.

Das Holz von *Picea abies* enthält 0,3 – 0,5 % mineralische Inhaltsstoffe (Timell, 1967; Fengel und Grosser, 1975; Rhén et al., 2007). Die anorganischen Inhaltsstoffe erfüllen hauptsächlich physiologische Funktionen in den lebenden Zellen des Kambiumbereichs, der Parenchymzellen in den Holzstrahlen sowie in den Epithelzellen, welche die Harzkanäle umgeben. Pranovich et al. (2005) detektierten *Ca* und *K* im dreistelligen ppm²⁾-Bereich, *Mg*, *Na*, *Mn* und *Ba* im zweistelligen ppm-Bereich sowie die Elemente *Zn*, *Al*, *Sr*, *Fe*, *Cu* und *Rb* im einstelligen ppm-Bereich.

Neben den bereits angeführten Gerüstkohlenhydraten der Zellwand können im Holz mit der Stärke und den freien, d. h. löslichen niedermolekularen Zuckern weitere Kohlenhydrate detektiert werden. Das Polymer Stärke dient als Kohlenstoffspeicher in den lebenden Parenchymzellen der Holzstrahlen. Dabei gehört die Fichte zu den „Stärke-Bäumen“, da Stärke die vorherrschende Kohlenstoffspeicherart darstellt. Bei Kiefern dominieren dagegen die Triglyceride als Speicherform, so dass Kiefern auch als „Fett-Bäume“ bezeichnet werden (Magel et al., 2000). Die Monosaccharide Fructose und Glucose sowie das Disaccharid Saccharose sind die häufigsten freien Zucker im Holz von *Picea abies* (Dietrichs, 1964; Höll, 1985; Puls und Rademacher, 1986; Höll, 2000). Zusätzlich können vor allem in der kalten Jahreszeit geringe Mengen des Trisaccharids Raffinose und des Tetrasaccharids Stachyose detektiert werden (Magel et al., 2000). Saccharose ist die bevorzugte Zuckertransportform innerhalb des Baumes. Des Weiteren dienen die freien Zucker als Energielieferanten der lebenden Zellen sowie als Ausgangssubstanzen für die Biosynthese von Gerüstkomponenten und akzessorischen Bestandteilen. Eine besondere Funktion erfüllen die freien Zucker zudem in der kalten Jahreszeit. Nach Puls und Rademacher (1986) sowie Magel et al. (2000) dienen hohe Konzentrationen an freien Zuckern als Frostschutz. Wegen dieser Funktionen ist das Vorkommen der akzessorischen Kohlenhydrate von der Jahreszeit abhängig. So detektierten Puls und Rademacher (1986) im Winter bis zu 3,4 % an niedermolekularen Zuckern im äußeren Jahrring und im Mai nur bis zu 0,35 %. Zum Stamminnenen fallen die Werte der freien Zucker im Allgemeinen allerdings sehr rasch ab. Im Gegensatz zu den freien Zuckern sind die Stärkegehalte gleichmäßiger über den Stammquerschnitt verteilt und weisen vor allem im Frühjahr und Herbst erhöhte Werte auf. Stärke und freie Zucker sind auf das Splintholz beschränkt, d. h. auf den Bereich des Holzes, welcher noch lebende Parenchymzellen aufweist.

Mit organischen Lösungsmitteln können weitere Holzinhaltsstoffe aus Fichtenholz extrahiert werden. Sukzessive Extraktionen, bei denen das Holz nacheinander mit Lösungsmitteln ansteigender Polarität extrahiert wird, ergeben gravimetrisch ermittelte Extraktstoffgehalte zwischen 1,0 und 2,5 % (Kimland und Torbjörn, 1972; Kubel et al., 1988). Die Extraktstoffe von Fichte werden dabei häufig in die zwei Großfraktionen lipophil und hydrophil eingeteilt.

²⁾ parts per million; z. B. mg/kg_{Holz}

Die zahlreichen lipophilen Holzinhaltstoffe des Fichtenholzes sind in den Harzkanälen, bzw. den benachbarten Epithelzellen sowie in den Parenchymzellen lokalisiert. Das viskose Harz in den Harzkanälen setzt sich aus den Harzsäuren³⁾, verschiedenen neutralen Terpenen, wie etwa Terpenalkoholen, sowie flüchtigen Mono- und Sesquiterpenen zusammen (Kimland und Torbjörn, 1972). Das Harz besitzt hauptsächlich eine Schutzfunktion. Bei mechanischen Verwundungen tritt das Harz aus. Durch das Verdampfen der flüchtigen Komponenten verliert das Harz seine Fließfähigkeit, härtet aus und versiegelt auf diese Weise die Wunde (Back, 2000). Auch die Bildung zahlreicher neuer Harzkanäle, sogenannter traumatischer Harzkanäle als Antwort auf äußere Einflüsse, wie den Befall durch Insekten oder Pilze, ist bekannt. Im Falle von Insekten können diese sogar vom viskosen Harz aus ihren Bohrlöchern herausgedrückt werden (Keeling und Bohlmann, 2006).

Neben der Bildung einer mechanischen Barriere gegen das Pilzwachstum weisen insbesondere die Monoterpene zusätzlich eine antimykotische Wirkung auf (Viiri et al., 2001). Im Gegensatz zu Kiefernholz, dessen Kernholz sich häufig durch erhöhte Harzgehalte auszeichnet, sind im Fichtenholz zwischen Kern- und Splintholz häufig keine deutlichen Unterschiede vorhanden (Back, 2000). Die Parenchymzellen enthalten an lipophilen Bestandteilen Triglyceride, freie Fettsäuren, Sterylester und Sterole. Des Weiteren können in geringeren Mengen Substanzen wie Squalen, langkettige Alkohole und Alkylferulate detektiert werden. Wie bereits angeführt dienen Triglyceride sowie freie Fettsäuren, die nicht mit Glycerin verestert sind, neben Stärke als Kohlenstoffspeicher. Sterole und Sterylester kommen in fast allen lebenden Pflanzenzellen vor. Sie sind Bestandteile der Zellmembranen. Teilweise werden ihnen aber auch wachstumsregulierende Funktionen zugeschrieben (Seigler, 1998). Squalen ist dagegen ein Stoffwechselzwischenprodukt bei der Biosynthese von Triterpenen und Steroiden (Seigler, 1998). In ihren Untersuchungen der lipophilen Holzinhaltstoffe bestimmten Ekman (1979a) und Willför et al. (2003a) mittlere Gesamtgehalte von 0,7 % im Kernholz und 1,1 % im Splintholz. Die quantitativ wichtigsten Stoffgruppen sind hierbei Harzsäuren, freie Fettsäuren, Triglyceride und Sterylester. Die Autoren führen die höheren Werte des Splintholzes hauptsächlich auf höhere Gehalte an veresterten Fettsäuren in Form von Triglyceriden zurück.

Die hydrophile Fraktion der Holzinhaltstoffe setzt sich im Fichtenholz aus den bereits erwähnten freien Zuckern sowie phenolischen Substanzen zusammen. Die Arbeiten von Freudenberg und Knof (1957) sowie Ekman (1979a) verdeutlichen, dass Lignane die einzigen quantitativ wichtigen phenolischen Holzinhaltstoffe im Holz von *Picea abies* sind. Die Stoffgruppe der Lignane kommt dabei hauptsächlich im Kernholz vor und kann im Splintholz nur in Spuren detektiert werden. An weiteren phenolischen Inhaltsstoffen sind im Fichtenholz nur Substanzen in geringeren Mengen vorhanden, die wie Vanillin, Coniferin und Coniferylalkohol der Gerüstsubstanz Lignin und dessen Biosynthese zugeordnet werden können und hauptsächlich auf das Splintholz beschränkt sind (Freudenberg und Neish, 1968; Higuchi, 2006). Lignane sind eine Gruppe von phenolischen Substanzen, die aus zwei Phenylpropaneinheiten bestehen, welche enzymatisch über die β -Position der Alkanseitenketten verknüpft sind (Abbildung 2.1). Durch Verknüpfung mit weite-

³⁾ Diterpensäuren

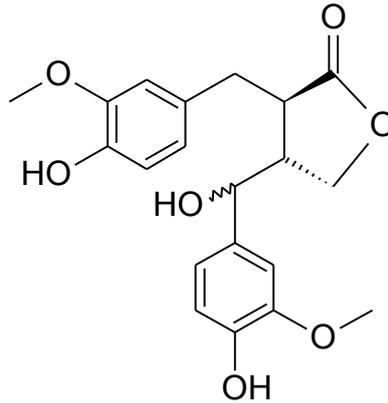


Abbildung 2.1: Strukturformel von Hydroxymatairesinol (HMR).

ren Phenylpropaneinheiten entstehen trimere, tetramere oder noch größere Strukturen, welche zu den Oligolignanen gezählt werden. Im Gegensatz zu Lignin weisen Lignane optische Aktivität auf. In diesem Zusammenhang deuten die Ergebnisse von Sakakibara et al. (1987) darauf hin, dass das sogenannte „Brauns-Lignin“ kein Lignin sondern eine Fraktion von Oligolignanen ist. Willför et al. (2004a) detektierten im Kernholz von Fichten unterschiedlicher Herkunft 0,02 – 1,2 % Lignane und 0,04 – 0,29 % Oligolignane. Dagegen kann Astholz vielfach höhere Lignanwerte im Vergleich zum Kernholz aufweisen. Zwischen 4 und 24 % Lignane sowie zusätzlich zwischen 2 und 6 % Oligolignane detektierten Willför et al. (2003a) im Astholz von *Picea abies*. Ein hoher Astanteil im Holz hat folglich eine starke Erhöhung des Lignangehalts zur Folge. Die hohen Lignangehalte im Astholz deuten darauf hin, dass sie, etwa bei Astabbrüchen, das Eindringen von Schadorganismen über das exponierte und noch nicht im Zuge des fortschreitenden sekundären Dickenwachstums überwallte Astholz erschweren bzw. verhindern.

2.1.2 Auswirkungen gelöster Holzkomponenten bei der Schlifffherstellung

Einer der wesentlichen Vorteile der Holzstoffe liegt in den hohen Ausbeuten bei ihrer Herstellung (siehe Abschnitt 2.2.1). Während der Produktion geht ein Teil der Holzkomponenten in Lösung bzw. wird in den Prozesswässern dispergiert. Insbesondere das Schließen der Wasserkreisläufe führt zu einer Aufkonzentrierung der gelösten Holzkomponenten. Diese können in hohen Konzentrationen den Prozess selbst, die nachgelagerte Papierproduktion sowie die Qualität des Endproduktes beeinflussen.

Die Hemicellulosen bilden die quantitativ größte Gruppe von Holzkomponenten, die während der Holzstoffherstellung gelöst werden, wobei insbesondere die Mannane betroffen sind (Örsa et al., 1996; Holmbom, 1999a; Holmbom und Sundberg, 2003). Des Weiteren werden auch geringe Mengen des Lignins sowie Pektine im Laufe der Holzstoffproduktion freigesetzt.

Bei den mineralischen Inhaltsstoffen können nach Bauch (1984) insbesondere die Übergangsmetalle Verfärbungen durch Reaktion mit anderen Inhaltsstoffen (z. B. Eisen-

Gerbstoff-Reaktion) oder Lignin verursachen. Wulf und Pehl (2005) zeigten etwa, dass eine erhöhte Eisenkonzentration schon im stehenden Baum zu Verfärbungen des Splintholzes von Fichte führen kann. Während der Holzstoffherstellung führen höhere Konzentrationen an Metallionen in den Prozesswässern zu niedrigeren Weißgraden der Holzstoffe (Lindholm, 1999; Friman et al., 2004). Des Weiteren zersetzen Übergangsmetalle das H_2O_2 während der H_2O_2 -Bleiche der Holzstoffe.

Die lipophilen Extraktstoffe sind nur schlecht wasserlöslich. Trotzdem bilden sie quantitativ eine wichtige Komponente der Holzstoffprozesswässer. Die meisten lipophilen Substanzen liegen nicht in molekulardispers gelöster Form vor, sondern als dispergierte Kolloide in Form von Mizellen (Ström, 2000). Dabei werden die Fett- und Harzsäuren in Abhängigkeit vom pH und der Temperatur bis zu einem gewissen Grad im Wasser gelöst. Dagegen weisen die neutralen Triglyceride und Sterylester eine sehr geringe Wasserlöslichkeit auf und bilden zusammen mit den Fett- und Harzsäuren Mizellen (Vercoe et al., 2004). Wird die Stabilität dieser Kolloide durch bestimmte Veränderungen der Prozesswasserzusammensetzung gestört, aggregieren die lipophilen Substanzen. Diese Aggregate können etwa auf der Papiermaschine ausfallen und dort zu Produktfehlern führen. Die lipophilen Substanzen adsorbieren aber auch an den Holzstofffasern. Sie verringern die Festigkeiten des Papiers, ohne die optischen Eigenschaften zu verschlechtern (Sundberg et al., 2000). In diesem Zusammenhang zeigen Untersuchungen, dass die Oberflächen von Holzstofffasern hohe Gehalte an lipophilen Substanzen aufweisen (Luukko et al., 1999; Koljonen et al., 2003; Kokkonen et al., 2004). Salze wie $NaCl$ und $CaCl_2$ fördern ab einer bestimmten Konzentration die Aggregation der lipophilen Substanzen (Sundberg et al., 1996). Allerdings stabilisieren gelöste Mannane die Kolloide der lipophilen Substanzen, da sie sich an die Mizellen anlagern und auf diese Weise eine Aggregation von mehreren Mizellen verhindern (Sundberg et al., 1996; Otero et al., 2000; Holmbom und Sundberg, 2003). In diesem Zusammenhang berichten Qin und Holmbom (2008), dass auch die gelösten Lignane zur Aufrechterhaltung der Dispersion beitragen. Wird nun allerdings der Holzstoff vor der Papierproduktion mit Zellstoff vermischt, adsorbieren die Mannane auf den Zellstofffasern, da diese hydrophiler als Holzstofffasern sind. Infolgedessen wird die Stabilität der Mizellen verringert und daher die Tendenz zur Aggregation erhöht (Holmbom und Sundberg, 2003).

Während der Holzstoffherstellung löst sich ein Teil der Lignane in den Prozesswässern. Im Gegensatz zu den kolloidal gelösten lipophilen Bestandteilen bleibt die Löslichkeit der Lignane lange erhalten, so dass Aggregation nicht stattfindet und sich in den Papiermaschinen sowie auf dem Papier keine störenden Substanzen ablagern können (Ekman et al., 1990; Holmbom und Sundberg, 2003). In Modellversuchen demonstrieren Buchert et al. (2002) allerdings die oxidative Polymerisierung von Lignanen zu Oligolignanen, die eine geringere Löslichkeit aufweisen. Diese Oligolignane könnten auf den Fasern ausfallen und die optischen und mechanischen Eigenschaften des Holzschliffs in positiver und/oder negativer Richtung beeinflussen. Über direkte Einflüsse von Fichtenholzlignanen auf die Eigenschaften von Holzschliffen liegen bisher keine gesicherten Erkenntnisse vor. Lignane kommen z. B. auch im Holz von Hemlock (*Tsuga* spp.) vor. Barton (1968) führte geringere Grundweißgrade von Holzschliff aus *Tsuga heterophylla* im Vergleich zu Fichtenholzschliff nicht auf die Lignane, sondern auf polymerisierte Catechine zurück.

Kawamura et al. (1998) zeigten jedoch, dass bestimmte Lignane, und nicht das Catechin, großen Einfluss auf die lichtinduzierte Verfärbung des Splintholzes von Hemlock haben. Folglich scheinen die Lignane im Fichtenholzstoff den Weißgrad nicht direkt zu beeinflussen. Sie könnten aber die lichtinduzierte Weißgradverringering verstärken.

2.2 Holz als Papierrohstoff

Der Einsatz von Holz als Papierrohstoff erfordert, unabhängig von der eingesetzten Holzart, grundlegende Veränderungen der bestehenden makroskopischen Holzstruktur. Im Fall von *Picea abies* setzt sich der Holzverbund überwiegend aus longitudinal ausgerichteten Tracheiden ($\approx 95\%$), radialem Holzstrahlparenchym sowie longitudinalen und radialen Harzkanälen zusammen (Fengel und Wegener, 1983). Dieser Zellverbund muss aufgelöst werden, so dass einzelne Fasern oder Faserbündel entstehen. Bei der Papierherstellung wird im Zuge der Blattbildung wieder ein Faserverbund hergestellt, dessen innerer Zusammenhalt durch Wasserstoffbrückenbindungen erreicht wird.

2.2.1 Herstellung von Faserstoffen

Bei der Faserstoffherstellung auf Grundlage von Holz wird prinzipiell zwischen der Zellstoffherstellung durch chemische und der Holzstoffherstellung durch mechanische Verfahren unterschieden. Während der Zellstoffherstellung wird das Holz durch Anwendung von Chemikalien, Temperatur und Druck delignifiziert, so dass die einzelnen Fasern nicht mehr durch die Mittellamelle zusammengehalten und leicht vereinzelt werden können. Zusätzlich werden im Laufe des Aufschlusses aber auch Hemicellulosen und Cellulose freigesetzt. Daher beträgt die Ausbeute bei der Zellstoffherstellung nur etwa zwischen 45 und 55 % (Blechschmidt und Heinemann, 2006b).

Bei den Holzstoffverfahren erfolgt die Vereinzelung der Holzfasern dagegen überwiegend durch mechanische Vorgänge. Da hierbei deutlich geringere Mengen der Holzsubstanzen gelöst werden, können Ausbeuten von 80 bis über 95 % erreicht werden (Blechschmidt und Heinemann, 2006b).

Die verschiedenen Verfahren zur Holzstoffgewinnung werden in Abbildung 2.2 aufgeführt. Aus der Abbildung ist ersichtlich, dass bei der Holzstoffproduktion zwei unterschiedliche Grundverfahren existieren. Beim Holzschleifen wird entrindetes Rundholz gegen einen rotierenden, walzenförmigen Schleifstein gepresst und auf diese Weise zu Holzschliff zerfasert. Dagegen werden die unterschiedlichen Refiner-Holzstoffe durch Zerfaserung von Hackschnitzeln in Scheibenrefinern hergestellt. Des Weiteren verdeutlicht die Abbildung, dass das Holz zum Teil vor der Zerfaserung thermisch (TGW und TMP), chemisch (CMP) sowie chemisch und thermisch (CTMP) vorbehandelt wird.

2.2.2 Vorgänge beim Holzschleifen

Die vorliegende Arbeit behandelt die Lagerung von Rundholz und die hieraus produzierten Holzschliffe. Daher werden im Folgenden die wesentlichen Vorgänge und Mechanismen bei der Holzschliffherstellung dargestellt. Die Angaben basieren hierbei weitestge-

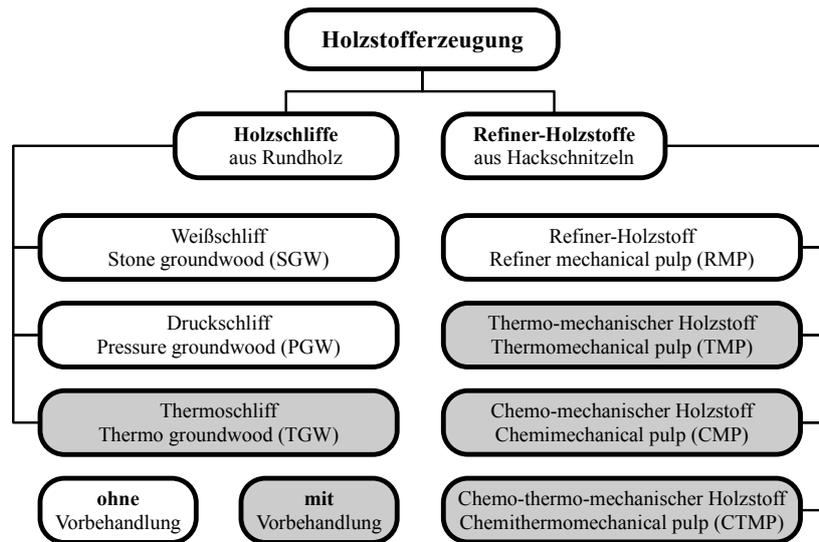


Abbildung 2.2: Die grundlegenden Verfahren der Holzstoffherzeugung sowie die international verwendeten Bezeichnungen und Abkürzungen der verschiedenen Holzstoffarten nach Blechschmidt und Heinemann (2006b).

hend auf den Arbeiten von Luhde (1962), Atack und Pye (1964), Salmén et al. (1999) sowie Blechschmidt und Heinemann (2006c).

Beim Holzschleifen ist das Holz parallel zur Schleifsteinachse ausgerichtet, so dass die Kraft des rotierenden Steines tangential am Holz angreift. Auf diese Weise werden die Tracheiden, d. h. die Fasern, senkrecht zu ihrer Längsausrichtung im Holz belastet. Der Schleifstein besitzt eine Oberflächenstruktur aus Korundkörnern. Durch die Rotation des Schleifsteins wird solch ein hervorstechendes Korn über die Holzoberfläche geführt. Da das Holz gegen den Schleifstein gedrückt wird, übt das im Vergleich zum Holz härtere Korn dabei eine Scher- und vor allem eine Druckbeanspruchung auf das Holz aus, so dass die Holzfasern in der Schleifzone komprimiert werden. Verlässt das Korn die Schleifzone, werden die Fasern entlastet. Bei einem einzelnen Korn und einer einmaligen Belastung würde eine überwiegend elastische, d. h. reversible Verformung vorliegen, und die Fasern würden wieder vollständig in ihren Ausgangszustand zurückkehren. Die gesamte Körnung und die Rotation des Schleifsteins sorgen jedoch dafür, dass das Holz mit einer bestimmten Frequenz einer Abfolge von Be- und Entlastung ausgesetzt ist. Diese oszillierende Druckwechselbeanspruchung erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass der plastische, d. h. irreversible Teil der Verformung zunimmt. Dabei werden auch in zunehmendem Maße intermolekulare Bindungen zwischen den Fasern sowie intramolekulare Bindungen innerhalb der Fasern gebrochen. Als Folge verringert sich die feste Verankerung der Holzfaser im Holzverbund und die Faser wird, von einem Ende ausgehend, nach und nach herausgeschält. Das lose, bereits herausgeschälte Faserende richtet sich aufgrund der angreifenden Kräfte in Richtung des geringsten Widerstands aus, so dass die Faser in Rotationsrichtung abknickt. Dieser freigelegte Teil wird vom Schleifstein "gekämmt", d. h. es werden Fibrillen und Fibrillenbündel von der Oberfläche abgelöst. In

den elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Atack und Pye (1964) in Abbildung 2.3 ist das Abknicken der losen Faserenden in Richtung der Rotation des Schleifsteins und senkrecht zur Faserausrichtung im Holz gut erkennbar.

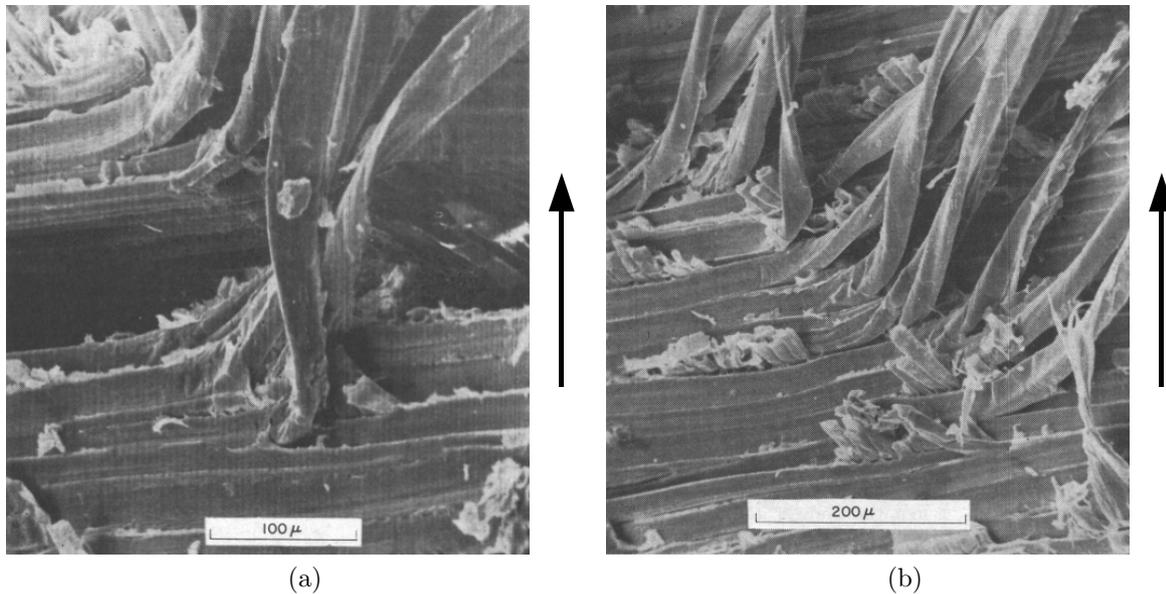


Abbildung 2.3: Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Holzoberflächen, die in einem Labor-Holzschleifer angeschliffen wurden (Atack und Pye, 1964). Die Pfeile geben die Rotationsrichtung des Schleifsteins wieder.

Die mechanische Energie, welche die Druckwechselbeanspruchung verursacht, wird überwiegend in Wärme umgesetzt, so dass Holz und Schleifstein erhitzt werden. Daher wird der Schleifstein zur Kühlung mit Wasser besprüht. Gleichzeitig bildet das Wasser zwischen Holz und Schleifstein einen dünnen, schmierenden Film, der die Reibung verringert, so dass weniger Energie zum Antreiben des Schleifsteins benötigt wird. Die niedrigere Reibung hat auch zur Folge, dass ein Verkohlen der Holzoberfläche verhindert wird.

Die Vorgänge in der Schleifzone werden von den Parametern Feuchte und Temperatur wesentlich beeinflusst. Eine hohe Temperatur, bei gleichzeitiger hoher Holzfeuchte, sorgt dafür, dass die Fasern flexibler und der gesamte Holzverbund weicher sind, so dass die Fasern beim Herausschälen weniger häufig brechen und die Fasern im Holz weniger geschädigt werden. Während Hemicellulosen und amorphe Cellulose bei hohen Holzfeuchten schon bei 20°C weich sind, benötigt das Lignin wesentlich höhere Temperaturen (Salmén et al., 1999). An isoliertem Lignin demonstrierte Goring (1963), dass wassergesättigtes Lignin eine Glasübergangstemperatur im Bereich 80 – 90°C aufweist. Des Weiteren zeigte der Autor das Ansteigen der Glasübergangstemperatur mit abnehmendem Wassergehalt des Lignins. Infolgedessen sind das Lignin sowie die Holzfeuchte die limitierenden Faktoren, die beim Holzschleifen die Weichheit und Flexibilität der Faserzellwand in Abhängigkeit von der Temperatur bestimmen. Nach Blechschmidt und Heinemann (2006c)

liegt die Erweichungstemperatur des Lignins im Holz bei Holzschliffkonditionen zwischen 100 und 130°C. Gleichzeitig empfehlen die Autoren, dass der Wassergehalt des Holzes >50 % betragen sollte, damit eine ausreichende Feuchte gewährleistet ist.

Beim Holzschleifen können nach Luhde (1959) sowie Blechschmidt und Heinemann (2006c) mehrere Temperaturzonen unterschieden werden. Thermisch nicht behandeltes Holz hat zunächst nur Umgebungstemperatur. Die eigentliche Schleifzone des Holzes, in welcher die Fasern herausgelöst werden, ist nur etwa 0,1 mm dick. Hier herrschen etwa 80°C (SGW) bzw. bis zu 125°C, wenn mit erhöhtem Druck gearbeitet wird (PGW). Die Druckwechselbeanspruchungen des rotierenden Schleifsteins wirken sich nicht nur auf die oberste Faserschicht aus. Nach Salmén et al. (1999) werden die Druckpulse auf eine bis zu 50 Fasern dicke Schicht verteilt. Dabei wird ein Bereich von ca. 0,1 cm über der Schleifzone deutlich höher als sie selbst erhitzt (100 – 170°C). Die hohen Temperaturen in diesem Holzbereich liefern die nötige Energie für das Erweichen des Lignins. Zwischen Schleifzone und Schleifsteinoberfläche ist eine Faserstoffsuspensionszone vorhanden, welche Wasser, herausgelöste Fasern und Faserbruchstücke enthält. Wie bereits angeführt, wirkt diese Suspension kühlend und schmierend, wobei Temperaturen von 80 – 100°C (SGW) bzw. von 100 – 140°C (PGW) vorherrschen. Die Temperatur der Oberfläche des Schleifsteins selbst kann 100°C und mehr betragen. Sie ist unter anderem von der Sprühwassertemperatur und dem aufgetragenen Druck abhängig.

Die bisherigen Darstellungen lassen den Schluss zu, dass die Holzfasern den Holzschleifprozess weitestgehend unbeschadet überstehen. Zahlreiche Arbeiten verdeutlichen jedoch, dass die Fasern während des Schleifens in hohem Maße beansprucht werden (Luhde, 1962; Blechschmidt und Heinemann, 2006c; Fernando et al., 2007). Die Körnung des Schleifsteins bearbeitet die Holzoberfläche, so dass die Fasern zum Teil aufgeschlitzt oder Faserbruchstücke abgerissen werden. Die Fasern, welche gerade herausgeschält und in Rotationsrichtung abgelenkt werden, schützen zwar die darunter liegenden Faserschichten vor direktem Kontakt mit der Schleifsteinkörnung, werden aber selbst während des Herausschälens mechanisch bearbeitet, so dass z. B. Teile von Mittellamelle/Primärwand entfernt werden und eine Fibrillierung bzw. Lamellierung der Oberfläche stattfindet. Insbesondere Tracheiden, die aufgrund geringer Feuchte und niedriger Temperatur spröde sind, brechen in diesem Stadium ab und werden überproportional geschädigt. Verstärkt wird dies noch durch eine mikrobielle Vorschädigung des Holzes. Auch die vollständig herausgeschälte Faser wird im Kontakt zwischen Schleifstein und Holzoberfläche noch weiter mechanisch bearbeitet.

2.2.3 Vorgänge bei der Holzerfaserung im Refiner

Nach der Darstellung der Vorgänge beim Holzschleifen (Abschnitt 2.2.2) werden im aktuellen Abschnitt die wesentlichen Unterschiede der Vorgänge im Refiner im Vergleich zum Holzschleifen erläutert.

Scheibenrefiner bestehen aus zwei gegenüberliegenden Metallplatten, die mit Stegen besetzt sind und so den Platten ein spezifisches Strukturprofil geben. Dabei ändern sich Abstand und Strukturierung der gegenüberliegenden Stege vom Zentrum zur Peripherie der Platten. Die Metallplatten werden gegenläufig betrieben, wobei entweder beide

Platten sich in entgegengesetzte Richtungen bewegen oder sich nur eine Platte dreht, während die andere Platte statisch ist.

Die wesentlichen Vorgänge im Refiner sind in der Literatur beschrieben (Luhde, 1962; Blechschmidt und Heinemann, 2006c). Hackschnitzel und Wasser werden unter Druck durch das Zentrum des Scheibenrefiners eingebracht und durch die Zentrifugalkräfte nach außen beschleunigt. Die Hackschnitzel werden in den enger werdenden Stegzwischenräumen zuerst zu Spreißeln zerkleinert und anschließend zerfasert. Zu guter Letzt werden die Fasern und Faserbündel fibrilliert, bevor sie den Scheibenrefiner verlassen. Die Holzfasern werden durch die gegenläufigen Metallplatten in den Zwischenräumen Druckwechsel- und Scherbeanspruchungen ausgesetzt. Im Gegensatz zum Holzschleifen haben im Refiner die Scherkräfte jedoch einen wesentlich höheren Anteil an der Zerfaserung. Ein Herausschälen der Fasern wie beim Holzschleifen findet nicht statt.

Wie bereits in Abbildung 2.2 dargestellt, werden die Hackschnitzel vor dem Zerfasern im Refiner häufig vorbehandelt. Eine thermische Vorbehandlung und anschließende Zerfaserung bei höheren Temperaturen sorgen für eine bessere Erweichung des Lignins. Auch die chemische Vorbehandlung mit Na_2SO_3 oder $NaOH$ bzw. $NaOH/H_2O_2$ beeinflusst das Erweichen von Lignin (Salmén et al., 1999). Durch die Einführung von Sulfonsäure- oder Carboxylgruppen wird die Struktur des Lignins verändert, so dass die Erweichungstemperatur herabgesetzt und die Quellung, d. h. die Wasseraufnahmefähigkeit, verbessert wird. Infolge des weicheren Lignins erfolgt die Trennung der Fasern des vorbehandelten Holzes spezifisch im Bereich der Mittellamelle und Primärwand (Franzén, 1986; Htun und Salmén, 1996). Die thermischen und chemischen Vorbehandlungen sowie eine höhere Prozesstemperatur haben den Nachteil, dass mehr Holzsubstanz gelöst wird und daher die Ausbeute im Vergleich zu Holzschliff geringer ausfällt.

2.2.4 Zusammensetzung von Holzstoffen

Infolge der beschriebenen Schädigungen der Fasern im Zuge des Holzschleifprozesses und im Refiner setzen sich Holzstoffe aus heterogenen Fraktionen mit unterschiedlichen Partikelgrößen und -formen zusammen. Die Größenverhältnisse der unterschiedlichen Fraktionen sind in Tabelle 2.1 aufgeführt. Nach Blechschmidt und Heinemann (2006d) kann die Holzstoffzusammensetzung in erheblichem Maße variieren. Neben den Splintern⁴⁾ (2 – 6 %), die aus den Holzstoffen entfernt werden müssen, da sie die Papierqualität erheblich negativ beeinflussen können, bestehen Holzstoffe aus Fasern (50 – 80 %) und Feinstoff (20 – 50 %). Dabei wird bei den Fasern noch zwischen Langfasergehalt (25 – 50 %) und Kurzfasergehalt (25 – 40 %) unterschieden. Des Weiteren ist der Feinstoff durch wechselnde Gehalte an Mehlstoff und Schleimstoff gekennzeichnet. Mehlstoffpartikel besitzen eine körnige, flockige Form und haben ihren Ursprung in den zahlreichen kleinen Faserbruchstücken. Dagegen bilden die Teile der abgescherten bzw. lamellierten Zellwände die fibrillären, dünnen Schleimstoffpartikel (Luhde, 1962; Giese, 1966; Blechschmidt und Heinemann, 2006c).

Holzschliffe und Refiner-Holzstoffe unterscheiden sich aufgrund der unterschiedlichen

⁴⁾ kleine, nicht zerfaserte Holzbruchstücke

Tabelle 2.1: Dimensionen der Holzstoffpartikel (Brecht und Klemm, 1953).

Fraktion	Länge	Breite
[-]	[μm]	[μm]
Langfasern	800 – 4500	25 – 80
Kurzfasern	200 – 800	2,5 – 25
Mehlstoff	20 – 30	1 – 30
Schleimstoff	bis zu 200	etwa 1

Herstellungsprozesse in ihrer Zusammensetzung. Nach Luhde (1962), Marton (1964) sowie Heikkurinen und Leskelä (1999) weisen Refiner-Holzstoffe höhere Langfaseranteile als Holzschliffe auf. Dagegen zeichnen sich die Holzschliffe durch höhere Gehalte an Kurzfasern und Feinstoffen aus. Die Autoren führen dies auf die Tatsache zurück, dass die Körnung der Schleifsteine eine hohe schneidende und bürstende Wirkung auf Holz und Fasern entfaltet, während die Fasern beim Refiner-Verfahren in geringerem Maße zerkleinert werden. Neben den unterschiedlichen Prozessprinzipien von Holzschliff und Refiner-Holzstoff üben auch die einzelnen Prozessparameter Einfluss auf die Holzstoffzusammensetzung aus. Das Zerfasern von unbehandelten und daher spröderen Hackschnitzeln beim RMP führt daher im Vergleich zur TMP-Herstellung aus thermisch vorbehandelten Hackschnitzeln zu geringeren Faserstoff- und höheren Feinstoffanteilen. Des Weiteren zeigten Bengs und Lönnberg (1994), dass zu Holzschliff verarbeitetes Fichtenkernholz einen höheren Langfaseranteil aufweist, wenn es nicht bei Umgebungsdruck zu Weißschliff (SGW), sondern unter erhöhtem Druck und bei höherer Temperatur zu Druckschliff (PGW) verarbeitet wird. Der höhere Druck, welcher eine höhere Temperatur ermöglicht, führt bei dem relativ trockenen Kernholz zu einer besseren Erweichung des Lignins.

Abgesehen von den unterschiedlichen Prozessen und Prozessparametern ist die Holzstoffzusammensetzung auch von den Eigenschaften des eingesetzten Fichtenholzes abhängig. Hierbei beeinflussen etwa Frühholz- und Spätholzanteile aufgrund der variierenden Zellwandstärken sowie die Anteile an juvenilem und adultem Holz infolge der unterschiedlichen Ligningehalte, Tracheidenlängen und Fibrillenwinkel die Holzstoffzusammensetzung wesentlich (Heikkurinen und Leskelä, 1999). Die Faserenden von adulten Tracheiden brechen z. B. häufiger während des Holzschleifens, was zu geringeren Faserlangstoffgehalten im Vergleich zu Holzschliff aus juvenilen Tracheiden führt (Fernando et al., 2007). Außerdem konnten die Autoren bei den juvenilen Tracheiden einen andersartigen Verlauf der Holzschliff-Fibrillierung als bei den adulten Tracheiden beobachten.

2.2.5 Eigenschaften von Holzstoffen

Im Vergleich zu Papier aus Zellstoff führt die Verwendung von Holzstoff im Allgemeinen zu voluminöserem Papier mit geringerem Basisgewicht und höherer Lichtstreuung (Heikkurinen und Leskelä, 1999; Sundholm, 1999). Mit anderen Worten verfügt das Holzstoffpapier über ein höheres spezifisches Volumen und eine höhere Opazität. Dagegen hat der Einsatz von Zellstoffen höhere Festigkeiten zur Folge (Abbildung 2.4).

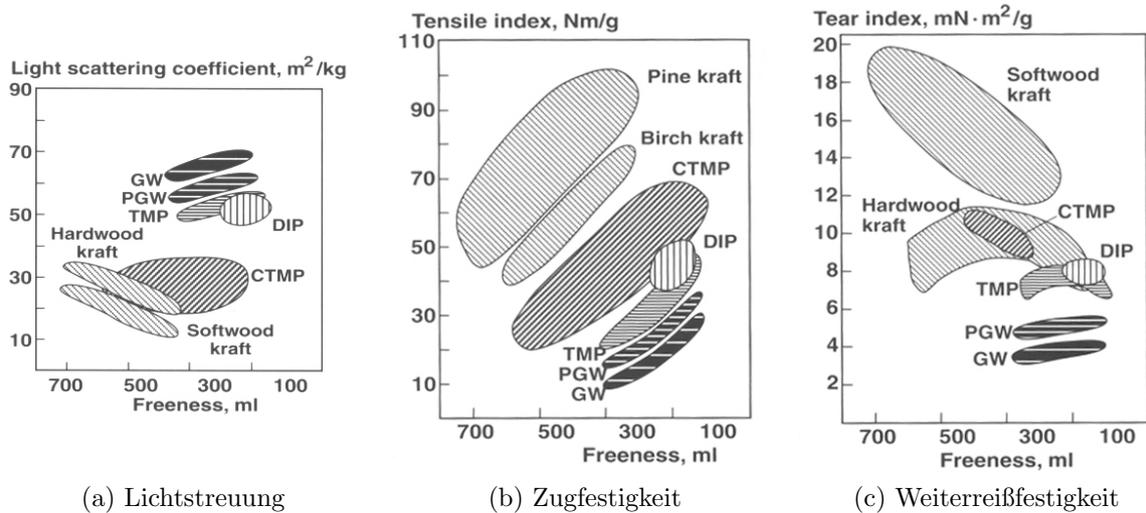


Abbildung 2.4: Vergleich einiger Faserstoffeigenschaften nach Heikkurinen und Leskelä (1999). Angeführt werden die Werte von Holzschliffen (GW und PGW), Refiner-Holzstoffen (TMP und CTMP), Sulfat-Zellstoffen (hardwood kraft, softwood kraft, pine kraft und birch kraft) und deinktem Altpapier (DIP).

Wie Abbildung 2.4 verdeutlicht, bestehen auch zwischen den verschiedenen Holzstoffarten deutliche Unterschiede und die Eigenschaften können innerhalb eines weiten Bereichs variieren. Hierbei ist „Freeness“ ein Maß für den Mahlgrad. Je niedriger der „Freeness“-Wert ausfällt, desto größer ist der Mahlgrad. Bei vergleichbarem Mahlgrad der Holzstoffe gilt generell, dass Holzschliffe die besseren optischen Eigenschaften wie etwa Lichtstreuung und Opazität sowie eine höhere Oberflächenqualität aufweisen, welche z. B. die Bedruckbarkeit positiv beeinflusst. Die Refiner-Holzstoffe zeichnen sich dagegen durch bessere Festigkeiten, wie Zugfestigkeit, Weiterreißfestigkeit oder initiale Nassfestigkeit aus (Bleichschmidt und Heinemann, 2006a). Des Weiteren werden bei den Holzstoffen für TMP das höchste, für CTMP das niedrigste und für Holzschliffe ein mittleres spezifisches Volumen angegeben (Heikkurinen und Leskelä, 1999). Außerdem weist Papier aus SGW die höchste Porosität auf, gefolgt von PGW, TMP und CTMP.

Die Eigenschaften der Holzstoffe hängen von ihrer Zusammensetzung ab. Keller (1973) führte die Abhängigkeit der Festigkeiten von den verschiedenen Holzstofffraktionen auf. So werden die dynamischen Festigkeitseigenschaften, wie Weiterreißfestigkeit und Falzzahl, vor allem vom Faserlangstoff beeinflusst. Dagegen hängen die statischen Festigkeitseigenschaften, wie Reißlänge und Berstdruck, insbesondere von der Feinstoffkomponente der Holzstoffe ab. Auf die initiale Nassfestigkeit als Maß für die Festigkeit der Papierbahn während der Produktion in der Papiermaschine wirken sich sowohl der Faserlangstoffanteil und dessen Formbeschaffenheit als auch der Feinstoff aus.

Wie bereits von Luhde (1962) vermutet, erklären die höheren Anteile an langen Fasern in Refiner-Holzstoffen folglich zum Teil ihre bessere Weiterreißfestigkeit im Vergleich zu Holzschliffen (siehe auch Abbildung 2.4c). Unterschiede bei der Falzzahl führten Putz et al. (1986) dagegen auf eine unterschiedliche Zusammensetzung des Feinstoffs zurück,

da Anteile und Verteilung der langen Fasern gut übereinstimmten. Marton (1964) fertigte Prüfblätter, die nur Faserlangstoff enthielten, und stellte fest, dass ihre Festigkeiten deutlich unter den Festigkeiten von nicht fraktioniertem Holzschliff lag.

In diesem Zusammenhang betonte der Autor, dass die Schädigungen der Fasern während der Zerkleinerung zumindest für eine Mindestfestigkeit sorgt. Blieben solche Schädigungen aus, wäre die Ligninschicht der Fasern an vielen Stellen intakt und nur wenige Wasserstoffbrückenbindungen würden sich zwischen den Fasern ausbilden (Shao und Li, 2006). Die mechanischen Beanspruchungen während der Holzstoffherstellung führen jedoch dazu, dass die Faseroberfläche bearbeitet wird. Dabei erhöht die Fibrillierung zum einen die spezifische Oberfläche der Fasern und zum anderen werden Bereiche der Zellwand mit höheren Kohlenhydratanteilen freigelegt. Infolgedessen steigt die Wahrscheinlichkeit der Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Fasern an, so dass die statischen Festigkeiten zunehmen. Refiner-Holzstoffe werden im Zuge der Produktion stärker fibrilliert als Holzschliffe. Während der Holzschliffproduktion erfolgt die Zellwandspaltung und Weiterführung auch entgegen dem Mikrofibrillenwinkel, was die Faserfibrillierung vor allem in der Sekundärwand 2 negativ beeinflusst (Fernando et al., 2007). Dementsprechend führten die Autoren die besseren Festigkeiten von juvenilen im Vergleich zu adulten Holzschliff Fasern unter anderem darauf zurück, dass die juvenilen Fasern eine Fibrillierung der Sekundärwand 2 aufweisen, die näher an dem Fibrillierungsmuster von TMP liegt.

Die geringen Festigkeiten von reinem Faserlangstoff gegenüber Holzschliff führt Marton (1964) auf den fehlenden Feinstoff zurück, der als „zementierendes Medium“ des Faserstoffanteils im Holzstoff bezeichnet wird. Während die feinen Fibrillen des Schleimstoffs eine hohe Bindungskapazität aufweisen und daher die Festigkeiten von Holzstoffen wesentlich steigern, weisen die granulären Faserstücke, Faserfragmente und Parenchymzellen des Mehlstoffs nur eine geringe Bindungskapazität auf, so dass er keinen wesentlichen Beitrag zur Festigkeit leistet (Brecht und Klemm, 1953; Giese, 1966; Vainio et al., 2007). Den Angaben von Luukko und Paulapuro (1999) zufolge füllt der Feinstoff die Zwischenräume zwischen den Fasern und verbessert gleichzeitig die Faserbindung. Die Mehlstoffpartikel füllen die Zwischenräume auf und überbrücken das Fasernetzwerk, d. h. sie schieben sich zwischen mehrere Fasern, so dass ein Mehlstoffpartikel Kontakt mit mehreren Fasern hat. Aufgrund der starren Struktur und der kompakten Form können die Mehlstoffpartikel nicht verdichtet werden und keine effektiven Bindungen ausbilden. Auch wenn sie nicht zu höheren Festigkeiten beitragen, so steigern sie das spezifische Volumen, die Lichtstreuung sowie die Glätte und beeinflussen daher in positiver Weise die optischen Eigenschaften und die Bedruckbarkeit. Schleimstoff füllt und überbrückt ebenfalls das Fasernetzwerk. Im Gegensatz zum Mehlstoff blockieren die dünnen und flexiblen Schleimstoffpartikel das Netzwerk jedoch nicht, so dass ein hoher Schleimstoffanteil ein geringeres spezifisches Volumen und aufgrund der Abnahme der optisch aktiven Oberfläche eine reduzierte Lichtstreuung zur Folge hat. Der Anstieg der Dichte des Fasernetzwerks führt aber dazu, dass zahlreiche Bindungen gebildet werden können, was höhere Festigkeiten nach sich zieht. Während Holzstofffeinstoff folglich sowohl die optischen Eigenschaften als auch die Festigkeiten verbessert, hat der überwiegend fibrilläre Zellstofffeinstoff auf die optischen Eigenschaften keinen positiven Einfluss.

Neben Parametern, wie Lichtstreuung und Opazität, stellt der Weißgrad eine wichtige optische Holzstoffeigenschaft dar. Der Weißgrad beeinflusst den Bleichaufwand, der betrieben werden muss, um einen bestimmten Zielweißgrad zu erreichen. Folglich ist ein hoher Ausgangsweißgrad ökonomisch günstiger. Dabei setzt sich der Weißgrad aus Lichtabsorption und Lichtstreuung zusammen (Lindholm, 1999). Da eine höhere Lichtstreuung zu einem helleren Papier beiträgt, wirkt sich Mehlstoff positiv auf den Weißgrad aus. Die Lichtabsorption hängt hauptsächlich vom Holzrohstoff ab. Da Cellulose und Hemicellulosen im sichtbaren Bereich kein Licht absorbieren und auch die Fichteninhaltsstoffe keinen deutlichen Einfluss auf die Farbe des Holzes haben, ist bei Fichtenholz überwiegend das Lignin für die Farbe verantwortlich. Wichtige chromophore Gruppen im Lignin weisen aromatische Strukturen, α -Carbonylgruppen, verschiedene Chinonstrukturen oder konjugierte Doppelbindungen auf (Gierer et al., 1973; Gellerstedt und Zhang, 1992; Johansson und Gellerstedt, 2000). Die mechanische Beanspruchung und die erhöhten Temperaturen während der Holzstoffherstellung steigern den Gehalt an Chromophoren im Holz (Gierer et al., 1973; Lindholm, 1999). Die phenolischen OH - und OCH_3 -Gruppen der Ligninbausteine können z. B. zu farbigen Molekülen kondensieren. Aufgrund der relativ niedrigen Prozesstemperaturen haben Holzschliffe meist hohe Weißgrade (Heikkurinen und Leskelä, 1999). Hierbei liegt der Weißgrad von Weißschliff (SGW) über dem von Druckschliff (PGW). Infolge der thermischen Vorbehandlung und der höheren Prozesstemperaturen ist TMP dunkler. Die niedrigsten Weißgrade werden im CTMP-Prozess erzielt, da die chemische Vorbehandlung eine zusätzliche Abdunklung des Lignins zur Folge hat.

Die Tatsache, dass das Lignin größtenteils im Holzstoff erhalten bleibt, wirkt sich zwar sehr positiv auf die Ausbeute aus, ist aber mit einer wesentlich stärkeren Vergilbungstendenz durch das Einwirken von Licht und Wärme im Vergleich zum oft fast ligninfreien Zellstoff verbunden. An der Vergilbung sind insbesondere leukochromophore Gruppen beteiligt, d. h. Gruppen die leicht in chromophore Gruppen umgewandelt werden können. Coniferylaldehyd ist die wichtigste leukochromophore Struktur im Lignin von Fichtenholz. Gellerstedt und Zhang (1992) zeigten, dass der Coniferylaldehydgehalt durch das Schleifen und die H_2O_2 -Bleiche abnimmt. Stattdessen wurden neu gebildete Stilbene festgestellt, die sich bei Lichteinfluss stark verfärben, und daher als wichtige leukochromophore Strukturen im Holzschliff angesehen werden. Die Autoren machten daher unter anderem die Stilbene für die lichtinduzierte Verringerung des Weißgrades von Holzstoffen verantwortlich.

Die Eigenschaften der Holzstoffe wirken sich auf ihr Einsatzgebiet aus. Nach Sundholm (1999) werden Holzstoffe hauptsächlich für Zeitungspapier sowie für ungestrichene (SC) und gestrichene (LWC) Magazinpapiere eingesetzt, deren Hauptanforderungen unter anderem gute Laufeigenschaften und Bedruckbarkeit sind. Weitere Anwendungen für Holzstoffe sind verschiedene Kartonklassen, Tapeten, Feinpapiere und Tissues. Dabei kann mit Holzschliffen eine bessere Bedruckbarkeit erreicht werden, während Refiner-Holzstoff eher zu einer besseren Laufeigenschaft auf der Papiermaschine führt. Beim Zeitungspapier wird zunehmend deinktes Altpapier (DIP) eingesetzt und in den Magazinpapieren werden Holzstoffe meist mit Zellstoff und/oder DIP vermischt.

2.2.6 Einfluss der Holzlagerung auf die Holzschliffeigenschaften

Generell führt die Lagerung von Fichtenholz zu Holzschliffen mit geringerer Qualität. Daher sollte möglichst waldfrisches Holz für die Holzschliffproduktion eingesetzt werden (Keller, 1973; Dietz et al., 1976; Strauß und Bär, 1995; Blechschmidt und Heinemann, 2006e). Da der Einsatz von waldfrischem Holz aufgrund verschiedener Gründe, wie saisonale Schwankungen der Holzernte und logistischen Problemen, nicht immer möglich ist, muss das Schleifholz bis zu seiner Verarbeitung zu Holzschliff gelagert werden. Dabei besteht allerdings die Möglichkeit Maßnahmen zu ergreifen, welche die Qualitätsverluste während der Lagerung minimieren. Diese Maßnahmen spielen insbesondere eine wichtige Rolle, wenn sehr große Holz mengen, die etwa bei Sturmkalamitäten anfallen, über einen langen Zeitraum gelagert werden müssen.

Wie in Abschnitt 2.2.2 bereits dargelegt, ist eine hohe Holzfeuchte eine Grundvoraussetzung für hochwertigen Holzschliff mit guten Festigkeiten. Folglich muss die Holzfeuchte während der Lagerung möglichst konserviert werden. Die Untersuchungen von de Montmorency (1964), Keller (1973), Strauß und Bär (1995) sowie Lind et al. (2004b) zeigen, dass eine niedrige Holzfeuchte zu einem geringeren Faserlangstoffanteil führt. Des Weiteren sinkt trotz steigendem Feinstoffanteil der Gehalt an Schleimstoff. Ein höheres spezifisches Volumen deutet zudem auf mehr Mehlstoff hin. Infolge der Veränderung der Zusammensetzung der Holzschliffe aus trockenem Holz im Vergleich zu Holzschliffen aus feuchtem Holz wurden auch geringere Festigkeiten festgestellt. Dabei wurden etwa bei der Zugfestigkeit, der Weiterreißfestigkeit und der initialen Naßfestigkeit reduzierte Werte ermittelt. Laut de Montmorency (1964) sowie Strauß und Bär (1995) führt eine Rückbefeuchtung von trockenem Holz auf die Ausgangsholzfeuchte zu Holzschliff mit Frischholz-Eigenschaften. Auch die künstliche Anhebung der Kernholzfeuchte auf das Niveau von Splintholz, führt zu Holzschliff welcher mit dem Splintholzschliff vergleichbar ist. Zuvor wies der Kernholzschliff geringere Festigkeiten auf. Dietz et al. (1976) weisen darauf hin, dass selbst bei Erhalt der Holzfeuchte des gelagerten Holzes Holzschliffe mit geringeren Festigkeiten entstehen als bei Verwendung von frischem Holz. Allerdings fällt der Festigkeitsverlust im Vergleich zu trockenem, gelagertem Holz deutlich geringer aus.

Die Ergebnisse von Keller (1973) verdeutlichen, dass die Holzfeuchte nur einen geringen Einfluss auf den Weißgrad der Holzschliffe hat. Allerdings betonen Manner et al. (1999), dass auch eine Austrocknung und die damit verbundene erhöhte Oxidationsrate Veränderungen verursachen kann. Generell führt die Lagerung von Schleifholz im Vergleich zu frischem Schleifholz immer zu Holzschliffen mit geringeren Weißgraden, wobei die Höhe der Weißgradabnahme in Abhängigkeit von Faktoren wie Lagerungsart und Lagerungsdauer variiert (Keller, 1973; Putz et al., 1986; Pulkki, 1992; Strauß und Bär, 1995; Lind et al., 2004b). Für die Weißgradverluste werden zahlreiche Ursachen angegeben. Zum einen wird die Aktivität von Mikroorganismen, die das Holz während der Lagerung angreifen, für die Abnahme des Weißgrades verantwortlich gemacht. Aufgeführt werden z. B. Mikroorganismen wie Bläuepilze, Rotstreifepilze und Bakterien (Keller, 1973; Persson et al., 2002; Lind et al., 2004a). Zum anderen hat die Lagerung in Rinde stärkere Weißgradverluste zur Folge als die Lagerung ohne Rinde. Hierfür werden „Tannine“ bzw. „Gerbstoffe“ der Fichtenrinde verantwortlich gemacht, die während

der Lagerung aus der Rinde ins äußere Splintholz diffundieren (Keller, 1973; Persson et al., 2002; Holzmann und Wegener, 2004; Lind et al., 2004b). In diesem Zusammenhang hat auch ein niedriger Entrindungsgrad des Holzes bei der Holzschliffherstellung einen negativen Einfluss auf den Weißgrad. Geringe Feuchten und Temperaturen unter 0°C erschweren hierbei die Entrindung vor dem Schleifen erheblich (Blebschmidt und Heinemann, 2006e). Die Höhe des Weißgradverlustes ist immer auch von der Jahreszeit abhängig (Keller, 1973; Holzmann und Wegener, 2004). Aufgrund der tiefen Temperaturen im Winter sind biologische und chemische Aktivitäten geringer. Gleichzeitig ist auch die Diffusion der Gerbstoffe aus der Rinde bei niedrigen Temperaturen eingeschränkt. Zudem hat der Einschlagszeitpunkt Einfluss auf den Weißgradverlust. Nach Keller (1973) weist Holz, das im April, Mai oder Juni geerntet wurde, stärkere Weißgradverluste als zu anderen Einschlagszeitpunkten auf. Der Autor macht hierfür eine besonders gute „Disposition“ des Holzes für Rotstreifepilze verantwortlich. Gleichzeitig herrschen auch noch gute klimatische Wuchsbedingungen für die Pilze vor, so dass sie gut gedeihen können.

In Verbindung zum Weißgrad steht auch die Bleichbarkeit sowie die Weißgradstabilität der Holzschliffe. Persson et al. (2002) ermittelten, dass Bläuepilze den Ausgangsweißgrad verringern. In der Bleiche konnte dieser Verlust jedoch wieder ausgeglichen werden und die Weißgradstabilität wurde nicht beeinflusst. Bei Holzschliffen aus Holz mit „Gerbstoffen“ war die Bleiche jedoch weniger erfolgreich und zusätzlich wurde eine verstärkte Vergilbungstendenz festgestellt.

Die Darstellung der Einflüsse der Holzlagerung auf die Holzschliffeigenschaften verdeutlichen, dass die Holzschliffqualität in hohem Maße von der Qualität des eingesetzten Holzes abhängt. Neben den Qualitätseinbußen durch Vorgänge während der Lagerung haben natürlich auch die Eigenschaften des Holzes zu Beginn der Lagerung eine entscheidende Bedeutung. Allgemein muss das Holz während der Lagerung möglichst gut konserviert werden, um starke Verluste bei den Festigkeiten und den Weißgraden der Holzschliffe zu vermeiden. Da eine schlechte Konservierung meist auch mit einem höheren Substanzverlust durch die Aktivität von Mikroorganismen verbunden ist, werden auf diese Weise auch Ausbeuteverluste minimiert.

2.3 Lagerungsarten von Schleifholz

Fichtenholz, das nach der Holzernte nicht sofort zu Holzschliff verarbeitet wird, kann auf unterschiedliche Art und Weise gelagert werden. Abschnitt 2.2.6 verdeutlicht, dass insbesondere bei langer Lagerung von Schleifholz bestimmte qualitätserhaltende Maßnahmen ergriffen werden müssen, um aus dem gelagerten Holz Schliffe mit guten Festigkeiten und hohen Weißgraden produzieren zu können. Die Maßnahmen sollten vor allem eine hohe Holzfeuchte konservieren und Verfärbungen minimieren, welche für Weißgradverluste verantwortlich sind.

In vielen Fällen erfolgt die Lagerung der Holzstämmen ungeschützt im Wald. Das berindete Holz wird an speziellen Holzlagerplätzen zu Poltern aufgeschichtet. Diese Holzlagerplätze sind meist beschattet, so dass direkte Sonneneinstrahlung und dadurch eine beschleunigte Austrocknung vermieden wird. Die ungeschützte Lagerung im Wald dient

der Zwischenlagerung oder auch der Lagerung über einen längeren Zeitraum. Bei entsprechenden Temperaturen im Winter ($<10^{\circ}\text{C}$) kann das Holz im Wald ausreichend konserviert werden. Höhere Temperaturen führen jedoch zu Pilz- und Insektenbefall. Substanzverlust und Verfärbungen sind daher eine Folge der Waldlagerung im Sommer (Keller, 1973; Peek und Liese, 1987; Maier, 2005). Über den Erhalt der Holzfeuchte im Zuge der ungeschützten Waldlagerung kann keine generelle Aussage gemacht werden. An einem Holzlagerplatz war bei Maier (2005) fast keine Abnahme der Holzfeuchte festgestellt worden, während an einem zweiten Holzlagerplatz ein erheblicher Rückgang der Holzfeuchte registriert wurde.

Die ungeschützte Holzlagerung kann auch auf einer Freifläche erfolgen. Wind und Sonneneinstrahlung können hier jedoch schnell zu einem deutlichen Abfall der Holzfeuchte führen (Keller, 1973; Dietz et al., 1976). Im Fall von Schleifholz muss dieses Holz zügig verarbeitet werden, da eine längere Lagerung aufgrund von Austrocknung und Abbau bzw. Verfärbung durch Mikroorganismen unweigerlich erhebliche Qualitätsverluste zur Folge hat (Wilhelmsen, 1968; Persson und Elowson, 2001; Lind et al., 2004a).

Die in der Holzschliffindustrie inzwischen am weitesten verbreitete Methode der Holzlagerung ist die Nasskonservierung durch künstliche Beregnung der Holzpolter. Diese Lagerungsart leitet sich von der Wasserlagerung ab, bei der die Fichtenstämme im Wasser gelagert werden. Bei ausreichender Beregnung kann die Holzfeuchte der Stämme erhalten oder sogar erhöht werden, so dass die Lumina der Zellen komplett mit Wasser gefüllt bleiben (Wilhelmsen, 1968; Keller, 1973; Liukko und Elowson, 1999; Lind et al., 2004a). Selbst die Holzfeuchte des Kernholzes kann dabei erhöht werden, so dass diese Lagerungsart zu Holzschliffen mit guten Festigkeiten führt. Auf diese Weise wird der Zutritt von Luftsauerstoff und damit auch der Befall mit Mikroorganismen, wie zahlreichen Pilzen und Insekten, welche Sauerstoff benötigen, weitgehend verhindert (Schmidt, 1994). Allerdings nimmt bei sehr hohen Holzfeuchten die Aktivität von Bakterien zu. Des Weiteren sind im Gegensatz zu anderen holzerstörenden Pilzen die Moderfäulepilze auf hohe Holzfeuchten spezialisiert und können sich daher in nassgelagertem Holz entwickeln (Liese, 1970). Nach Persson und Elowson (2001) beeinflusst auch die Intensität der Beregnung die Qualität des lagernden Holzes. Eine Beregnung mit geringer Intensität erhält zwar die Holzfeuchte auf einem ausreichenden Niveau, führt aber gleichzeitig zu einer Ausbreitung von Bläuepilzen. Eine intensivere Beregnung verhindert dagegen den Befall durch Bläuepilze und hebt die Kernholzfeuchte an. Allerdings erhöht sie auch die Verfärbung des Splintholzes durch „Gerbstoffe“, die während der Lagerung aus der Rinde ins Holz wandern. Die Nasskonservierung wird auf speziellen Holzlagerplätzen durchgeführt, welche häufig Bestandteil der Holzschliff produzierenden Werke sind.

Die Folienabdeckung (FA) stellt eine relativ neue Form der Holzlagerung dar. Die Polter werden mit weißer Folie abgedeckt und die Folie am Boden beschwert, so dass nach Arnold (2003) ein „mechanischer“ Schutz vor Insekten und Austrocknung gewährleistet wird. Ein Pilzbefall kann allerdings nur teilweise verhindert werden. Empfohlen wird hierbei auch, die Lagerung an feuchten, schattigen Plätzen im Wald zu bewerkstelligen, um die Austrocknung weiter zu verzögern. Die Folienabdeckung wurde bisher nur für die Lagerung von Stammholz der Sägeindustrie erprobt. Kramer (2000) untersuchte die Abdeckung von Sägeholz mit Geovlies anstelle von Folie und stellte dabei eine gute

Qualitätserhaltung von Holz fest, das den Sommer über im Wald gelagert wurde.

Einen Schritt weiter geht die Methode der Folienkonservierung (FK). Hierbei werden die Holzpolter komplett in Folie eingepackt. Keller (1973) lagerte Schleifholz in dicht verschlossener, schwarzer PVC⁵⁾-Folie und stellte einen guten Erhalt der Ausgangsholzfeuchte fest. Innerhalb des Pakets lag die relative Luftfeuchte fast durchgehend bei 100 %, so dass dabei in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur in diesem Mikroklima ein ständiges Kondensieren und Verdampfen von Wasser stattfand. Diese Methode wurde stetig weiterentwickelt. In Anlehnung an Konservierungstechniken der Lebensmittelindustrie leiteten Groß et al. (1992) Schutzgas in das Paket ein, um den vorhandenen Sauerstoff zu verdrängen und auf diese Weise das Wachstum von Mikroorganismen zu reduzieren. Des Weiteren wurde das Holz in stabile Silofolie eingepackt. Daher war das Paket weniger anfällig gegenüber mechanischen Beschädigungen. Weitere Untersuchungen verdeutlichten zudem, dass bei Gewährleistung einer hohen Dichtigkeit des Paketes auf eine Schutzgaseinleitung verzichtet werden kann. Durch im Holz stattfindende Atmungs- und Gärungsprozesse wird der vorhandene Sauerstoffgehalt des Paketes innerhalb weniger Tage schnell reduziert. In der gleichen Zeit stellt sich eine erhöhte CO_2 -Konzentration in der Größenordnung von bis zu 15 % ein (Maier et al., 1999; Maier, 2005). Regelmäßige Kontrollen der Gaszusammensetzung belegen, dass sich diese Gaszusammensetzung mehrere Jahre erhält. Die Qualität von Säge- und Furnierholz (Fichte, Buche, Bergahorn) konnte mittels der Folienkonservierung auf einem hohen Niveau gehalten werden. Dank der robusten Silofolie kann die Folienkonservierung von Holz sowohl im Wald als auch auf einer Freifläche durchgeführt werden.

Prinzipiell ist die Lagerung in Rinde (i) als auch ohne Rinde (o) denkbar. Die intakte Rinde des gefällten Stamms schützt das Holz vor schneller Austrocknung, verzögert den Insekten- und Pilzbefall, bietet mechanischen Schutz und verhindert die direkte Sonnenbestrahlung des Holzes. Daher sollte für Holzschliff bestimmtes Holz ungeschützt nur im berindeten Zustand gelagert werden, um die Holzfeuchte zu erhalten. Allerdings wurde bereits mehrfach betont, dass die Lagerung von Fichtenholz in Rinde zu deutlichen Braunfärbungen des äußeren Splintholzes und zu signifikant verringerten Weißgraden des Holzschliffs führen kann (Adler, 1951; Alhojärvi und Alm, 1957; Ullevalseter, 1965; Keller, 1973; Peek und Liese, 1987; Holzmann und Wegener, 2004). Dies wird auf die Diffusion von „Tanninen“ bzw. „Gerbstoffen“ aus der Rinde ins Holz zurückgeführt. Nach Peek und Liese (1987) reichen Bastreste aus, um Verfärbungen zu verursachen. Da diese Verfärbungen höheren Bleichmitteleinsatz erfordern, um einen ausreichenden Weißgrad des Holzschliffs zu erhalten, kann es bei der Lagerung von Schleifholz auch vorteilhaft sein, die Rinde vor der Lagerung zu entfernen. Mögliche Verminderungen der Weißgradverluste müssen dabei gegen die eventuelle Verschlechterung anderer Holzschliffeigenschaften abgewogen werden.

⁵⁾ Polyvinylchlorid

3 Material und Methoden

3.1 Lagerungsversuche

Die vorliegende Arbeit basiert auf Versuchen zur Lagerung von Fichtenrundholz unter Anwendung vier unterschiedlicher Lagerungsarten (vergleiche Abschnitt 2.3). Die Lagerungsversuche wurden von der Firma Wood-Packer (Freiburg) geleitet. Dabei wurde die Lagerung des Holzes sowohl in als auch zum Teil ohne Rinde durchgeführt. Abbildung 3.1 erläutert die eingesetzte Nomenklatur der unterschiedlichen Lagerungsarten und Lagerungszeiträume.

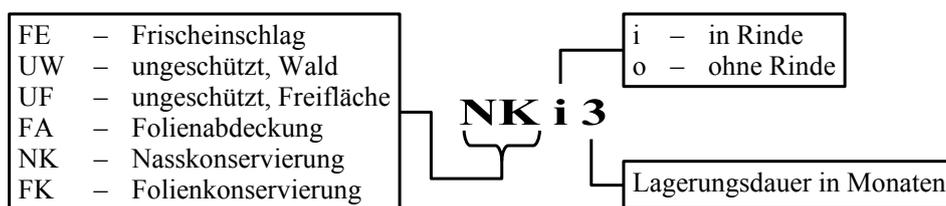


Abbildung 3.1: Nomenklatur der unterschiedlichen Lagerungsarten und Lagerungszeiträume.

Das Holz für die Lagerungsversuche stammte aus dem Forstrevier Tonbach, das in der Nähe des Schwarzwaldortes Baiersbronn liegt und zum Kreisforstamt Freudenstadt gehört. Die Länge der einzulagernden Fichtenholzabschnitte betrug 2 m. Bei den Lagerungsvarianten ohne Rinde erfolgte die Entrindung manuell. Stämme in Rinde wie auch entrindete Stämme wurden immer zu einem Holzpolter aufgeschichtet, wobei zuerst die berindeten Stämme eingelagert und dann die entrindeten darüber geschichtet wurden.

Während im Wald eingerichtete Holzpolter direkt auf dem Waldboden gelagert wurden, sorgten bei der Lagerung auf der Freifläche Unterlagenhölzer für einen Abstand zwischen Stammabschnitten und Boden. Für jeden Beprobungszeitpunkt (3, 6, 9 und 12 Monate Lagerung) wurden bei allen Lagerungsvarianten separate Holzpolter installiert. Das gesamte Holz entstammte dem gleichen Holzschlag.

Ungeschützte Lagerung im Wald (UW) Die Waldlagerung erfolgte entlang einer Waldstraße. Das Holz wurde als Haufenpolter so aufgeschichtet, dass die Stirnseiten der Stämme zum Fahrweg zeigten. Die UW-Lagerung wurde nur an berindeten Stämmen untersucht.

Ungeschützte Lagerung auf Freiflächen (UF) Im Gegensatz zur Waldlagerung (UW) wurden bei UF die Holzpolter auf dem Holzlagerplatz der Firma Stora Enso (Maxau) errichtet. Die Polter befanden sich auf einer Freifläche, so dass das Holz Sonneneinstrah-

lung und Wind ohne Schutz ausgesetzt war. Analog zu UW erfolgte die Untersuchung von UF nur an Stämmen in Rinde.

Folienabdeckung (FA) Die Lagerungsvariante der Folienabdeckung wurde neben UW als zweite Lagerungsart im Wald durchgeführt. Hierbei wurden die Stämme ebenfalls senkrecht zum Fahrweg ausgerichtet. Die Holzpolter wurden vollständig in zwei Lagen bis zum Boden mit Silofolie aus Polyethylen (0,2 mm Dicke) abgedeckt, die sonst zur Abdeckung von landwirtschaftlichen Silos eingesetzt wird. Hierbei war die Folie identisch mit der bei der Folienkonservierung eingesetzten Folie (Maier, 2005). Die Ränder der Folienabdeckungen wurden mit Riesel¹⁾ befüllten Silosäcken beschwert. Bei FA wurde die Lagerung mit und ohne Rinde untersucht.

Nasskonservierung (NK) Die Beregnung der Holzpolter der Lagerungsvariante NK erfolgte auf dem Holzplatz der Firma Stora Enso (Maxau). Da in der Praxis dort häufig Nasslagerung durchgeführt wurde, war die notwendige Infrastruktur wie Wasserversorgung und Beregnungseinrichtungen vorhanden. Die Anlage wurde so ausgerichtet, dass die Beregnung der Holzpolter sowie die Befeuchtung der Stammstirnseiten gesichert war. Die Nasskonservierung des Holzes wurde sowohl in als auch ohne Rinde durchgeführt.

Folienkonservierung (FK) Die Holzpolter mit Folienkonservierung wurden ebenfalls auf dem Holzlagerplatz der Firma Stora Enso (Maxau) installiert. Gemäß den Angaben von Maier (2005) wurden die Holzpolter mit einer doppelten Hülle aus Silofolie (Polyethylen, 0,2 mm dick) versehen. Zunächst wurde ein Siloschutzgitter auf dem Boden ausgebreitet. Auf das Schutzgitter wurden die Silofolien als Bodenfolien ausgelegt. Nach der Platzierung der Unterlagenhölzer auf zwei übereinander liegenden Bodenfolien wurden die Holzpolter aufgebaut. Anschließend wurden die an einer Seite deutlich überstehenden Bodenfolien über die Holzpolter gezogen und mit der Folie am Boden verschweißt, um die Dichtigkeit des Systems zu gewährleisten. Zuerst wurde die innere, dann die äußere Folien verschweißt, so dass zwei Hüllen entstanden. Diese Technik verfügte über den Vorteil, dass bei Beschädigung einer Hülle, die zweite immer noch voll funktionsfähig blieb. Als zusätzlicher mechanischer Schutz wurde das Siloschutzgitter ebenfalls noch über das Polter geschlagen und fixiert. Durch die Doppelhülle wurde eine Absperrung des Polters gegen die Außenatmosphäre erreicht. Zur Kontrolle der Gaszusammensetzung im folienkonservierten Holzpolter wurde die Entwicklung des O_2 - und CO_2 -Gehalts aufgezeichnet. Hierzu stattete die Firma Wood-Packer alle folienkonservierten Holzpolter mit Schläuchen und Schottverschraubungen aus, an welchen in bestimmten zeitlichen Abständen mobile Messgeräte zur Aufzeichnung der Gaszusammensetzung angeschlossen wurden. Bei der Folienkonservierung wurde sowohl die Lagerung des Holzes in als auch ohne Rinde analysiert.

¹⁾ Kies mit feiner Korngröße

3.2 Material

3.2.1 Holz

Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen lieferte die Firma Wood-Packer frisches und gelagertes Fichtenholz in Form von Stammscheiben. Zur Probenahme wählte Wood-Packer pro Lagerungsvariante drei Stämme aus dem Holzpolter aus und schnitt aus jedem Stamm mit der Motorsäge zwei etwa 5 cm dicke Scheiben mit festgelegtem Abstand von den beiden Stirnflächen heraus. Für den Transport wurden die Stammscheiben in Aluminiumfolie eingewickelt und vakuumverpackt. Nach Ankunft der Proben wurden zwei radiale, parallel verlaufende Riegel mit 15 mm Breite und 40 mm Höhe aus allen Stammscheiben herausgesägt. Die Holzriegel wurden entweder sofort analysiert oder für nachgelagerte Untersuchungen in Aluminiumfolie eingepackt und bei -20°C konserviert. Zusätzlich erfolgte bei allen Stammscheiben die optische Bewertung des Holzzustands, die Aufnahme des Radius sowie die Altersbestimmung durch Zählung der Jahrringe.

3.2.2 Holzschliff

Die Herstellung von Holzschliff aus frischem und gelagertem Holz erfolgte durch die TU Darmstadt (Fachgebiet Papierfabrikation und Mechanische Verfahrenstechnik). Hierzu wurde ein halbtechnischer Einpressenschleifer (J. M. Voith, Heidenheim) eingesetzt, welcher mit einem Schleifstein von 1000 mm Durchmesser und 300 mm Breite ausgerüstet war. Sämtliche Holzschliffproben wurden in initialfeuchtem Zustand („never dried pulp“) versandt und nach Ankunft in Hamburg unmittelbar bei -20°C für spätere Analysen gelagert.

3.2.3 Organische Lösungsmittel

Die wichtigsten verwendeten organischen Lösungsmittel werden in Tabelle 3.1 aufgelistet.

Tabelle 3.1: Für verschiedene Untersuchungen eingesetzte organische Lösungsmittel.

Lösungsmittel	Reinheit und Herkunft
Methanol	HPLC Gradient grade, Fisher Scientific
Petrolether (Petroleumbenzin)	zur Analyse, Siedebereich $40 - 60^{\circ}\text{C}$, Merck
Aceton	für HPLC, J.T. Baker
<i>tert</i> -Butylmethylether (MTBE)	zur Analyse, Merck
Acetonitril	Ultra Gradient HPLC Grade, J.T. Baker
Ethanol	absolut, zur Analyse, Merck

3.3 Holzfeuchte

Die Holzfeuchte u wurde gravimetrisch mit der Darmmethode nach EN 13 183-1 ermittelt, wobei die Proben für 48 h bei 103°C trockneten.

Um den radialen Verlauf der Holzfeuchte über den Querschnitt der Stammscheiben ermitteln zu können, wurde die halben Holzriegel (vom Mark bis zur Rinde) in 1 cm-Schritten aufgeteilt und bei jedem Abschnitt die Holzfeuchte bestimmt. Da die Radien der Stammscheiben schwankten, bestanden die halben Riegel aus vier bis acht Abschnitten, so dass radiale Holzfeuchteprofile mit vier bis acht Messpunkten entstanden. Da die variierende Zahl der Messpunkte die statistische Auswertung der Holzfeuchteprofile erschwerte, wurden sie gemäß Abbildung 3.2 umgewandelt. Auf diese Weise wurden Holzfeuchteprofile generiert, welche aus den vier Stufen A – D aufgebaut waren. Von den Stufen wurden je Lagerungsart und Beprobungszeitpunkt Mittelwerte und Standardabweichungen ermittelt.

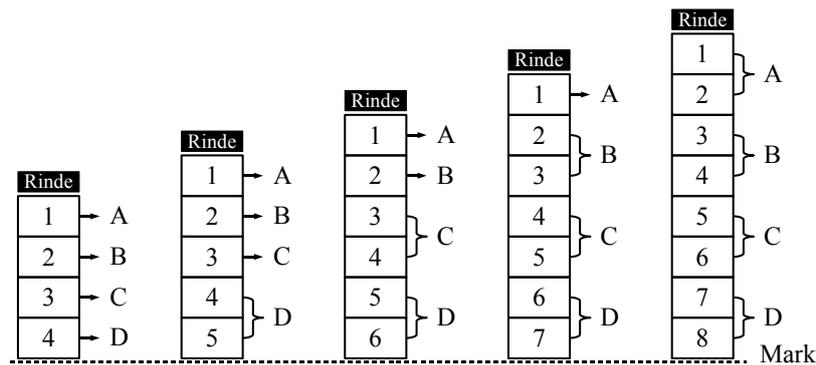


Abbildung 3.2: Festlegung der vier Holzfeuchtestufen A – D aus den ermittelten vier bis acht Holzfeuchteabschnitten über den Radius der Stammscheibe. Die Zählung der Abschnitte begann mit 1 beim äußersten Abschnitt und wurde nach innen zum Mark hin aufsteigend fortgesetzt. Dementsprechend bildete A die äußerste und D die innerste Stufe des Holzfeuchteprofils.

Zusätzlich wurde auch für jede Stammscheibe eine mittlere Holzfeuchte aus den Werten aller Einzelabschnitte gebildet und deren Standardabweichung bestimmt.

3.4 Freie Zucker und Stärke

Der Gehalt an freien Zuckern und Stärke im Splintholz wurde nach Puls und Rademacher (1986) bestimmt. Nach Entfernung der Rinde wurden die neun äußeren Jahrringe einer Holzriegelhälfte abgespalten, zerkleinert, gefriergetrocknet und mit einer Scheibenschwingmühle (HSM 100 P, Herzog, Osnabrück) 1 min lang fein gemahlen. 200 mg des klimatisierten Holzmehls wurden mit 20 ml Methanol/Wasser (3/1, v/v) für 12 h in einem 25 ml Messkolben bei Raumtemperatur extrahiert. Nach dem Auffüllen auf 25 ml wurde die Holz suspension über einen klimatisierten Glasfildertiegel (Porosität G4) filtriert und klimatisiert. 15 ml des Filtrats wurden in einer Kristallisierschale bei 40°C bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit 5 ml Reinstwasser (Ultra Clear, SG) aufgenommen und filtriert (0,2 µm, SPARTAN 13, Schleicher & Schuell, Dassel). Die gelösten freien Zucker wurden mittels Anionenaustauschchromatographie mit gepuls-

ter amperometrischer Detektion (AEC-PAD, Dionex GmbH, Idstein) analysiert. Dabei erfolgte die isokratische Trennung bei 1 ml/min mit 100 mmol/l NaOH/Wasser (3/1, v/v) auf einer CarboPac PA1-Säule (4 × 250 mm, Dionex, Idstein). Die Quantifizierung von Fructose, Glucose und Saccharose basierte auf einer externen Kalibrierung mit Standardlösungen.

Zur Bestimmung des Stärkegehalts wurden 25 mg des klimatisierten Rückstandes in 1,5 ml Reaktionsgefäße eingewogen und mit 750 μ l 0,1 mol/l Ammoniumacetatpuffer (pH 4,7) versetzt, welcher 0,05 % (w/v) Amylase sowie 0,05 % (w/v) Amyloglucosidase enthielt. Der enzymatische Abbau erfolgte bei einer Mischfrequenz von 1200 min⁻¹ in einem Thermomixer (Eppendorf, Hamburg) bei 46°C für 24 h. Anschließend wurden die Proben mit 5000 g für 10 min bei 20°C zentrifugiert (RC 5C Plus, SORVALL, Kendro, Langenselbold), die flüssige Phase aufgenommen und filtriert (0,2 μ m). Zur Bestimmung der Glucose wurde das Filtrat mittels Boratkomplex-Anionenaustausch-Chromatographie analysiert und über externe Kalibrierung quantifiziert. Die Trennung über die mit MCI Harz (CA08F, Mitsubishi, Japan) gepackte Omnifit Säule (7 × 115 mm, 60°C) erfolgte durch Gradientenelution bei 0,7 ml/min mit 0,3 mol/l (A) und 0,9 mol/l (B) Kaliumtetraborat-Borsäure-Puffer. Die Eluierungsphase begann mit 10 % (B), stieg linear auf 90 % (B) an und dauerte 35 min. Durch eine Nachsäulenderivatierung mit Cu-Bicinchoninat bei 105 °C konnte die Glucose über einen UV²⁾/Vis³⁾-Detektor (HPLC 332 Detector, Kontron) bei 560 nm bestimmt werden.

Bei beiden Chromatographiesystemen erfolgte die Datenauswertung anhand des Programms Chromeleon (Version 6.4, Dionex).

3.5 Sukzessive Extraktion

Holz und Holzschliff wurden sukzessiv extrahiert, um die lipophilen und phenolischen akzessorischen Bestandteile herauslösen und analysieren zu können.

Das Holz wurde in Splint- und Kernholz aufgeteilt. Hierzu wurden die neun äußeren Jahrringe einer Holzriegelhälfte als Splintholz abgetrennt. Die inneren 2 cm wurden dagegen entsprechend des Holzfeuchteprofils dem Kernholz zugeordnet. In einigen Fällen wurde auch das Holz analysiert, welches zwischen dem hier festgelegten Splint- und Kernholz übrig blieb, und daher das Holz der Übergangszone von Splint- zu Kernholz enthielt. In diesem Zusammenhang wird das Holz der Übergangszone in der vorliegenden Arbeit auch teilweise als „Restholz“ bezeichnet. Das Holz wurde in streichholzartige Stifte vorzerkleinert, gefriergetrocknet und gemahlen (Schneidmahlkopf, 3 mm Sieb, IKA, Staufen).

Die Holzschliffproben wurden gefriergetrocknet. Anschließend wurden etwa 2 g Holzschliff für 10 s in einer Analysenmühle (A10, IKA, Staufen) geflüßt.

Die sukzessive Extraktion wurde mittels Accelerated Solvent Extraction (ASE 200, Dionex, Idstein) durchgeführt. Das Extraktionsgut wurde in die Extraktionszellen eingewogen und mit Diatomeenerde (Dionex, Idstein) vermengt. In der ersten Stufe wurde

²⁾ Ultraviolett

³⁾ Visible light (sichtbares Licht)

mit Petrolether und in der zweiten Stufe mit Aceton/Wasser (9/1, v/v) extrahiert. Die Extraktionsbedingungen können Tabelle 3.2 entnommen werden.

Die Extrakte wurden mit dem entsprechenden Lösungsmittel auf 25 ml aufgefüllt und bis zur Analyse bei -20°C aufbewahrt.

Tabelle 3.2: Bedingungen der sukzessiven Extraktion mittels ASE.

		Petrolether	Aceton/Wasser
Vorheizphase	[min]	5	5
Heizphase	[min]	5	5
Statische Phase	[min]	5	5
Nachspülen mit Lösungsmittel	[%]	120	120
Spülen mit Stickstoff (g)	[s]	120	120
Anzahl der Zyklen	[-]	2	2
Druck	[bar]	100	100
Temperatur	[$^{\circ}\text{C}$]	50	60

3.6 Gaschromatographie (GC)

Die Kenntnisse zur Durchführung der GC-Analysen wurden im Wesentlichen während einer Short Term Scientific Mission (STSM, COST Action E41) bei S. Willför im Laboratory of Wood and Paper Chemistry an der Åbo Akademi University in Turku (Finnland) im Mai 2006 vermittelt.

3.6.1 Stoffgruppenbestimmung

Interne Standards

Bei der Stoffgruppenbestimmung wurden sehr unterschiedliche Substanzklassen untersucht. Um dieser Tatsache Rechnung zu tragen, wurden insgesamt vier unterschiedliche interne Standardsubstanzen zur Quantifizierung bei der GC-Analyse eingesetzt.

1. Heneicosanoic acid ($\approx 99\%$, Sigma, Artikel-Nr. H5149): Zur Quantifizierung von Fettsäuren, Harzsäuren und langkettigen Alkoholen
2. Betulin (min. 98% , Sigma, Artikel-Nr. B9757): Zur Quantifizierung von Sterolen und Lignanen
3. Cholesteryl-Heptadecanoat (min. 99% , Sigma, Artikel-Nr. C5384): Zur Quantifizierung von Sterylestern, Alkylferulaten, Sesquilignanen, Dilignanen und Diglyceriden
4. 1,3-Dipalmitoyl-2-Oleocyl-Glycerol ($\approx 99\%$, Sigma, Artikel-Nr. D2157): Zur Quantifizierung der Triglyceride

Die internen Standards wurden mit einer Endkonzentration von $\approx 0,02$ mg/ml je Einzelsubstanz in MTBE (siehe Tabelle 3.1) angesetzt.

Silylierung

Vom Gesamtextrakt wurde ein aliquoter Teil in ein Reagenzglas überführt und mit 1 ml der internen Standardlösung versehen. Unter einem Stickstoffstrom und einer Temperatur $< 40^{\circ}\text{C}$ verdampfte das Lösungsmittel. Eventuelle Lösungsmittelreste wurden im Vakuumtrockenofen bei 35°C innerhalb von 30 min entfernt. Anschließend wurde jede Probe mit folgenden Silylierungs- bzw. Lösungsmitteln versetzt.

1. $80\ \mu\text{l}$ Bis(trimethylsilyl)-trifluoracetamid (*BSTFA*, für die Gaschromatographie, Merck, Artikel-Nr. 1.11025)
2. $20\ \mu\text{l}$ Trimethylchlorosilan (*TMCS*, puriss., Fluka, Artikel-Nr. 92360)
3. $20\ \mu\text{l}$ Pyridin (destilliert und wasserfrei)

Mit dicht verschlossenen Deckeln wurde die Derivatisierung bei 70°C im Trockenofen (45 min) durchgeführt. Parallel zu den Proben wurde auch reines Silylierungsmittel sowie eine Probe, welche nur die internen Standards als Probe enthielt, mit untersucht. Anschließend wurden sämtliche Proben in GC-Fläschchen überführt und innerhalb 24 h analysiert.

GC-Analyse

Die Bestimmung der Stoffgruppen mittels GC erfolgte in Hamburg mit einem 6890N Gaschromatographen (Agilent, Waldbronn). Da die Probe direkt auf die Säule (On-Column-Aufgabe) eingespritzt wurde, kam die Säule Zebron ZB1 ($7,5\ \text{m} \times 0,53\ \text{mm}$, $0,15\ \mu\text{m}$ Filmdicke, Phenomenex, Aschaffenburg) zum Einsatz. Die Injektion ($1\ \mu\text{l}$) erfolgte über ein Kalt-Aufgabe-System (KAS 4, Gerstel) direkt auf die Säule, welche in das KAS eingeführt worden war. Die On-Column-Injektion benötigte zusätzlich eine Mikroliterspritze mit feiner Kanüle ($10\ \mu\text{l}$ Volumen, Nadeldimensionen $0,47 \times 51,5\ \text{mm}$, Gerstel, Mülheim). Das KAS ermöglichte, im Injektor selbst ein definiertes Temperaturprogramm anzuwenden, so dass die Einspritzung unter genau definierten Bedingungen möglich war. Folgende Parameter kamen für das KAS zur Anwendung.

- 80°C Anfangstemperatur; wurde nach der Injektion 0,1 min gehalten
- Mit $0,8^{\circ}\text{C}/\text{s}$ auf 110°C aufheizen und anschließend
- Mit $0,5^{\circ}\text{C}/\text{s}$ auf 340°C aufheizen; wurde 5 min gehalten

Das Temperaturprogramm des Säulenofens startete parallel zum Programm des KAS und wies folgende Parameter auf.

- 100°C Anfangstemperatur; wurde nach der Injektion 0,5 min gehalten
- Mit $12^{\circ}\text{C}/\text{min}$ auf 340°C aufheizen; wurde 5 min gehalten

Zur Detektion wurde ein Flammen-Ionisations-Detektor (FID) eingesetzt, dessen Temperatur konstant auf 340°C gehalten wurde. Helium war mit einem Fluss von 6 ml/min das verwendete Trägergas.

Die ersten Stoffgruppenbestimmungen wurden an der Åbo Akademi University in Turku (Finnland) durchgeführt. Daher werden im Folgenden die wesentlichen Unterschiede zu der in Hamburg eingeführten GC-Methode dargestellt.

In Turku wurde ein Clarus 500 Gaschromatograph (Perkin Elmer) verwendet. Als Säule kam eine HP-1-Säule (7,5 m × 0,53 mm, 0,15 µm Filmdicke, Agilent) zum Einsatz. Das Temperaturprogramm des Säulenofens und die FID-Temperatur entsprachen den Bedingungen in Hamburg. Anstelle von Helium war Wasserstoff das Trägergas. Die Injektion von 0,5 µl Probe erfolgte ebenfalls On-Column über einen programmierbaren Injektor, wobei folgende Bedingungen verwendet wurden.

- 80°C Anfangstemperatur; wurde nach der Injektion 0,1 min gehalten
- Mit 50°C/min auf 110°C aufheizen und anschließend
- Mit 15°C/min auf 340°C aufheizen; wurde 5 min gehalten

Auswertung GC

Die quantitative Berechnung folgte der Gesetzmäßigkeit, dass die Masse der zu quantifizierenden Substanz i proportional zu ihrer Peakfläche war (Formel 3.1).

$$A_i = k_i \cdot m_i \quad (3.1)$$

Des Weiteren konnten die Peakflächen und die Massen der gesuchten Substanz und des internen Standards in Beziehung gestellt werden.

$$\frac{A_{\text{internerStandard}}}{A_{\text{Substanz}}} = \frac{k_{\text{internerStandard}}}{k_{\text{Substanz}}} \cdot \frac{m_{\text{internerStandard}}}{m_{\text{Substanz}}} = K \cdot \frac{m_{\text{internerStandard}}}{m_{\text{Substanz}}} \quad (3.2)$$

Der relative Wiederfindungswert K kann durch die gleichzeitige Analyse von Standardsubstanzen und internem Standard errechnet werden.

$$K = \frac{A_{\text{internerStandard}}}{A_{\text{Substanz(Standard)}}} \cdot \frac{m_{\text{Substanz(Standard)}}}{m_{\text{internerStandard}}} \quad (3.3)$$

Da nicht für alle untersuchten Substanzen Standards vorhanden waren, hätte K nicht für alle Substanzen bestimmt werden können. Infolgedessen wurde in Übereinstimmung mit Örsa und Holmbom (1994) $K = 1$ für alle Substanzen mit Ausnahme der Lignane eingesetzt, für welche $K = 1,2$ durch Willför et al. (2003b) bestimmt worden war. Im Zuge der Auswertung der Extraktanalyse kann daher nun mit bekanntem K und bekanntem $m_{\text{internerStandard}}$ die gesuchte m_{Substanz} errechnet werden.

$$m_{\text{Substanz}} = K \cdot m_{\text{internerStandard}} \cdot \frac{A_{\text{Substanz}}}{A_{\text{internerStandard}}} \quad (3.4)$$

Unter Berücksichtigung der gesamten und aliquoten Extraktvolumina sowie der Holzeinwaage der Extraktion konnte der Extraktstoffgehalt nach Formel (3.5) bestimmt werden.

$$\text{Gehalt} \left[\frac{mg}{g_{\text{Holz}}} \right] = K \cdot \frac{A_{\text{Substanz}}}{A_{\text{internerStandard}}} \cdot \frac{m_{\text{internerStandard}}[mg]}{m_{\text{Holzeinwaage}}[g]} \cdot \frac{V_{\text{gesamt}}}{V_{\text{aliquot}}} \quad (3.5)$$

k	Responsefaktor/Wiederfindungswert
K	relativer Responsefaktor/relativer Wiederfindungswert
m	Masse
A	Peakfläche
V	Volumen

3.6.2 Substanzidentifizierung

Einige ausgewählte Proben wurden in Turku durch GC gekoppelt mit Massenspektroskopie (MS) zur Substanzidentifizierung über die laborinterne Datenbank analysiert. Da diese Datenbank ein wichtiger Bestandteil der gesamten Kompetenz des Labors in Turku darstellt, werden die Fragmentierungsmuster der GC-MS/MS-Untersuchungen in der vorliegenden Arbeit nicht veröffentlicht. Ein HP 6890-5973 GC-quadrupole-MSD Instrument (Agilent) wurde für die GC-MS/MS-Messungen benutzt. Als Säule kam eine HP-1-Säule (25 m × 0,2 mm, 0,11 μm Filmdicke, Agilent) sowie für Substanzen mit höherem Siedepunkt die Säule MXT-65TG (15 m × 0,25 mm, 0,1 μm Filmdicke, Restek Corp., USA) zum Einsatz.

Die Informationen aus den GC-MS/MS-Untersuchungen ermöglichten eine Substanz-Peak-Zuordnung bei der Analyse der Einzelsubstanzen, aber auch bei der Stoffgruppenbestimmung. Diese Vorgehensweise war legitim, da bei den drei unterschiedlichen gaschromatographischen Untersuchungen Säulen gleicher Polarität verwendet wurden, so dass die Elutionsreihenfolge der Peaks sich nicht unterschied.

Zusätzlich zu den GC-MS/MS-Informationen wurden bei der Stoffgruppenbestimmung neben den vier internen Standards verschiedene Standardsubstanzen zur Überprüfung bzw. zur neuen Festlegung von Retentionszeiten eingesetzt (siehe Tabelle 3.3).

Tabelle 3.3: Standardsubstanzen, welche für die Zuordnung der Retentionszeiten bei der GC-Methode zur Stoffgruppenbestimmung eingesetzt wurden.

Standardsubstanz	Herkunft
<i>Fettsäuren</i>	
Palmitinsäure (C16:0)	Fluka
Linolsäure (C18:2)	Roth
Linolensäure (C18:3)	Roth
Ölsäure (C18:1)	Fluka
Stearinsäure (C18:0)	Fluka
<i>Harzsäuren</i>	
Dehydroabietinsäure	Labor Hamburg
Abietinsäure	Labor Hamburg
<i>Sterole</i>	
β -Sitosterin (β -Sitosterol)	Roth
Campesterol	Bestandteil des β -Sitosterol-Standards
<i>Sterylester</i>	
Cholesteryloleat	Fluka
<i>Triglyceride</i>	
Tripalmitin (1,2,3 Trihexadecanoylglycerol)	Sigma
1,2-Distearoyl-3-oleoyl-rac-glycerol	Sigma
Glyceryltrioleat	Sigma

3.7 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die Umkehrphasen-HPLC-Untersuchungen der mit Aceton/Wasser extrahierten phenolischen Komponenten wurden hauptsächlich in Hamburg, aber auch während des Kurzaufenthalts in Turku durchgeführt. Lag der Schwerpunkt der Analysen in Turku auf der Substanzidentifizierung und der Peakzuordnung mittels HPLC-MS, so diente die HPLC-Technik in Hamburg als Standarduntersuchungsmethode der phenolischen Extrakte aus Holz und Holzschliff.

Probenvorbereitung

Die Aceton/Wasser-Extrakte konnten nicht direkt in die HPLC-Systeme eingespritzt werden, da die Substanzkonzentration der Rohextrakte hierfür zu niedrig war. Daher wurden die Extrakte vor der HPLC-Analyse aufkonzentriert. Hierzu wurden aliquote Teile des Gesamtextrakts entnommen, bei $< 40^{\circ}\text{C}$ unter einem Stickstoffstrom das Lösungsmittel verdampft und der Extrakt mit einem geringeren Volumen des jeweiligen Laufmittels der HPLC-Methode wieder aufgenommen. Die filtrierte Probe ($0,2\ \mu\text{m}$) war nun für die HPLC-Analyse vorbereitet.

3.7.1 HPLC-MS

Die HPLC-MS-Untersuchungen einiger ausgewählter Aceton/Wasser-Extrakte wurden in Zusammenarbeit mit Frau A. Smeds durchgeführt (Department of Organic Chemistry, Åbo Akademi University, Turku, Finnland). Ein HPLC-ESI-MSⁿ-System⁴⁾ (1100 Series, Agilent) stand für die Analyse zu Verfügung. Das System war mit einem UV-Detektor, der auf eine Wellenlänge von 280 nm eingestellt war, und einem LC/MSD IonTrap SL Detektor ausgerüstet. Das Massenspektrometer wurde im negativen Modus gefahren. Die Substanzen wurden mit der auf 30°C temperierten Säule ZorbaxSB-C8 ($2,1 \times 100\ \text{mm}$, $3,5\ \mu\text{m}$, Agilent) bei einem Fluss von $0,2\ \text{ml/min}$ getrennt. Eluenten waren $0,1\ \%$ Essigsäure (A) und Acetonitril/Methanol (B, 1/1, v/v). Der Gradient kann Tabelle 3.4 entnommen werden.

Tabelle 3.4: Gradient der HPLC-ESI-MSⁿ-Untersuchungen mit den Eluenten A und B (siehe Text).

Zeit [min]	0	10	20	25	30	31	37
A [%]	90	70	50	5	5	90	90
B [%]	10	30	50	95	95	10	10

3.7.2 HPLC-UV und HPLC-Fluoreszenz

Sämtliche Aceton/Wasser-Extrakte wurden in Hamburg mit einem HPLC-System (Jasco) analysiert, das sowohl über einen UV-DAD (Diodenarraydetektor, MD 2010 Plus,

⁴⁾ HPLC-electrospray ionisation-iontrap MS-System

Jasco) als auch über einen Fluoreszenzdetektor (FP 2020 Plus, Jasco) verfügte. Der UV-DAD nahm die Signale im Bereich von 200 – 400 nm auf. Für die Auswertung wurden allerdings nur die Chromatogramme bei 280 nm extrahiert. Zur Detektion von Lignanen wurde nach Brenes et al. (2002) beim Fluoreszenzdetektor (Gain 100) die Probe im Durchfluss mit 280 nm angeregt und die Emission bei 320 nm gemessen. Die Substanzen wurden mit der auf 30°C temperierten Säule Aquasil C18 (4,6 × 250 mm, 5 μm, Thermo) bei einem Fluss von 1 ml/min getrennt. Eluenten waren 1 mmol/l H₃PO₄ (A) und Acetonitril (B). Der Gradient kann Tabelle 3.5 entnommen werden.

Tabelle 3.5: Gradient der HPLC-UV-Fluoreszenz-Untersuchungen mit den Eluenten A und B (siehe Text).

Zeit [min]	0	5	30	40	70	90	97	102	110
A [%]	97,5	90	80	80	60	0	0	97,5	97,5
B [%]	2,5	10	20	20	40	100	100	2,5	2,5

3.7.3 Auswertung HPLC

Quantitativ wurden nur die HPLC-UV-Fluoreszenz-Untersuchungen ausgewertet. Entsprechend zur Auswertung der GC-Daten galt bei der HPLC-Analyse für eine Substanz *i* die Formel (3.1), wobei *A* für die Peakfläche, *k* für den Wiederfindungswert und *m* für die Masse standen.

Die Bestimmung von *k_i* erfolgte über eine externe Kalibrierung (Abschnitt 3.7.4). Unter Berücksichtigung des Injektionsvolumens (*V_{Inj.}*) und des gesamten Extraktvolumens (*V_{gesamt}*), bei welchem die Aufkonzentrierung eingerechnet werden musste, konnte der *Gehalt_i* der Substanz *i* nach Formel (3.7) berechnet werden.

$$Gehalt_i \left[\frac{mg}{g_{Holz}} \right] = \frac{m_{i \text{ gesamt}}}{m_{Einwaage \text{ Holz}}} = \frac{c_{Inj.} \cdot V_{gesamt}}{m_{Einwaage \text{ Holz}}} = \frac{\frac{m_{Inj.}}{V_{Inj.}} \cdot V_{gesamt}}{m_{Einwaage \text{ Holz}}} \quad (3.6)$$

$$= \frac{1}{m_{Einwaage \text{ Holz}}} \cdot \frac{V_{gesamt}}{V_{Inj.}} \cdot \frac{A_i}{k_i} \quad (3.7)$$

$$\begin{array}{ll} m_{Einwaage \text{ Holz}} & [g] \\ V_{gesamt} & [ml] \\ V_{Inj.} & [\mu l] \\ A_i & [mAU \cdot min] \text{ bei UV oder } [mV \cdot min] \text{ bei Fluoreszenz} \\ k_i & \left[\frac{mAU \cdot min}{\mu g} \right] \text{ bei UV oder } \left[\frac{mV \cdot min}{\mu g} \right] \text{ bei Fluoreszenz} \end{array}$$

3.7.4 Externe Kalibrierung

Im HPLC-UV-Fluoreszenz-System wurde die Peakzuordnung über die Untersuchung von Standardsubstanzen vorgenommen. Gleichzeitig wurden Kalibrierkurven erstellt und die

Wiederfindungswerte k über Formel (3.1) bestimmt (Tabelle 3.6). Nur bei dem Stilben Isorhapontigenin (Isor) erfolgte die Peakzuordnung exklusiv über die Daten der HPLC-ESI-MSⁿ, da Isor nicht als Standardsubstanz zur Verfügung stand. Für die quantitative Auswertung von Isor wurde hierbei der Wiederfindungswert k von Astringenin (Ast) eingesetzt.

Tabelle 3.6: Standardsubstanzen der HPLC-Untersuchungen. Mit angegeben sind die Wiederfindungswerte bei UV- und Fluoreszenzdetektion. Einige Substanzen wiesen bei den gegebenen Fluoreszenzbedingungen keine messbare Emission auf.

Standardsubstanz [-]	Herkunft [-]	Wiederfindungswert k	
		UV [$\frac{mAU \cdot min}{\mu g}$]	Fluoreszenz [$\frac{mV \cdot min}{\mu g}$]
<i>Lignane</i>			
Hydroxymatairesinol (HMR)	Labor Turku	10,42650	140,56384
Secoisolariciresinol (Seco)	Labor Turku	13,46892	2442,18360
Lariciresinol (Lari)	Labor Turku	14,66530	3461,95005
Oxomatairesinol (Oxo)	Labor Hamburg	33,03678	–
Pinoresinol (Pino)	Labor Hamburg	16,78799	4874,11194
α -Conidendrin (Con)	Labor Hamburg	18,71181	1984,14242
Matairesinol (MR)	Labor Turku	13,16054	480,55339
<i>Flavonoid</i>			
Dihydroquercetin (Dih)	Labor Hamburg	44,62099	–
<i>Stilbene</i>			
Astringenin (Ast)	Calbiochem	38,37692	–
Resveratrol (Res)	Calbiochem	81,73077	–
Isorhapontigenin (Isor)	– ^(a)	38,37692	–

^(a) Isor war nicht als Standard verfügbar. Deshalb wurde k von Ast verwendet.

3.8 Pilzabbauversuche

Einige Holzproben wurden mit dem Weißfäulepilz *Trametes versicolor* (*Coriolus versicolor*) nach DIN EN 113 (1996-11) beimpft und kultiviert. Die vom Pilz befallenen Proben dienten hauptsächlich als Referenzproben bei der Messung von Enzymaktivität (siehe Abschnitt 3.9).

Für die Pilzabbauversuche wurde waldfisches Fichtensplintholz verwendet, das bei -20°C konserviert worden war. Zusätzlich wurden einige Buchenholzproben zur Kontrolle mit untersucht, da aufgrund der vorhandenen Erfahrungen bei Abbauversuchen mit dieser Holzart Aussagen über die Aktivität von *Trametes versicolor* möglich waren.

Aus dem Splintholzbereich wurden Proben mit definiertem Format (30 × 30 mm Querschnitt und 7 mm Dicke) herausgetrennt. Vor der Beimpfung der Fichten- und Buchenproben wurden diese zweistufig sterilisiert. Im ersten Schritt wurden die vorhandenen Sporen bei 30 – 40°C zum Auskeimen gebracht. Danach erfolgte die eigentliche

Sterilisation bei 100°C. Anschließend wurden die Holzproben über rostfreie Stahlringe auf Agar-Nährboden gebettet, welcher mit dem Pilz beimpft wurde und als Starthilfe für den Pilz diente, bevor er das Holz besiedelte. Das Wachstum der Pilze in den Petrischalen erfolgte unter kontrollierten Bedingungen bei 22°C und 70 % relativer Luftfeuchte. Ein Teil der Proben wurde nach vier Wochen, der Rest nach acht Wochen entnommen.

Nach Beendigung des Abbaus konnte die Pilzaktivität über den Massenverlust als Differenz zwischen „Einbau“ (vor Beimpfung) und „Ausbau“ (am Ende des Versuchs) bestimmt werden. Neben der gravimetrischen Bestimmung jeder Probe beim Ein- und Ausbau (m_{mass}), musste auch die jeweilige Holzfeuchte u [%] berücksichtigt werden. Hierzu wurde vor der Beimpfung von jeder Holzart eine Probe zur gravimetrischen Bestimmung der Einbauholzfeuchte aussortiert. Beim Ausbau wurden von jeder Holzart zwei weitere Proben zur Bestimmung der Ausbauholzfeuchte ausgewählt. Mit bekanntem u und m_{mass} war nun die Berechnung der Trockenmasse ($m_{trocken}$) nach Formel (3.8) bei Ein- und Ausbau sowie hiermit die Bestimmung des Masseverlusts möglich.

$$m_{trocken} = m_{mass} \left(\frac{1}{\frac{u}{100} + 1} \right) \quad (3.8)$$

3.9 Enzymaktivität

Frische und gelagerte Splintholzproben wurden auf Aktivität an Polyphenoloxidasen (PPO, EC 1.10.3.1), Laccasen (EC 1.10.3.2) sowie Peroxidasen (EC 1.11.1) untersucht. Hierzu wurden zwei Methoden mit sehr unterschiedlichen Messprinzipien getestet. Methode eins maß den Sauerstoffverbrauch, welcher auf die Aktivität der Enzyme zurückzuführen war. Bei der zweiten Methode führte die Enzymaktivität zu einer Oxidation des Substrats Syringaldazin. Die auftretende Farbänderung konnte dann mittels UV/Vis-Spektroskopie erfasst werden.

Zur Probenvorbereitung wurden die neun äußeren Jahrringe ausgewählt. Die Holzproben wurden entweder analog zur Bestimmung von freien Zuckern und Stärke (Abschnitt 3.4) gefriergetrocknet und gemahlen oder aber ohne vorherige Trocknung gemahlen. Hierzu wurden die vorzerkleinerten Holzstückchen mit der Kryomühle (6750 Freezer/Mill, SPEX CertiPrep) in flüssigem Stickstoff unter den in Tabelle 3.7 aufgeführten Bedingungen gemahlen.

Tabelle 3.7: Bedingungen der Kryomühle zur Mahlung des Holzes für die Bestimmung der Enzymaktivität.

Vorkühlzeit	T3	5,0 min
Mahlzeit	T1	0,5 min
Zwischenkühlzeit	T2	1,0 min
Zyklen	–	6

3.9.1 Sauerstoffverbrauch

Die PPO-Aktivität wurde durch die Messung des Sauerstoffverbrauchs bei der Oxidation von 4-Methylcatechol (3,4-Dihydroxytoluol, Fluka) bestimmt (Lieberei und Biehl, 1978; von Hundt, 1990). Der Verbrauch wurde hierbei polarographisch mit einer Clark-Sauerstoff-Elektrode (Clark, Leland C. et al., 1953) gemessen. Die Elektrodenscheibe S1 war in einer temperierbaren und gasdicht verschließbaren DW1 Sauerstoffzelle mit magnetischer Rühreinheit (Hansatech Instruments, Norfolk) eingebaut.

250 mg des trockenen bzw. 50 mg des nassen Holzes wurden mit 4,9 ml Sörensen-Phosphat-Puffer (KH_2PO_4/Na_2HPO_4 , 0,0067 mol/l, pH 6,4) versetzt und auf einem Magnetrührer 30 min lang homogenisiert. Anschließend wurden 2 ml der Holz suspension in die auf 25°C temperierte Sauerstoffzelle überführt. Nach 5 min wurden 40 μ l 4-Methylcatechol (375 mmol/l) zugegeben. Die Entwicklung des Sauerstoffgehalts in der Suspension wurde nun für weitere 15 min mit dem Programm Oxygraph Plus (Hansatech Instruments) aufgezeichnet. Zur Ermittlung der Autoxidationsrate von 4-Methylcatechol wurde der Versuch auch ohne Holz durchgeführt. Zur Überprüfung der Methode wurden Laccase-Lösungen unterschiedlicher Konzentration (NS 51002, 333 400 nkat/ml (20 000 U/ml), Novozyme, Dänemark) und mit *Trametes versicolor* behandelte Holzproben (vergleiche Abschnitt 3.8) eingesetzt.

Die Auswertung des Sauerstoffverbrauchs in Abhängigkeit von der Einwaage wurde nach Formel (3.9) vorgenommen.

$$\text{Verbrauch O}_2 = \frac{A - E - \text{Auto}}{c} \left[\frac{\text{nmol}}{\text{g}} \right] \quad (3.9)$$

A	Anfangswert Sauerstoffgehalt $\left[\frac{\text{nmol}}{\text{ml}} \right]$
E	Endwert Sauerstoffgehalt $\left[\frac{\text{nmol}}{\text{ml}} \right]$
Auto	Autoxidationswert von 4-Methylcatechol $\left[\frac{\text{nmol}}{\text{ml}} \right]$
c	Konzentration $c = \frac{\text{Einwaage}_{\text{atro}}}{V_{\text{Puffer}}} \left[\frac{\text{g}}{\text{ml}} \right]$

3.9.2 Oxidation von Syringaldazin

Aufgrund der wenig zufriedenstellenden Ergebnisse bei der Bestimmung der Enzymaktivität durch Messung des Sauerstoffverbrauchs in Holz suspensionen mit 4-Methylcatechol als Substrat (vergleiche Abschnitt 4.6.2), wurde ein vollständig neuer Versuchsansatz gewählt.

Hierbei wurden die Enzyme zunächst aus dem Holz extrahiert. Anschließend wurde im Enzymextrakt die Oxidation des Substrats Syringaldazin (S7896, Sigma-Aldrich, Steinheim) spektrophotometrisch erfasst, welches spezifisch mit Laccase und bei Anwesenheit von Wasserstoffperoxid auch mit den Peroxidasen reagiert. Der Versuchsansatz entspricht den Angaben von Machuca und Ferraz (2001) und de Souza-Cruz et al. (2004).

Extraktion

Etwa 2,5 g des feuchten Holzmehls wurden in enghalsige Erlenmeyerkolben (25 ml) eingewogen und mit 10 ml Extraktionsmittel versetzt. Als Extraktionsmittel kam Natriumacetatpuffer (50 mmol/l, pH 5,5) mit 0,01 % Tween 80 (Roth, Karlsruhe) zum Einsatz. Die Erlenmeyerkolben wurden dicht verschlossen und im Aqua-Shaker (Adolf Kühner AG, Schweiz) bei 25°C und 120 rpm über Nacht geschüttelt.

Extrakt und Holz wurden über Glasfiliertiegel (Porosität G4) getrennt. Der Extrakt wurde bei 4°C aufbewahrt und innerhalb 48 h analysiert.

Enzymversuche

Die Enzymversuche wurden in Quarzküvetten durchgeführt und im Spektrophotometer UVIKON 931 (Kontron Instruments, Mailand) bei 525 nm gemessen. Folgende Ansätze wurden für die Enzymversuche gewählt.

1. Bestimmung der Laccaseaktivität

- 0,6 ml von 200 mmol/l Natriumphosphat/100 mmol/l Zitronensäure-Puffer (pH 5,0)
- 0,2 ml deionisiertes Wasser
- 0,2 ml von 0,3 mmol/l Syringaldazin (60 % Ethanol, v/v)
- 1,0 ml Enzymextrakt

2. Bestimmung von Laccase- und Peroxidaseaktivität

- wie bei 1. aber das deionisierte Wasser wird durch 0,2 ml H_2O_2 (≈ 2 mmol/l) ersetzt

Puffer, Wasser bzw. H_2O_2 und Syringaldazin wurden in die Küvette pipettiert. Die Küvette wurde zur Durchmischung geschüttelt und in den auf 35°C temperierten Küvettenhalter des Photometers gestellt. Nach 5 min wurde der Enzymextrakt zugegeben und die Messung gestartet. Dabei wurde der Verlauf des spektralen Absorptionsmaßes 10 min lang über die „Time-Drive-Funktion“ aufgezeichnet.

Insbesondere Proben mit deutlicher Enzymaktivität wurden 5 min im kochenden Wasser behandelt. Anschließend wurde die Aktivität durch die Wiederholung des Enzymversuchs überprüft.

Bei der Durchführung der Enzymversuche konnte der zweite Kanal des Photometers unbesetzt bleiben, da nicht das absolute spektrale Absorptionsmaß, sondern die Änderung des spektralen Absorptionsmaßes pro Zeiteinheit von Interesse war.

Molarer Absorptionskoeffizient von Syringaldazin

Für die Auswertung wurde das Lambert-Beer'sche Gesetz (Formel 3.10) angewandt.

$$\lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = E = \varepsilon c d \quad (3.10)$$

I_0	Intensität des einfallenden Lichtes
I	Intensität des austretenden Lichtes
E	Extinktion oder spektrales Absorptionsmaß [-]
ε	$= \frac{E}{c d} \left[\frac{l}{mol\ cm} \right]$ molarer Absorptionskoeffizient
c	Stoffmengenkonzentration $\left[\frac{mol}{l} \right]$
d	Schichtdicke des Küvetteninhalts [cm]

Der molare Absorptionskoeffizient ε von Syringaldazin wurde durch Einsatz von Lac-case (0,09 mg/ml, von *Trametes versicolor*, Consortium für elektrochemischen Industrie GmbH) und Peroxidase (0,0084 mg/ml, von Meerrettich, P-8520, Sigma, St. Louis) bestimmt. Verschiedene Syringaldazinkonzentrationen wurden von den Enzymen oxidiert, bis sämtliches Syringaldazin aufgebraucht war, so dass die maximalen spektralen Absorptionsmaße abgelesen werden konnten. Auf diese Weise wurde $\varepsilon = 72487 \left[\frac{l}{mol\ cm} \right]$ ermittelt.

Auswertung

Katal [kat] drückt die Enzymaktivität aus. Die Größeneinheit gibt an, welche Stoffmenge Δn [mol] pro Zeiteinheit Δt [s] umgesetzt wird (Formel 3.11).

$$1\ kat = \frac{1\ mol\ Substrat}{s} \Rightarrow 1\ pkat = \frac{1\ pmol\ Substrat}{s} \quad (3.11)$$

Die Enzymversuche ergaben das spektrale Absorptionsmaß E zu einer bestimmten Zeit t . Gefragt war die Veränderung pro Zeiteinheit $\frac{\Delta E}{\Delta t}$, welcher der Steigung m der Funktion aus E und t entsprach. Gesucht wurde die Steigung in einem möglichst linearen Bereich zwischen dem Startwert von E (E_{min}) und dem maximalen E_{max} . Als Standardeinstellung wurden ($t_{min} + 30\%$) und ($t_{max} - 30\%$) sowie korrespondierende E für die Steigungsgerade ($\frac{\Delta E}{\Delta t}$) eingesetzt. Dabei wurde bei jedem Enzymversuch optisch überprüft, ob die erstellte Steigungsgerade den Verlauf des spektralen Absorptionsmaßes im linearen Bereich gut abbildete. Gegebenenfalls wurden die Werte von t manuell in den linearen Bereich verschoben. Nach der Herleitung in Formel (3.12) konnte nun mit $V = 0,002\ l$ (Küvetteninhalt), $\varepsilon = 72487 \frac{l}{mol\ cm}$ und $d = 1\ cm$ (Schichtdicke) die Enzymaktivität bestimmt werden.

$$\frac{\Delta n}{\Delta t} = \frac{\Delta c V}{\Delta t} = \frac{\Delta E V}{\varepsilon d \Delta t} = m \frac{V}{\varepsilon d} \left[\frac{mol}{min} \right] = \frac{m V 10^{12}}{\varepsilon d 60} \left[\frac{pmol}{s} = pkat \right] \quad (3.12)$$

Diese Enzymaktivität basierte nur auf 1 ml Enzymextrakt. Um die Enzymaktivität auf das Holz beziehen zu können, wurde die spezifische Aktivität in $\left[\frac{pkat}{g_{Holz}} \right]$ unter Beachtung der Holzeinwaage und des Gesamtvolumens nach Gleichung (3.13) ermittelt. Das Gesamtvolumen wurde dabei errechnet, indem der Wasseranteil des Holzes zu den 10 ml Puffer bei der Extraktion addiert wurde.

$$\frac{\text{Enzymaktivität } [pkat] \cdot V_{gesamt} [-]}{\text{Einwaage}_{atro} [g]} \Rightarrow \left[\frac{pkat}{g_{Holz}} \right] \quad (3.13)$$

3.10 Mikroskopie

Neben den chemischen und enzymatischen Untersuchungen wurden einige Holz- und Holzschliffproben auch mit mikroskopischen Methoden analysiert. Beim Holz wurden hierbei die äußeren Jahrringe verglichen, um Abweichungen zwischen den unterschiedlichen Lagerungsarten detektieren zu können.

3.10.1 Universal-Mikrospektral-Photometrie (UMSP)

Die UMSP-Technik eignet sich hervorragend, um auf subzellulärem Niveau Lignin und weitere UV-aktive Substanzen topochemisch zu lokalisieren sowie semiquantitativ zu bestimmen (Koch und Kleist, 2001).

In der Probenvorbereitung wurden kleine Holzstifte mit einem Querschnitt von etwa 1×1 mm präpariert. Vom Holzschliff wurden einzelne Fasern bzw. Faserbündel herausgetrennt. Die Proben wurden gefriergetrocknet und nach Koch und Kleist (2001) in Epoxidharz eingebettet. Mit einem Diamantmesser wurden $1 \mu\text{m}$ dünne Schnitte hergestellt, welche auf Quarzobjektträger gebettet wurden.

Die Analyse der Schnitte erfolgte im Durchlichtmodus mit dem Mikrospektrophotometer UMSP 80 (Zeiss) und einem Objektiv mit 32facher Vergrößerung. Das Gerät war mit einem motorbetriebenen Objektstisch ausgestattet, welcher zweidimensionale Bewegungen gestattete. Mit der Software APAMOS (Automatic-Photometric-Analysis of Microscopic Objects by Scanning, Zeiss) konnten ausgewählte Zellausschnitte bei einer festen Wellenlänge (280 nm) und einer Ortsauflösung von $0,25 \times 0,25 \mu\text{m}$ Linie für Linie gescannt werden. Auf diese Weise entstand ein farbiges Abbild des Zellausschnitts, wobei die Intensitäten des spektralen Absorptionsmaßes gemäß einer aus 14 Farben bestehenden Farbskala visualisiert wurden.

Interessante Stellen der Zellausschnitte konnten zusätzlich durch Punktmessungen analysiert werden. Dabei wurden lokal Spektren von 240 – 400 nm mit der Software LAMWIN (Zeiss) aufgenommen.

3.10.2 Lichtmikroskopie (LM)

Von den eingebetteten UMSP-Proben wurden auch Schnitte für die Lichtmikroskopie vorbereitet. Zur besseren Visualisierung der Zellkomponenten waren die Proben mit Toluidinblau O eingefärbt worden. Mit dem Lichtmikroskop AX70 (Olympus) wurden die Proben analysiert. Die Digitalkamera HV-C20 (Hitachi) nahm die gewählten Gewebesausschnitte auf. Über die Software analySIS (Version 5.0, Soft Imaging System GmbH) wurden die Aufnahmen anschließend zugeschnitten und beschriftet.

4 Ergebnisse und Diskussion

Die folgenden Ergebnisse zu unterschiedlichen Methoden der Schleifholzlagerung müssen immer unter dem Aspekt bewertet werden, in welcher Art und Weise die Lagerungsversuche durchgeführt wurden. Für jeden Beprobungszeitpunkt wurden eigenständige Holzpolter errichtet, so dass das folienkonservierte Holz nach sechs Monaten Lagerung aus einem anderen Holzpolter stammte als etwa das folienkonservierte Holz nach nur drei Monaten Lagerung. Die Errichtung aller Holzpolter erfolgte allerdings parallel und unter identischen Bedingungen. Diese Vorgehensweise wurde gewählt, um den Lagerungsprozess durch die Beprobung nicht zu unterbrechen. Des Weiteren wurde bei jeder Beprobung eine derart große Holzmenge für die Holzschliffherstellung auf dem halbtechnischen Schleifer benötigt, dass die Bildung eigener Polter nötig war.

Auf diese Weise war es nicht möglich, die Beprobung zu unterschiedlichen Lagerungszeitpunkten an immer denselben Stämmen durchzuführen. Infolgedessen zeichnete sich das Holzmaterial bezüglich Einflussgrößen wie z. B. Stammalter, Splint- und Kernholzanteil sowie vertikale Stammposition durch sehr unterschiedliche Werte aus. Von vornherein war es daher wahrscheinlich, dass die untersuchten Parameter schon allein aufgrund der natürlichen Variabilität innerhalb bestimmter Bereiche schwanken und daher das Treffen klarer Aussagen erschweren würden.

4.1 Holzfeuchte

Eines der wesentlichen Ziele bei der Lagerung von Stammholzabschnitten für die Herstellung von Holzschliff ist die Erhaltung bzw. Gewährleistung einer ausreichend hohen Holzfeuchte über den gesamten Lagerungszeitraum (vergleiche Abschnitt 2.2.6). Deshalb wurde diese Einflussgröße unmittelbar nach dem Eintreffen der Holzproben bestimmt.

4.1.1 Mittlere Holzfeuchte

Abbildung 4.1 stellt für sämtliche untersuchten Lagerungsvarianten den Verlauf der mittleren Holzfeuchte in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer dar. Das frisch eingeschlagene Holz hatte eine durchschnittliche Holzfeuchte von $\approx 130\%$. Die Schaubilder 4.1a bis 4.1d verdeutlichen, dass während der untersuchten 12 Monate Lagerung die meisten Lagerungsvarianten fast durchgehend eine Holzfeuchte $> 100\%$ erhalten konnten.

Nur die ungeschützte Lagerung auf der Freifläche des Industriegeländes (UFi, Abbildung 4.1a) wies schon nach drei Monaten Lagerung eine Holzfeuchte von nur 30% und nach 12 Monaten eine Holzfeuchte von 18% auf. Der schnelle Feuchtigkeitsabfall war auf den fehlenden Schutz vor Sonneneinstrahlung und Wind zurückzuführen (Wilhelmssen, 1968; Persson und Elowson, 2001; Lind et al., 2004a). Dabei zeigte die niedrige

4 Ergebnisse und Diskussion

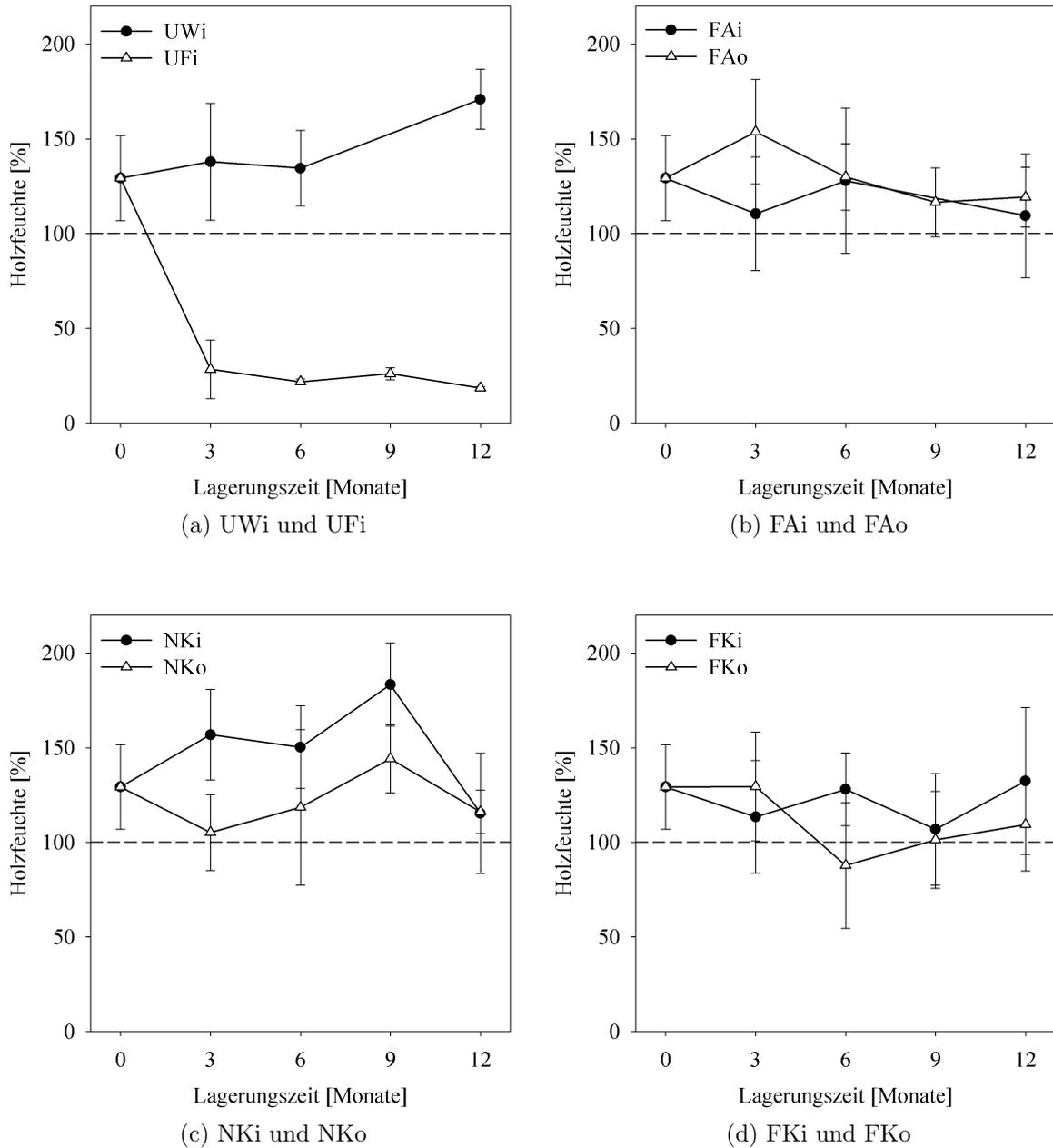


Abbildung 4.1: Mittelwerte der Holzfeuchte und deren Standardabweichungen in Abhängigkeit von der Lagerungsart und Lagerungszeit. Die gestrichelte Linie deutet bei der Holzfeuchte die 100 %-Marke an.

Standardabweichung, dass die Schwankung der Holzfeuchte an den einzelnen Untersuchungszeitpunkten sehr gering war. Die zweite, im Wald durchgeführte, ungeschützte Lagerungsvariante konnte dagegen das Niveau der Ausgangsfeuchte halten und sogar etwas steigern (UWi, Abbildung 4.1a). Hierbei waren für den Untersuchungszeitpunkt nach neun Monaten Lagerung keine Daten ermittelbar, da die Holzpolter aufgrund einer dicken Schneedecke nicht beprobt werden konnten. Es kann angenommen werden, dass das Schmelzwasser der Schneemassen für die deutlich höhere Holzfeuchte nach 12 Monaten Lagerung mitverantwortlich war. Im Gegensatz zur Freifläche bot der Holzlagerplatz im Wald genügend Schatten und geringere Luftzirkulation, so dass die Holzfeuchte nicht absank. Maier (2005) demonstrierte jedoch, dass bei ungeschützter Waldlagerung nicht prinzipiell das Anfangsholzfeuchteniveau erhalten bleibt. Während ein Waldlagerplatz die Konservierung der Holzfeuchte begünstigte, sank bei einem anderen Waldlagerplatz die Holzfeuchte innerhalb 12 Monate auf 87 % ab.

Aufgrund der Ergebnisse von UWi war zu erwarten, dass auch die ebenfalls im Wald umgesetzte Lagerungsvariante Folienabdeckung das Ausgangsholzfeuchteniveau bewahrte. Die Ergebnisse bestätigen, dass bei FAi und FAo die Holzfeuchte gut konserviert wurde (Abbildung 4.1b). Allerdings war im Vergleich zu UWi (Abbildung 4.1a) mit zunehmender Lagerungsdauer eine leicht abwärtsgerichtete Tendenz der Holzfeuchte zu erkennen. Da das Holz mit einer Folie abgedeckt war, konnte es nicht in direkten Kontakt mit dem Schmelzwasser gelangen, welches bei UWi für einen Anstieg der Holzfeuchte mitverantwortlich gemacht wird. Die Wertebereiche und zum Teil auch die Mittelwerte der Lagerungsvarianten in (FAi) und ohne Rinde (FAo) überschritten sich an allen Untersuchungszeitpunkten. Dabei waren für FAi nach 9 Monaten Lagerung aufgrund der winterlichen Verhältnisse keine Daten erhoben worden. Folglich hat bei der Folienabdeckung im Wald der Berindungszustand keinen Einfluss auf die Entwicklung der Holzfeuchte.

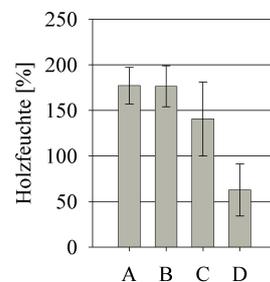
Wie UFi zeigte, führt die exponierte Lagerung auf der Freifläche zu einem schnellen Absinken der Holzfeuchte. Um dies zu verhindern, werden die Holzpolter häufig durch Berieselung mit Wasser künstlich befeuchtet. Die Entwicklung der Holzfeuchte bei Anwendung der Nasskonservierung auf der Freifläche des Industriegeländes ist in Abbildung 4.1c dargestellt. Bei NKi stieg die Holzfeuchte im Zuge der Lagerung deutlich an. Eine Ausnahme bildete hierbei der Zeitpunkt 12 Monate Lagerung, bei dem die Holzfeuchte im Vergleich zur vorausgehenden Beprobung deutlich niedriger lag. Bei NKo lagen die durchschnittlichen Holzfeuchten meist deutlich unterhalb der NKi-Holzfeuchten. Trotzdem garantierte auch bei NKo die Beregnung eine Holzfeuchte auf dem Niveau der Ausgangsholzfeuchte. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass bei gleicher Beregnung die Rinde einen zusätzlichen Schutz vor Verdunstung bietet. Generell konnten jedoch die Angaben der Literatur bestätigt werden, dass die Nasskonservierung bei ausreichender Beregnung zum Erhalt oder sogar zum Anstieg der Holzfeuchte führt (Wilhelmsen, 1968; Liukko und Elowson, 1999; Persson und Elowson, 2001; Lind et al., 2004a).

Die Entwicklung der mittleren Holzfeuchte des gasdicht in Folie verpackten und auf der Freifläche des Industriegeländes gelagerten Holzes kann Abbildung 4.1d entnommen werden. Abgesehen von einem Ausreißer konnten auch bei FK_i und FK_o durchgehend mittlere Holzfeuchten > 100 % ermittelt werden. In seiner Dissertation beschrieb Maier

(2005), dass während der Folienkonservierung von Fichtenholz eine geringe Abnahme der Splintholzfeuchte festzustellen ist. Der Autor berichtete, dass sich am Boden der Folienpakete Wasser sammelt. Da die Pakete abgeschlossene Systeme bilden, ist das Wasser auf ein Wechselspiel zwischen Verdunsten und Kondensieren innerhalb des Paketes zurückzuführen. Aufgrund des geschlossenen Systems liegt auch die Vermutung nahe, dass das Paket mit den Ausreißer-Werten Holz enthielt, welches schon zum Zeitpunkt der Einlagerung geringere Holzfeuchten aufwies. Des Weiteren stellten Groß et al. (1992) sowie Maier (2005) übereinstimmend fest, dass bei der Folienkonservierung berindete Holzstämmen im oberen Bereich des Holzpolters höhere Holzfeuchten als an den restlichen Stellen im Polter aufweisen. Sie führten dies auf Wasser zurück, das an der Folienoberfläche kondensiert und von oben auf die Stämme tropft. In diesem Zusammenhang ist es wichtig zu wissen, dass FK_i und FK_o immer zusammen in einem Paket gelagert wurde, wobei die entrindeten Stämme oben lagen. Die Holzfeuchtwerte der entrindeten Stämme waren tendenziell unterhalb der Werte in Rinde angesiedelt, obwohl diese im Paket die oberste Schicht bildeten. Daher konnte die Beobachtung der höheren Holzfeuchtwerte im oberen Bereich der Pakete für entrindete Stämme nicht bestätigt werden. Stattdessen verdeutlichen die Daten, dass auch in den gasdichten, abgeschlossenen Systemen der Folienkonservierung das Fehlen der Rinde zu etwas geringeren Holzfeuchten führt.

4.1.2 Holzfeuchteprofile

Neben der Betrachtung der durchschnittlichen Holzfeuchte (Abschnitt 4.1.1) war die Verteilung der Holzfeuchte über den Stammquerschnitt von Bedeutung. Über die nach Abschnitt 3.3 erstellten Holzfeuchteprofile konnten die hierfür notwendigen Daten ermittelt werden.



(a) FE_i

Abbildung 4.2: Holzfeuchteprofil des frischen Holzes (FE_i) vor Installation der verschiedenen Lagerungsarten. Die Profile reichen vom äußersten (A) bis zum innersten Bereich (D) der beprobten Stammscheiben.

Abbildung 4.2 stellt das Holzfeuchteprofil des frischen Holzes (FE_i) dar, welches aus den vier Stufen A (äußerster Stammbereich) bis D (innerster Stammbereich) zusammengesetzt wurde. Die äußeren Stufen A und B wiesen eine Holzfeuchte von $\approx 175\%$ auf. Stufe C zeigte mit $\approx 140\%$ Holzfeuchte einen etwas geringeren Wert und zur innersten

Stufe D fiel die Holzfeuchte deutlich auf $\approx 60\%$ ab. Das beschriebene Feuchteprofil entspricht einem typischen saftfrischen Fichtenholzstamm, welcher aus Splintholz und Kernholz besteht. Während das Splintholz von *Picea abies* sehr hohe Holzfeuchtwerte aufweist, kennzeichnet das Kernholz eine deutlich geringere Holzfeuchte (Vintila, 1939; Rudman, 1966; Bauch, 1980; Hillis, 1987). Folglich konnten die Stufen A – C dem Splintholz und die Stufe D dem Kernholz zugeordnet werden. Hierbei ist jedoch zu beachten, dass das Alter aller eingesetzten Stämme zwischen Extremwerten im Bereich von 10 und 40 Jahren schwankte. Zusätzlich waren die Jahrringbreiten sehr unterschiedlich ausgebildet. Infolgedessen variierte natürlicherweise auch der Kernholzanteil, so dass Stufe C ebenfalls noch Kernholz enthalten und auf der anderen Seite das Kernholz nur einen Anteil der Stufe D ausmachen konnte. Diese natürliche Variabilität muss bei der Betrachtung der Holzfeuchteprofile der unterschiedlichen Lagerungsvarianten und Lagerungszeiträume beachtet werden (Abbildung 4.3 und 4.4).

Bei der ungeschützten Lagerung auf der Freifläche (Abbildungen 4.4a – 4.4d) wurden sehr einheitliche Holzfeuchteprofile gemessen. Alle Stufen wiesen zu den meisten Lagerungszeitpunkten dieselben niedrigen Werte auf, so dass das Holz gleichmäßig durchgetrocknet war. In Übereinstimmung mit dem Verlauf der mittleren Holzfeuchte (Abbildung 4.1a) zeigten nur die Stufen B und C nach dreimonatiger Lagerung eine erhöhte Variabilität der Holzfeuchte.

Die Holzfeuchteprofile der Lagerungsvariante UWi (Abbildungen 4.4e – 4.4h) zeigten nach drei und sechs Monaten Lagerung eine gute Übereinstimmung mit dem Feuchteprofil des frischen Holzes (Abbildung 4.2). Während die Daten für den Zeitpunkt „neun Monate Lagerung“ nicht ermittelbar waren, wies bei den Proben nach 12 Monaten Lagerung die Stufe C leicht erhöhte und Stufe D mit 137% Holzfeuchte stark erhöhte Werte auf. Diese Veränderung des Holzfeuchteprofils stützt die Vermutung, dass Schmelzwasser zu einer erhöhten Durchfeuchtung der Holzstämmen geführt hat. Des Weiteren verdeutlichen die Holzfeuchteprofile von UWi die im Vergleich zur benachbarten Profilstufe B etwas geringere Holzfeuchte der äußersten Stufe A, welche zwar noch von der Rinde bedeckt wurde aber sonst am Nächsten zur Atmosphäre lag.

Bei den Lagerungsvarianten FAi und FAo (Abbildungen 4.3i – 4.3p) blieb das Holzfeuchteprofil der Ausgangsproben weitestgehend erhalten. In allen Fällen ist bei den drei äußeren Stufen A bis C eine leicht abnehmende Tendenz zu erkennen.

Die Holzfeuchteprofile der Nasskonservierung in und ohne Rinde (Abbildungen 4.4a – 4.4h) spiegeln die Ergebnisse der mittleren Holzfeuchten (Abbildung 4.1c) gut wieder. Abgesehen vom Beprobungszeitpunkt 12 Monate zeichnen sich alle Holzfeuchtestufen von NKi durch deutlich höhere Werte gegenüber den korrespondierenden Holzfeuchtestufen von NKo aus. Auch im Vergleich zu FEi (Abbildung 4.2) waren die Werte höher. Dabei hatte bei NKi die innerste Profilstufe D immer noch eine geringere Holzfeuchte als die drei anderen Stufen. Allerdings führte die künstliche Durchfeuchtung der Stämme auch bei D zu einem Anstieg der Holzfeuchte in den Bereich $\pm 100\%$. Dieser deutliche Anstieg konnte bei der Nasskonservierung ohne Rinde nur im Fall von NKo 9 festgestellt werden. Obwohl die mittleren Holzfeuchten von NKi 12 und NKo 12 gut übereinstimmen, unterscheiden sich ihre Holzfeuchteprofile erheblich. Das Holzfeuchteprofil von NKi 12 entspricht dem Muster des Ausgangsholzfeuchteprofils. Dagegen wies die äußerste Stu-

4 Ergebnisse und Diskussion

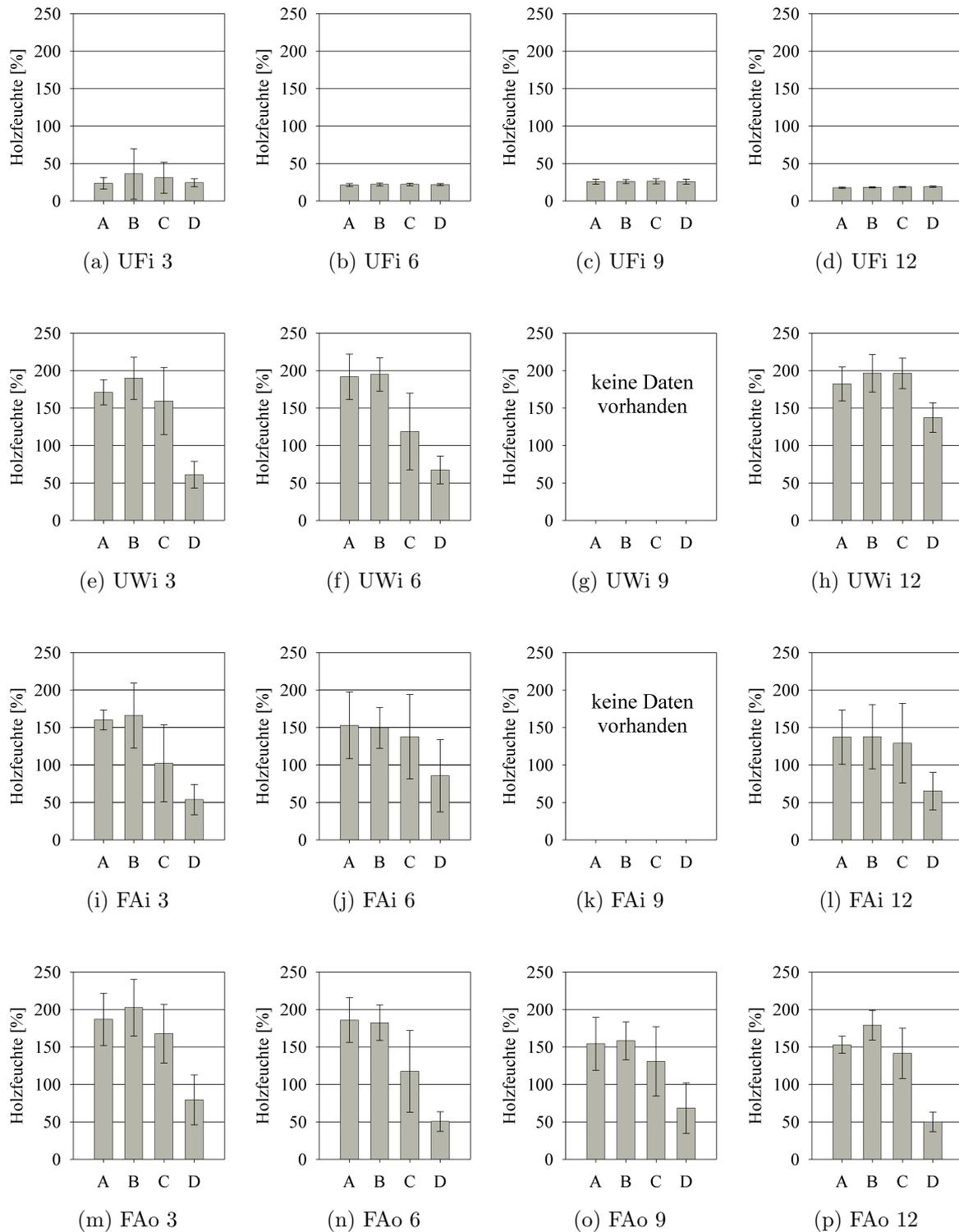


Abbildung 4.3: Holzfeuchteprofile vom äußersten (A) bis zum innersten (D) Stammbereich der Lagerungsvarianten UFi, UWi, FAi und FAo nach 3 – 12 Monaten Lagerung.

4 Ergebnisse und Diskussion

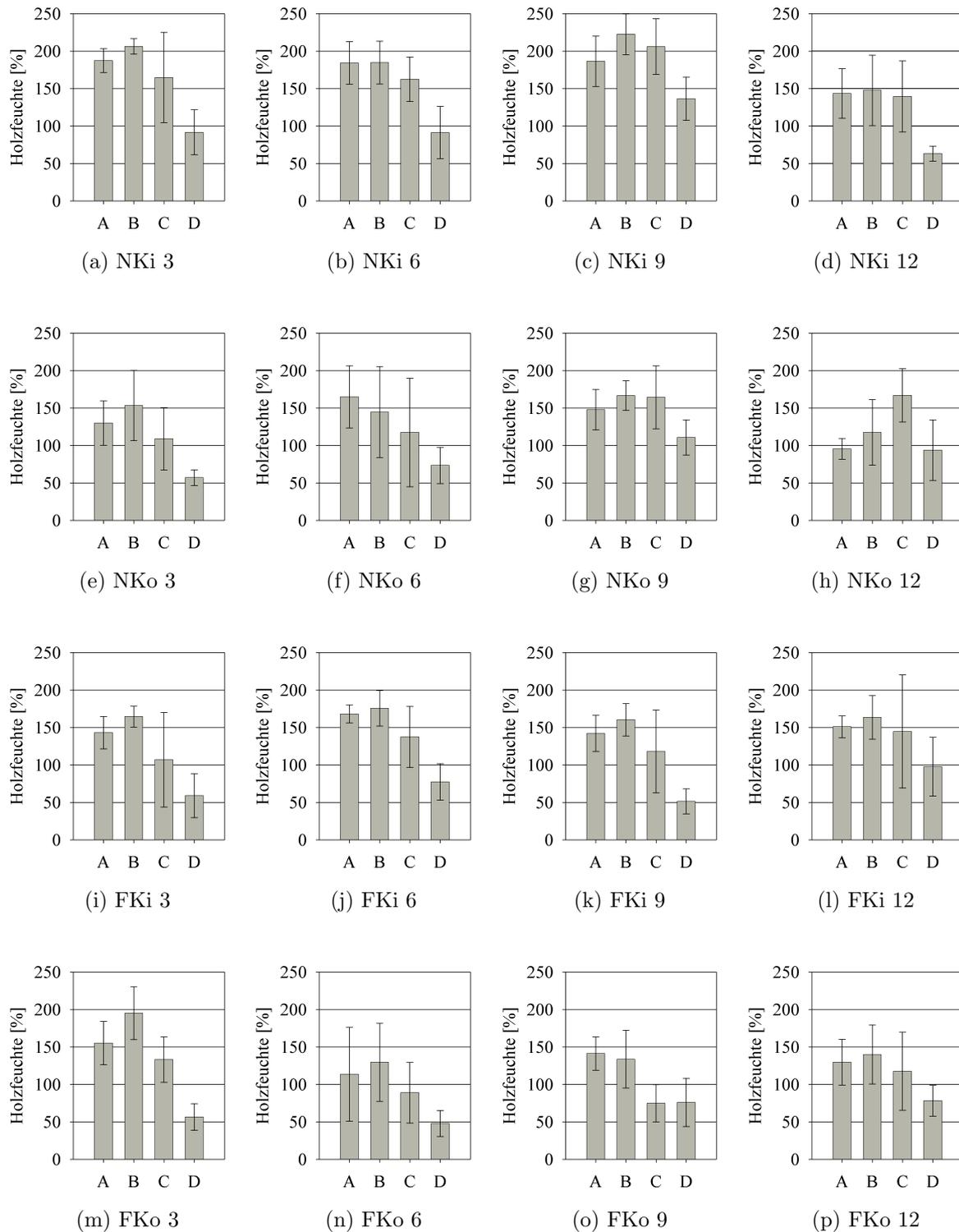


Abbildung 4.4: Holzfeuchteprofile vom äußersten (A) bis zum innersten (D) Stammbereich der Lagerungsvarianten NKi, NKo, FK i und FK o nach 3 – 12 Monaten Lagerung.

fe A von NKo 12 nur eine Holzfeuchte um 100 % auf. Danach stieg die Holzfeuchte bis zur Stufe C auf ≈ 160 % an und fiel zu D hin wieder ab. Dieses Profil ist ein Hinweis darauf, dass die Beregnung nicht ordnungsgemäß erfolgte und die äußeren Holzschichten von NKo 12 aufgrund ihrer exponierten Lage daher schnell austrockneten. Da NKi und NKo zusammen beregnet wurden, so dass die gleichen Bedingungen vorherrschten, bestätigt das Holzfeuchteprofil von NKi 12 die Schutzwirkung der Rinde gegen Austrocknung. Die Nasskonservierung im berindeten Zustand verfügt demnach über den Vorteil einer Art „Holzfeuchte-Pufferwirkung“ im Fall von reduzierter bzw. zeitweise völlig eingestellter Beregnung angesichts technischer Probleme oder ähnlicher Ursachen.

Als letzte Lagerungsvariante werden die Holzfeuchteprofile der Folienkonservierung in den Abbildungen 4.4i – 4.4p aufgeführt. Die Holzfeuchteprofile der Folienkonservierung mit Rinde unterschieden sich in unerheblichem Maße vom Profil des frischen Holzes (Abbildung 4.2). Abgesehen von tendenziell etwas niedrigeren Werten der Stufen A bis C sorgte das gasdichte und folglich von der äußeren Atmosphäre abgeschlossene System für eine gute Konservierung der Holzfeuchte. Ein ähnliches Bild ergaben die Holzfeuchteprofile von FKo, wobei die besonders niedrigen Werte von FKo 6 als Ausreißer bewertet wurden. Auch bei einer Mehrzahl der Holzfeuchteprofile der Folienkonservierung war die Profilstufe A durch eine niedrigere Holzfeuchte gegenüber der benachbarten Stufe B gekennzeichnet.

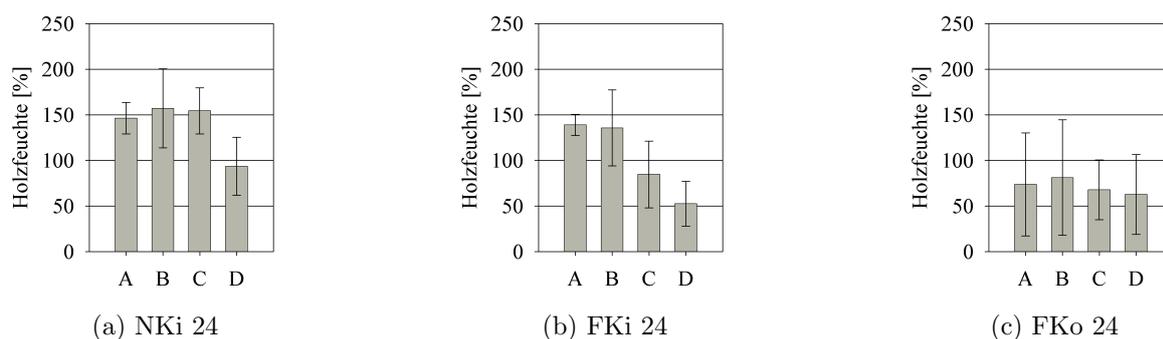


Abbildung 4.5: Holzfeuchteprofile der Lagerungsvarianten NKi, FKi und FKo nach 24 Monaten Lagerung. Die Profile reichen vom äußersten (A) bis zum innersten Bereich (D) der beprobten Stammscheiben.

Bei der Errichtung der NKi-, FKi- und FKo-Holzpolter wurde eine größere Anzahl Polter aufgebaut als bei einer gesamten Lagerungszeit von 12 Monaten für einen dreimonatigen Beprobungsrhythmus notwendig war. Diese Lagerungsvarianten konnten daher länger als 12 Monate gelagert werden. Nach insgesamt 24 Monaten Lagerung wurden auch diese Holzpolter beprobt. Die mittleren Holzfeuchten betrugen bei NKi 24 132 %, bei FKi 24 94 % und bei FKo 24 70 %. In Abbildung 4.5 sind die Holzfeuchteprofile von NKi 24, FKi 24 und FKo 24 aufgeführt. Die mittleren Holzfeuchten sowie die Holzfeuchteprofile von NKi 24 und FKi 24 zeigen, dass auch nach 24 Monaten bei beiden Lagerungsvarianten eine ausreichende Holzfeuchte gegeben war. FKo 24 zeichnete

sich dagegen durch eine deutlich niedrigere Holzfeuchte aus. FKo 24 und FK_i 24 entstammten demselben Paket und die Gasdichtigkeit dieses Paketes war dokumentiert und bestätigt worden (Mündliche Mitteilung, Maier, Juni 2008), so dass diese Einflußgröße ausgeschlossen werden konnte. Eine differenziertere Betrachtung der mittleren Holzfeuchte von FKo 24 zeigt, dass zwei Drittel der analysierten Stammscheiben eine Holzfeuchte zwischen 30 und 50 % aufwies und bei einem Drittel die Holzfeuchte zwischen 110 und 140 % betrug. Diese großen Unterschiede spiegeln sich in den hohen Standardabweichungen des Holzfeuchteprofils von FKo 24 (Abbildung 4.5c) wider. Das Ergebnis läßt die Vermutung zu, dass FKo-Holz im Allgemeinen eine höhere Variation der Holzfeuchte im Vergleich zu FK_i aufweist. Da allerdings innerhalb des gasdichten Pakets im Vergleich zur Umgebung wesentlich homogenere und konstantere Bedingungen sowie durchgehend eine sehr hohe relative Luftfeuchtigkeit vorherrschen (Maier, 2005), erscheint es wahrscheinlicher, die großen Unterschiede bei FKo 24, aber auch bei FKo 6 (Abbildung 4.4n), auf Vorgänge vor der Einlagerung zurückzuführen. Die Entrindung der Stämme, die auf der Freifläche eines Industriegeländes in Folie verpackt wurden, fand bereits im Wald statt. Daher lagen Entrindung und Folienverpackung durch den Transport sowie weiteren Verzögerungen zeitlich auseinander. Während dieser Zeit war eine Austrocknung von besonders exponierten Stämmen möglich, so dass die Stämme schon trocken eingelagert wurden. Die Vorgänge konnten im Nachhinein nicht mehr lückenlos aufgeklärt werden. Allerdings zeigt dieses Beispiel, dass insbesondere bei entrindeten Stämmen, welche durch Folienkonservierung gelagert werden sollen, für eine nahtlose Logistik gesorgt werden muss, um eine hohe Anfangsholzfeuchte garantieren zu können.

4.2 Freie Zucker und Stärke

4.2.1 Freie Zucker

Im Splintholz von *Picea abies* stellen die Monosaccharide Fructose und Glucose sowie das Disaccharid Saccharose die dominierenden freien, d. h. löslichen Zucker dar (Dietrichs, 1964; Höll, 1985; Puls und Rademacher, 1986; Höll, 2000). Zusätzlich können vor allem in der kalten Jahreszeit geringe Mengen des Trisaccharids Raffinose und des Tetrasaccharids Stachyose detektiert werden (Magel et al., 2000).

Tabelle 4.1 listet die Gehalte an freien Zuckern im Fichtensplintholz kurz nach der Holzernte sowie nach drei und sechs Monaten auf. Dabei werden die fünf genannten Saccharide als Summenwert angegeben.

Das frisch eingeschlagene Holz (FE_i) wies durchschnittlich 0,31 mg/g freie Zucker auf. Daher enthielt schon das Ausgangsholz sehr geringe Mengen der löslichen Saccharide. Bereits nach drei Monaten Lagerung hatte sich dieses Wertenniveau bei den meisten Lagerungsvarianten weiter verringert. Drei weitere Monate später wurden ähnliche Werte festgestellt. Nur die Proben der Lagerungsvariante Folienkonservierung in Rinde (NK_i) wiesen nach drei und sechs Monaten Lagerung Werte auf, die FE_i entsprachen. Gleichzeitig war NK_i aber durch eine große Standardabweichung gekennzeichnet, die starke Schwankungen innerhalb dieser Lagerungsvariante verdeutlicht. Die Tatsache, dass nach sechs Monaten zum Teil etwas höhere Werte als drei Monate zuvor bestimmt wurden,

Tabelle 4.1: Gehalte an freien Zuckern im Splintholz kurz nach der Holzernte (0 Monate) sowie nach drei und sechs Monaten Lagerung. Die eingeklammerten Werte sind die zugehörigen Standardabweichungen.

Lagerungsart	Lagerungsdauer in Monaten						
		0		3		6	
	[-]	[mg/g]		[mg/g]		[mg/g]	
UWi			0,12	(0,11)	0,07	(0,06)	
UFi			0,13	(0,14)	0,05	(<0,01)	
FAi			0,02	(0,04)	0,05	(<0,01)	
FAo			<0,01	(<0,01)	0,04	(<0,01)	
NKi		0,31	(0,25)	<0,01	(<0,01)	0,13	(0,07)
NKo			0,02	(0,04)	0,01	(<0,01)	
FKi			0,36	(0,53)	0,32	(0,23)	
FKo			0,03	(0,02)	0,01	(<0,01)	

basiert wahrscheinlich auf der allgemein vorherrschenden Inhomogenität zwischen den verschiedenen Stammabschnitten und Holzpoltern.

Die freien Zucker im Splintholz von Fichte sind generell durch eine hohe jahreszeitliche Abhängigkeit gekennzeichnet. Allgemein gesehen sind die Werte im Winter hoch und im Sommer niedrig (Ekman, 1979b; Höll, 1985). Die hohen Konzentrationen in den kalten Wintermonaten haben nach Puls und Rademacher (1986) sowie Magel et al. (2000) eine Frostschutzfunktion. Ekman (1979b) detektierte im Splintholz bis zu 5 mg/g freie Zucker. Höll (1985) bestimmte in den fünf äußersten Jahrringen Werte von bis zu 18 mg/g. Nach Puls und Rademacher (1986) enthielten die äußersten Jahrringe bis zu 50 mg/g freie Zucker, wobei die Werte mit zunehmender Entfernung vom Kambium sehr schnell abnahmen. Mit dem Übergang von der kalten zur wärmeren Jahreszeit, d. h. mit Beginn der Vegetationsperiode, verringert sich der Gehalt an freien Zuckern rapide. Ekman (1979b) stellte diese Abnahme im Monat Mai fest (0,6 mg/g), bei Höll (1985) wurde dies schon Ende März registriert (6,8 mg/g). Puls und Rademacher (1986) bestimmten für den Monat Mai im äußersten Jahrring nur noch Werte zwischen 1,7 und 3,5 mg/g.

Für die Lagerungsversuche wurde das Holz im April 2005 geerntet. Daher erfolgte der Holzeinschlag zu Beginn der Vegetationsperiode, was die geringen Gehalte an freien Zuckern in den neun äußeren Jahrringen erklärt. Zusätzliche Verluste sind eventuell auch während des Transports der Holzscheiben aufgetreten.

Die Verringerung der Gehalte an freien Zuckern während der Lagerung wurde bereits von Ekman und Hafizoğlu (1993) und Maier (2005) beschrieben. Dabei wurden am Anfang der Lagerung vor allem physiologische Vorgänge in den Parenchymzellen selbst, im Laufe der Lagerung aber auch die Aktivität von holzverfärbenden Pilzen und weiteren Mikroorganismen verantwortlich gemacht.

Maier (2005) stellte bei der Untersuchung der Folienkonservierung zum Teil ebenfalls höhere Werte im Vergleich zur ungeschützten Lagerung fest. Er führte dies auf die in der sauerstoffarmen Atmosphäre langsamer ablaufenden physiologischen Vorgänge sowie gleichzeitig langsamere Freisetzung von Glucose aus der Stärke zurück. Die höheren

Werte traten nur bei FK_i auf, nicht aber bei FK_o (Tabelle 4.1). Da bekannt ist, dass während der Lagerung phenolische Substanzen aus der Rinde ins Splintholz gelangen, könnten die sehr gut löslichen Zucker ebenfalls aus der Rinde in das Splintholz gelangen. Egger et al. (1996) stellten am Anfang der Vegetationsperiode in der Rinde von *Picea abies* 5 – 10fach höhere Gehalte an freien Zuckern und Stärke im Vergleich zum äußeren Splintholz fest. Im Zusammenspiel mit einer geringeren Umsetzung der Zucker würde dies die höheren Werte von FK_i im Vergleich zu FK_o erklären.

4.2.2 Stärke

Die Stärkegehalte der neun äußeren Jahrringe können Tabelle 4.2 entnommen werden. In dem frisch eingeschlagenen Holz (FE_i) wurden durchschnittlich 2,29 mg/g Stärke detektiert. Nach drei Monaten Lagerung war der Stärkegehalt auf Werte zwischen 0,37 und 0,61 mg/g reduziert. Die sechsmonatige Lagerung hatte keine weitere Verringerung der Stärkekonzentration im Holz zur Folge.

Tabelle 4.2: Stärkegehalte im Splintholz kurz nach der Holzernte (0 Monate) sowie nach drei und sechs Monaten Lagerung. Die eingeklammerten Werte sind die zugehörigen Standardabweichungen.

Lagerungsart	Lagerungsdauer in Monaten		
	0	3	6
[–]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]
UW _i		0,56 (0,15)	0,70 (0,14)
UF _i		0,61 (0,28)	0,75 (0,07)
FA _i		0,37 (0,05)	0,75 (0,17)
FA _o		0,45 (0,10)	0,61 (0,12)
NK _i	2,29 (1,90)	0,60 (<0,01)	0,42 (0,03)
NK _o		0,85 (0,07)	0,55 (0,09)
FK _i		0,40 (0,10)	0,53 (0,15)
FK _o		0,37 (0,06)	0,65 (0,08)

Die Stärkegehalte im Holz sind genauso wie die freien Zucker von der Jahreszeit abhängig. Im Vergleich zu den freien Zuckern zeigt die Vorratssubstanz Stärke aber ein eher gegensätzliches Verhalten. Höll (1985) wies im Wintermonat Februar 5,7 mg/g Stärke nach. Während der Gehalt an freien Zuckern abnahm, steigerte sich der Stärkegehalt bis Mitte April auf 12,3 mg/g. Dagegen detektierten Puls und Rademacher (1988) in den Wintermonaten nur etwa 1 mg/g Stärke. Im April war der Stärkegehalt auf 2 mg/g angestiegen und bis Mai steigerte sich der Wert auf 9 mg/g. Die ansteigenden Stärkegehalte im Splintholz werden mit der einsetzenden Photosyntheseaktivität zu Beginn der Vegetationsperiode in Verbindung gebracht (Höll, 2000). Im Gegensatz zu den löslichen Zuckern ist Stärke gleichmäßiger über das gesamte Splintholz verteilt, wobei in den äußeren Jahrringen die geringsten Werte gemessen werden (Puls und Rademacher, 1986).

Unter Einbezug des geringen Gehalts an freien Zuckern deutet der relativ niedrige Stärkewert von FEi darauf hin, dass die Holzernte im April 2005 zu einem Zeitpunkt erfolgte, an welchem der Gehalt an freien Zuckern bereits deutlich reduziert, der Stärkespeicher im Holz aber noch nicht vollständig aufgefüllt war. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse, dass es im Laufe der Lagerung zu einem Verlust an Stärke kam, wobei hierfür dieselben Vorgänge und Organismen wie für die Reduzierung des Gehalts an löslichen Zuckern verantwortlich waren, da Stärke ähnlich leicht abgebaut und im Stoffwechsel verbraucht wird. Zwischen den unterschiedlichen Lagerungsarten konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Stattdessen verdeutlichen die Ergebnisse die Inhomogenität der Einzelproben und der Bedingungen in den verschiedenen Holzpoltern.

Sowohl bei der Stärke als auch bei den freien Zuckern traten die größten Verluste bereits während der ersten drei Monate der Lagerung auf. Die weitere Lagerung hatte keine nennenswerte Veränderung der ohnehin schon sehr geringen Gehalte mehr zur Folge.

4.3 Lipophile Inhaltsstoffe

Die lipophilen Bestandteile des Fichtenholzes und der Holzschliffe wurden mit Petroläther aus den Proben extrahiert und anschließend per GC analysiert. Da die GC-Methode zur Stoffgruppenbestimmung an Petroläther-Extrakten während eines Aufenthalts an der Åbo Akademi University (Turku, Finnland) erlernt und später im Hamburger Labor eingeführt wurde, stammt ein Teil der Ergebnisse aus den Aktivitäten in Turku und ein Teil aus den Untersuchungen in Hamburg. Zusätzlich waren sowohl in Hamburg als auch in Turku ASE-Extraktionen durchgeführt worden. Vor den eigentlichen Ergebnissen zu den lipophilen Inhaltsstoffen werden daher die Ergebnisse der ASE-Vorversuche (Abschnitt 4.3.1) dargestellt sowie die Ergebnisse der ASE- und GC-Methoden in Turku und Hamburg miteinander verglichen (Abschnitt 4.3.3).

4.3.1 ASE-Vorversuche

Vor der Durchführung der eigentlichen Extraktionen wurden in Vorversuchen unterschiedliche Extraktionstemperaturen und eine verschiedene Anzahl von Zyklen untersucht. Die Anzahl der Zyklen ist bei der ASE ein Parameter, welcher angibt, wie oft das Extraktionsgut mit demselben Extraktionsmittel extrahiert wird, bevor die nächste Extraktionsstufe mit einem anderen Extraktionsmittel folgt. Als Probenmaterial diente hierbei frisches Holz (FEi), das gemäß dem in Abschnitt 3.5 beschriebenen Vorgehen vorbereitet wurde. Die Extrakte wurden hauptsächlich quantitativ analysiert, da die notwendigen Methoden zur Analyse der qualitativen Zusammensetzung zum Zeitpunkt der Vorversuche noch nicht verfügbar waren.

Der Petrolätherextrakt wurde auf 25 ml aufgefüllt. Zweimal 10 ml des Extrakts wurden entnommen, das Lösungsmittel verdampft, der Rückstand gravimetrisch bestimmt und der Gehalt an lipophilen Substanzen bezogen auf die Holzeinwaage (otro) berechnet.

Der Aceton/Wasser-Extrakt wurde auf 25 ml aufgefüllt. Der Gehalt an phenolischen Substanzen wurde mittels des Folin-Ciocalteu-Tests nach Singleton et al. (1999) be-

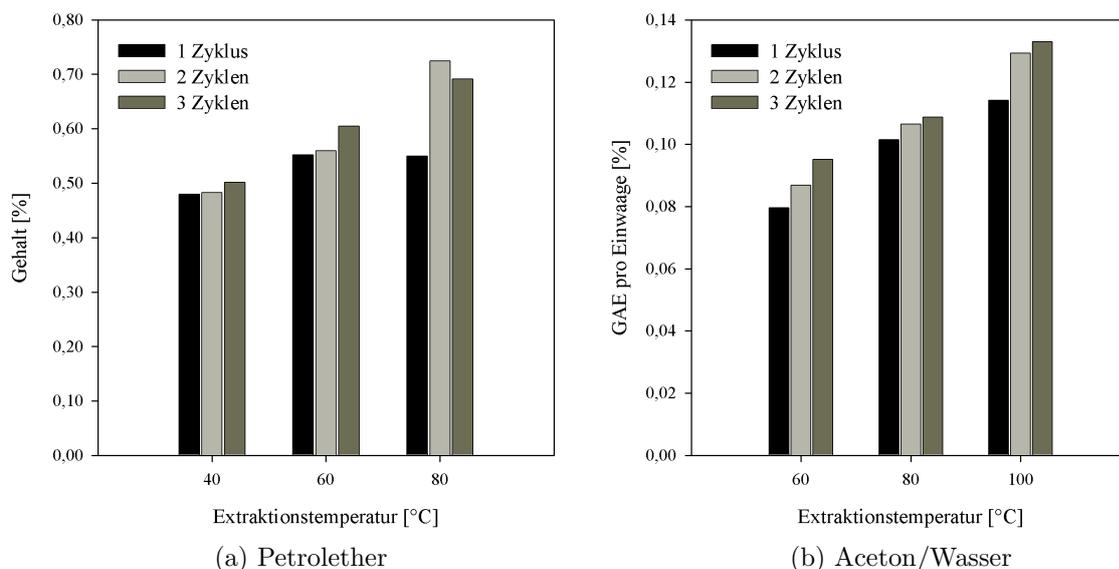


Abbildung 4.6: Extraktgehalt nach sukzessiver Extraktion bei Anwendung verschiedener Extraktionstemperaturen und unterschiedlicher Anzahl von Zyklen. Beim Petroletherextrakt (a) wurde der Gehalt gravimetrisch bestimmt und der Aceton/Wasser-Extrakt (b) wurde mit dem Folin-Ciocalteu-Test analysiert.

stimmt. Hierzu wurde 1 ml des Extrakts in einen 50 ml Messkolben überführt und mit 4 ml deionisiertem Wasser verdünnt. Danach wurden 25 ml des Folin-Ciocalteu-Reagenzes (Merck) zugegeben. Nach exakt 5 min wurde der Messkolben mit 20 ml Na_2CO_3 -Lösung (75 g/l) aufgefüllt. Die Reaktion erfolgte für 2 h bei 23°C im Wasserbad. Anschließend wurde die Probe bei 760 nm photometrisch gemessen (Spektrophotometer UVIKON 931, Kontron Instruments, Mailand). Neben der Messung von Blindproben wurde unter Verwendung von Gallussäure eine Eichgerade erstellt, so dass die Ergebnisse als Gallussäureeinheiten (GAE) bezogen auf die Holzeinwaage (otro) errechnet wurden.

Die Ergebnisse der ASE-Vorversuche sind in Abbildung 4.6 aufgeführt. Sowohl bei der Extraktion mit Petrolether als auch bei der nachgelagerten Extraktion mit Aceton/Wasser führten steigende Extraktionstemperaturen zu höheren Extraktgehalten. Des Weiteren wurde in fast allen Fällen festgestellt, dass schon ein Extraktionszyklus ausreicht, um einen Großteil der extrahierbaren Substanzen aus dem Holz zu gewinnen. Die Anwendung von zwei oder drei Zyklen hatte nur eine relativ geringe Steigerung der Gehalte zur Folge. Deshalb wurden zwei Zyklen als ausreichend angesehen.

Da zum Zeitpunkt der Vorversuche die Zusammensetzung der Extrakte nicht bestimmt werden konnte, bestand keine Möglichkeit zu prüfen, ob sich die Zusammensetzung der Extrakte in Abhängigkeit der beiden Parameter Extraktionstemperatur und Anzahl der Zyklen ändert. Thurbide und Hughes (2000) führten die höhere Ausbeute der ASE-Extraktion bei 100°C zum Teil auf einen höheren Anteil an Ligninbruchstücken zurück, die während der Extraktion herausgelöst werden. Daher wurden relativ milde Tempera-

turen gewählt, um sicher zu gehen, dass die Extraktstoffe nicht während der Extraktion verändert werden. Auch Koch et al. (2003a) und Mayer et al. (2006) wählten Temperaturen deutlich unter 100°C, um die Extraktstoffe so schonend wie möglich, aber gleichzeitig so effektiv wie möglich zu extrahieren.

4.3.2 Einführung der GC-Stoffgruppenbestimmung in Hamburg

Die GC-Methode zur Stoffgruppenbestimmung basiert hauptsächlich auf den Arbeiten von Örsa und Holmbom (1994), Holmbom (1999b) und Willför et al. (2003a) und ist speziell an die Holzart Fichte angepasst. Bei dieser Methode liegt der Schwerpunkt nicht auf einer guten Trennung von Einzelsubstanzen, sondern auf der Analyse des gesamten Extrakts mittels eines Durchgangs, ohne dass eine vorausgehende Komponententrennung nötig ist. Hierbei können für die einzelnen Extraktstoffe, wie etwa freie Fettsäuren, Harzsäuren, Sterylester und Triglyceride Stoffgruppen-Summenwerte gebildet werden. Da mittels eines Analysedurchgangs die wichtigsten Daten erhoben werden können, ermöglicht diese Methode die Analyse einer großen Anzahl von Proben. Die Methode zur Stoffgruppenbestimmung ist sowohl für lipophile, als auch für phenolische Fichtenholzextrakte geeignet.

Die On-Column GC-Methode auf einer kurzen GC-Säule ist eine in Turku entwickelte und fest etablierte Methode. Nach dem Kurzaufenthalt in Turku galt es, diese Methode auf einem in Hamburg vorhandenen Gaschromatographen umzusetzen. Dabei wurden eine kurze Kapillarsäule mit geringer Filmdicke der stationären Phase sowie ein Gaschromatograph ausgewählt, dessen Injektor mit einem Temperaturgradienten betrieben werden kann. Besonders bei Substanzen mit hohem Siedepunkt, wie etwa Triglyceriden oder Sterylestern, werden diese Voraussetzungen als notwendig angesehen, um eine quantitative Analyse dieser Substanzen zu ermöglichen (Mareš und Husěk, 1985; Sitholé et al., 1992; Örsa und Holmbom, 1994; Gutiérrez et al., 1998).

Zunächst wurde eine einfache splitlose Einspritzung praktiziert, da das System für eine On-Column-Aufgabe nicht ausgerüstet war. Während die Ergebnisse im Bereich der Fett- und Harzsäuren gut mit den in Turku durchgeführten Analysen vergleichbar waren, trat im Bereich der höher siedenden Fraktionen, wie Sterylester und Triglyceride, eine deutliche Massendiskriminierung auf (Abbildung 4.7b). Variationen des Injektorprogramms, des Ofenprogramms sowie der Flussrate hatten nur geringe Veränderungen zur Folge. Erst die Umrüstung des Gaschromatographen und der Kapillarsäule auf On-Column-Aufgabe führte zu einer deutlichen Verminderung der Massendiskriminierung (Abbildung 4.7c) und somit zu einer besseren Übereinstimmung mit der in Turku etablierten Methode (Abbildung 4.7a). Die Untersuchungen bestätigen die Angaben von Mareš und Husěk (1985), die einen Großteil der Massendiskriminierung bei der Analyse von Triglyceriden auf Verluste während der Einspritzung zurückführten und daher der On-Column-Aufgabe den Vorzug gaben.

4 Ergebnisse und Diskussion

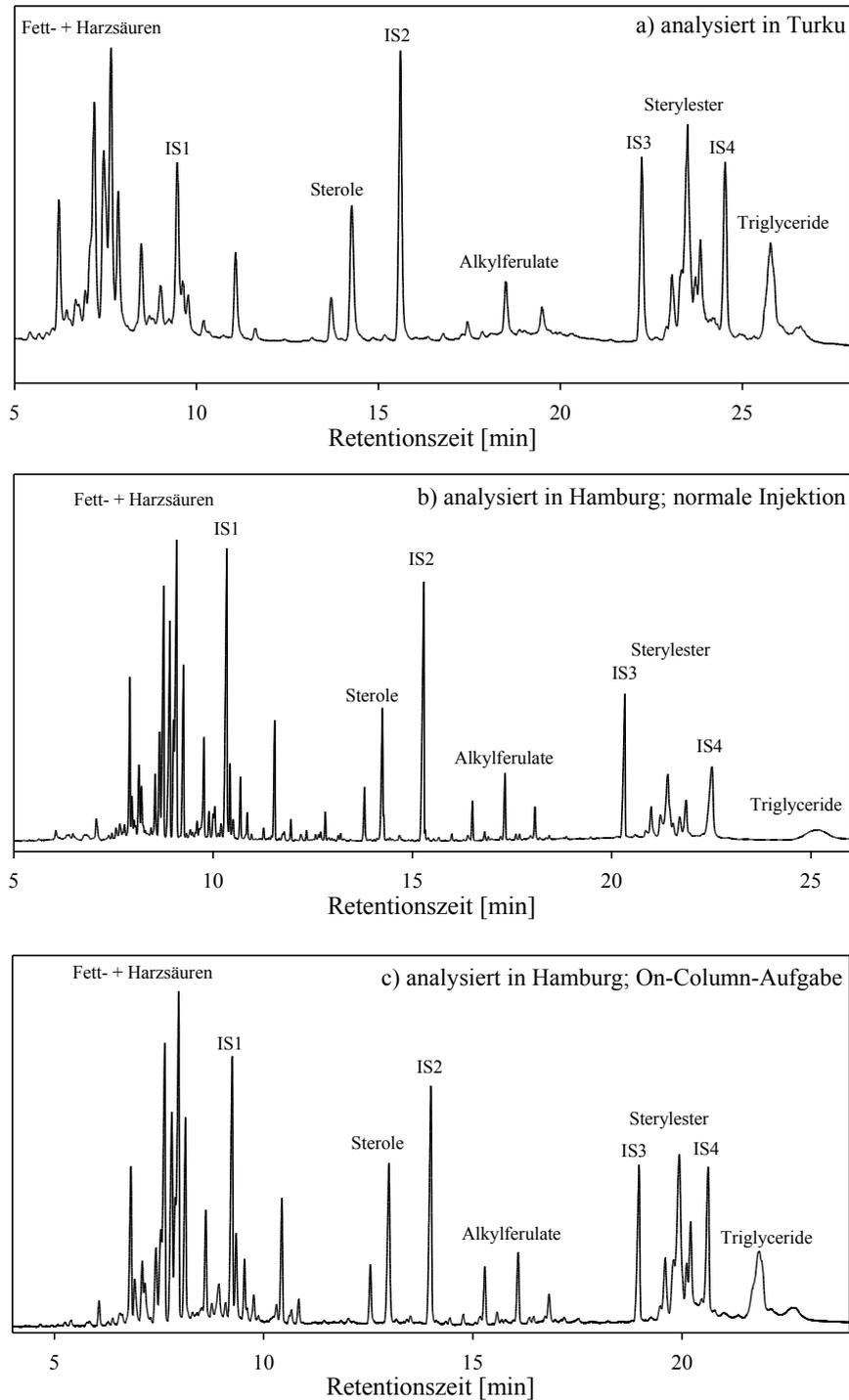


Abbildung 4.7: Chromatogramme der Petroetherfraktion der Probe NKi 9/3-2 Kern nach Stoffgruppenbestimmung mittels GC. Die Probe wurde in Turku (a) und in Hamburg mit normaler splitloser Injektion (b) sowie mit On-Column-Aufgabe (c) analysiert. Angegeben sind neben den wichtigsten Stoffgruppen auch die internen Standards (IS1 – IS4), welche Abschnitt 3.6.1 entnommen werden können.

4.3.3 Methodenvergleich: ASE und GC in Turku und Hamburg

Zunächst wurden einige Proben per GC in Turku analysiert, deren Extraktion in Hamburg und auch in Turku erfolgt war. Aus Tabelle 4.3 können die Gesamtgehalte der beiden Extraktionen entnommen werden, welche in Turku mittels GC-Stoffgruppen-Bestimmung ermittelt wurden. Die relativen Abweichungen lagen für die hier vorgestellten Proben etwa zwischen 2 und 8 %. Die absoluten Abweichungen schwankten dagegen nur zwischen 0,12 und 0,16 mg/g. Als Grund für die Unterschiede wird nicht die Extraktion selbst, sondern vielmehr geringfügige Abweichungen bei der nachfolgenden GC-Analyse verantwortlich gemacht. Die Chromatogramme in Abbildung 4.7 verdeutlichen die Sensibilität der GC-Methode bezüglich der Festlegung der Basislinie. Geringfügige Abweichungen können hierbei schon zu relativ großen Änderungen der Peakflächen und somit der Gehalte führen. Angesichts dieser Tatsache weisen die Doppelbestimmungen in Tabelle 4.3 eine gute Übereinstimmung auf.

Tabelle 4.3: Gesamtgehalte einzelner Proben an lipophilen Stoffgruppen nach Extraktion in Hamburg und in Turku. Alle Werte wurden im Zuge der GC-Stoffgruppen-Bestimmung während des Aufenthalts in Turku bestimmt.

Probe	Gesamtgehalt		Differenz
	Extraktion Hamburg	Extraktion Turku	
[–]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]
FEi 19/2 Kernholz	2,92	2,78	0,14
FAi 3/1-2 Kernholz	3,85	3,72	0,13
UWi 3/3-2 Kernholz	4,95	4,83	0,12
FKi 3/2-2 Splintholz	5,30	5,44	0,14
UWi 6/1-1 Splintholz	4,95	4,83	0,12
FKi 6 Holzschliff Nr. 118	1,91	2,07	0,16

Tabelle 4.4: Gesamtgehalte einzelner Proben an lipophilen Stoffgruppen nach Extraktion in Turku. Die Extrakte wurden in Turku sowie in Hamburg analysiert.

Probe	Gesamtgehalt		Differenz
	GC-Analyse Turku	GC-Analyse Hamburg	
[–]	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]
FEi 19/2 Kernholz	2,78	2,49	0,29
UFi 3/1-2 Kernholz	0,90	0,96	0,06
UFi 9/1-2 Splintholz	0,43	0,47	0,03
FEi 19/2 Splintholz	4,07	3,57	0,51

Des Weiteren wurden die Stoffgruppen einiger in Turku gewonnener Extrakte mit dem GC-System in Turku sowie mit dem GC-System im Hamburger Labor bestimmt. Die Ergebnisse der Analysen einiger Einzelproben sind in Tabelle 4.4 zusammengestellt. Im Gegensatz zu den Proben, welche an unterschiedlichen Orten extrahiert, aber auf

demselben GC-System analysiert wurden, waren die Analyseergebnisse von identischen Proben, die auf verschiedenen GC-Systemen untersucht wurden, mit 7 – 12 % durch deutlich höhere Differenzen gekennzeichnet. Die absoluten Abweichungen zwischen 0,03 und 0,51 mg/g weisen darauf hin, dass auch die zum Einsatz gekommenen technischen GC-Komponenten, neben der bereits angesprochenen Festlegung der Basislinie, die Ergebnisse beeinflussen können. Zumindest bei der Probe FEi 19/2 Kernholz kann die Differenz hauptsächlich auf die Stoffgruppe Sterylester zurückgeführt werden. Der in Turku bestimmte Gehalt an Sterylestern lag deutlich über dem in Hamburg ermittelten Wert (Daten nicht aufgeführt). Eine nachträgliche Überprüfung der Basislinie des „Turku-Chromatogramms“ war aufgrund des Einsatzes verschiedener Software nicht möglich.

Trotz der aufgezeigten Unterschiede der Analyseergebnisse in Abhängigkeit vom verwendeten GC-System, können die Ergebnisse miteinander verglichen werden. Die natürliche Variabilität lag deutlich höher als die ermittelten Differenzwerte. Des Weiteren wurde die Mehrzahl der Proben in Hamburg untersucht. Zusätzlich wurden die in Turku analysierten Proben weitestgehend durch Proben mit den gleichen Eigenschaften wie übereinstimmender Lagerungsart und Lagerungsdauer ergänzt, um eine breitere Datenbasis zu schaffen und Unterschiede auszugleichen.

4.3.4 Darstellung der Ergebnissen als Box-Plot

Für die aussagekräftige Wiedergabe der Ergebnisse der chromatographischen Untersuchungen der Petrolether- und Aceton/Wasser-Extrakte wurde die Darstellungsform der Box-Plots, die auch Box-Whisker-Plots genannt werden, ausgewählt. Mittels Box-Plots lassen sich wichtige statistische Kennwerte in einer einzigen Abbildung zusammenfassen (Otto, 1997).

Die einzelnen Kennwerte werden anhand der Beispielabbildung 4.8 erläutert. Tabelle 4.5 listet die zugehörigen verwendeten Werte für die Box-Plot-Erstellung auf. Alle Box-Plots wurden mit SigmaPlot (Version 9.01, Systat Software) erstellt. Die Gemeinsamkeit aller Box-Plots besteht in der aufsteigenden Sortierung der Werte und anschließender Festlegung der Kennwerte.

Beispiel A (Abbildung 4.8) zeigt einen Box-Plot mit symmetrischem Charakter. Der Median (1) teilt die sortierten Daten genau in der „Mitte“, 50 % der Werte liegen überhalb und 50 % der Werte liegen unterhalb des Medians. Der Box-Plot ist vom unteren Quartil (2) und vom oberen Quartil (3) begrenzt. Dies bedeutet, dass (2) die 25/75- und (3) die 75/25-Grenze bildet. Nach dieser Leseart kann der Median, welcher die 50/50-Grenze darstellt, auch als mittleres Quartil bezeichnet werden. Zusätzlich entspricht das untere Quartil dem 25. Perzentil, der Median dem 50. Perzentil und das obere Quartil dem 75. Perzentil. Des Weiteren enthält das Beispiel A noch die beiden Whisker (4) und (5), welche das 10. und 90. Perzentil, d. h. die 10/90- und die 90/10-Grenze anzeigen. Somit stellt ein Box-Plot mindestens 80 % aller Werte und deren Verteilung dar.

Der Box-Plot in Beispiel B zeigt im Vergleich zu A eine ungleichmäßige Verteilung der Werte. Neben den bereits in Beispiel A besprochenen Kennwerten, weist Box-Plot B noch wahrscheinliche Ausreißerwerte (6) auf, welche in der vorliegenden Arbeit immer als „●“ dargestellt werden. Ausreißerwerte sind in diesem Fall alle Werte, welche unter

Tabelle 4.5: Werte für die beispielhaft in Abbildung 4.8 dargestellten Box-Plots.

Nr.	[–]	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
A	[–]	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9
B	[–]	0	1	1	2	2	2	3	3	4	4	5	5	5	7	15	
C	[–]	2	3	4	5	7	8	12									
D	[–]	5	5	5	5	6	6	6	6	7	7	7	7	7			

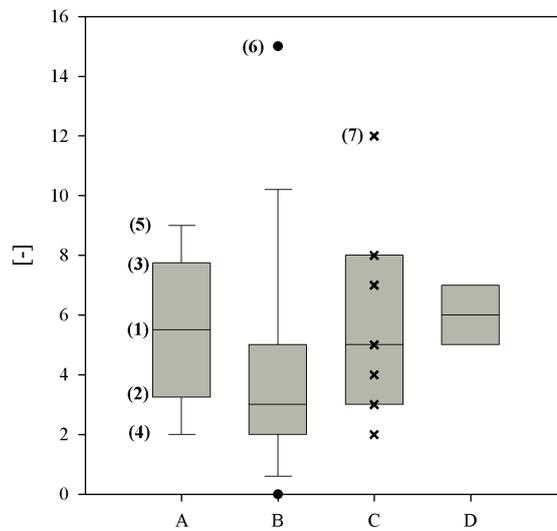


Abbildung 4.8: Beispiele für die Darstellung von Daten (siehe Tabelle 4.5) mittels Box-Plots. Die einzelnen beschrifteten Komponenten der Box-Plots werden im Text (Abschnitt 4.3.4) kommentiert.

dem 10. Perzentil bzw. über dem 90. Perzentil angesiedelt sind.

In Beispiel C fehlen dagegen der obere und der untere Whisker. Wie Tabelle 4.5 zeigt, besteht C nur aus sieben Datenpunkten. SigmaPlot benötigt jedoch mindestens neun Datenpunkte, um das 10. und 90. Perzentil berechnen zu können. Um überhaupt einen Box-Plot erstellen zu können, sind mindestens drei Datenpunkte notwendig. Zur Kompensation der fehlenden Information durch die Whisker wurden in der vorliegenden Arbeit bei Box-Plots mit weniger als neun Datenpunkten immer auch alle Einzelwerte (7) mit aufgeführt. Durchgängig wurde hierbei „x“ als Zeichen für jeden einzelnen Datenpunkt eingesetzt.

Eine Besonderheit stellt Box-Plot D dar. Da insgesamt nur drei unterschiedliche Werte (siehe Tabelle 4.5) vorkommen, können keine Whisker angezeigt werden, obwohl mehr als neun Datenpunkte vorhanden sind. Der hier beschriebene theoretische Fall dürfte in der Praxis nur sehr selten vorkommen.

Die vorgestellten Beispiele zeigen, dass ein Box-Plot eine aussagekräftige Darstellungsform für Daten ist. Durch die Abgrenzungswerte wie unteres und oberes Quartil, die beiden Whisker sowie den Median, ist eine schnell zu erfassende Abbildung der Werteverteilung möglich. Dies erlaubt den Vergleich mehrerer Datenreihen, deren Box-Plots mögliche Überschneidungen bzw. Abweichungen der Daten aufzeigen. In der vorliegenden Arbeit wird hierbei auf die zusätzliche Darstellung des arithmetischen Mittelwerts innerhalb der Box-Plots verzichtet, um den Vorteil ihrer Übersichtlichkeit zu erhalten.

4.3.5 Identifizierung von Einzelsubstanzen und Stoffgruppen

Die mittels Petrolether extrahierten lipophilen Einzelsubstanzen wurden durch GC-MS/MS-Analysen während des Aufenthalts im Laboratory of Wood and Paper Chemistry an der Åbo Akademi University in Turku (Finnland) identifiziert. Wie bereits in Abschnitt 3.6.2 begründet, werden die Fragmentierungsmuster der lipophilen Einzelsubstanzen der GC-MS/MS-Untersuchungen in dieser Arbeit nicht mit aufgeführt.

Hierbei wurden Substanzen der Stoffgruppen freie Fettsäuren, Triglyceride, Harzsäuren, Sterylester, Sterole, Alkylferulate, langkettige Alkohole sowie weitere terpenoide Substanzen festgestellt. Flüchtige lipophile Substanzen, wie etwa Monoterpene, die Bestandteile des Baumharzes sind, wurden nicht in die Untersuchungen einbezogen.

Die identifizierten freien Fettsäuren sind in Tabelle 4.6 mit ihren Trivialnamen und den verwendeten Abkürzungen aufgelistet. Die quantitativ wichtigsten Fettsäuren waren, wie bereits mehrfach in der Literatur aufgeführt, die C18- und die C16-Säuren, wobei die ungesättigten C18-Säuren überwogen (Assarsson und Åkerlund, 1966; Rogers, 1967; Ekman, 1979a; Willför et al., 2003a). In der Stoffgruppenbestimmung mittels GC wurden daher auch die C16- und C18-Säuren zu der Stoffgruppe der Fettsäuren zusammengefasst. Zusätzlich wurden während der Stoffgruppenbestimmung auch die Säuren C22:0 und C24:0 bestimmt sowie ihre Gehalte in der Stoffgruppe der „längerkettigen Fettsäuren“ zusammengefasst.

Die Stoffgruppe der Triglyceride konnte aufgrund des hohen Siedepunktes nicht mittels GC-MS/MS analysiert werden. Daher sind über die Zusammensetzung der veresterten Fettsäuren in den Triglyceriden durch eigene Untersuchungen keine Informationen ver-

Tabelle 4.6: Wissenschaftliche Bezeichnungen, Trivialnamen und Abkürzungen der wichtigsten in Holz und Holzschliff detektierten freien Fettsäuren.

Wissenschaftlicher Name	Trivialname	Abkürzung
Tetradecansäure	Myristinsäure	C14:0
Pentadecansäure	–	C15:0
9-Hexadecansäure	Palmitoleinsäure	C16:1
Hexadecansäure	Palmitinsäure	C16:0
Methylhexadecansäure	Methylpalmitinsäure	C17:0
9,12,15-Octadecatriensäure	Linolensäure	C18:3
9,12-Octadecadiensäure	Linolsäure	C18:2
9-Octadecensäure	Ölsäure	C18:1
Octadecansäure	Stearinsäure	C18:0
Eicosansäure	Arachinsäure	C20:0
Docosansäure	Behensäure	C22:0
Tetracosansäure	Lignocerinsäure	C24:0

füßbar. Assarsson und Åkerlund (1966), Ekman (1979a) sowie Willför et al. (2003a) beschrieben jedoch, dass die Triglyceride in *Picea abies* als Fettsäuren hauptsächlich ungesättigte C18-Säuren enthalten. Da ein Großteil der freien Fettsäuren im Holz aus der Hydrolyse von Triglyceriden hervorgeht und bei den detektierten freien Fettsäuren die ungesättigten C18-Fettsäuren überwogen, ist es sehr wahrscheinlich, dass auch die Triglyceride der analysierten Holz- und Schliffproben hauptsächlich ungesättigte C18-Säuren aufwiesen. Bei der Stoffgruppenbestimmung wurde die Retentionszeit der Triglyceride mit C18-Fettsäuren mittels Standardsubstanzen (Tabelle 3.3) bestätigt. Das Triglycerid Tripalmitin, das drei veresterte C16:0-Säuren enthält, wies dabei eine deutlich geringere Retentionszeit im Vergleich zu den C18-Triglyceriden auf und überschritt sich mit der Stoffgruppe der Sterylester (vergleiche Abbildung 4.7). Da in der Literatur keine Hinweise für das Vorkommen dieses Triglycerids in Fichtenholz vorhanden sind, stellt diese mögliche Überschneidung allerdings kein Problem dar.

Übereinstimmend mit den Literaturangaben wurden bei den freien Sterolen mittels GC-MS/MS hauptsächlich Sitosterol und Campesterol identifiziert. Die beiden Substanzen konnten als die Stoffgruppe der Sterole bei der GC-Stoffgruppenbestimmung quantitativ erfasst werden. Neben den freien Sterolen wurden auch Sterylester festgestellt. Die Sterole sind hierbei mit Fettsäuren verestert. Im Gegensatz zu den Triglyceriden gelang bei der Stoffgruppe der Sterylester die GC-MS/MS-Analyse. Allerdings wurde nur ein Petroletherextrakt (FAi 3/1-2 Kernholz) auf seine Sterylesterzusammensetzung untersucht. Dieser Extrakt wies Campesterylester (mit C18:2), mehrere Sitosterylester (mit C18:1, C18:2 und C18:3), Cycloartenylester (mit C18:2) und zwei Methylen-Cycloartenylester (mit C18:2 und C18:3) auf. Hierbei wiesen die Sterylester mit Linolsäure (C18:2) jeweils die höchsten Peakflächen auf. Auch Ekman (1979a) und Willför et al. (2003a) stellten in Fichtenholz hauptsächlich Sterylester fest, welche ungesättigte C18-Fettsäuren mit Linolsäure als größte Fraktion enthielten. Die Stoffgruppe der Sterylester konnte ebenfalls

mit der GC-Stoffgruppenbestimmung quantitativ erfasst werden. Zusätzlich zu den freien Sterolen und den Sterylestern deuten die GC-MS/MS-Daten der Petroletherextrakte darauf hin, dass aus *Picea abies* auch die Substanz Sitosterolglucopyranosid extrahiert werden konnte. Über das Vorkommen dieses Sterolderivats in Fichte wurden in der Literatur keine Aufzeichnungen gefunden. Dagegen wurde Sitosterolglucopyranosid bereits im Holz von Eukalyptus (Gutiérrez und del Rio, 2001; Freire et al., 2004), Weißeiche (Braus et al., 1957), Birke (Seshadri und Vedantham, 1971) und Kiefer (Saranpää und Höll, 1987) festgestellt.

Die GC-MS/MS-Untersuchungen der Petroletherextrakte führte zur Identifizierung der Harzsäuren (tricyclische Diterpensäuren) Abietinsäure, Dehydroabietinsäure, Neoabietinsäure, Palustrinsäure, Pimarsäure, Isopimarsäure und Sandarackpimarsäure. Die aufgeführten Harzsäuren waren typisch für das Holz von *Picea abies* (Rogers, 1967; Ekman, 1979a; Willför et al., 2003a; Hovelstad et al., 2006). Die Autoren berichteten jedoch, dass auch die Harzsäure Levopimarsäure in deutlichen Anteilen im Fichtenholz vorkommt. Dabei zeigten Ekman (1979a) und Hovelstad et al. (2006), dass Levopimarsäure und Dehydroabietinsäure die höchsten Anteile im Fichtenholz aufweisen. Des Weiteren demonstrierte Ekman (1979b), dass in radialer Richtung vom äußersten Splint bis zum innersten Kernholz der Levopimarsäuregehalt ab und gleichzeitig der Dehydroabietinsäuregehalt zunahm. Zinkel (1975) stellte die Bildung von Dehydroabietinsäure bei gleichzeitigem Verlust anderer Harzsäuren während der Lagerung von Kieferhackschnitzeln fest. In beiden Fällen führten die Autoren an, dass Levopimarsäure zu Dehydroabietinsäure umgewandelt worden war. Außerdem überlappten bei Zinkel (1975) und Holmbom (1977) Levopimarsäure und Palustrinsäure bei der GC-Analyse. Willför et al. (2003a) und Hovelstad et al. (2006) sprachen dieses Problem dagegen nicht an, so dass die neueren Materialien der GC-Säulen diese Trennungsprobleme beseitigt zu haben scheinen. Da Dehydroabietinsäure in den eigenen Untersuchungen mit Abstand den höchsten Anteil an den Harzsäuren hatte und mit aktuellen Säulenmaterialien gearbeitet wurde, ist es am wahrscheinlichsten, dass der Großteil der Levopimarsäure in Dehydroabietinsäure umgewandelt wurde.

Ältere Publikationen verweisen immer auf das Vorkommen von Wachsen¹⁾ im Fichtenholz (Assarsson und Åkerlund, 1966; Rogers, 1967; Kimland und Torbjörn, 1972). In den Untersuchungen von Ekman (1979a) und Willför et al. (2003a) spielte diese Stoffgruppe dagegen keine Rolle mehr. Auch in den GC-MS/MS-Untersuchungen wurden keine Wachse detektiert. Stattdessen konnte im Zuge der Analyse der Sterylester im Petroletherextrakt der Probe FAi 3/1-2 Kernholz die Stoffgruppe der Alkylferulate identifiziert werden. Alkylferulate sind Moleküle, bei denen langkettige Alkohole mit Ferulasäure verestert sind. Die GC-MS/MS-Daten deuten auf das Vorkommen von Eicosanyl- (C20), Henicosanyl- (C21), Docosanyl- (C22), Tricosanyl- (C23), Tetracosanyl- (C24) und Nonacosanylferulat (C29) hin. Übereinstimmend mit den Literaturangaben dominierten die Ferulate mit den C22- und C24-Alkoholen (Ekman, 1979a; Ekman und Sjöholm, 1979). Bei der Stoffgruppenbestimmung wurden die Alkylferulate als eigene Stoffgruppen untersucht. Zusätzlich zu den Alkylferulaten wurden auch die freien C22- und C24-Alkohole

¹⁾ Ester aus langkettigen Fettsäuren und langkettigen Alkoholen

detektiert und als Stoffgruppe der langkettigen Alkohole quantifiziert.

Neben den Harzsäuren, die eine der quantitativ wichtigsten Stoffgruppe der lipophilen Inhaltsstoffe von *Picea abies* darstellt, wurden noch weitere terpenoide Substanzen bei den GC-MS/MS-Analysen identifiziert. So wurden *cis*-Abienol, Thunbergol, Neobienol, Palustrol und Isopimarol als Vertreter der Diterpenalkohole festgestellt. Übereinstimmend mit Kimland und Torbjörn (1972) und Ekman (1979a) wiesen *cis*-Abienol und Thunbergol die höchsten Gehalte auf. Zusätzlich zeigte Ekman (1979b), dass der Thunbergol-Gehalt in radialer Richtung vom äußersten Splint in Richtung Mark abnahm und gleichzeitig der *cis*-Abienol-Gehalt zulegte. Des Weiteren wurde das Diterpenaldehyd Isopimaral detektiert. Auch das in der Pflanzenwelt allgegenwärtige acyclische Triterpen Squalen konnte identifiziert werden. Die hier aufgeführten terpenoiden Substanzen, welche durchgängig in sehr geringen Mengen vorkamen, wurden bei der GC-Stoffgruppenbestimmung nicht quantitativ erfasst.

4.3.6 Abhängigkeit des Gehalts an lipophilen Inhaltsstoffen von der Probenart

Neben der hauptsächlich qualitativen Betrachtung der mit Petrolether extrahierten lipophilen Inhaltsstoffe aus Holz und Holzschliff sowie ihrer Einteilung in die verschiedenen Stoffgruppen (Abschnitt 4.3.5), konnten die lipophilen Substanzen unter Anwendung der GC-Stoffgruppenbestimmung quantitativ erfasst werden. Abbildung 4.9 stellt die Gesamtgehalte an lipophilen Extraktstoffen der verschiedenen Probenarten einander gegenüber.

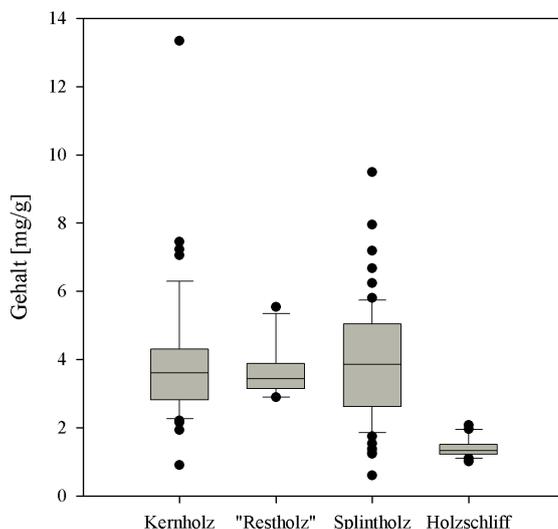


Abbildung 4.9: Gesamtgehalte der verschiedenen Proben an lipophilen Inhaltsstoffen.

Die Abbildung verdeutlicht, dass der Gesamtgehalt an lipophilen Inhaltsstoffen in den unterschiedlichen radialen Holzabschnitten in weiten Bereichen übereinstimmte. Kernholz, Splintholz und das dazwischen liegende Holz der Übergangszone („Restholz“) wie-

sen dasselbe Wertenniveau auf, wobei die Streuung der Werte beim Splintholz am Stärksten ausfiel. Aus dem Holzschliff konnten dagegen nur wesentlich geringere Mengen an lipophilen Extraktstoffen extrahiert werden.

Assarsson und Åkerlund (1966) extrahierten das Holz von *Picea abies* mit Petroläther und erhielten 10,4 mg/g lipophile Substanzen. Für das Holz der Fichte ermittelten Kimland und Torbjörn (1972) für etherlösliche Substanzen nach gravimetrischer Bestimmung Werte zwischen 8 und 15 mg/g. Kubel et al. (1988) bestimmten dagegen 6 mg/g. Ekman (1979a) analysierte Splint- und Kernholz getrennt voneinander und erhielt mit 10 – 11 mg/g im Splintholz höhere Werte als im Kernholz (6 – 7 mg/g). Auf eine derartig genau definierte Unterscheidung zwischen Splint- und Kernholz bezüglich des Gesamtgehalts an lipophilen Substanzen konnten Willför et al. (2003a) aus ihren Untersuchungsergebnissen nicht schließen. Die Angaben der Autoren reichten beim Kernholz von 4,9 bis 11,3 mg/g und im Splintholz wiesen sie zwischen 7,7 und 17,6 mg/g lipophile Substanzen nach. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden für das Kernholz Werte zwischen 2,8 mg/g (25. Perzentil) und 4,3 mg/g (75. Perzentil) ermittelt. Das Splintholz enthielt dagegen bei Berücksichtigung derselben statistischen Kennwerte zwischen 2,6 und 5,1 mg/g und wies hiermit eine leicht erhöhte Schwankungsbreite auf.

Insgesamt fällt auf, dass die Werte eher unter den Literaturwerten angesiedelt sind. Dies könnte an den unterschiedlichen Bestimmungsmethoden liegen. So ergeben gravimetrische Extraktbestimmungen im Vergleich zu chromatographischen Extraktermittlungen häufig etwas höhere Werte. Der mögliche Einfluss des Einschlagzeitpunktes kann ausgeschlossen werden, da Ekman (1979b) im Gegensatz zu den freien Zuckern keine jahreszeitliche Abhängigkeit der lipophilen Inhaltsstoffe im Holz feststellte. Auch die geographische Herkunft des Holzes (Schwarzwald) im Vergleich zu dem in der Literatur verwendeten Holz (Skandinavien) ist wahrscheinlich nicht für die geringen Werte verantwortlich. In diesem Zusammenhang konnte Uçar (2005) zwischen Bäumen von *Picea orientalis* keine deutlichen Unterschiede feststellen, obwohl die Bäume 1000 km in Ost-West-Ausdehnung voneinander entfernt wuchsen, und daher unterschiedliche klimatische Standortbedingungen vorherrschten. Dagegen detektierten Piispanen und Saranpää (2002) bei der Analyse von Kiefernholz (*Pinus sylvestris*) sowohl zwischen einzelnen Bäumen eines Standortes als auch zwischen verschiedenen Standorten mit 16 – 51 mg/g deutliche Unterschiede im Triglyceridgehalt.

Assarsson und Åkerlund (1966), Ekman (1979a) und Willför et al. (2003a) wiesen zudem die Gemeinsamkeit auf, dass die frisch gefällten Fichtenstämme innerhalb weniger Stunden analysiert oder für spätere Untersuchungen eingefroren wurden. Die Box-Plots in Abbildung 4.9 basierten dagegen überwiegend auf den Daten von gelagertem Holz, so dass die Lagerung für die geringeren Werte verantwortlich sein könnte. In diesem Zusammenhang ist bekannt, dass es bei der Lagerung von Hackschnitzeln innerhalb weniger Wochen zu einer deutlichen Verringerung des lipophilen Gesamtgehalts kommt (Assarsson et al., 1963; Kallioinen et al., 2003). Der Gehalt lipophiler Substanzen im Stammholz nimmt dagegen sowohl bei ungeschützter Lagerung im Wald (Assarsson et al., 1963), als auch bei Lagerung der Fichtenstämme im Wasser (Assarsson und Åkerlund, 1967; Ekman und Hafizoğlu, 1993) über einen langen Zeitraum nur in sehr geringem Maße bzw. überhaupt nicht ab. Infolgedessen war auch bei den untersuchten Lagerungsmethoden

nicht mit einem rapiden Verlust lipophiler Substanzen während der Lagerung zu rechnen. Stattdessen könnte eine unvollständige Extraktion Ursache für die relativ niedrigen Gesamtgehalte sein. Willför et al. (2003a) führten die gute Extraktionsfähigkeit mit der ASE-Technik an. Bei 90°C extrahierten sie 95 % der lipophilen Inhaltsstoffe im Holz. In den eigenen Versuchen erfolgte die Extraktion nur bei 60°C. Die Vorversuche zur ASE (Abschnitt 4.3.1, Abbildung 4.6a) zeigen, dass bei einer Erhöhung der Extraktionstemperatur von 60 auf 80°C die Ausbeute um etwa 15 % gesteigert werden konnte. Um die Extraktstoffe nicht zu hohen Temperaturen auszusetzen, wurde jedoch entschieden, die Extraktion bei geringeren Temperaturen durchzuführen. Demzufolge ist im Wesentlichen die Extraktionstemperatur für die im Vergleich zur Literatur geringeren Gesamtgehalte im Holz verantwortlich.

Auch die für die Holzschliffe ermittelten lipophilen Gesamtgehalte (Abbildung 4.9) waren mit Werten zwischen 1,2 mg/g (25. Perzentil) und 1,5 mg/g (75. Perzentil) sehr gering. Ekman und Holmbom (1989) sowie Ekman et al. (1990) detektierten in mehreren Industrieholzschliffen Gehalte zwischen 9,9 und 13,5 mg/g. Auch die Analyse eines Industrieholzschliffes (Stora Enso, Maxau, April 2007) führte mit 6,3 mg/g zu deutlich höheren Werten verglichen mit den Holzschliffen, welche auf dem halbtechnischen Holzschleifer hergestellt wurden. Da alle Proben unter denselben Bedingungen mittels Petrolether und ASE extrahiert wurden, können die Extraktionsbedingungen nur zum Teil für die sehr geringen Gehalte verantwortlich sein. Gerade die ASE-Technik wurde für die Extraktion von Holzstoff empfohlen (Thurbide und Hughes, 2000).

Bei der Holzstoffherstellung löst sich, bzw. dispergiert ein Teil der Holzkomponenten im Prozesswasser. Unter anderem sind hiervon auch die lipophilen Bestandteile betroffen, wobei diese Substanzen häufig nicht vollständig dispergieren, sondern nur kolloidal im Wasser gelöst vorkommen (Holmbom und Sundberg, 2003). Im Prozesswasser einer Holzstofffabrik stellten Ekman und Holmbom (1989) 29,6 mg/l lipophile Substanzen fest. Zwei Industrieholzschlifffiltrate der Firma Stora Enso (Maxau) enthielten 6 bzw. 10 mg/l lipophile Holzinhaltstoffe. Örsa et al. (1997) ermittelten in Modellversuchen zur Lösung von Holzkomponenten in 90°C heißem Wasser, dass sich zwischen 9 und 20 mg/l lipophile Substanzen aus dem Holz lösten. Schmitt et al. (1990) berichteten, dass die Menge der gelösten Substanzen bei steigender Wassertemperatur und höherem Mahlgrad zunimmt. Des Weiteren postulierten die Autoren das Einstellen eines Adsorptions-Desorptions-Gleichgewichts im Wasser-Holzstoff-System, wobei die Lage des Gleichgewichts von der Temperatur abhängt. Örsa et al. (1996) stellten Holzschliff im Labormaßstab unter Verwendung von Wasser unterschiedlicher Temperatur her und stellten dabei fest, dass die höhere Temperatur hauptsächlich das Lösen von verschiedenen Kohlenhydraten aus dem Holz erhöhte. Der Gehalt der lipophilen Substanzen im Prozesswasser zeigte dagegen bei steigender Temperatur eine eher gleichbleibende Tendenz. Bei der Untersuchung des Lösens von Holzstoffsubstanzen in Abhängigkeit von der Zeit zur Simulation des Schließens von Wasserkreisläufen, stellten Ekman et al. (1990) fest, dass nach einer bestimmten Zeit der Anstieg flacher und ein Plateau erreicht wird. Die Zusammensetzung hing vom eingesetzten Rohstoff ab. Eine Änderung auf Seiten des Rohstoffs führte folglich zu einer Änderung der Zusammensetzung.

Die dargestellten Ergebnisse und Schlussfolgerungen verdeutlichen, dass wahrschein-

lich auch bei der Herstellung des Holzschliffs auf dem halbtechnischen Holzschleifer ein Teil der lipophilen Substanzen aus dem Holz ins Prozesswasser überging. Zusätzlich kann aber auch die relativ niedrige Extraktionstemperatur als weitere Ursache für die geringen detektierten Gehalte an lipophilen Substanzen in den Holzschliffen verantwortlich gemacht werden. Die folgenden Abschnitte zeigen, dass die Ergebnisse aus der Extraktion der halbtechnischen Holzschliffe trotz der aufgeführten Einschränkungen bis zu einem gewissen Grad aussagekräftig sind.

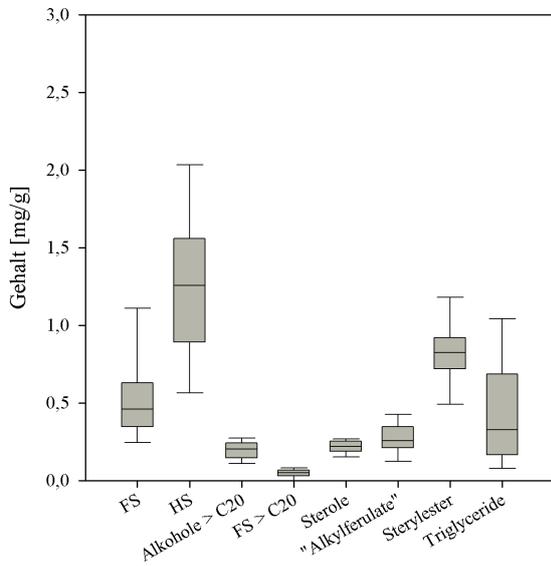
4.3.7 Zusammensetzung der lipophilen Extrakte

Sämtliche identifizierten lipophilen Extraktstoffe wurden bereits in Abschnitt 4.3.5 qualitativ erläutert und den jeweiligen Stoffgruppen zugeordnet. Der aktuelle Abschnitt behandelt die quantitative Stoffgruppenzusammensetzung der lipophilen Extrakte. Abbildung 4.10 zeigt welche Gehalte die Stoffgruppen in den verschiedenen Probenarten aufwiesen.

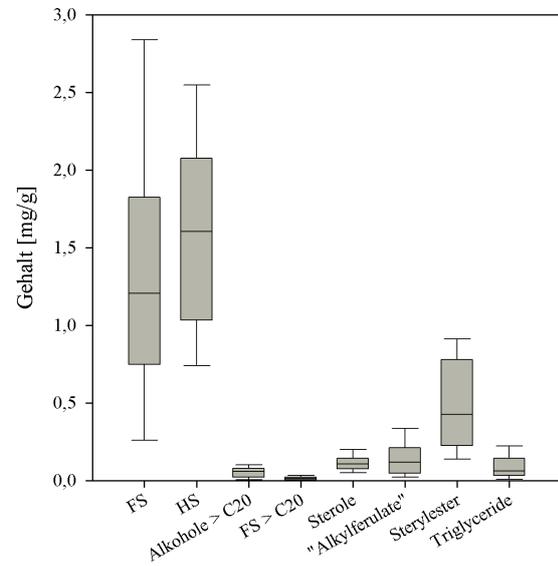
Im Kernholz (Abbildung 4.10a) waren Harzsäuren, Sterylester, Fettsäuren und Triglyceride übereinstimmend mit der Literatur die quantitativ wichtigsten Stoffgruppen (Ekman, 1979a; Ekman und Hafizoğlu, 1993; Willför et al., 2003a). Die festgestellten relativen Anteile unterschieden sich dabei leicht. So wiesen bei Ekman (1979a) die Triglyceride die höchsten Gehalte auf, gefolgt von Harzsäuren, Sterylester und Fettsäuren. Dagegen lautete bei Willför et al. (2003a) die Reihenfolge Harzsäuren > Fettsäuren > Triglyceride > Sterylester. Daher bewegen sich die eigenen Ergebnisse bezüglich der vier Hauptstoffgruppen durchaus im Rahmen der natürlichen Variabilität der Werte. Die restlichen vier Stoffgruppen wurden in deutlich geringeren Mengen extrahiert. Während die Sterole, Alkylferulate und langkettigen Alkohole ein ähnliches Wertenniveau aufwiesen, war der Gehalt der längerkettigen Fettsäuren im Vergleich hierzu noch einmal deutlich geringer.

Im Splintholz (Abbildung 4.10b) wurde im Vergleich zum Kernholz eine andere Zusammensetzung festgestellt. Die Analysen ergaben mit den Harz- und Fettsäuren sowie den Sterylestern nur drei quantitativ wichtige Stoffgruppen. Die Stoffgruppe der Triglyceride und auch die verbleibenden vier Stoffgruppen konnten nur in geringen Mengen aus dem Splintholz extrahiert werden. Ekman (1979a) und Willför et al. (2003a) beschrieben dagegen für das Splintholz von *Picea abies* eine zum Teil gegensätzliche Zusammensetzung. Zwar fanden die Autoren ähnliche Gehalte für Harzsäuren und Sterylester wie in Abbildung 4.10b aufgelistet, aber bei ihnen stellten die Triglyceride die eindeutig dominierende Hauptstoffgruppe dar. Fettsäuren wurden gar nicht oder nur in Spuren detektiert. Allerdings handelte es sich in beiden Fällen um Splintholz, welches sofort nach der Fällung extrahiert wurde. Zahlreiche Literaturstellen belegen, dass im stehenden Baum und in frisch eingeschlagenem Holz das Splintholz die Fettsäuren fast ausschließlich in veresterter Form als Triglyceride sowie als Sterylester enthält, und freie Fettsäuren überhaupt nicht oder nur in Spuren vorkommen (Assarsson und Åkerlund, 1966; Rogers, 1967; Ekman, 1979a; Willför et al., 2003a). Erst während der Lagerung werden die Triglyceride zu freien Fettsäuren hydrolysiert (Assarsson et al., 1963; Assarsson und Åkerlund, 1967; Ekman und Hafizoğlu, 1993). Da auch die Werte für Splintholz

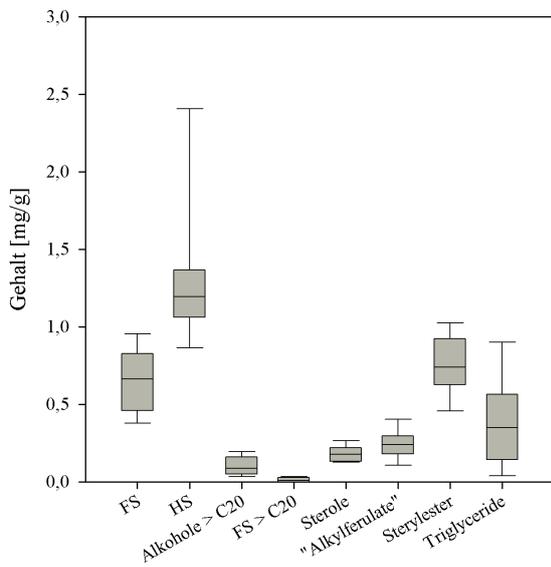
4 Ergebnisse und Diskussion



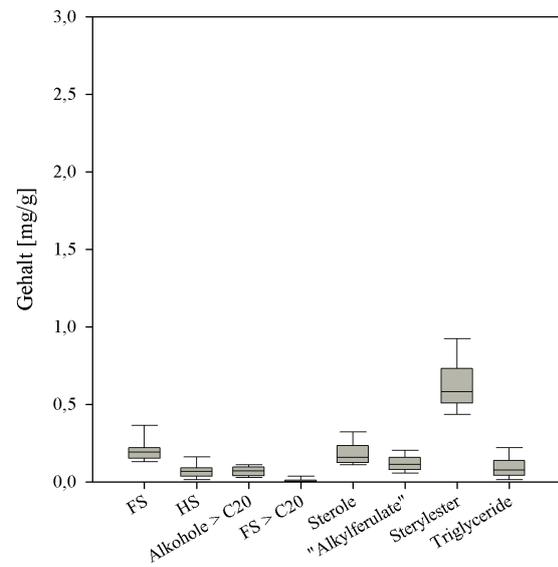
(a) Kernholz



(b) Splintholz



(c) „Restholz“



(d) Holzschliff

Abbildung 4.10: Zusammensetzung der lipophilen Extraktstoffe der unterschiedlichen Materialien. Ausreißer werden in dieser Darstellung aufgrund der Übersichtlichkeit nicht dargestellt.

in Abbildung 4.10b überwiegend auf gelagertem Holz basieren, lassen sich hiermit die hohen Fettsäure- und die niedrigen Triglyceridgehalte schlüssig erklären.

Der hier als „Restholz“ bezeichnete Abschnitt lag zwischen dem Splintholz (äußere neun Jahrringe) und dem Kernholz (2 cm vom Mark radial nach außen), so dass es das Holz der Übergangszone repräsentierte. Hiermit enthielt das „Restholz“ in Abhängigkeit vom Baumalter und den Jahrringbreiten unterschiedliche Anteile an Splint- und Kernholz. Dies spiegelt sich auch in der Stoffgruppenzusammensetzung des „Restholzes“ wider (Abbildung 4.10c). So wies das „Restholz“ tendenziell mehr Fettsäuren als das Kernholz auf und zeichnete sich gleichzeitig im Vergleich zum Splintholz durch höhere Triglyceridgehalte aus. Die Probenart „Restholz“ wird bei den weiteren Darstellungen ausgeklammert, da mögliche Effekte der Lagerung auf die Stoffgruppenzusammensetzung auch bei getrennter Betrachtung von Splint- und Kernholz erkannt werden können.

Obwohl im Vergleich zu den Werten in der Literatur mit den gewählten Extraktionsbedingungen geringere Gesamtmengen an lipophilen Substanzen aus dem Holz extrahiert werden konnten, stimmt die relative Stoffgruppenzusammensetzung gut mit früheren Arbeiten überein. Lediglich der Triglyceridgehalt war überproportional niedriger ausgefallen.

Aus den Holzschliffen konnte mit Petrolether nur die Stoffgruppe der Sterylester in nennenswerten Mengen herausgelöst werden (Abbildung 4.10d). Sämtliche restlichen Stoffgruppen wiesen Gehalte auf, welche deutlich unter 0,5 mg/g lagen. Bei den langkettigen Alkoholen, den länger-kettigen Fettsäuren ($C > 20$), den Sterolen und den Alkylferulaten waren auch im Holz durchgehend Werte auf diesem Niveau festgestellt worden. Bezüglich der Triglyceride entsprachen die Gehalte im Holzschliff etwa den Werten im Splintholz. Die Stoffgruppen der Fett- und Harzsäuren, welche sowohl im Splint- als auch im Kernholz zu den quantitativ wichtigsten Stoffgruppen gehörten und zum Teil Werte zwischen 1,5 und 2,0 mg/g aufwiesen, konnten dagegen nur in sehr geringen Mengen extrahiert werden. Analog zum Gesamtgehalt an lipophilen Inhaltsstoffen unterschied sich der Industrieholzschliff in seiner Zusammensetzung deutlich von den halbtechnisch produzierten Holzschliffen. Als wichtigste Stoffgruppen konnten aus dem Industrieholzschliff 0,9 mg/g Fettsäuren, 1,8 mg/g Harzsäuren, 1,1 mg/g Sterylester und 1,8 mg/g Triglyceride extrahiert werden. Somit stimmt die quantitative Zusammensetzung der lipophilen Inhaltsstoffe im Industrieholzschliff gut mit der Zusammensetzung im Fichtenholz überein. Ekman und Holmbom (1989) sowie Ekman et al. (1990) stellten in Holzstoffen ebenfalls Werte für die vier Hauptstoffgruppen fest, welche zum Teil dem Niveau von Fichtenholz nahe kamen.

Bei einigen Holzschliffen, deren Lignangehalte im Aceton/Wasser-Extrakt in Åbo mittels der GC-Stoffgruppenbestimmung ermittelt wurden, konnten in diesem Zusammenhang maximal bis zu $\approx 1,0$ mg/g Fett- und bis zu $\approx 0,6$ mg/g Harzsäuren festgestellt werden. Damit konnten mit Aceton/Wasser trotz vorausgehender Petroletherextraktion deutlich mehr Fett- und Harzsäuren als mit Petrolether selbst aus diesen Holzschliffen extrahiert werden. Die meisten Aceton/Wasser-Extrakte der in Åbo analysierten Holzschliffe enthielten dagegen in der Summe nur 0,5 mg/g oder weniger lipophile Substanzen. Auch die Aceton/Wasser-Extrakte des Kern- und Splintholzes wiesen aufgrund der vorausgehenden unvollständigen Extraktion mit Petrolether diese geringen Gehalte

an Fett- und Harzsäuren auf. Zusammen mit den Ergebnissen für den Industrieholzschliff deutet dies darauf hin, dass die Petroletherextraktion bei Holz und Holzschliff die gleiche Wirksamkeit hat. Zwar war die Extraktion in allen Fällen unvollständig, aber da die Aceton/Wasser-Extrakte überwiegend Gehalte an lipophilen Substanzen auf demselben niedrigen Niveau aufwiesen, muss die Petroletherextraktion auch bei allen Proben gleich effektiv gewesen sein. Folglich kann davon ausgegangen werden, dass die ermittelte Zusammensetzung der lipophilen Substanzen der Holzschliffe gut deren tatsächliche Zusammensetzung abbildet.

Die Zusammensetzung der lipophilen Substanzen in den Holzschliffen führte zu der Frage, warum insbesondere die Gehalte an Fett- und Harzsäuren im Vergleich zum Holz deutlich reduziert, der Sterylestergehalt dagegen kaum verändert war. So sind die Harzkanäle bei der Vereinzelnung der Tracheiden während des Zerfaserungsprozesses (Refinerholzstoffe) und des Holzschleifens gut zugänglich. Die Harzkanäle bestehen nur aus einem Hohlraum zwischen den umgebenden Zellen, so dass sie im Gegensatz zu den Parenchymzellen und Tracheiden von keiner schützenden Zellwand umgeben sind. Die Harzkanäle sind von Epithelzellen umgeben, welche das Harz synthetisieren und in die Harzkanäle sekretieren. Dabei stehen die Epithelzellen unter Druck (Back, 2000), so dass durch die mechanische Belastung im Zuge der Holzstoffproduktion noch nicht freigesetztes Harz herausgedrückt werden kann (Fernando et al., 2008). Des Weiteren werden die Parenchymzellen während der Holzstoffherstellung zerstört. Beim Refinerprozess werden so gut wie alle Parenchym- und Epithelzellen aufgebrochen (Lunabba, 1985; Cisneros und Drummond, 1995). Eine große Anzahl der Parenchymzellen wird auch bei der Holzschliffherstellung zerstört (Allen, 1975). Während des Holzschleifens ist es daher möglich, dass sämtliche Harzsäuren sowie zumindest ein Großteil der Inhaltsstoffe der Parenchymzellen (Fettsäuren, Triglyceride und Sterylester) aus dem Holzgewebe freigesetzt werden (Fernando et al., 2008).

Diese Substanzen kommen daher im Prozesswasser zunächst im gelösten bzw. im dispergierten Zustand vor. Ein Teil der lipophilen Substanzen adsorbiert wieder an den Fasern und dem Feinstoff (Allen, 1975; Schmitt et al., 1990; Fernando et al., 2008). Besonders der Feinstoff, aber auch die Holzstofffasern, weisen sehr hohe Extraktgehalte an ihrer Oberfläche auf, wobei die Extrakte nach einhelliger Meinung einen dünnen Film auf der Faseroberfläche bilden (Luukko et al., 1999; Koljonen et al., 2003; Österberg et al., 2005; Kangas et al., 2007). Beim Abpressen des Wassers aus der Holzschliff suspension direkt nach der Herstellung, ging ein Teil des Feinstoffs verloren (persönliche Mitteilung, Bösner, TU-Darmstadt), so dass hiermit auch ein Teil der adsorbierten lipophilen Substanzen aus dem Holzschliff geschleust wurde. Kokkonen et al. (2004) zeigten, dass nach der Adsorption von Modellsubstanzen auf TMP-Prüfblättern die Stoffgruppe der Sterylester gefolgt von den Triglyceriden die größte Oberflächenbedeckung aufwies. Sterylester und Triglyceride sind die hydrophobsten Substanzen der lipophilen Inhaltsstoffe der Fichte (Qin et al., 2003). Die Triglyceride wurden zumindest im Splintholz zum größten Teil zu Fettsäuren hydrolysiert. Daher waren von diesen beiden Stoffgruppen hauptsächlich noch die Sterylester vorhanden. Qin et al. (2003) und Vercoe et al. (2004, 2005) postulieren, dass die im Wasser dispergierten Tröpfchen im Inneren Triglyceride und Sterylester enthalten und außen von einer Schicht der etwas hydrophileren

Substanzen (Fettsäuren, Harzsäuren und Sterole) umgeben sind. Ein Teil der Fett- und Harzsäuren ist dagegen im Wasser gelöst. Beim Abnutschen des Wassers aus der Holzschliffsuspension bildet sich aus dem Holzschliff schnell ein „Filterkuchen“, welcher eine gewisse Filtrationswirkung aufweist. Nach Holmbom und Sundberg (2003) werden vor allem kolloidale Teilchen vom Filterkuchen zurückgehalten. Gelöste Substanzen können den Filterkuchen dagegen passieren. Die Analyse von zwei Industrieholzschlifffiltraten (Stora Enso, Maxau) ergab 6 und 10 mg/l lipophile Substanzen. Dabei waren jeweils etwa 35 – 40 % der Substanzen Fett- und Harzsäuren. Weniger als 10 % der lipophilen Substanzen konnten Sterylestern und Triglyceriden zugeordnet werden. Diese Ergebnisse unterstützen die Theorie, dass ein Teil der Fett- und Harzsäuren dauerhaft aus dem halbtechnischen Holzschliff entfernt wurden. Die restlichen lipophilen Substanzen adsorbierten dagegen wieder und verblieben daher im Holzschliff.

Während Abbildung 4.10 die Zusammensetzung der lipophilen Extrakte der verschiedenen Proben aufführt, stellt Abbildung 4.11 für jede Stoffgruppe der lipophilen Extrakte die Gehalte der Probenarten Kernholz, Splintholz und Holzschliff einander gegenüber.

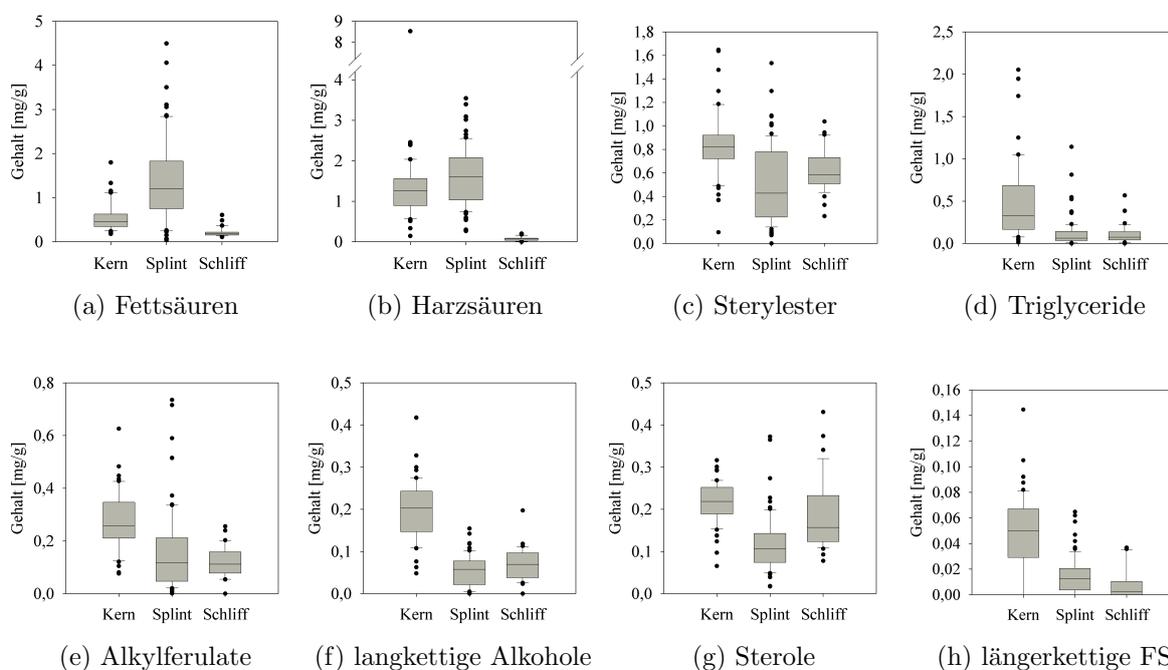


Abbildung 4.11: Gehalte der verschiedenen lipophilen Stoffgruppen aufgeschlüsselt nach der Probenart.

Beim Holz wurden im Splint deutlich höhere Gehalte an Fettsäuren im Vergleich zum Kern festgestellt (Abbildung 4.11a). Wie bereits angesprochen, resultiert der hohe Fettsäuregehalt im Splint hauptsächlich aus der enzymatischen Hydrolyse von Triglyceriden während der Holzlagerung (Ekman und Hafizoğlu, 1993). Im Kernholz laufen diese Vorgänge dagegen wesentlich langsamer ab, so dass hier der Gehalt an Fettsäuren nur gering war. Die niedrigen Fettsäurekonzentrationen im Holzschliff wurden bereits diskutiert.

Abbildung 4.11b zeigt, dass das Splintholz tendenziell etwas mehr Harzsäuren als das Kernholz aufwies. Ekman (1979a) stellte im Splintholz ebenfalls höhere Werte als im Kernholz fest. Dagegen detektierten Willför et al. (2003a) bei einem Teil der Proben im Kernholz höhere Harzsäuregehalte und bei den restlichen Proben im Splintholz höhere Harzsäuregehalte. Die ermittelten Werte stimmen daher gut mit der Literatur überein. Insbesondere die Bildung von traumatischen Harzkanälen im stehenden Baum aufgrund von äußeren Streßfaktoren kann den Gehalt an Harzsäuren im Holz schnell nach oben treiben und auf diese Weise zu Unterschieden zwischen Splint- und Kernholz führen (Back, 2002). So sind wahrscheinlich solche traumatischen Harzkanäle für den mit über 8 mg/g sehr hohen Ausreißerwert im Kernholz verantwortlich. Die niedrigen Werte der Harzsäuren im Holzschliff wurden bereits besprochen.

Aus Abbildung 4.11c können die Werte der Sterylester entnommen werden. Die Box-Plots weisen darauf hin, dass im Kernholz tendenziell mehr Sterylester im Vergleich zum Splintholz vorkamen. Während der Stammholzlagerung werden die Sterylester im Vergleich zu den Triglyceriden relativ langsam enzymatisch hydrolysiert (Ekman, 2000). Da die Hydrolyse aber im Splintholz schneller voranschreitet als im Kernholz, sinkt der Gehalt im Splintholz stärker als im Kernholz. Wie bereits ausführlich dargelegt, bildete die Stoffgruppe der Sterylester bezüglich der Zusammensetzung der lipophilen Extraktstoffe (Abbildung 4.10d) die einzige quantitativ wichtige Hauptstoffgruppe im Holzschliff. Abbildung 4.11c verdeutlicht nun, dass der Sterylestergehalt im Holzschliff dem Sterylestergehalt im Holz entsprach. Dies bedeutet, dass zumindest bei den Sterylestergehalten keine Veränderungen während der Holzschliffherstellung auftraten.

Die Triglyceridgehalte wurden in Abbildung 4.11d zusammengefasst. Aus dem Kernholz konnten deutlich mehr Triglyceride als aus dem Splintholz extrahiert werden, da die Triglyceride während der Lagerung im Kernholz deutlich langsamer als im Splintholz hydrolysiert werden (Ekman und Hafizoğlu, 1993). Im Vergleich zu den Sterylestern werden die Triglyceride aber insgesamt schneller abgebaut, so dass bei den Triglyceriden ein deutlicherer Unterschied zwischen Splint- und Kernholz als bei den Sterylestern sichtbar ist (Ekman, 2000). Des Weiteren stimmten die Gehalte an Fettsäuren (Abbildung 4.11a) und Triglyceriden (Abbildung 4.11d) gut überein. So stand dem hohen Triglyceridgehalt im Kernholz ein niedriger Fettsäuregehalt gegenüber. Gleichzeitig konnten im Splintholz viele Fettsäuren und nur wenig Triglycerid detektiert werden. Das Niveau der Triglyceridgehalte im Holzschliff entsprach den Werten des Splintholzes. Anhand der Holzfeuchteprofile (Abschnitt 4.1.2) konnte festgelegt werden, dass das Fichtenholz etwa aus drei Viertel Splintholz sowie ein Viertel Kernholz bestand. Aufgrund des höheren Triglyceridgehalts im Kernholz müsste der Holzschliff daher theoretisch etwas höhere Werte im Vergleich zum Splintholz aufweisen. Da dies nicht den Tatsachen entspricht, muss ein Teil der Triglyceride während der Holzschliffherstellung aus dem Holzgewebe dauerhaft entfernt worden sein.

Da die Alkylferulate hauptsächlich veresterte C22- und C24-Alkohole enthielten, bestand die Möglichkeit, dass diese Stoffgruppe ebenfalls während der Lagerung enzymatisch hydrolysiert wurde. Die höheren Gehalte an Alkylferulaten (Abbildung 4.11e) im Kernholz verglichen mit dem Splintholz deuten zumindest darauf hin. Auch Ekman (1979a) hatte im Splintholz etwas niedriger Werte als im Kernholz festgestellt. Allerdings

widersprachen die niedrigeren Gehalte an langkettigen Alkoholen (Abbildung 4.11f) im Splintholz im Vergleich zum Kernholz der Annahme, dass die Alkylferulate während der Lagerung vor allem im Splintholz hydrolysiert und folglich langkettige Alkohole freigesetzt wurden. Im Holzschliff konnten sowohl bei den Alkylferulaten als auch bei den langkettigen Alkoholen ähnliche Gehalte wie im Holz festgestellt werden.

Die Sterole, welche aus den Sterylestern freigesetzt wurden, wiesen im Kernholz höhere Werte auf als im Splintholz (Abbildung 4.11g), und entsprachen den Werten der Literatur (Ekman, 1979a; Willför et al., 2003a). Demnach resultierte die Hydrolyse der Sterylester im Splintholz nicht in höheren Sterolwerten. Aus den Holzschliffen konnten vergleichbare Mengen an Sterolen wie im Holz extrahiert werden.

Der Gehalt an längerkettigen Fettsäuren war mit Werten $< 0,1$ mg/g in allen Materialarten generell sehr gering (Abbildung 4.11h). Dabei war die quantitative Reihenfolge Kernholz $>$ Splintholz $>$ Holzschliff.

Da die Stoffgruppen Alkylferulate, langkettige Alkohole, Sterole und längerkettige Fettsäuren im Allgemeinen nur in sehr geringen Mengen detektiert wurden, konzentrieren sich folgende Betrachtungen meist auf die Summe aller Stoffgruppen oder auf die quantitativ wichtigsten Stoffgruppen Fettsäuren, Harzsäuren, Sterylester und Triglyceride.

4.3.8 Abhängigkeit des Gehalts an lipophilen Inhaltsstoffe von der Lagerungsdauer

Die Abhängigkeit des Gesamtgehalts lipophiler Inhaltsstoffe von der Lagerungsdauer kann Abbildung 4.12 entnommen werden. Die drei Probenarten Kernholz, Splintholz und Holzschliff werden hierbei getrennt aufgeführt. In allen drei Fällen überschneiden sich die Box-Plots der unterschiedlichen Lagerungszeitpunkte weitestgehend. Folglich blieben die Gesamtgehalte bei undifferenzierter Betrachtung aller Lagerungsarten im Zuge der Lagerung weitestgehend konstant. Ein deutlicher Verlust, wie bei der Hack-schnitzzellagerung (Assarsson et al., 1963; Kallioinen et al., 2003), war erwartungsgemäß bei der Lagerung der Stammholzabschnitte nicht zu verzeichnen.

Die Werte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer sind in Abbildung 4.13 dargestellt. Bei den Fettsäuren (Abbildung 4.13a) gab es im Zuge der Lagerung keine nennenswerten Veränderungen. Die Box-Plots überschneiden sich in weiten Bereichen. Dies bedeutet, dass schon zu Beginn der Lagerung (0 Monate) deutliche Fettsäuregehalte festgestellt werden konnten. Die Werte bestätigen die Angaben von Back (2000), dass die Triglyceride des Kernholzes schon im stehenden Baum teilweise zu Fettsäuren hydrolysiert werden. Zudem verdeutlichen die Daten, dass der Fettsäureanstieg im lagernden Kernholz nur sehr gering ist (Ekman und Hafizoğlu, 1993). Wie die Abbildungen 4.13b und 4.13c zeigen, wiesen auch die Stoffgruppen der Harzsäuren und der Sterylester keine Veränderungen ihrer Gehalte im Kernholz im Laufe der Lagerung auf. Bei den Triglyceriden (Abbildung 4.13d) war dagegen eine eher zunehmende Tendenz zu erkennen. Auch Assarsson et al. (1963) stellten eine scheinbare Zunahme des Gehalts lipophiler Substanzen im Laufe der Lagerung fest. Übereinstimmend mit der Literatur kann jedoch davon ausgegangen werden, dass

4 Ergebnisse und Diskussion

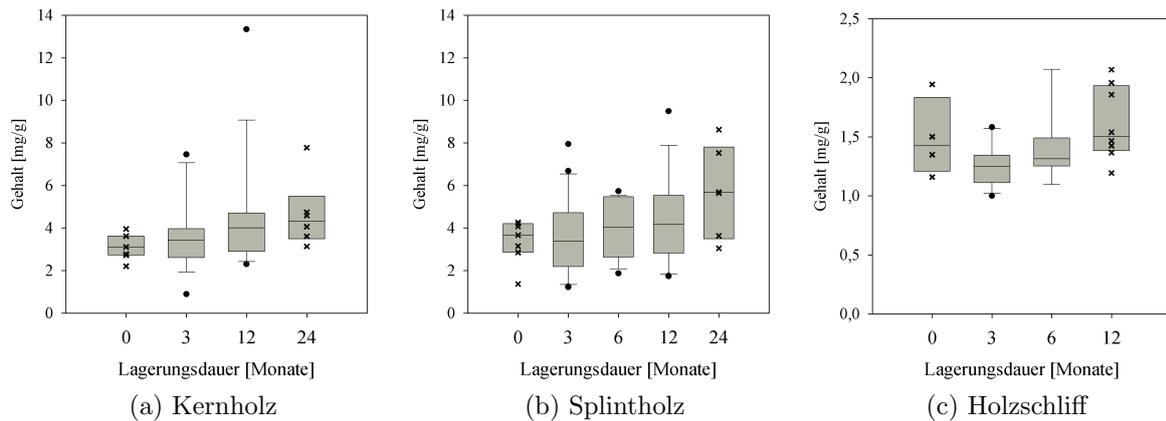


Abbildung 4.12: Nach Lagerungsdauer aufgeteilte Gehalte der verschiedenen Proben an lipophilen Bestandteilen.

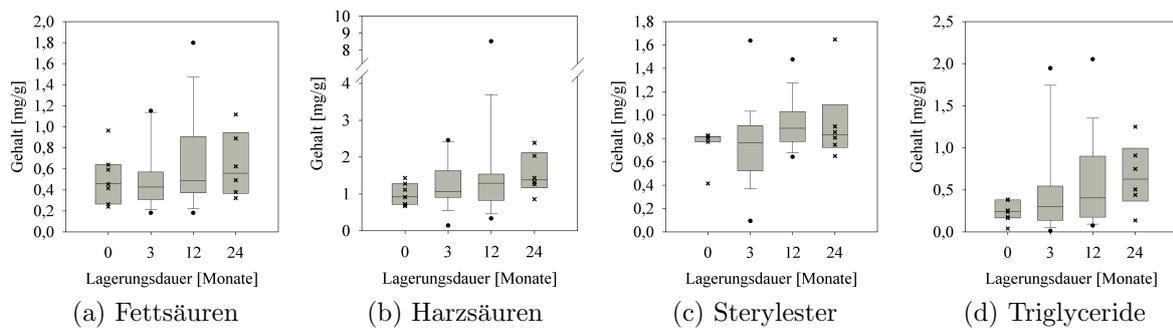


Abbildung 4.13: Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer.

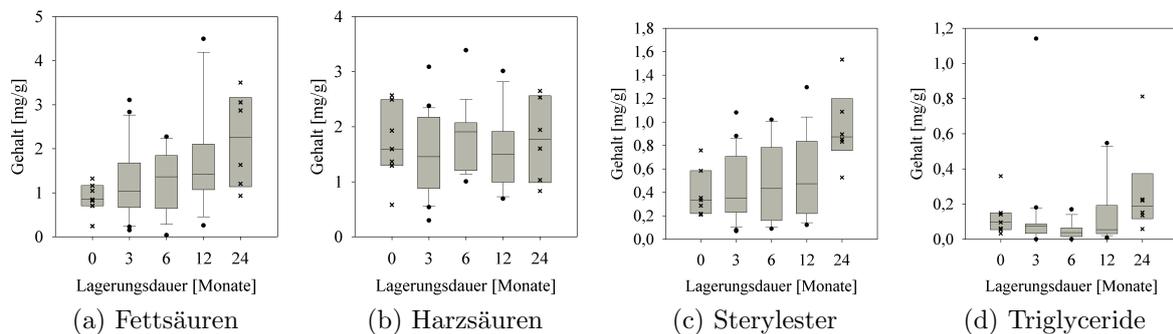


Abbildung 4.14: Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Splintholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer.

4 Ergebnisse und Diskussion

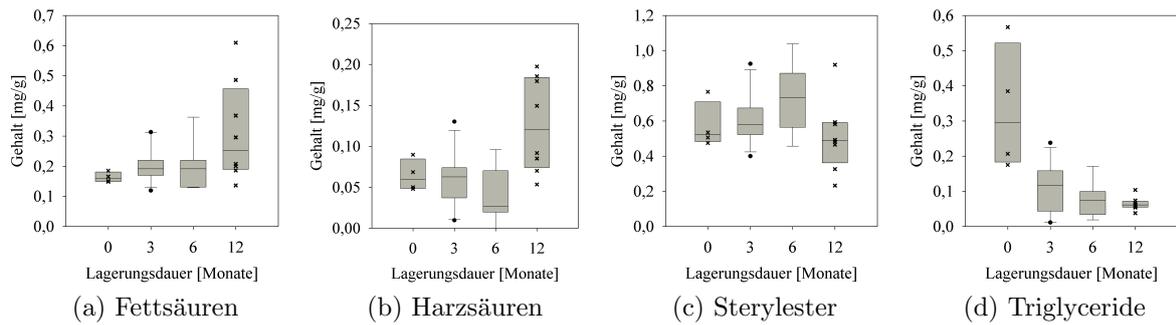


Abbildung 4.15: Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Holzschliff in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer.

hierfür hauptsächlich die Heterogenität der Proben verantwortlich ist.

Der Einfluss der Lagerungsdauer auf den Gehalt der lipophilen Stoffgruppen im Splintholz kann Abbildung 4.14 entnommen werden. Bei den Harzsäuren (Abbildung 4.14b) und den Sterylestern (Abbildung 4.14c) konnten, übereinstimmend mit den Werten im Kernholz, gleichbleibende Werte zwischen den unterschiedlichen Lagerungszeitpunkten detektiert werden. Nur bei den Sterylestern waren nach 24 Monaten Lagerung etwas erhöhte Werte aufgetreten. Dies galt ebenfalls für die Triglyceride (Abbildung 4.14d), welche ansonsten gleichbleibend niedrige Werte aufwiesen. Zahlreiche Autoren hatten dagegen gezeigt, dass in frisch gefälltem Fichtensplintholz die Triglyceride den höchsten Anteil an den lipophilen Inhaltsstoffen ausmachen und freie Fettsäuren nur in Spuren vorkommen (Assarsson und Åkerlund, 1966; Rogers, 1967; Ekman, 1979a; Willför et al., 2003a). In den eigenen Untersuchungen waren zu Beginn der Lagerung (0 Monate) die Triglyceridgehalte mit Werten um 0,1 mg/g schon gering und gleichzeitig die Gehalte der Fettsäuren mit etwa 1 mg/g hoch. Dies deutet darauf hin, dass durch Verzögerungen nach der Holzernte, aber auch aufgrund des Transports von Freiburg nach Hamburg, der größte Teil der Triglyceride schon bei der Ankunft in Hamburg hydrolysiert war. Mitverantwortlich waren sicherlich auch die teils sommerlichen Temperaturen (Ende April 2005), da die Hydrolyserate im Wesentlichen von der Temperatur abhängt (Ekman, 2000). Die ansteigende Tendenz der Box-Plots der Fettsäuren im Verlauf der Lagerung verdeutlicht, dass die Hydrolyse der Fettsäuren im Laufe der Lagerung noch weiter voranschritt.

Die Werte der lipophilen Stoffgruppen in den Holzschliffen in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer sind in Abbildung 4.15 dargestellt. Wie bereits in Abschnitt 4.3.7 ausführlich dargestellt, kann davon ausgegangen werden, dass während der Holzschliffproduktion große Anteile der Fett- und Harzsäuren dauerhaft aus dem Holzgewebe entfernt wurden. Daher haben die verbleibenden Gehalte an Fettsäuren (Abbildung 4.15a) und Harzsäuren (Abbildung 4.15b) in den Holzschliffen keine Aussagekraft über den Einfluss der Lagerung auf diese beiden Stoffgruppen. Die Sterylester (Abbildung 4.15c), welche ähnliche Werte wie das Holz aufwiesen, zeigten gleichbleibende Werte. Dagegen konnten bei der Stoffgruppe der Triglyceride (Abbildung 4.15d) deutliche Veränderungen im

Verlauf der Lagerung festgestellt werden. Die aus frisch geerntetem Holz produzierten Holzschliffe wiesen die höchsten Werte auf, und mit fortschreitender Lagerung wurde der Triglyceridgehalt der Holzschliffe deutlich reduziert. Im Gegensatz zum Splintholz konnte daher in den Holzschliffen die fortschreitende Hydrolyse der Triglyceride mit zunehmender Lagerungszeit verfolgt werden.

Einige Stoffgruppen im Splintholz und Holzschliff zeigten nach einer Lagerungszeit von 12 bzw. 24 Monaten etwas höhere Werte als zu den anderen Lagerungszeiten (Abbildungen 4.14c, 4.14d, 4.15a und 4.15b). Unabhängig von anderen Einflüssen spielt hierbei möglicherweise die Aktivität von Bakterien eine Rolle, die in wassergesättigtem Holz, z. B. bei der Wasserlagerung oder der Beregnung von Stämmen, die Tüpfelmembranen im Splintholz abbauen und auf diese Weise die Wegsamkeit erhöhen (Liese und Karnop, 1968; Liese, 1970; Adolf et al., 1972; Schmidt und Liese, 1994). Wie die Ergebnisse zur Holzfeuchte gezeigt haben (Abschnitt 4.1.2), konnte bei einer Vielzahl der Lagerungsarten über den gesamten Zeitraum der Lagerung eine hohe Holzfeuchte im Splintholz konserviert werden. Folglich ist es zumindest theoretisch möglich, dass Bakterien aktiv waren und somit auch die Zugänglichkeit bei der Petrotherextraktion verbessert wurde, was die Extraktionsausbeute erhöhte.

4.3.9 Abhängigkeit des Gehalts an lipophilen Inhaltsstoffen von der Lagerungsart

Die Daten in Abschnitt 4.3.8 haben verdeutlicht, dass die lipophilen Inhaltsstoffe in Holz und Holzschliff im Allgemeinen während der Lagerung nur wenig verändert werden. Der aktuelle Abschnitt vergleicht daher die Gehalte an lipophilen Substanzen der verschiedenen Lagerungsarten und des Frischeinschlags (FE) untereinander, wobei zwischen einer Lagerung mit und ohne Rinde nicht unterschieden wird.

Die Gesamtgehalte der Lagerungsarten an lipophilen Substanzen aufgeteilt nach Kernholz, Splintholz und Holzschliff können Abbildung 4.16 entnommen werden. Wie aus der Abbildung ersichtlich wird, sind für einige Lagerungsarten weniger Daten vorhanden, so dass die Aussagesicherheit der Ergebnisse eingeschränkt ist. Im Kernholz (Abbildung 4.16a) wiesen die meisten Lagerungsarten sehr ähnliche Gehalte auf. Nur bei der Nasskonservierung (NK) sowie ansatzweise bei der Folienkonservierung (FK) waren zusätzlich auch noch höhere Werte festgestellt worden. Im Splintholz (Abbildung 4.16b) wurden ebenfalls für die meisten Lagerungsarten Werte auf dem gleichen Niveau ermittelt. Einzig das Holz, welches ungeschützt auf der Freifläche gelagert wurde (UF), wies deutlich niedrigere Werte im Vergleich zu den restlichen Lagerungsarten auf. Auch der Holzschliff enthielt bezüglich der meisten Lagerungsarten ähnlich Gehalte an lipophilen Substanzen. Die niedrigsten Werte konnten wiederum bei UF festgestellt werden.

Die Werte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsart sind in Abbildung 4.17 aufgeführt. Obwohl der Frischeinschlag (FE) der „Lagerungsdauer“ 0 Monate entsprach, waren wie bereits erwähnt die Gehalte an Fettsäuren und Triglyceriden unerwartet hoch bzw. niedrig. Ansonsten überschritten sich die Fettsäuregehalte des gelagerten Kernholzes (Abbildung 4.17a) weitestgehend, wobei sich NK und UF durch etwas höhere Werte verglichen zu den anderen Lagerungsarten auszeichneten. Bei den Harzsäuren (Abbildung 4.17b) wurden ebenfalls für

4 Ergebnisse und Diskussion

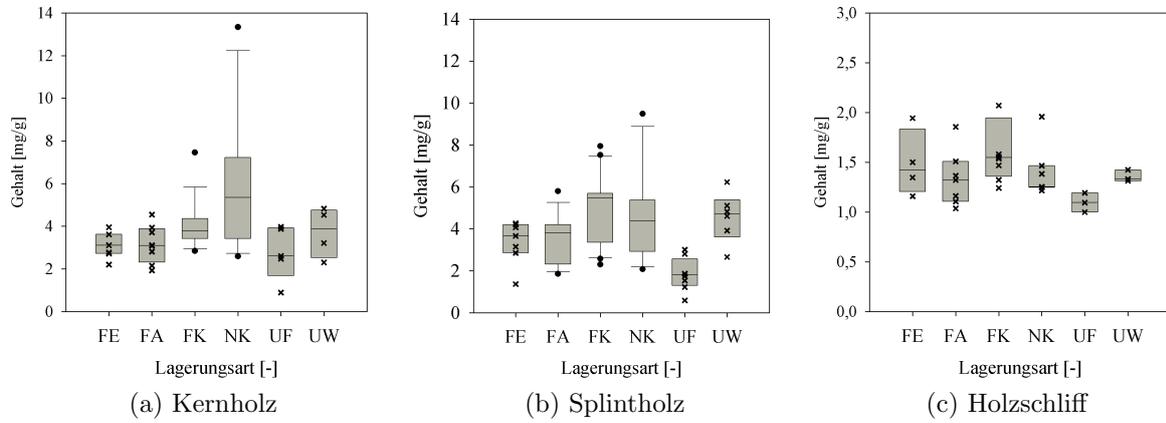


Abbildung 4.16: Gehalte an lipophilen Substanzen im Kernholz, Splintholz und Holzschliff in Abhängigkeit von der Lagerungsart.

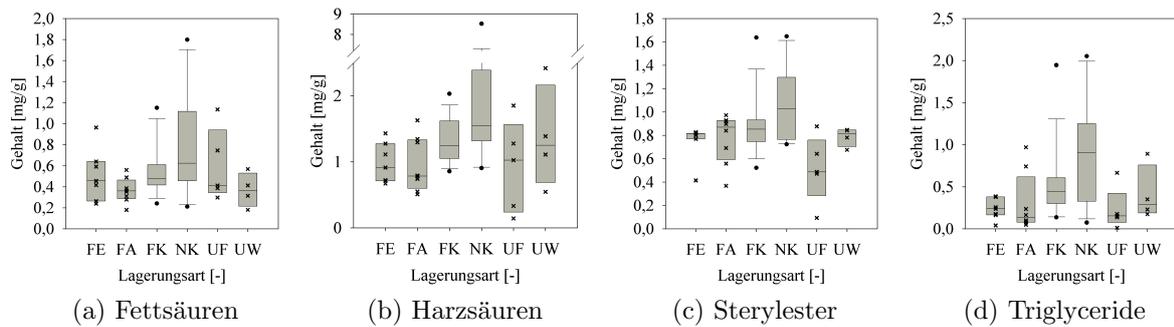


Abbildung 4.17: Gehalte der vier wichtigsten Stoffgruppen im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsart.

alle Lagerungsarten Werte auf dem gleichen Niveau festgestellt. Auch die Analyse der Sterylester (Abbildung 4.17c) zeigte nur wenige Unterschiede zwischen den verschiedenen Lagerungsvarianten. In den nasskonservierten Abschnitten wurden wiederum die höchsten Gehalte ermittelt. Des Weiteren konnte bei UF eine Tendenz zu niedrigeren Sterylestergehalten im Kernholz detektiert werden. Bezüglich der Stoffgruppe der Triglyceride (Abbildung 4.17d) waren die Gehalte bei allen Lagerungsarten gleichbleibend gering. Allerdings wies wiederum NK höhere Werte auf. Insgesamt bestätigen die Daten, dass sich im Kernholz im Allgemeinen nur geringe Veränderungen während der Lagerung ereignen. Daher können keine deutlichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Lagerungsmethoden festgestellt werden. Die oftmals höheren Werte der Nasskonservierung sind eventuell ein Hinweis auf die bereits angedeutete bessere Zugänglichkeit. Die Box-Plots von NK in Abbildung 4.17 zeichnen sich jedoch neben den höheren Werte durch eine deutlich breitere Streuung der Werte aus. Der „untere“ Teil der Box-Plots weist immer eine gute Überschneidung mit den anderen Lagerungsarten auf.

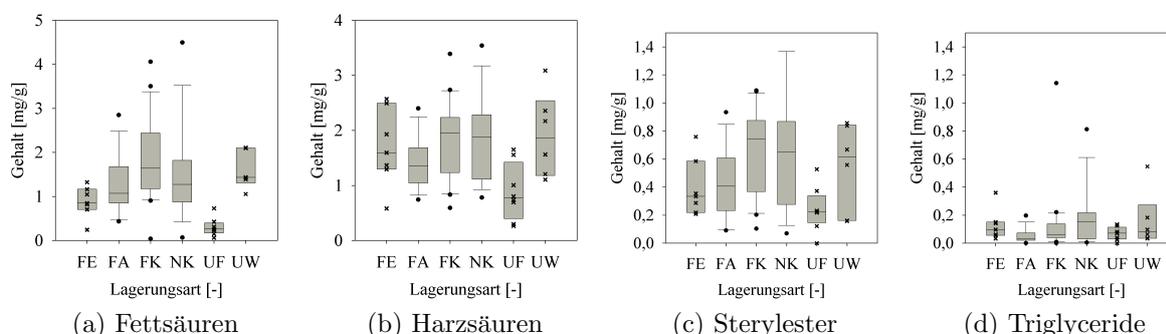


Abbildung 4.18: Gehalte der vier wichtigsten Stoffgruppen im Splintholz in Abhängigkeit von der Lagerungsart.

Abbildung 4.18 können die Gehalte der vier lipophilen Stoffgruppen im Splintholz in Abhängigkeit von der Lagerungsart entnommen werden. Bei den Fettsäuren (Abbildung 4.18a) konnten für die meisten Lagerungsarten Wertebereiche ermittelt werden, welche eine große Schnittmenge aufwiesen. Dabei waren die Gehalte der gelagerten Proben überwiegend höher als die der frischen Proben (FE). Eine Ausnahme bildete die ungeschützte Lagerung auf der Freifläche (UF). Der Gehalt der Fettsäuren lag bei UF deutlich unterhalb der Werte der anderen Lagerungsarten. Die Harzsäuren (Abbildung 4.18b) hatten zwar insgesamt eine höhere Schwankungsbreite als die Fettsäuren, zeigten aber inklusive FE eine sehr gute Übereinstimmung zwischen den verschiedenen Lagerungsmethoden. UF war durch die niedrigsten Harzsäuregehalte gekennzeichnet. Bei der Stoffgruppe der Sterylester (Abbildung 4.18c) wies UF zwar auch niedrige Werte auf, trotzdem lagen die Gehalte noch im Bereich der anderen Lagerungsarten. Die Gehalte aller Lagerungsmethoden lagen bei den Triglyceriden (Abbildung 4.18d) auf demselben niedrigen Niveau. Somit kann beim Vergleich der Werte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Splintholz festgestellt werden, dass sich nur die Lagerungsvariante UF deutlich von den anderen Lagerungsarten unterscheiden. Dabei wurden bei drei von vier

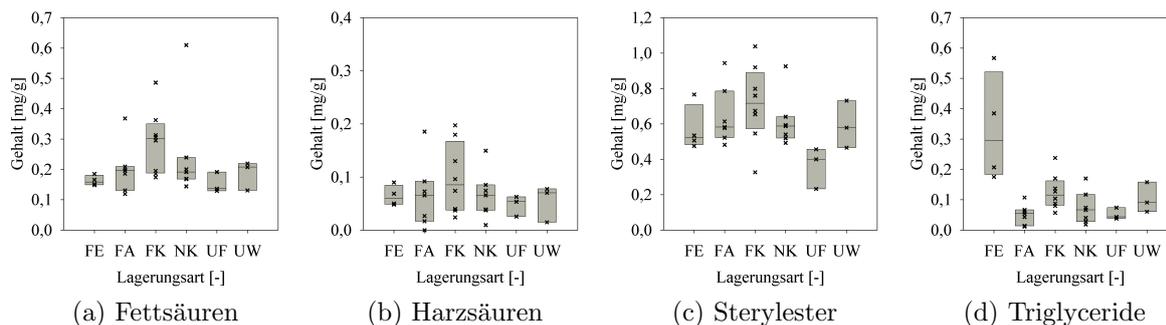


Abbildung 4.19: Gehalte der vier wichtigsten Stoffgruppen im Holzschliff in Abhängigkeit von der Lagerungsart.

Stoffgruppen überwiegend geringere Mengen im Vergleich zu den restlichen Lagerungsmethoden aus dem Splintholz extrahiert.

Die Gehalte der vier lipophilen Stoffgruppen in den Holzschliffen in Abhängigkeit von der Lagerungsart sind in Abbildung 4.19 dargestellt. Die niedrigen Werte an Fett- (Abbildung 4.19a) und Harzsäuren (Abbildung 4.19b) wurden unabhängig von der Lagerungsart in allen analysierten Holzschliffen festgestellt. Bei den Sterylestern (Abbildung 4.19c) wiesen die meisten Lagerungsarten übereinstimmende Gehalte auf. Nur die Holzschliffe der Lagerungsvariante UF hatten deutlich geringere Gehalte. Wie bereits in Abschnitt 4.3.8 aufgeführt, wiesen die Holzschliffe aus frischem Holz (FE) einen eindeutig höheren Triglyceridgehalt als die anderen Holzschliffe auf. Bezüglich der Triglyceride (Abbildung 4.19d) konnten dabei zwischen den unterschiedlichen Lagerungsarten keine klaren Unterschiede detektiert werden.

Der Vergleich der untersuchten Lagerungsarten verdeutlicht, dass die Veränderungen der lipophilen Substanzen im Laufe der Lagerung bei den meisten Lagerungsarten nur in einem kleinen Rahmen ablaufen und gute Übereinstimmungen aufweisen. Assarsson und Åkerlund (1967), Ekman und Hafizoğlu (1993) sowie Ekman (2000) berichteten, dass sich bei der Wasserlagerung von Fichtenstämmen die einzige quantitativ wichtige Veränderung durch die enzymatische Hydrolyse von Triglyceride zu Fettsäuren ereignete. Bei den Lagerungsarten Folienabdeckung (FA), Folienkonservierung (FK), Nasskonservierung (NK) sowie der ungeschützten Lagerung im Wald (UW) wurden ebenfalls außer dieser Hydrolyse keine gravierenden Umwandlungen detektiert. Die Gemeinsamkeit dieser sehr unterschiedlichen Lagerungsarten liegt in der Konservierung der Holzfeuchte auf einem hohen Niveau, wie es in Abschnitt 4.1 beschrieben wurde.

Dagegen führte die Lagerungsvariante UF zu einer schnellen Reduzierung der Holzfeuchte über den gesamten Querschnitt der Stammabschnitte. Besonders aus dem UF-Splintholz, aber in gewissem Maße auch aus Kernholz und Holzschliff, konnten im Vergleich zu den anderen Lagerungsarten geringere Mengen an lipophilen Inhaltsstoffen extrahiert werden. In diesem Zusammenhang beschrieb Ekman (2000), dass es bei der Holzlagerung in Abhängigkeit von den Lagerungsbedingungen durch Abbau, Oxidation und Polymerisierung neben der Hydrolyse der Triglyceride zu weiteren Veränderungen

der lipophilen Inhaltsstoffe kommen kann. Bei der Lagerung von Hackschnitzeln war eine deutliche Abnahme der Holzinhaltsstoffe festgestellt worden (Assarsson et al., 1963; Kallioinen et al., 2003). Als Ursachen für die Verluste wurden unter anderem Mikroorganismen, der Stoffwechsel der Parenchymzellen sowie die Luftexponiertheit verantwortlich gemacht (Assarsson, 1966). Die Holzfeuchte von UF fiel innerhalb der ersten 3 Monaten auf 30 % ab (Abbildung 4.1a), so dass nur während der ersten Wochen genügend Feuchtigkeit für die Aktivität von Mikroorganismen wie etwa Pilzen vorhanden war (Schmidt, 1994). Auch die Parenchymzellen konnten bei der schnell sinkenden Holzfeuchte nicht lange aktiv bleiben. Stattdessen hatte Sauerstoff nun in steigendem Maße Zugang zum Holzgewebe und hiermit zu den lipophilen Substanzen. Besonders ungesättigte Fettsäuren sind für Autoxidation²⁾ zugänglich, wobei die Fettsäuren zersetzt und als sogenannte volatile organic compounds (VOCs) freigesetzt oder radikalisch zu höhermolekularen Substanzen polymerisiert werden können (Chan, 1987; Belitz et al., 2001). Infolgedessen verringerte sich die extrahierbare Menge an freien und veresterten Fettsäuren. Dabei sind die Substanzen entweder nicht mehr im Holz vorhanden (Emission) oder nicht mehr aus dem Holz extrahierbar (Polymerisierung). Des Weiteren sind die Harzsäuren ebenfalls für autoxidative Vorgänge zugänglich (la Lande, 1931; Sadhra et al., 1998; Prinz et al., 2002). Da die starke Verringerung der Holzfeuchte nur bei der ungeschützten Lagerung auf der Freifläche auftrat, waren die restlichen Lagerungsarten vor Sauerstoffzutritt weitestgehend geschützt und daher von den Autoxidationsvorgängen nicht im selben Maße betroffen.

Die Wirkungen und Folgen der Autoxidation konnten in einem einfachen Versuch demonstriert werden. Hierzu wurde der Industrieholzschliff (Stora Enso, Maxau, April 2007) gefriergetrocknet. Ein Teil des gefriergetrockneten Industrieholzschliffes wurde in einem Glaskolben bei Raumtemperatur aufbewahrt. Der Rest des gefriergetrockneten Materials wurde bei -20°C in einem verschlossenen Behältnis gelagert. Nach zwei Monaten wurden beide Proben mit Petrolether unter Anwendung der ASE-Technik extrahiert (Doppelbestimmung) und mittels GC-Stoffgruppenbestimmung analysiert. Die Ergebnisse können Abbildung 4.20 entnommen werden. Aus dem gelagerten Industrieholzschliff, welcher bei Raumtemperatur gelagert wurde, konnten deutlich geringere Mengen als aus dem identischen, eingefrorenen Industrieholzschliff extrahiert werden. Hierbei erstreckten sich die Verluste in unterschiedlichem Maß über alle hier dargestellten Stoffgruppen. Wegen der niedrigen Feuchte des Materials konnten enzymatische Vorgänge sowie die Aktivität von Mikroorganismen ausgeschlossen werden. Daher mussten allein Vorgänge aufgrund des Einwirkens von Sauerstoff, Wärme und Licht für die geringeren Gehalte verantwortlich sein. Dabei war zumindest ein Teil der Substanzen bei Raumtemperatur zu VOCs zersetzt worden, da sich ranziger Geruch bemerkbar machte. Diese Ergebnisse untermauern die Annahme, dass bei UF hauptsächlich autoxidative Vorgänge für die geringen Gehalte an lipophilen Substanzen verantwortlich sind.

²⁾ mittels Radikale initiierte und durch atmosphärischen Sauerstoff verursachte Oxidation

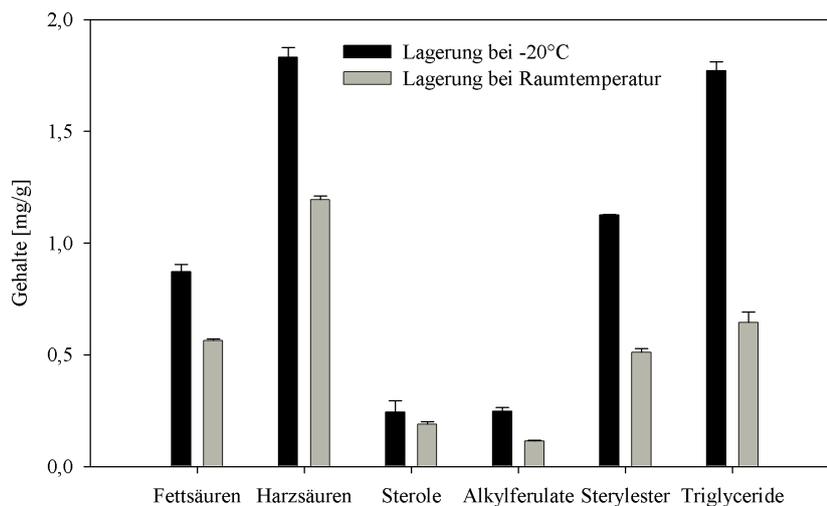


Abbildung 4.20: Gehalte an lipophilen Stoffgruppen nach zweimonatiger Lagerung von gefriergetrocknetem Industrieholzschliff bei -20°C und bei Raumtemperatur. Dargestellt werden Mittelwerte und Standardabweichungen aus Doppelbestimmungen.

4.3.10 Abhängigkeit des Gehalts an lipophilen Inhaltsstoffen von der Berindung

In den bisherigen Betrachtungen wurde zwischen der Lagerung in und der Lagerung ohne Rinde nicht unterschieden. Während die ungeschützten Lagerungsvarianten im Wald (UW) und auf der Freifläche (UF) nur in Rinde durchgeführt wurden, waren bei den Lagerungsvarianten Folienabdeckung (FA), Folienkonservierung (FK) und Nasskonservierung (NK) jeweils Holz mit und ohne Rinde Gegenstand der Untersuchungen.

Abbildung 4.21 stellt die Gesamtgehalte an lipophilen Substanzen in Holz mit und ohne Rinde getrennt nach der Probenart einander gegenüber. Die Gesamtgehalte wiesen erwartungsgemäß im Kernholz (Abbildung 4.21a) keine Unterschiede zwischen der Lagerung in und ohne Rinde auf. Dasselbe konnte im Fall der Holzschliffe (Abbildung 4.21c) festgestellt werden. Auch hier stimmten die Werte aus der Lagerung in Rinde gut mit den Werten aus der Lagerung ohne Rinde überein. Die lipophilen Gehalte des Splintholzes (Abbildung 4.21b) in und ohne Rinde zeichneten sich ebenfalls durch eine große gemeinsame Schnittmenge aus. So lagen die unteren Quartile der beiden Box-Plots fast exakt auf derselben Höhe. Allerdings zeigte die weitere Ausdehnung der Box-Plots, dass mehr als die Hälfte der Werte des Splintholzes in Rinde über dem oberen Quartil des Splintholzes ohne Rinde angesiedelt war. Entsprechend dieser Daten konnten aus dem Splintholz in Rinde tendenziell größere Mengen an lipophilen Inhaltsstoffen extrahiert werden als aus dem Splintholz ohne Rinde. Diese Differenz war noch größer, wenn die Gehalte für UW und UF, welche in Abbildung 4.21 mit enthalten waren, entfernt wurden, so dass nur noch die Werte von FA, FK und NK berücksichtigt wurden (Daten nicht dargestellt). Die größere Differenz war hierbei vor allem auf die niedrigen Werte von UF zurückzuführen (vergleiche Abschnitt 4.3.9).

4 Ergebnisse und Diskussion

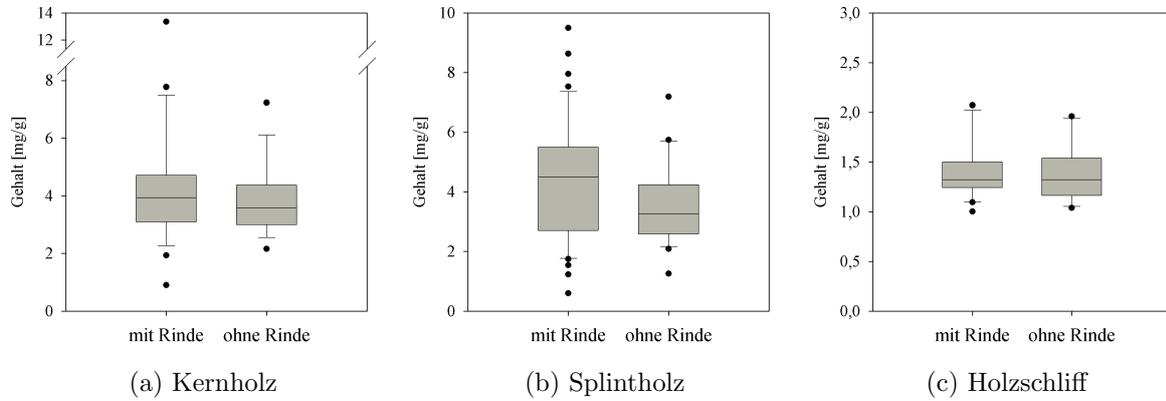


Abbildung 4.21: Gesamtgehalte an lipophilen Substanzen nach der Lagerung in bzw. ohne Rinde bei Kernholz, Splintholz und Holzschliff.

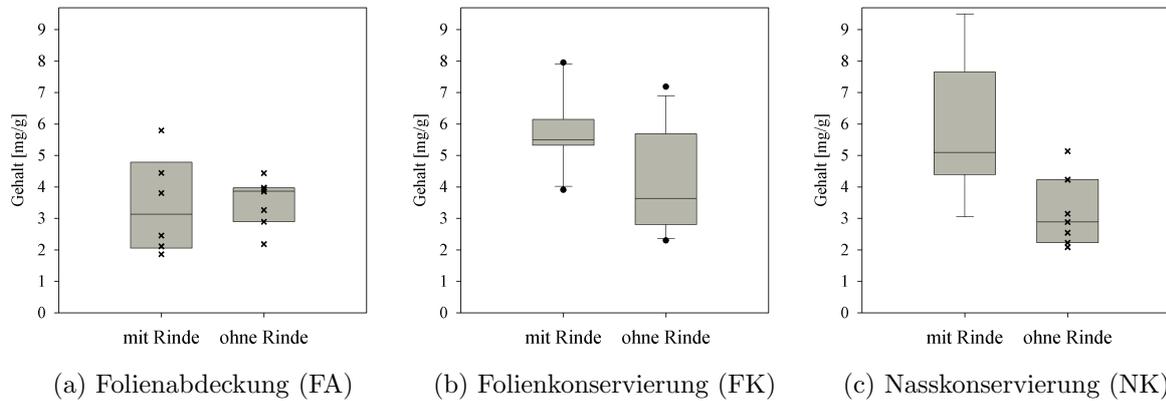


Abbildung 4.22: Gesamtgehalte an lipophilen Substanzen im Splintholz nach Lagerung in und ohne Rinde bei Folienabdeckung (a), Folienkonservierung (b) und Nasskonservierung (c).

4 Ergebnisse und Diskussion

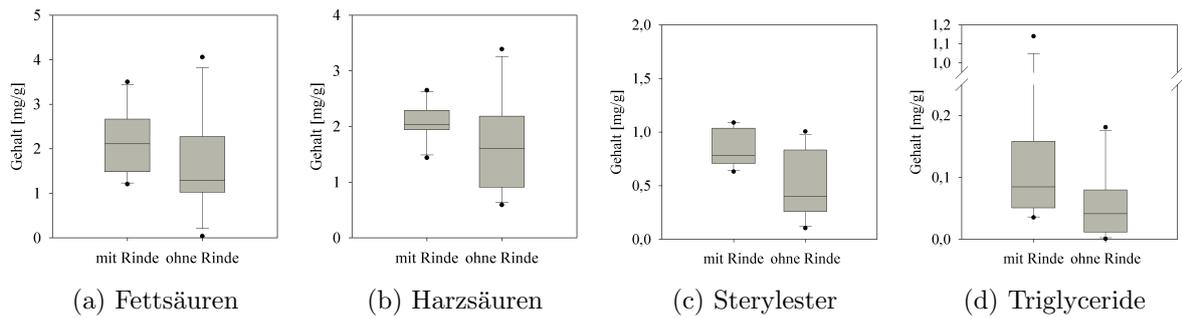


Abbildung 4.23: Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Splintholz nach Lagerung in und ohne Rinde bei Folienkonservierung.

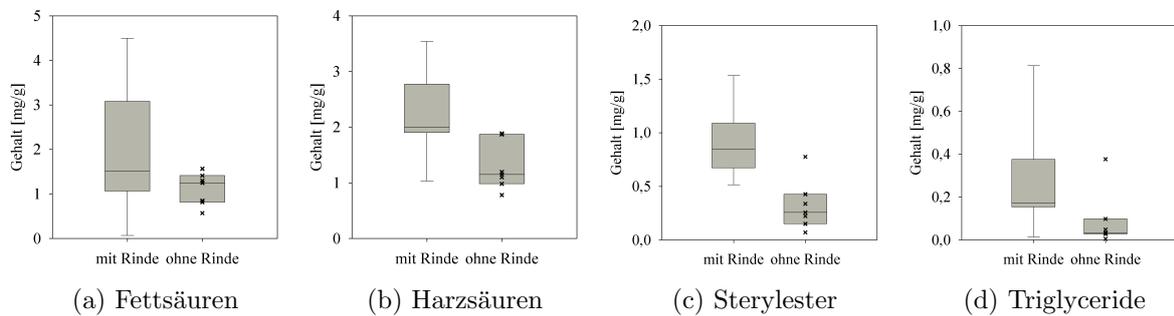


Abbildung 4.24: Gehalte der vier wichtigsten lipophilen Stoffgruppen im Splintholz nach Lagerung in und ohne Rinde bei Nasskonservierung.

Daher war es sinnvoll, die drei Lagerungsarten FA, FK und NK getrennt voneinander zu betrachten (Abbildung 4.22). Die Auftrennung der Daten nach der verwendeten Lagerungsart zeigt, dass bei der Folienabdeckung (Abbildung 4.22a), außer einer breiteren Verteilung der Werte bei der Lagerung in Rinde, keine Unterschiede bezüglich des Gesamtgehalts an lipophilen Substanzen im Splintholz zwischen der Lagerung in und ohne Rinde auftraten. Die Lagerungsvariante Folienkonservierung (Abbildung 4.22b) zeichnete sich durch deutlichere Differenzierung aus. Die Lagerung des Splintholzes in Rinde mittels FK hatte zur Folge, dass über die Hälfte der Proben höhere Gehalte im Vergleich zur Lagerung ohne Rinde aufwies. Noch deutlicher fiel der Unterschied bei der Nasskonservierung aus (Abbildung 4.22c). Da der Wert für das untere Quartil bei der Lagerung in Rinde über dem oberen Quartil bei der Lagerung ohne Rinde lag, war die Schnittmenge der beiden Berindungszustände bei der Nasskonservierung sehr klein.

Aufgrund der Unterschiede werden die beiden Lagerungsarten Folien- und Nasskonservierung noch genauer betrachtet. Die Abbildungen 4.23 und 4.24 stellen die Gehalte der wichtigsten lipophilen Stoffgruppen bei FK und NK für den berindeten und unberindeten Zustand einander gegenüber. Aus den Abbildungen 4.23a bis 4.23d ist ersichtlich, dass im Fall der Folienkonservierung ohne Rinde bei allen Stoffgruppen mehr als 50 %

der Proben geringere Werte als das untere Quartil der Folienkonservierung in Rinde aufweisen. Auch bei der Nasskonservierung (Abbildungen 4.24a bis 4.24d) konnten aus dem berindeten Splintholz bei allen Stoffgruppen tendenziell größere Mengen extrahiert werden als aus dem entrindeten Splintholz. Jedoch waren die Differenzen bei der Nasskonservierung deutlich höher als bei der Folienkonservierung.

Die Frage ist nun, ob die Lagerung in Rinde zu höheren Gehalten geführt hat oder die Lagerung ohne Rinde größere Verluste an lipophilen Substanzen nach sich zog. Cohen (1962) und Back (2000) beschrieben, dass die Parenchymzellen nach der Fällung des Baumes bei ausreichender Holzfeuchte noch weiterleben und sogar Holzinhaltstoffe synthetisieren können. Allerdings betonten die Autoren auch, dass Speichersubstanzen wie Stärke und Triglyceride dabei eher im Stoffwechsel verarbeitet werden, da die Zellen aufgrund der fehlenden Photosynthese nicht mit frischer Glucose bzw. Saccharose versorgt werden können. Daher ist es unwahrscheinlich, dass die Lagerung in Rinde ein Plus an lipophilen Substanzen zur Folge hat. Dies gilt umso mehr, da nicht nur bei den berindeten Stammabschnitten von FK und NK, sondern auch bei den entrindeten Stammabschnitten eine hohe Holzfeuchte während der Lagerung konserviert werden konnte (Abbildung 4.4). Infolgedessen blieben in beiden Fällen die Parenchymzellen über einen bestimmten Zeitraum aktiv.

Stattdessen muss die Lagerung ohne Rinde zu höheren Verlusten geführt haben. Besonders bei der Nasskonservierung könnte Autooxidation eine Rolle gespielt haben. Die entrindeten Stapel lagen oben auf dem Holzpolter und waren aufgrund der fehlenden Rinde den Umwelteinflüssen wie Sonnenlicht und Sauerstoff direkt ausgesetzt. Trotz der hohen Holzfeuchte ist es daher denkbar, dass autoxidative Vorgänge zum Verlust an lipophilen Substanzen beitrugen. Hierfür spricht auch, entsprechend den Versuchen mit dem gefriergetrockneten Industrieholzschliff (Abbildung 4.20), dass alle Stoffgruppen geringere Werte aufweisen. Zusätzlich können sich auch wegen der fehlenden Rinde bestimmte Mikroorganismen leichter auf dem Holz sowie über die Holzstrahlen im Holz ansiedeln. Zwar verhindert die hohe Holzfeuchte die Aktivität der meisten holzverfärbenden bzw. holzerstörenden Pilze, aber andere Mikroorganismen wie Bakterien oder Algen können mit den vorhandenen Wuchsbedingungen umgehen (Schmidt, 1994). Eine Ausnahme bildet hierbei die Moderfäule, die in einer NKo-Probe nachgewiesen werden konnte (Abbildung 4.46). Dagegen dürften bei der Folienkonservierung autoxidative Veränderungen nur eine untergeordnete Rolle gespielt haben, da sich nach der gasdichten Versiegelung in den folienkonservierten Holzpolterpaketen schnell eine sauerstoffarme Atmosphäre einstellt (Maier, 2005). Allerdings schließt der Autor die Diffusion von Sauerstoff durch die Folienhülle nicht aus. Des Weiteren sind auch in folienkonserviertem Holz Bakterien vorhanden, allerdings nicht in demselben Umfang wie bei der Nasskonservierung. Anhand der vorliegenden Ergebnisse kann daher im Falle der Folienkonservierung keine abschließende Erklärung für die geringen Gehalte im Splintholz ohne Rinde gefunden werden. Hierfür sind weitergehende Untersuchungen nötig.

Tabelle 4.7: Bezeichnungen und Abkürzungen der identifizierten Lignane und Sesquilignane. Die hier identifizierten Sesquilignane bestehen aus Lignanen mit zusätzlicher Guaiacylglycerylether-Seitengruppe. Des Weiteren ist die Abkürzung für ein mögliches Dilignan mit aufgelistet.

Lignan	Abkürzung	Abkürzung Sesquilignan
Isoliovil	Isolio	
α -Conidendrinsäure	ConA	
Cyclolariciresinol	cLari	
Todolactol A	TodoA	TodoA-sesqui
Hydroxymatairesinol	HMR	HMR-sesqui
iso-Hydroxymatairesinol	iso-HMR	
Secoisolariciresinol	Seco	Seco-sesqui
Lariciresinol	Lari	Lari-sesqui
Nortrachelogenin	NTG	NTG-sesqui
Oxomatairesinol	Oxo	
Pinoresinol	Pino	Pino-sesqui
α -Conidendrin	Con	Con-sesqui
Matairesinol	MR	
Dilignan	DiLig	

4.4 Lignane

4.4.1 Identifizierung der einzelnen Lignane

An phenolischen Inhaltsstoffen enthält das Holz von *Picea abies* überwiegend die Stoffgruppe der Lignane. Die einzelnen Lignane und Oligolignane wurden durch verschiedene chromatographische Techniken getrennt und identifiziert. Tabelle 4.7 listet die Namen und Abkürzungen aller im Holz und Holzschliff detektierten Lignane und Oligolignane auf. Viele der Lignane (Pino, MR, Con, Lari, Oxo und HMR) wurden schon von Freudenberg und Knof (1957) aus *Picea abies* extrahiert und identifiziert. Andere Lignane wie ConA, Seco, NTG und cLari wurden im Laufe weiterer Untersuchungen bestimmt (Kimland und Torbjörn, 1972; Ekman, 1976; Willför et al., 2003a, 2004a). Des Weiteren ergaben die detaillierten Untersuchungen von Willför et al. (2005a), dass zwei bisher als Isomere des Lignans Liovil bezeichnete Substanzen in Wirklichkeit Isolio und TodoA sind. Die in Tabelle 4.7 aufgeführten Sesquilignane wurden hauptsächlich von Willför et al. (2004c) beschrieben.

Zur Identifizierung der Lignane wurden einige ausgewählte Holz- und Schliffproben mittels GC-MS/MS und HPLC-ESI-MSⁿ analysiert. Dabei konnte bei den GC-MS/MS-Versuchen auf die umfangreiche MS-Datenbank zurückgegriffen werden, die im Laboratory of Wood and Paper Chemistry an der Åbo Akademi University in Turku (Finnland) über Jahrzehnte hinweg aufgebaut wurde. Besonders zahlreichen Arbeiten von R. Ekman und S. Willför erweiterten diese Datenbank wesentlich. Wie bereits in Abschnitt 3.6.2 begründet, werden die GC-MS/MS-Fragmentierungsmuster der Lignane im

Tabelle 4.8: Fragmentierungsmuster von Lignan- und Oligolignan-Substanzen bei der Analyse mittels HPLC-ESI-MSⁿ im negativen Modus. Die Muster der Lignane entsprechen Eklund et al. (2005, 2008). Die Daten für die Sesquiolignane wurden von Willför et al. (2004c) ermittelt. Die ConA- und die DiLig-Werte stammen aus den eigenen Versuchen. Die Hauptfragmente sind fett gedruckt.

Lignan bzw. Oligolignan	M	M-H	MS ²	MS ³
ConA	374	373	314 , 283	283
cLari	360	359	344 , 329	329, 313
TodoA	376	375	327 , 357, 191	191 , 176
HMR	374	373	355 , 311	311, 340, 296
Seco	362	361	165 , 346, 331, 313	315, 223, 179
Lari	360	329 , 359	178 , 299, 192	160 , 147
NTG	374	373	355 , 327	340, 312, 311, 296
Oxo	371	371	356 , 327	327
Pino	358	357	151 , 136, 342	136
Con	356	355	340	325, 311, 295
MR	358	357	342 , 313	298, 324, 313
HMR-sesqui	570	569	551 , 573, 553	n.a.
Seco-sesqui	558	557	539 , 509, 361, 521	n.a.
Lari-sesqui	556	555	525 , 329	507
NTG-sesqui	570	569	551 , 533, 503	533 , 503, 355, 515
Pino-sesqui	554	553	535 , 505, 475	487
Con-sesqui	552	551	533 , 521	337
DiLig	746	745	727, 709	–

n.a. = nicht angeführt

Rahmen dieser Arbeit nicht mit aufgeführt. Auch die HPLC-ESI-MSⁿ-Untersuchungen waren an der Åbo Akademi University durchgeführt worden. Die Identifizierung der Substanzen anhand der Fragmentierungsmuster erfolgte hierbei vor allem mit Hilfe der Veröffentlichungen von Willför et al. (2004c) und Eklund et al. (2005, 2008).

Die Fragmentierungsmuster der HPLC-ESI-MSⁿ-Analysen der Lignane und Oligolignane sind in Tabelle 4.8 dargestellt. Obwohl einige Lignane identische Molmassen aufweisen und somit auch dieselben [M-H]-Fragmente besitzen, ist anhand der weiteren Fragmente [MS²] und [MS³] eine deutliche Unterscheidung zwischen den Lignan-Substanzen möglich. Beispiele hierfür sind HMR, ConA und NTG mit 374 g/mol sowie Pino und MR mit 358 g/mol. Für ConA stellt die Literatur kein Fragmentierungsmuster zur Verfügung. Allerdings war in den GC-MS/MS-Daten einer Probe ein sehr deutliches Signal von ConA vorhanden. Im HPLC-ESI-MSⁿ-Chromatogramm der gleichen Probe blieb nach Peakzuordnung der bekannten Lignane ein Peak übrig, dessen [M-H] ConA entsprach und dessen weitere Fragmentierung sich von HMR und NTG unterschied. Trotz fehlender Standardsubstanz, die Rückschlüsse auf das Fragmentierungsmuster aber auch die Retentionszeit von ConA ermöglicht hätte, gestattete die Kombination der Informationen aus GC-MS/MS und HPLC-ESI-MSⁿ auf diese Weise eine versuchsweise Peakzuordnung.

Tabelle 4.9: Identifizierung der Lignane und Oligolignane mittels verschiedener chromatographischer Techniken. Bei HPLC-UV-DAD sind nur die Lignane mit „x“ markiert, welche anhand von Standardsubstanzen bestimmt wurden (vergleiche Tabelle 3.6). Substanzen mit „(x)“ wiesen nur sehr schwache Fragmentierungsmuster auf.

Lignan	Kernholz und Holzschliffe		
	GC-MS/MS	HPLC-ESI-MS ⁿ	HPLC-UV-DAD
Isolio	x	x	–
ConA	x	x	–
cLari	–	x	–
TodoA	x	x	–
HMR	x	x	x
iso-HMR	x	–	–
Seco	x	x	x
Lari	x	x	x
NTG	x	x	–
Oxo	–	x	x
Pino	x	x	x
Con	x	x	x
MR	x	x	x
TodoA-sesqui	x	–	–
HMR-sesqui	x	(x)	–
Seco-sesqui	–	(x)	–
Lari-sesqui	x	x	–
NTG-sesqui	–	x	–
Pino-sesqui	–	(x)	–
Con-sesqui	–	(x)	–
DiLig	–	x	–

Des Weiteren enthielten fast alle per HPLC-ESI-MSⁿ untersuchten Proben einen Peak, dessen Fragmentierungsmuster in Tabelle 4.8 unter der Bezeichnung DiLig aufgeführt wird. Der hohe [M-H]-Wert von 745 g/mol weist auf eine Substanz hin, welche noch größer als die detektierten Sesquilignane ist. Willför et al. (2004c) stellten mehrere Peaks im Molmassenbereich 700 – 750 g/mol fest. Die Autoren vermuteten, dass diese Substanzen den Dilignanen, welche aus vier Phenylpropaneinheiten aufgebaut sind, zuzuordnen sind. Daher wurde DiLig als mögliches, nicht weiter charakterisiertes Dilignan aufgenommen. Die Möglichkeit, dass DiLig kein Dilignan sondern etwa ein Ligninbruchstück ist, kann hierbei nicht ausgeschlossen werden.

Tabelle 4.9 zeigt, welche Substanz mit welcher Technik nachgewiesen werden konnte. Die Aufstellung verdeutlicht, dass beide massenspektroskopischen Verfahren fast alle Lignane detektieren konnten. Wenige Lignane wie cLari, iso-HMR und Oxo konnten jeweils nur von einer der beiden Techniken identifiziert werden. Dies war hauptsächlich auf die geringen Signale dieser Lignane zurückzuführen. Bei den GC-MS/MS-Analysen gelang nur von drei Sesquilignanen die Identifikation. Mehr Informationen erbrachten

die HPLC-ESI-MSⁿ-Untersuchungen, auch wenn die Fragmentierungsmuster der Sesquignane häufig schwach ausgeprägt waren, so dass zum Teil nur das Fragment [M-H] verwertbar war. Zusätzlich zeigt Tabelle 4.9 welche Lignane durch die Analyse verfügbarer Standardsubstanzen im HPLC-UV-DAD anhand der Retentionszeit sowie des UV-Spektrums detektiert und nach Bestimmung der Wiederfindungswerte (Tabelle 3.6) auch quantifiziert werden konnten.

In Abbildung 4.25 werden das HPLC-ESI-MSⁿ-Chromatogramm (UV-Signal) sowie das HPLC-UV-DAD-Chromatogramm des Aceton/Wasser-Extraktes von FEi Kernholz exemplarisch einander gegenüber gestellt. Trotz der Unterschiede bezüglich Eluenten, Gradienten und eingesetzter Säule weisen die Peaks der beiden Chromatogramme eine gut übereinstimmende Elutionsreihenfolge auf. Dies konnte mit Hilfe von Standardsubstanzen auch für einige Lignane nachgewiesen werden (fett gedruckte Ziffern). Da allerdings für Substanzen wie Isolio, Lari-sesqui oder DiLig keine Standardsubstanzen vorlagen, wäre eine quantitative Auswertung nur sehr eingeschränkt möglich gewesen. Infolgedessen wurden zur Ermittlung der Lignangehalte nur diejenigen Peakflächen der HPLC-UV-DAD-Chromatogramme verwendet, deren Substanzidentität über die Retentionszeit und das UV-Spektrum der Standardsubstanzen bestätigt wurde. Die zugehörigen Wiederfindungswerte sind in Tabelle 3.6 aufgelistet.

4.4.2 Lignangehalte der verschiedenen Proben

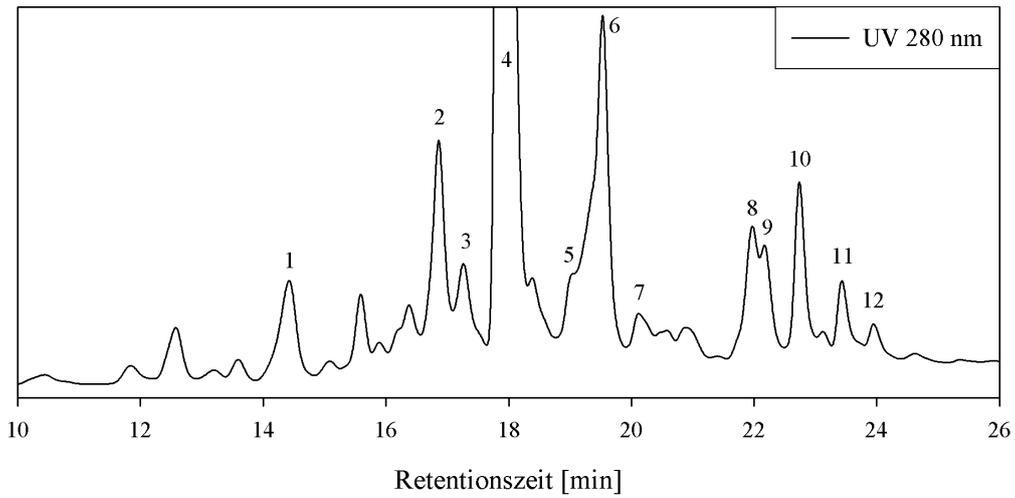
Die Summe der mittels HPLC-UV-DAD bestimmten Lignaneinzelgehalte werden in Abbildung 4.26 gestaffelt nach der Probenart als Box-Plot dargestellt. Hierbei wurde auf die sonst übliche Darstellung der Ausreißerwerte (●) verzichtet, da die zum Teil sehr hohen Ausreißerwerte aufgrund der großen Unterschiede zwischen den verschiedenen Proben die Aussagekraft der Abbildung deutlich verringerten.

Abbildung 4.26 zeigt, dass das Kernholz die höchsten Lignangehalte aufweist. Dagegen konnten die Lignane im Splintholz nur in Spuren detektiert werden. Die Werte für das sogenannte „Restholz“ lagen zwischen den Lignangehalten von Kern- und Splintholz, da es das Holz der Übergangszone von Splint- zu Kernholz enthielt. Im Gegensatz zum Kern- und „Restholz“ waren die Werte für den Holzschliff deutlich geringer, in der Verteilung der Werte allerdings homogener.

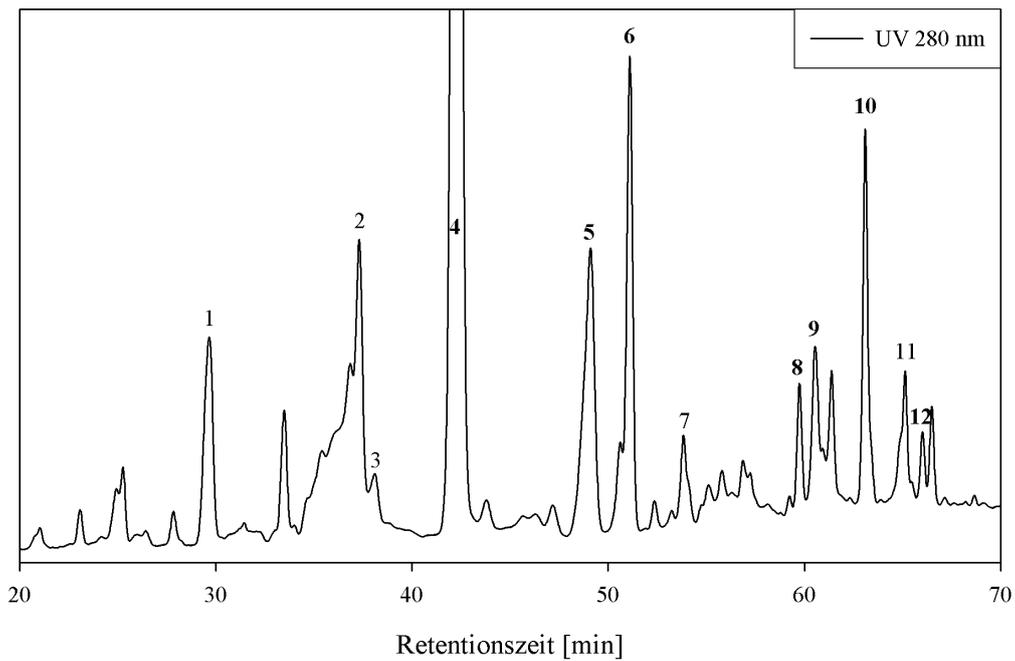
Ekman (1979a) zeigt, dass Lignane fast hauptsächlich im Kernholz der Fichte vorkommen und im Splintholz nur in geringen Mengen detektiert werden können. Das Kernholz zweier verschiedener Fichtenstämme enthielt dabei 1,8 bzw. 0,9 mg/g Lignane. Willför et al. (2004a) bestimmten Lignangehalte von 0,07 – 0,39 mg/g im Fichtensplintholz und 0,16 – 12 mg/g im Fichtenkernholz. Mit Lignangehalten im Kernholz von 1,5 mg/g (25. Perzentil) bis 6,5 mg/g (75. Perzentil) wurden in den eigenen Analysen Werte bestimmt, welche gut mit der Literatur übereinstimmen. Gleichzeitig liegen die Lignangehalte für Fichtensplintholz im Bereich der Werte von Willför et al. (2004a). Der obere Whisker beim Kernholz-Box-Plot (≈ 18 mg/g) deutet jedoch an, dass z. T. auch deutlich höhere Werte festgestellt wurden. Diese hohen Werte werden in einem späteren Abschnitt diskutiert.

Dagegen war die Variation der ermittelten Lignangehalte bei allen untersuchten Holz-

4 Ergebnisse und Diskussion



(a) HPLC-ESI-MSⁿ (UV-Signal)



(b) HPLC-UV-DAD

Abbildung 4.25: Chromatogramme der Aceton/Wasser-Extrakte von FEl Kernholz, welche in Åbo (a) and Hamburg (b) per HPLC analysiert wurden. Die detektierten Lignane sind Isolio (1), cLari (2), TodoA (3), HMR (4), Seco (5), Lari (6), Lari-sesqui (7), Oxo (8), Pino (9), Con (10), DiLig (11) und MR (12). Bei fett gedruckten Ziffern wurde für (b) die Identifizierung anhand von Standardsubstanzen bestätigt.

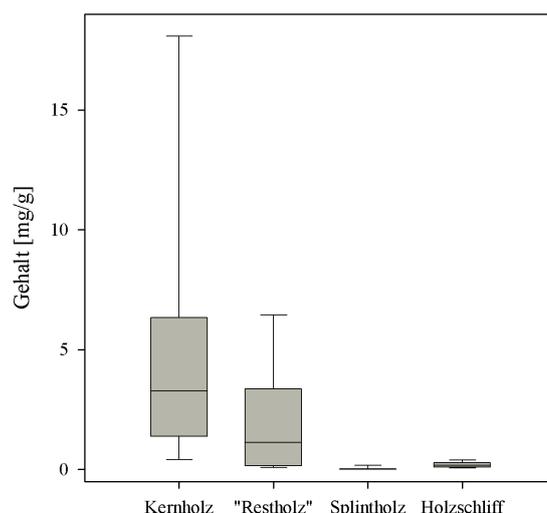


Abbildung 4.26: Lignangehalte in Abhängigkeit von der Probenart.

schliffen sehr gering. Mit einem Durchschnittswert von 0,2 mg/g wiesen die Holzschliffe zudem durchgehend sehr niedrige Werte auf. Dies kann zum Teil auf einen hohen Splintholzanteil zurückgeführt werden. Die Holzfeuchteprofile der frisch eingeschlagenen und gelagerten Stämme (Abbildungen 4.2 bis 4.5) haben gezeigt, dass von den vier Holzfeuchtestufen meist nur die innerste D-Stufe Holzfeuchten hat, welche auf das Vorhandensein von Kernholz hinweisen. Bei einer vereinfachten Annahme von 75 % Splintholzanteil mit 0 mg/g Lignan und 25 % Kernholzanteil wurden daher in Bezug auf das 25. und 75. Perzentil des Lignangehalts von Kernholz (Abbildung 4.26) etwa zwischen 0,4 und 1,6 mg/g Lignane im Holzschliff erwartet. Mit durchschnittlich 0,2 mg/g konnten in den Holzschliffen jedoch nur geringere Werte als theoretisch berechnet festgestellt werden. In zahlreichen Veröffentlichungen wurde dargestellt, dass während der Holzstoffherstellung Lignane aus dem Holz in die Prozesswässer gehen (Böttger et al., 1978; Schmitt und Schrempp, 1988; Ekman und Holmbom, 1989; Holmbom und Sundberg, 2003).

Abgesehen von der Tatsache, dass Lignane sich im Prozesswasser lösen, ist auch eine geringere Effektivität bei der Extraktion der Holzschliffe mittels ASE im Vergleich zu den Holzproben als Ursache denkbar. Allerdings wurde von Thurbide und Hughes (2000) bei der Extraktion von Holzstoffen mit ASE eine höhere Ausbeute im Vergleich zur Soxhlet-Extraktion festgestellt. Des Weiteren ergab die Extraktion und anschließende HPLC-Analyse eines Industrieholzschliffes (Stora Enso, Maxau, April 2007) Lignangehalte von ≈ 3 mg/g, so dass die Extraktionsmethode selbst nicht für die geringen Werte der im halbtechnischen Maßstab hergestellten Holzschliffe verantwortlich sein konnte. Die Werte des Industrieholzschliffes sind mit den Werten von reinem Fichtenkernholz vergleichbar. Auch Ekman und Holmbom (1989) detektierten in einem Industrieholzschliff mit 2,1 mg/g höhere Lignangehalte als sie anhand der Splint- und Kernholzanteile angenommen hatten. Die Autoren führten dies auf die Äste im Stammholz zurück, welche

sich generell durch sehr hohe Lignankonzentrationen auszeichnen.

Im Gegensatz zum halbtechnischen Holzschliffprozess wird beim industriellen Holzschleifen nicht ständig Frischwasser eingesetzt, sondern ein Großteil der Prozesswässer im Kreis geführt. Nach Böttger et al. (1978) kommt es im Laufe der Holzschliffherstellung zu einer Anreicherung von „ligninähnlichen“ Substanzen im Prozesswasser. Dabei sind die Gehalte im Wasser umso höher, je länger die Schleifer ohne Unterbrechung betrieben werden. Örsa et al. (1997) demonstrierten, dass die „ligninähnlichen“ Substanzen, welche aus Fichtenholzspänen bei Kontakt mit heißem Wasser freigesetzt wurden, hauptsächlich aus Lignanen bestanden, so dass mit hoher Wahrscheinlichkeit auch die „ligninähnlichen“ Substanzen von Böttger et al. (1978) überwiegend Lignane waren. Während Örsa et al. (1997) 10 mg/l Lignane und Ekman und Holmbom (1989) 85 mg/l Lignane im Wasser detektierten, konnten bei Untersuchungen an zwei verschiedenen Holzschlifffiltraten der Industrie (Stora Enso, Maxau) Lignanwerte von ≈ 475 bzw. ≈ 400 mg/l festgestellt werden. Die Gehalte der Filtrate stimmen gut mit den Angaben von Böttger et al. (1978) überein. Sie ermittelten bei industriellen Holzschleifern, die lange ohne Unterbrechung betrieben wurden, Werte von bis zu 722 mg/l.

Da auch Lignane nur bis zu einer bestimmten Konzentration wasserlöslich sind, können die bis zu einem gewissen Grad mit Lignanen gesättigten Prozesswässer für die hohen Lignankonzentrationen der Industrieholzschliffe mitverantwortlich sein, da die Sättigung zu einer verringerten Freisetzung von Lignanen aus dem Fichtenholz führt. Im Umkehrschluss müssten sich aus den mit Frischwasser produzierten halbtechnischen Holzschliffen größere Mengen an Lignanen lösen, da hier der Sättigungseffekt nicht zum Tragen kommt. Infolgedessen können die geringen Lignangehalte der Holzschliffe (Abbildung 4.26) auf einen hohen Splintholzanteil des Rohstoffs sowie das Lösen von Lignanen im Prozesswasser des halbtechnischen Holzschleifers und anschließender Entfernung bei der Entwässerung zurückgeführt werden.

4.4.3 Zusammensetzung der Lignane

Nach Betrachtung der Summenwerte werden nun die ermittelten Lignaneinzelgehalte dargestellt. Abbildung 4.27 listet die Werte der quantifizierten Lignane getrennt nach Materialart auf. Analog zu Abbildung 4.26 wurde auch bei den Einzelwerten auf die Darstellung der Ausreißerwerte verzichtet.

Sämtliche Proben wiesen bezüglich der relativen Lignananteile deutliche Übereinstimmungen auf. In allen Fällen war HMR das dominierende Lignan und die restlichen Lignane kamen in deutlich geringeren Mengen vor. Zahlreiche Veröffentlichungen belegen, dass HMR bei *Picea abies* mit Abstand den höchsten Anteil an den Lignanen ausmacht (Freundenberg und Knof, 1957; Ekman, 1979a; Holmbom et al., 2003; Willför et al., 2003a; Hovelstad et al., 2006). Dagegen zeichnen sich etwa *Picea sitchensis* und *Picea pungens* durch hohe Gehalte an Liovil (Isolio und TodoA) aus (Willför et al., 2004a). Des Weiteren dominiert im Astholz viele *Abies*-Arten das Lignan Seco (Willför et al., 2004b).

Im Kernholz von *Picea abies* bestimmte Ekman (1979a) 1,05 bzw. 0,55 mg/g HMR (≈ 60 % des Gesamtlignans). Bei Willför et al. (2004a) schwankten die HMR-Gehalte im Kernholz zwischen 0,05 und 7,2 mg/g, was einem HMR-Anteil von 32 % bzw. 60 % ent-

4 Ergebnisse und Diskussion

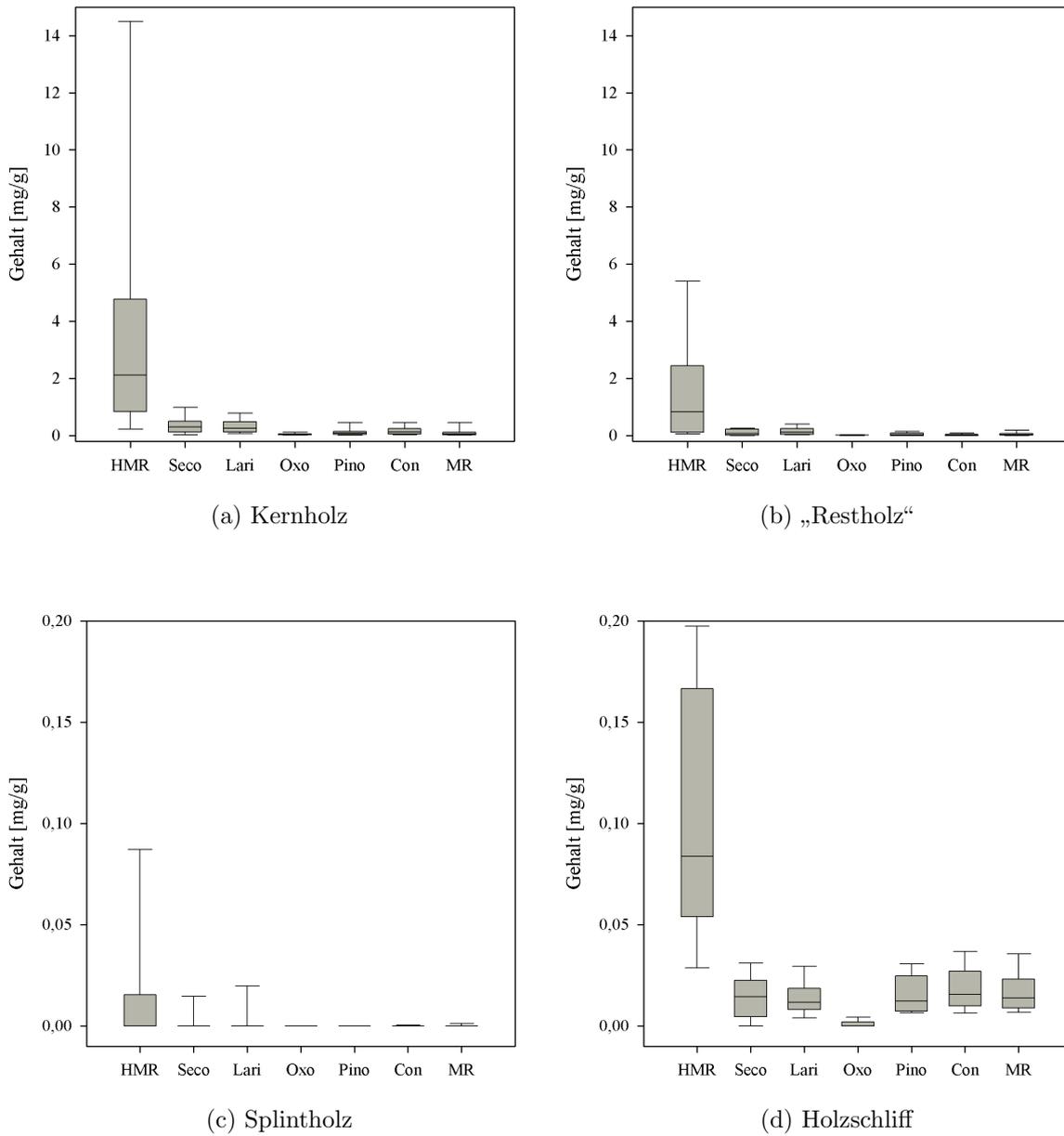


Abbildung 4.27: Lignanzusammensetzung der unterschiedlichen Probenarten.

sprach. Unter Einbezug des 25. und 75. Perzentils konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit im Kernholz zwischen 0,8 und 4,7 mg/g HMR detektiert werden. Im Verhältnis zu den korrespondierenden Gesamtlignanwerten entspricht dies HMR-Anteilen im Bereich von 53 bis 72 %.

Auch im Splintholz (Abbildung 4.27c) war in den Fällen, in denen überhaupt Lignane nachgewiesen werden konnten, HMR das bestimmende Lignan. Folglich bestätigt ein Vergleich der Lignanzusammensetzung im Kernholz (Abbildung 4.27a) mit der des „Restholzes“ (Abbildung 4.27b), dass das „Restholz“ einen Teil Kern- und einen Teil Splintholz enthält. Kern- und „Restholz“ unterscheiden sich zwar in ihren absoluten Gehalten, aber die relativen Lignananteile bewegen sich auf dem gleichen Niveau.

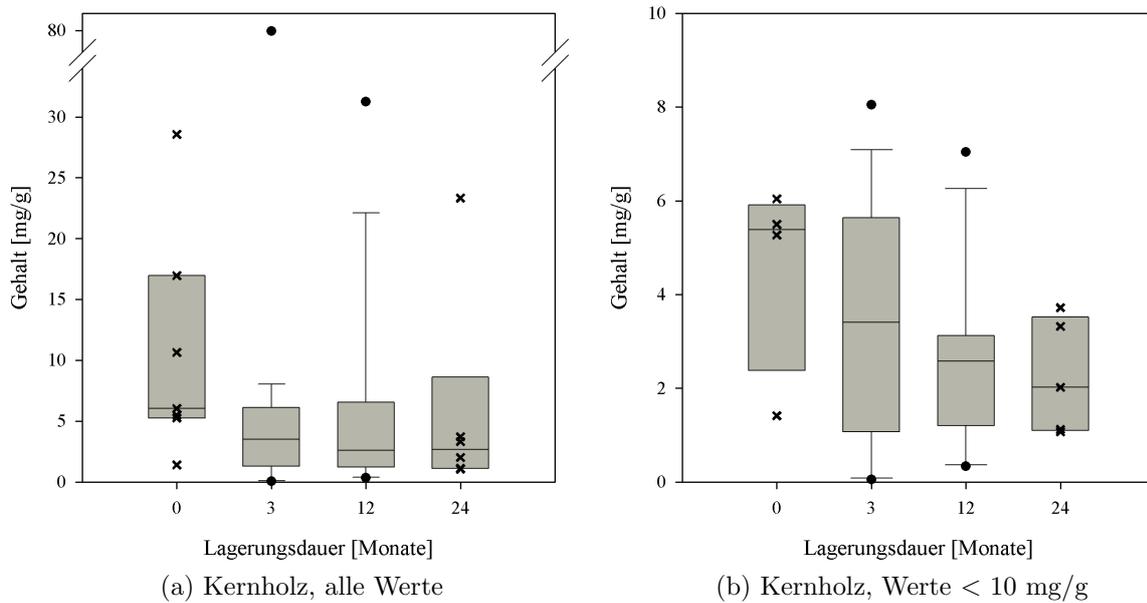
Neben den verschiedenen Holzproben zeichnet sich auch bei den Holzschliffproben ab, dass HMR den höchsten Anteil an den Lignanen ausmacht (Abbildung 4.27d). Trotz der geringen Lignangehalte der Holzschliffe sind daher im Vergleich zu Kern- und „Restholz“ keine wesentlichen Unterschiede in der anteiligen Lignanzusammensetzung zu erkennen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass sich die Lignane während des Schleifens in sehr gleichmäßigen Raten im Prozesswasser lösen. Da die Fichtenholzlignane chemisch sehr ähnlich aufgebaut sind, weisen sie vergleichbare Eigenschaften wie etwa beim Lösungsverhalten auf. Ekman und Holmbom (1989) fanden im Industrielholzschliff und im Prozesswasser ebenfalls eine vergleichbare Lignanzusammensetzung, wobei der HMR-Anteil 56 bzw. 52 % der Lignane betrug.

4.4.4 Lignangehalt im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Da die Lignane im Holz von *Picea abies* fast ausschließlich im Kernholz lokalisiert sind, werden eventuelle Veränderungen, welche im Laufe der Lagerung bezüglich der Lignane auftreten, nur anhand der Kernholzproben behandelt.

Abbildung 4.28 stellt die Lignangehalte im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer dar. Im Gegensatz zu den Abbildungen 4.26 und 4.27 werden hier die Box-Plots mit sämtlichen Ausreißerwerten (●) aufgeführt. Dabei wurden in Abbildung 4.28a alle ermittelten Werte eingesetzt. Die Ausreißerwerte bewegen sich im Bereich von etwa 25 bis zu 80 mg/g und überschreiten somit erheblich den Mengenbereich von Kernholzlignanen. Derart hohe Lignankonzentration lassen sich auf das Vorkommen von Astholz im Probenmaterial zurückführen. Besonders das ins Stammholz eingebettete Astholz von *Picea abies* ist durch sehr hohe Lignankonzentrationen gekennzeichnet. Willför et al. (2004a) detektierten im Astholz Lignanwerte von 54 – 110 mg/g. Piispanen et al. (2008) stellten Werte von 20 – 110 mg/g Lignane in Astholz fest. Des Weiteren traten die hohen Lignanwerte nicht nur bei den gelagerten, sondern auch den ungelagerten Proben auf. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die Werte nicht auf Veränderungen im Laufe der Lagerung zurückzuführen sind, sondern auf Verunreinigungen mit Astholz basieren.

Da das Astholz eine sehr deutliche Beeinflussung der Lignangehalte zur Folge hat, werden die Kernholzproben mit sehr hohen Lignankonzentrationen in einem zweiten Schritt bei der Bewertung ausgeschlossen. Als Ausschlussgröße werden hierbei 10 mg/g festgelegt. Abbildung 4.28b basiert daher nur auf den Kernholzproben, deren Lignan-



Abbildungung 4.28: Lignangehalt des Kernholzes in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer. Während bei (a) alle Werte dargestellt werden, enthält (b) nur Werte < 10 mg/g.

gehalt < 10 mg/g ist. Der Vergleich von Abbildung 4.28a und 4.28b verdeutlicht den Einfluss der überdurchschnittlich hohen Lignanwerte auf die Box-Plots. So vermittelt Abbildung 4.28a, dass in den gelagerten Proben deutlich weniger Lignane als in den frischen Proben (0 Monate Lagerung) detektiert wurden. Gründe hierfür sind die relativ geringe Zahl der frischen Proben und die zusätzlich vorkommenden Häufung von Astholz, welche dazu führen, dass die hohen Lignanwerte die Darstellung der Box-Plots verzerren.

Nach Ausblendung der Lignanwerte ≥ 10 mg/g wird ersichtlich, dass sich die Box-Plots aller Proben deutlich überschneiden. Infolgedessen kann im Kernholz bezüglich der Lignane keine Abhängigkeit von der Lagerungsdauer festgestellt werden. Stattdessen werden die Beobachtungen von Ekman und Hafizoğlu (1993) bestätigt, dass bei der Wasserlagerung von Fichtenstämmen die Lignane des Kernholzes keine auffälligen Veränderungen im Zuge der Lagerung erfahren.

4.4.5 Lignangehalt im Kernholz in Abhängigkeit von der Lagerungsart

Nach Betrachtung der Lagerungsdauer vergleicht Abbildung 4.29 die Lignangehalte im Kernholz bei verschiedenen Lagerungsarten. Zur Ermittlung der Box-Plots wurden in Abbildung 4.29a alle ermittelten Werte und in Abbildung 4.29b nur die Lignangehalte < 10 mg/g berücksichtigt. Insbesondere bei UF ist der Einfluss der überhöhten Lignangehalte auf die Box-Plots sehr deutlich.

Bei der Lagerung von Sugi-Stammholz (*Cryptomeria japonica*) wurden im Splintholz

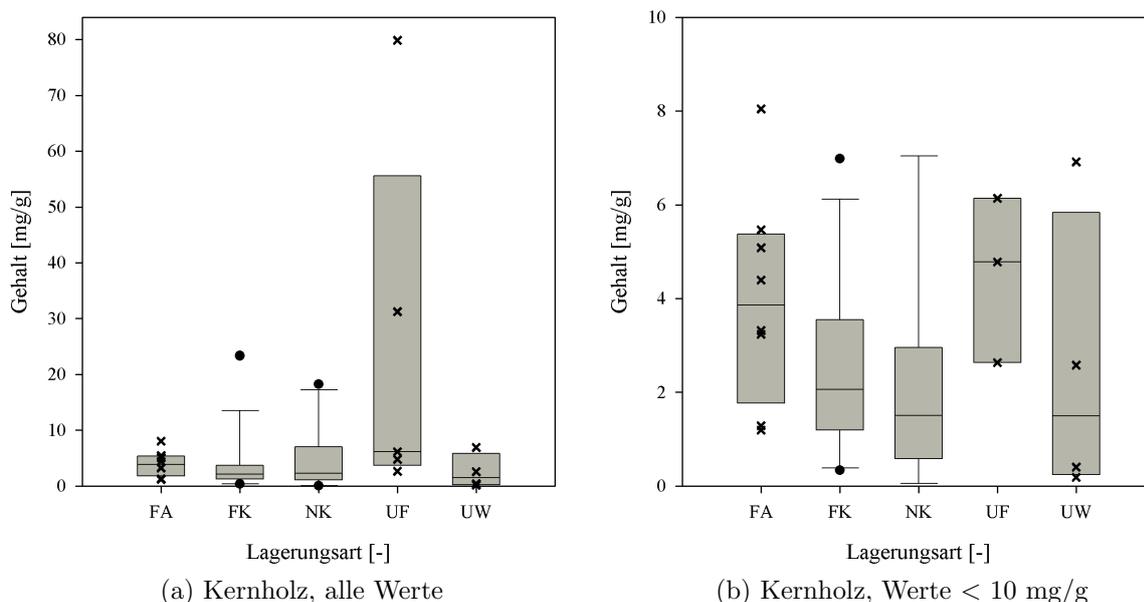


Abbildung 4.29: Lignangehalt des Kernholzes in Abhängigkeit von der Lagerungsart. Zwischen einer Lagerung mit und ohne Rinde wird nicht unterschieden. Während (a) alle Werte darstellt, enthält (b) nur Werte < 10 mg/g.

die Lignane MR und Pino sowie Catechin und das Norlignan Agatharesinol detektiert (Imai et al., 2005). Diese Substanzen waren direkt nach der Holzernte noch nicht vorhanden und müssen daher im Laufe der Lagerung gebildet worden sein. Auch Yoshida et al. (2006) stellten fest, dass in lagerndem Sugi-Splintholz die Norglignane Agatharesinol und Hinokiresinol gebildet werden. Zusätzlich berichteten sie, dass während der bei der Lagerung erfolgenden Trocknung in der Übergangszone zwischen Splint- und Kernholz eine verstärkte Akkumulation dieser Substanzen stattfand. Die Übergangszone wird hierbei als Bereich verstanden, in welchem Extraktstoffe während der Kernholzbildung synthetisiert werden (Magel, 2000). Imai et al. (2005) und Yoshida et al. (2006) gingen davon aus, dass die Verringerung der Holzfeuchte die Bildung der phenolischen Substanzen und im übertragenen Sinne die Bildung von Kernholz mit initiiert hatte. Prinzipiell ist es daher möglich, dass auch im Splintholz von *Picea abies* solche Vorgänge ablaufen können. Bei den hier vorgestellten Lagerungsarten zeigte nur UF im Laufe der Lagerung eine deutliche Verringerung der Holzfeuchte (vergleiche Abschnitt 4.1). Im Splintholz der UF-Proben reicherten sich aber keine phenolischen Substanzen an (Daten nicht aufgeführt). Die nachträgliche Bildung von phenolischen Substanzen im Kernholz ist nicht möglich, da dort keine lebenden Zellen mehr vorhanden sind und die Holzfeuchte schon gering ist. Aus diesem Grund ist es sehr wahrscheinlich, dass die hohen Lignanwerte im Kernholz von UF (Abbildung 4.29a) nicht durch Vorgänge während der Lagerung, sondern durch das Vorhandensein von lignanreichem Astholz bedingt sind.

Den Box-Plots in Abbildung 4.29b (Lignangehalte < 10 mg/g) zufolge unterscheiden

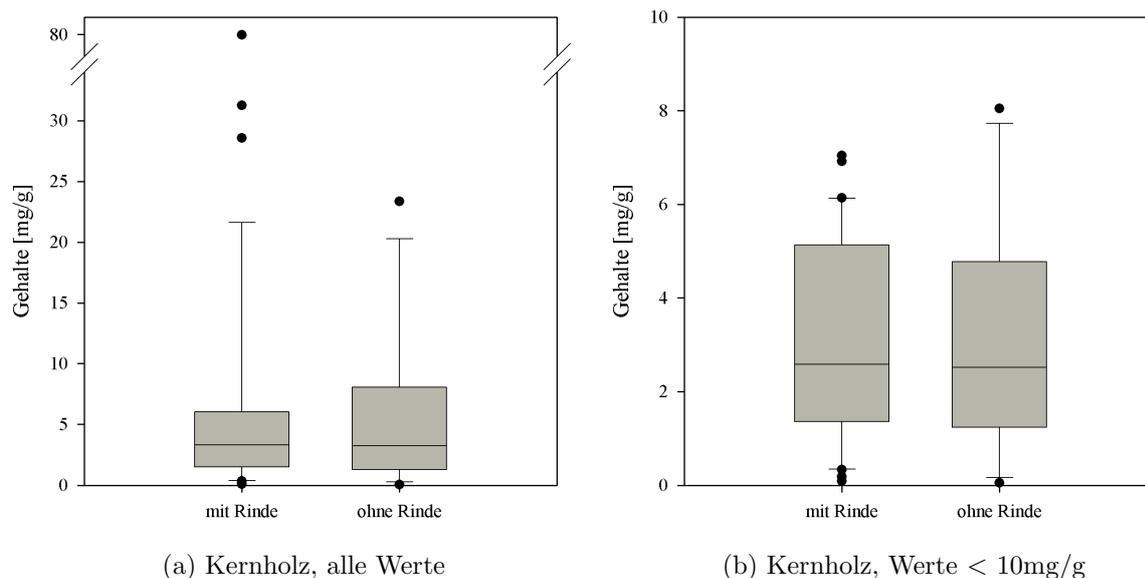


Abbildung 4.30: Lignangehalt im Kernholz bei Lagerung mit und ohne Rinde. Während (a) alle Werte darstellt, enthält (b) nur Werte < 10 mg/g.

sich die Lignangehalte im Kernholz nur innerhalb der natürlichen Variabilität der Kernholzlignankonzentrationen von *Picea abies*. Aufgrund der vorliegenden Daten können daher keine spezifischen Veränderungen der Lignangehalte im Kernholz in Abhängigkeit von der eingesetzten Lagerungsart festgestellt werden.

4.4.6 Lignangehalt im Kernholz bei Lagerung mit und ohne Rinde

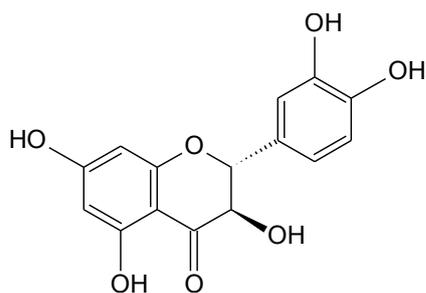
Nachdem sowohl die Lagerungsdauer (Abbildung 4.28), als auch die Lagerungsart (Abbildung 4.29) keinen Effekt auf den Lignangehalt im Kernholz von *Picea abies* haben, wird abschließend ein eventueller Einfluss der Lagerung in bzw. ohne Rinde (Abbildung 4.30) untersucht. Die Box-Plots der beiden Fälle „alle Werte“ (Abbildung 4.30a) und „Werte < 10 mg/g“ (Abbildung 4.30b) verdeutlichen jedoch eindeutig, dass sich der Berindungsgrad in keiner Weise auf den Lignangehalt im Kernholz auswirkt.

Somit konnte gezeigt und die Angaben von Ekman und Hafizoğlu (1993) bestätigt werden, dass der Lignangehalt im Kernholz von *Picea abies* während der Lagerung nicht im erkennbaren Maß verändert wird.

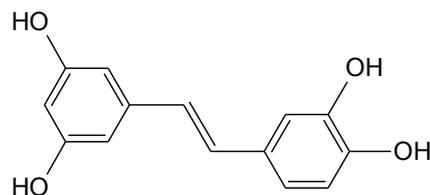
4.5 Nicht-lignanstämmige phenolische Substanzen

4.5.1 Identifizierung der nicht-lignanstämmigen Substanzen

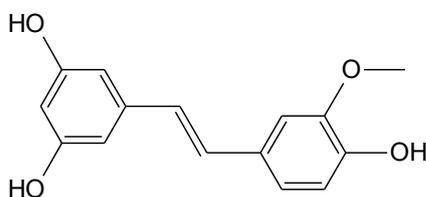
Neben den in Abschnitt 4.4 aufgeführten Lignanen wurden in einigen Aceton/Wasser-Extrakten von Splintholz weitere phenolische Substanzen per GC-MS/MS, HPLC-ESI-



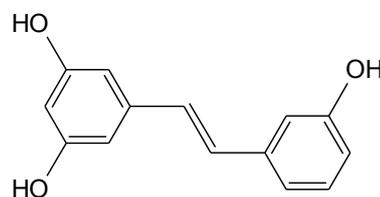
(a) Dihydroquercetin



(b) Astringenin



(c) Isorhapontigenin



(d) Astringenin

Abbildung 4.31: Strukturformeln von Dihydroquercetin, Astringenin, Isorhapontigenin und Resveratrol.

MSⁿ und HPLC-UV-DAD detektiert. In Abgrenzung zu den Lignanen werden diese Substanzen zunächst als nicht-lignanstämmige phenolische Substanzen bezeichnet.

So wurden zum Beispiel die Substanzen Vanillin, Coniferin und Coniferylalkohol identifiziert, welche dem Lignin und der Ligninbiosynthese zugeordnet und daher erwartungsgemäß in Spuren aus dem Splintholz von *Picea abies* extrahiert werden konnten (Freundenberg und Neish, 1968; Higuchi, 2006). Da die Peaks dieser Substanzen im Verlauf der Lagerung keine auffälligen Veränderungen aufwiesen, wurden sie nicht quantifiziert.

Zusätzlich konnte das Vorkommen der drei Stilbene Astringenin (Ast), Isorhapontigenin (Isor) und Resveratrol (Res) festgestellt werden (Abbildung 4.31). Die wissenschaftlichen Bezeichnungen der Stilbene und ihre Glucosid-Trivialnamen sind in Tabelle 4.10 aufgeführt. Das Flavonoid Dihydroquercetin (Dih, auch Taxifolin genannt) konnte ebenfalls detektiert werden. Des Weiteren wurde Catechin identifiziert. Es wurde allerdings aufgrund der äußerst geringen Signale nicht quantitativ erfasst. Für das natürliche Vorkommen dieser phenolischen Extraktstoffe in gesundem Fichtenholz gab es in der Literatur keine Hinweise.

Alle hier genannten nicht-lignanstämmigen Substanzen konnten per GC-MS/MS detektiert werden, wobei ihre Fragmentierungsmuster wie bereits in Abschnitt 3.6.2 be-

Tabelle 4.10: Stilbene und Stilbenglucoside, die in Aceton/Wasser-Extrakten von Splintholzproben detektiert wurden. Die Abkürzungen sind in Klammern angegeben.

Stilben	Trivialname	Glucosid
3,4',5-Trihydroxystilben	Resveratrol (Res)	Piceid
3,3',4,4'-Tetrahydroxystilben	Astringenin ^{a)} (Ast)	Astringin
3,4',5-Trihydroxy-3'-Methoxystilben	Isorhapontigenin (Isor)	Isorhapontin

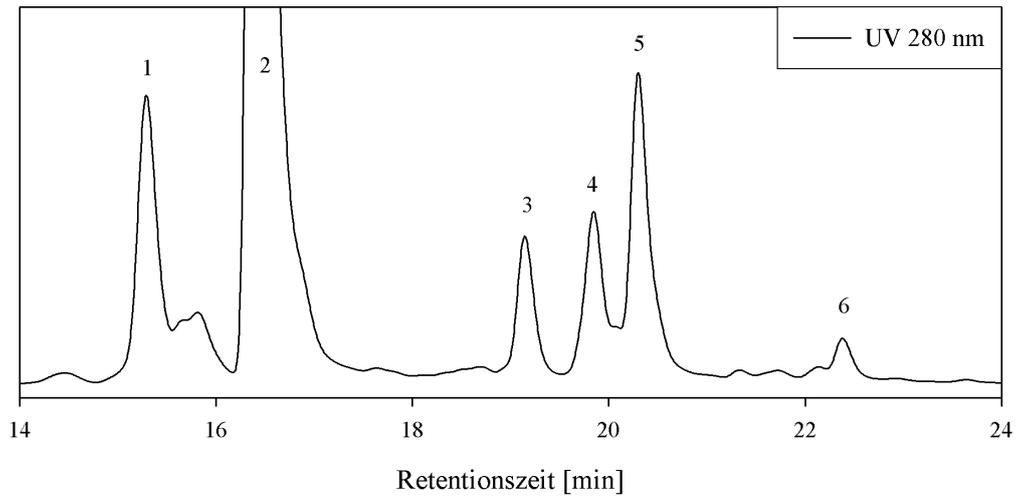
a) auch Piceatannol genannt

Tabelle 4.11: Fragmentierungsmuster der phenolischen Extraktstoffe im Splintholz aus den Untersuchungen mittels HPLC-ESI-MSⁿ im negativen Modus. Die Hauptfragmente sind fett gedruckt. In den meisten Referenzen wird nur M-H angegeben.

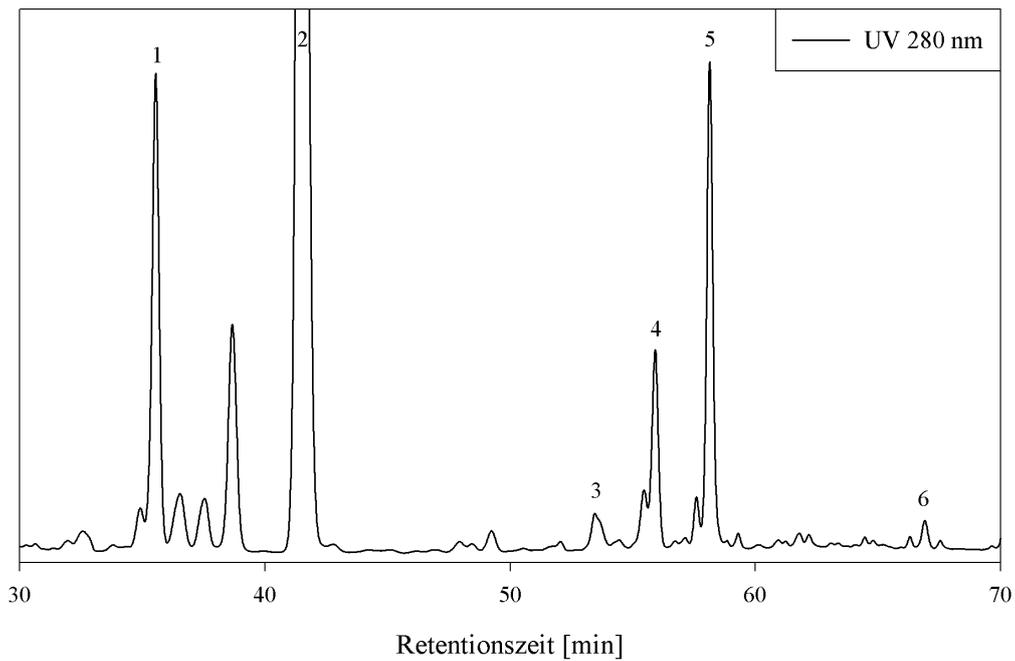
Substanz	M	M-H	MS ²	MS ³	Referenz
Catechin	290	289	245	203, 188	a
Vanillin	152	151	136	–	–
Dihydroquercetin	304	303	285	241, 175	b
Astringenin (A + B)	244	243	225 , 201	–	c, d
Dihydroastringenin	246	245	123	–	–
Resveratrol	228	227	185 , 159, 123	–	a, c, e, f
Dihydroresveratrol	230	229	123	–	–
Isorhapontigenin (A + B)	258	257	241, 242	224	–
Dihydroisorhapontigenin	260	259	137 , 242	122	–

a: Monagas et al. (2005); b: Lin und Harnly (2007); c: Ku et al. (2005); d: Buiarelli et al. (2007)
e: Wang et al. (2005); f: Jean-Denis et al. (2006)

4 Ergebnisse und Diskussion



(a) HPLC-ESI-MSⁿ (UV-Signal)



(b) HPLC-UV-DAD

Abbildung 4.32: Chromatogramme der Aceton/Wasser-Extrakte von FK1 3 Splintholz, welche in Åbo (a) and Hamburg (b) per HPLC analysiert wurden. Die detektierten Substanzen sind Dihydroquercetin (1), Astringenin A + Dihydroastringenin (2), Astringenin B (3), Resveratrol + Dihydroresveratrol (4), Isorhapontigenin A + Dihydroisorhapontigenin (5), Isorhapontigenin B (6).

gründet im Rahmen der dieser Arbeit nicht mit aufgeführt werden. In einigen Proben konnten mittels GC-MS/MS-Analysen auch die Stilbenglucoside sowie die hydrierten³⁾ „Dihydro“-Formen der Stilbene festgestellt werden. Die mittels HPLC-ESI-MSⁿ identifizierten Substanzen und ihre Fragmentierungsmuster können Tabelle 4.11 entnommen werden. Im Gegensatz zu den GC-MS/MS-Analysen konnten die Stilbenglucoside durch die HPLC-Methoden nicht detektiert werden. Allerdings waren sowohl per GC-MS/MS als auch per HPLC-ESI-MSⁿ bei Ast und Isor je zwei Isomere A und B festgestellt worden. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um die trans- und cis-Isomere der Stilbene (Jerkovic et al., 2005). Der Peak von Isomer B stellt jeweils nur einen Bruchteil der Peakfläche von Isomer A dar (Abbildung 4.32). Zu den „Dihydro“-Formen der Stilbene passende Fragmentierungsmuster konnten in den HPLC-ESI-MSⁿ-Daten ebenfalls festgestellt werden. Allerdings kamen sie nicht als eigene Peaks vor. Vielmehr war das Fragmentierungsmuster der „Dihydro“-Formen in den Stilbenpeaks selbst mit angesiedelt (vergleiche Abbildung 4.32), was auf eine gleichzeitige Elution von Stilben und Dihydro-Stilben hinwies. Die HPLC-ESI-MSⁿ-Fragmentierungsmuster der verschiedenen Substanzen konnten nur teilweise anhand früherer Arbeiten bestätigt werden (siehe Tabelle 4.11). Gleichwohl wurde die Substanzidentifizierung durch die Gesamtinformation aus den GC-MS/MS-Analysen, den HPLC-ESI-MSⁿ-Analysen, den HPLC-UV-DAD-Untersuchungen mit Standardsubstanzen und den theoretischen molaren Massen der Substanzen bestätigt.

In Abbildung 4.32 werden das HPLC-ESI-MSⁿ-Chromatogramm (UV-Signal) sowie das HPLC-UV-DAD-Chromatogramm des Aceton/Wasser-Extraktes von FK1 3 Splintholz exemplarisch einander gegenüber gestellt. Trotz der Unterschiede bezüglich Eluenten, Gradienten und eingesetzter Säule weisen die Peaks der beiden Chromatogramme eine gut übereinstimmende Elutionsreihenfolge auf. Dies konnte mit Hilfe von Standardsubstanzen auch für einige Substanzen bestätigt werden. Als Standardsubstanzen standen Dih, Ast A und Res zur Verfügung. Aufgrund der großen Peakfläche konnte auch auf die Position von Isor A im HPLC-UV-DAD-Chromatogramm geschlossen werden. Diese vier Substanzen wurden quantifiziert, wobei aus Ermangelung einer Standardsubstanz für Isor der Wiederfindungswert von Ast verwendet wurde. Die zugehörigen Wiederfindungswerte sind in Tabelle 3.6 aufgelistet.

4.5.2 Gehalt und Herkunft der nicht-lignanstämmigen Substanzen

Während die Lignane im Kernholz, „Restholz“ und im Holzschliff detektiert wurden, konnten nach Abbildung 4.33a die nicht-lignanstämmigen Substanzen fast ausschließlich aus dem Splintholz extrahiert werden. Lediglich zwei Holzschliffproben wiesen sehr geringe Mengen dieser Substanzen auf. Der Box-Plot von Splintholz zeichnet sich hierbei durch ein Fehlen des unteren Whiskers sowie den Marken für das 25. Perzentil und den Median aus. Diese Box-Plot-Form verdeutlicht, dass bei einer großen Anzahl der Proben die Substanzen nicht festgestellt werden konnten, was mit einem Gehalt von 0 mg/g gleichgesetzt wurde.

³⁾ Hydrierung ist die Addition von Wasserstoff an Mehrfachbindungen.

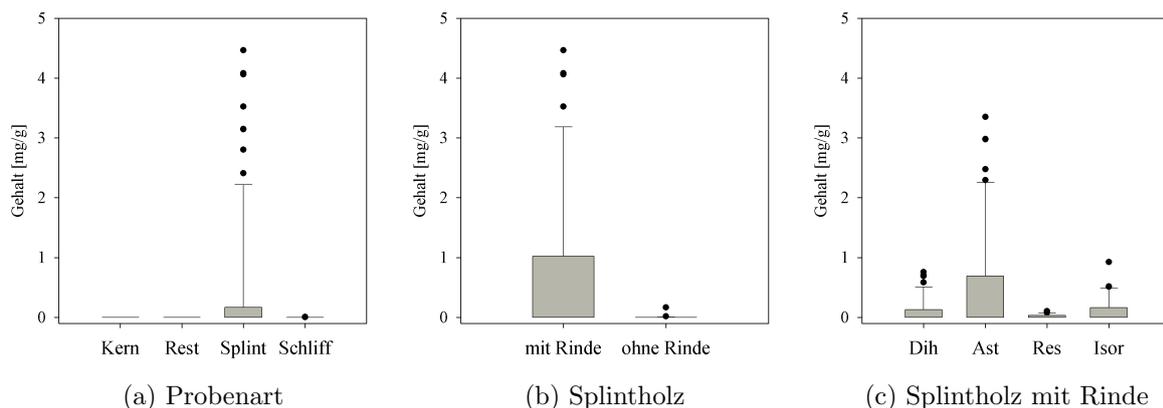


Abbildung 4.33: Abhängigkeit der nicht-lignanständigen phenolischen Extraktstoffe von der Probenart (a) sowie von der Lagerung mit und ohne Rinde (b). Zusammensetzung der nicht-lignanständigen phenolischen Substanzen im Splintholz mit Rinde (c).

Bezüglich der Splintholzproben wurde daher mit der Unterscheidung zwischen der Lagerung in Rinde und der Lagerung ohne Rinde ein weiteres Kriterium zur Verfeinerung der Ergebnisse eingeführt (Abbildung 4.33b). Aus der Abbildung geht eindeutig hervor, dass im Splintholz, dessen Rinde vor der Lagerung entfernt wurde, die nicht-lignanständigen Substanzen nur als Ausreißer angezeigt werden. Sie kamen folglich nur sehr vereinzelt und in geringen Mengen vor. Der Hauptanteil der nicht-lignanständigen Substanzen konnte dagegen im Splintholz nachgewiesen werden, das mit Rinde gelagert wurde. Allerdings deutet auch in diesem Fall die Ausbildung des Box-Plots darauf hin, dass nur ein Teil der Splintholzproben mit Rinde diese Substanzen enthielt. Folglich verursachten Vorgänge während der Lagerung in Rinde nicht gezwungenermaßen das Vorkommen der nicht-lignanständigen Substanzen im Splintholz. Auf der anderen Seite war die Lagerung in Rinde im überwiegenden Maß der Fälle für das Vorkommen der Substanzen im Splintholz erforderlich.

Mit einem Gehalt von etwa 1 mg/g für das 75. Perzentil und maximalen Werten von bis zu etwa 4,5 mg/g konnten im Splintholz mit Rinde Konzentrationen erreicht werden, welche dem unteren Bereich der Lignane im Kernholz entsprachen. Bei der Zusammensetzung der nicht-lignanständigen Substanzen (Abbildung 4.33c) hatte Ast die höchsten Gehalte, gefolgt von Dih und Isor, welche ein ähnliches Niveau aufwiesen. Res folgte an letzter Stelle.

Die nicht-lignanständigen Substanzen waren, abgesehen von den Substanzen, welche dem Lignin zugeordnet werden konnten, keine Bestandteile des gesunden Holzes von *Picea abies*. Deshalb stellt sich die Frage nach der Herkunft dieser Substanzen.

Es besteht die Möglichkeit, dass diese Substanzen während der Lagerung im Splintholz synthetisiert wurden. Die Synthese von Lignanen und Norlignanen ist in lagerndem Holz von *Cryptomeria japonica* beobachtet worden (Imai et al., 2005; Yoshida et al., 2006). Auch das Kallusgewebe von *Picea abies*, welches mechanische Wunden oder Astabbrü-

che durch Überwallungs- oder Flächenwachstum verschließt, kann ein „Überwallungsharz“ freisetzen. Im Gegensatz zu normalem Baumharz setzt es sich nicht aus Harzsäuren sondern hauptsächlich aus Lignanen und verschiedenen Hydroxymzimtsäure-Derivaten zusammen (Holmbom et al., 2008). Den Untersuchungen von Ralph et al. (2006) zufolge weist das Xylem von *Picea sitchensis* bei Befall mit dem holzbohrenden Käfer *Pissodes strobi* eine deutlich erhöhte DNS-Transkription von Dirigentproteingenen auf, welche bei der Lignanbiosynthese eine Rolle spielen (Suzuki und Umezawa, 2007). Die aufgeführten Beispiele zeigen, dass das Fichten-Splintholz neben der Verkernung die Fähigkeit besitzt, auf äußere Einflüsse wie mechanische Verwundung oder Insektenbefall unter anderem durch die Synthese von phenolischen Inhaltsstoffen zu reagieren. Dennoch ist kein Fall bekannt, in welchem Substanzen der Stoffgruppe der Stilbene oder der Flavonoide im Holz von *Picea abies* gebildet wurden.

Stattdessen sind Stilbene und Flavonoide Bestandteile der Fichtenrinde. Weißmann (1981) detektierte bei seinen Untersuchungen der Rindenextrakte von *Picea abies* Dihydroquercetin, die Stilbenglucoside Astringin und Isorhapontin sowie deren Aglucone Astringenin und Isorhapontigenin. Durch Anwendung von Fluoreszenzmikroskopie lokalisierte Solhaug (1990) Astringin und Isorhapontin in der inneren Rinde verschiedener *Picea*-Arten, inklusive *Picea abies*. Der Autor schätzte die Gehalte der Stilbenglucoside auf bis zu 60 mg/g. Auch Toscano-Underwood und Pearce (1991) maßen Stilbenglucosidgehalte auf demselben Niveau. Sie bestimmten die innere Rinde als den Ort mit den höchsten Stilbenglucosidgehalten und stellten zusätzlich fest, dass die Stilbenaglucone in gesundem Gewebe nicht feststellbar sind. Neben den beiden bisher genannten Stilbenen identifizierten Mannila und Talvitie (1992) in den Rindenextrakten von *Picea abies* das Stilbenglucosid Piceid, sowie das korrespondierende Aglucon Resveratrol. Darüber hinaus detektierte Pan (1995) das Glucosid von Dihydroquercetin. Außerdem entdeckten Li et al. (2008) bei ihren Untersuchungen mehrere dimere Stilbenglucoside in den Rindenextrakten von *Picea abies*.

Bezüglich der relativen Stilbenglucosidzusammensetzung stellte Solhaug (1990) höhere Isorhapontin- als Astringin-Werte fest. Nach Mannila und Talvitie (1992) war zumindest die Peakfläche (UV-Signal, 280 nm) von Isorhapontin größer als von Astringin. Toscano-Underwood und Pearce (1991) ermittelten dagegen, dass die beiden Stilbenglucoside in der Nähe des Kambiums in ähnlicher Konzentration vorlagen. Mit fortschreitendem Phloemalter nahm der Astringingehalt zu, und gleichzeitig nahm der Isorhapontingehalt leicht ab, bevor in der äußeren Rinde nur noch geringe Mengen der Stilbenglucoside gefunden werden konnten. Sämtliche Arbeiten stimmen jedoch darin überein, dass Astringin und Isorhapontin in großen Mengen in der Rinde von *Picea abies* vorkommen. Piceid, Astringenin, Isorhapontigenin und Resveratrol wurden dagegen nur in geringen Mengen oder überhaupt nicht detektiert.

Das konzentrierte Vorkommen von Stilbenglucosiden in der Rinde von *Picea abies* und die fast ausschließliche Detektion von Stilbenen und Dihydroquercetin in Splintholz, welches mit Rinde gelagert wurde (Abbildung 4.33), legt einen Zusammenhang der beiden Tatsachen nahe. Zahlreiche Arbeiten berichten bei der Lagerung von berindetem Stammholz über die Migration phenolischer Inhaltsstoffe aus der Rinde ins äußere Splintholz. Nach den Analysen von Adler (1951) wandern während des Flößens „Catechingerbstof-

fe“ aus der Rinde ins Splintholz, wobei der Autor auch nicht ausschloss, dass weitere phenolische Substanzen, wie etwa Dihydroquercetin, aus der Rinde ins Splintholz gelangen. Auch Ullevalseter (1965) beobachtete sowohl bei wassergelagerten als auch bei an Land gelagerten berindeten Fichtenstämmen das Eindringen von „Tannin“. Hierbei wurde das Eindringen viel häufiger bei den wassergelagerten als bei den an Land gelagerten Stämmen registriert. Wilhelmson (1968) sprach von „tannin acids“, welche bei wassergelagerten, aber auch bei beregneten Stämmen aus der Rinde diffundierten. Die unterschiedlich eingesetzten Begriffe zeigen, dass zum Teil keine genau definierten Substanzen detektiert wurden. Erschwerend kommt beim Studium der älteren Artikel die Tatsache hinzu, dass etwa das Stilben Piceatannol (Astringenin) lange Zeit zu den Gerbstoffen gezählt wurde (zitiert bei Rogers (1967) und Hergert (1992)). Zudem wurde die etwa bei Cunningham et al. (1963) aufgeführte Stilbenstruktur von Piceatannol lebhaft angezweifelt. Liese und Karstedt (1971) wiesen dagegen im Splintholz von wassergelagerten Fichtenstämmen Phenole im Allgemeinen und mittels des Eisen-Gerbstoff-Nachweises die Stoffgruppe der Gerbstoffe im Speziellen nach. Auch Lübbers und Groß (1992) sowie Persson und Elowson (2001) führten die braune Verfärbung von Teilen des Splintholzes bei der Nasslagerung von Fichte auf die Gerbstoffe aus der Rinde zurück.

Nach der Wasserlagerung von *Picea abies* in Rinde extrahierten Ekman und Hafizoğlu (1993) dagegen hauptsächlich das Stilben Isorhapontigenin und dessen hydrierte Form Dihydroisorhapontigenin aus dem äußeren Splintholz. Den Überlegungen der Autoren zufolge wandern die Stilbenglucoside aus der Rinde in das Splintholz, wo die Glucose abgespalten und die entstandenen Aglucone zum Teil noch hydriert werden. Dabei vermuteten sie, dass bei der Hydrierung Enzyme aus der Ligninbiosynthese eine Rolle spielen.

Die Auffassung, dass die Stilbene als leicht wasserlösliche Glucoside ins Splintholz gelangen, erscheint schlüssig. Die Analyse der Inhaltsstoffe aus einer einfachen Extraktion von Fichtenrinde mit Wasser bei 30°C, aber auch die Untersuchung der Prozesswässer einer Wasserstrahlentründungsanlage zeigten, dass bei den phenolischen Substanzen die Stilbenglucoside mit Abstand den größten Anteil ausmachen. Sie weisen im Vergleich zu den Stilbenagluconen etwa 40fach höhere Konzentrationen im Wasser auf (Kylliäinen und Holmbom, 2004). Zusätzlich stellten Persson und Elowson (2001) fest, dass eine intensivere Beregnung auch eine stärkere Verfärbung der Stammquerschnitte zur Folge hat, so dass ein höherer Wassereintrag zu einer verstärkten Migration der „Rindensubstanzen“ geführt haben muss.

Für die Abspaltung der Glucose kann das Enzym β -Glucosidase verantwortlich sein, welches bei der Lignifizierung von dem Glucosid Coniferin die Glucose abspaltet, so dass Coniferylalkohol freigesetzt wird (Freudenberg und Neish, 1968). Den Angaben von Woodward und Pearce (1988) sowie Viiri et al. (2001) zufolge führt die Glucosidaseaktivität von Holzpilzen bei ihrem Eindringen in die Rinde dazu, dass die Stilbenglucoside in Aglucone umgewandelt werden, welche eine höhere antimykotische Wirkung aufweisen. Auf diese Weise bilden die Aglucone in Kombination mit weiteren Substanzen eine erste Verteidigungslinie gegen die Pilze, die durch die Pilzaktivität selbst verursacht wird. Prinzipiell können Holzpilze folglich die Umwandlung der Glucoside zu Agluconen unterstützen. Allerdings wurden bei vielen Lagerungsarten die „Rindensubstanzen“ aus dem

Splintholz extrahiert, obwohl äußerlich kein Pilzbefall festgestellt wurde. Eine mögliche β -Glucosidaseaktivität ist daher eher dem Splintholz selbst zuzuordnen.

Zahlreiche veröffentlichte Arbeiten sowie die ermittelten Daten belegen, dass eine Migration der nicht-lignanständigen Substanzen aus der inneren Rinde in das Splintholz von *Picea abies* während der Lagerung von berindetem Stammholz sehr wahrscheinlich ist. Obwohl nur die Aglucone Astringenin, Isorhapontigenin und Resveratrol quantifiziert wurden, konnten die wasserlöslichen Stilbenglucoside aber auch die hydrierten Formen der Stilbenaglucone im Splintholz detektiert werden. Das Flavonoid Dihydroquercetin, welches ebenfalls im berindeten Splintholz detektiert wurde, könnte ebenfalls als Glucosid von der Rinde ins Splintholz transportiert worden sein, bevor die Glucose abgespalten wurde, so dass das Aglucon entstand, da zumindest in der Rinde das Glucosid festgestellt worden ist (Pan, 1995; Brignolas et al., 1998). Im Splintholz der gelagerten Proben konnte das Dihydroquercetinglucosid jedoch nicht identifiziert werden.

4.5.3 „Rindensubstanz“-Gehalte in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer

Nachdem die Herkunft der „Rindensubstanzen“ geklärt ist, interessiert die Frage, ob die Lagerungsdauer einen sichtbaren Einfluss auf den Gehalt an „Rindensubstanzen“ im Splintholz der berindeten Fichtenstämme ausübt. Beim Messen der Eindringtiefe der braunen Verfärbung stellten Persson und Elowson (2001) fest, dass die Nasslagerung mit zunehmender Lagerungsdauer zu einer fast linearen Zunahme der braunen Verfärbung führt. Hierbei betrug der Untersuchungszeitraum 12 Wochen. Dietz et al. (1976) zeigten, dass innerhalb des Gesamtlagerungszeitraums von 12 Monaten sich der Weißgrad des Holzes in Rinde ständig verringert, wobei die Autoren neben den Gerbstoffen auch noch Pilz- und Bakterienaktivität als Ursachen für die kontinuierliche Abnahme des Weißgrades annahmen. Des Weiteren ist bekannt, dass eine kurzzeitige Lagerung keine oder nur geringe Verfärbung zur Folge hat (Peek und Liese, 1987; Persson und Elowson, 2001).

Abbildung 4.34 zeigt den Gehalt an „Rindensubstanzen“ im berindeten Splintholz in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer. Bereits nach drei Monaten Lagerung waren deutliche Konzentrationen erkennbar. Die Lagerung für weitere drei Monate steigerte die Menge an „Rindensubstanzen“ nicht. Nach insgesamt 12 Monaten Lagerung war die extrahierte Menge sogar etwas geringer als nach drei und sechs Monaten Lagerung.

Eine Stagnation der „Rindensubstanz“-Gehalte im Laufe der 12 Monate Lagerung aufgrund nicht ausreichend vorhandener Rindeninhaltsstoffe erscheint unwahrscheinlich. In der Rinde sind wesentlich höhere Konzentrationen verfügbar, als aus den Gehalten im Splintholz geschlossen werden kann. Außerdem sprechen die Ergebnisse von Dietz et al. (1976) und Persson und Elowson (2001) gegen eine solche Stagnation der „Rindensubstanz“-Migration. Erst im zweiten Lagerungsjahr stellte Keller (1973) eine deutliche Verringerung der Weißgradverluste des Holzes fest. Es ist wahrscheinlich, dass mit fortschreitender Lagerungsdauer auch die Extrahierbarkeit der „Rindensubstanzen“ aus dem Splintholz abnimmt.

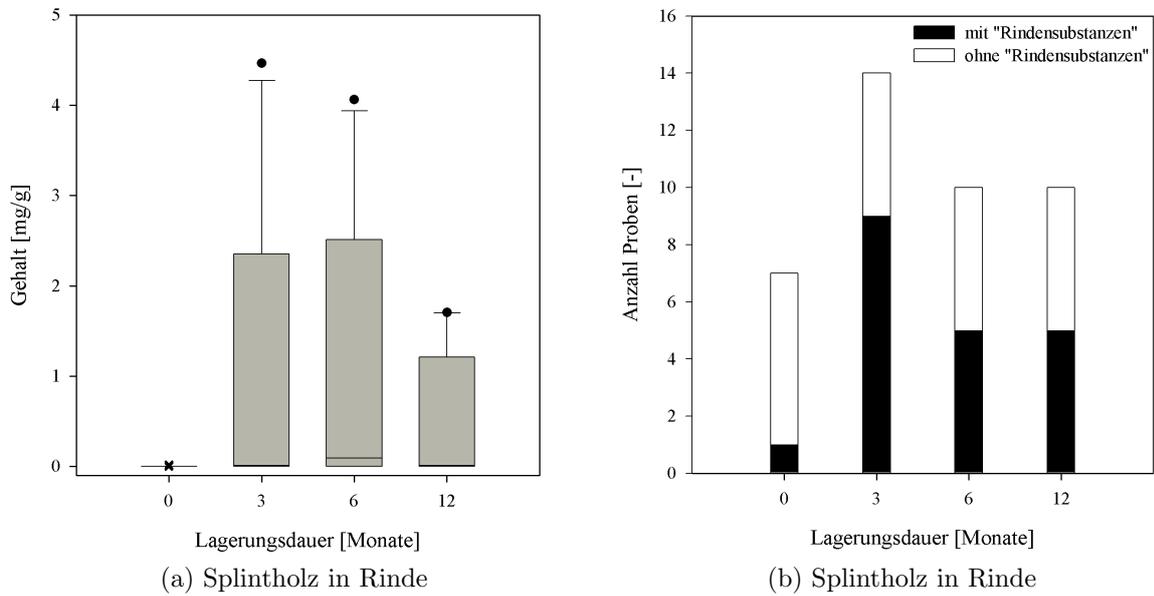


Abbildung 4.34: Gehalt an „Rindensubstanzen“ im Splintholz, wobei das Holz in Rinde gelagert wurde. Die Box-Plots (a) stellen die Verteilung der Rindensubstanzen bei verschiedener Lagerungsdauer dar. In der zweiten Abbildung (b) ist die Zahl der analysierten Proben mit bzw. ohne „Rindensubstanzen“ aufgeführt.

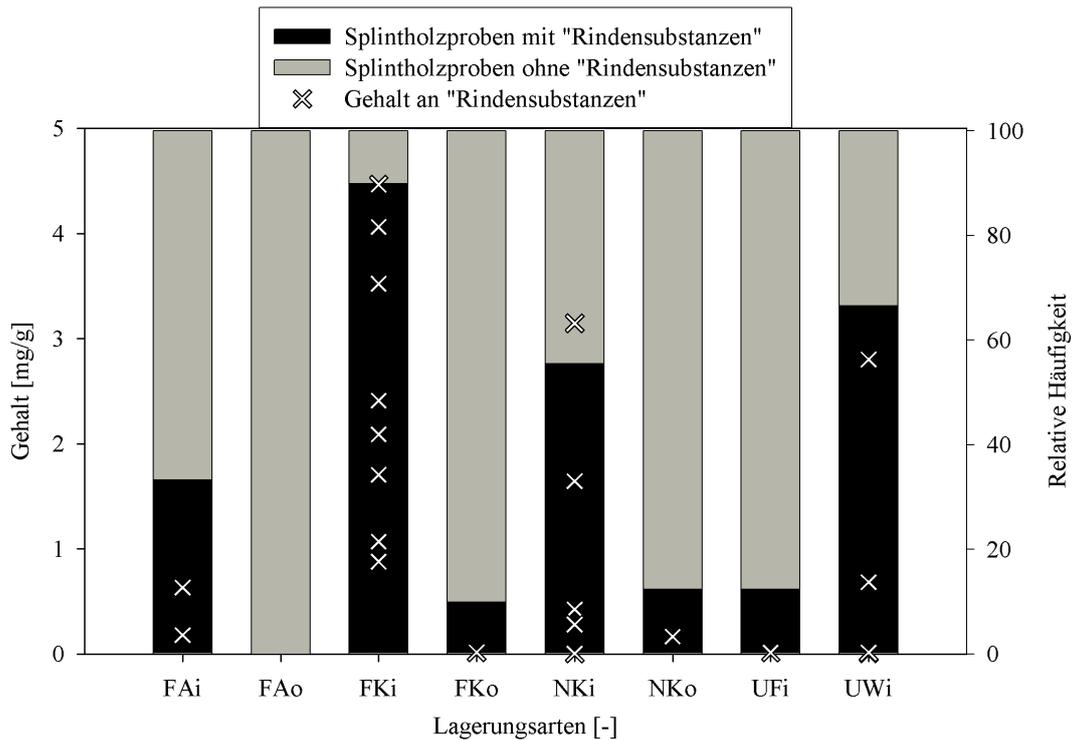


Abbildung 4.35: Häufigkeit des Vorkommens von „Rindensubstanzen“ im Splintholz aufgeschlüsselt nach den untersuchten Lagerungsarten. Zusätzlich werden bei jeder Lagerungsart die individuellen „Rindensubstanz“-Gehalte der untersuchten Proben mit angegeben.

4.5.4 „Rindensubstanz“-Gehalte in Abhängigkeit von der Lagerungsart

Bereits Abbildung 4.33b zeigt, dass in Rinde gelagertes Holz deutlich häufiger phenolische Substanzen im Splintholz aufweist als vor der Lagerung entrindetes Holz. Die genauere Aufschlüsselung der Daten nach Lagerungsart und Berindungszustand während der Lagerung (Abbildung 4.35) verdeutlicht, dass in Rinde gelagertes Holz (FAi, FK_i, NK_i, UFi, UWi) nicht nur häufiger Dihydroquercetin und die drei Stilbene aufweist, sondern hier auch die höheren Gehalte festgestellt werden. Obwohl die Rinde als Quelle dieser Substanzen ausgemacht wurde, sind auch in einigen wenigen Splintholzproben ohne Rinde (FK_o und NK_o) sehr geringe „Rindensubstanz“-Konzentrationen detektiert worden.

Eine Erklärung hierfür kann die Tatsache sein, dass Holzernte und Entrindung nicht immer unmittelbar hintereinander erfolgten. Daher blieben die Stämme teilweise für einige Zeit berindet. Infolgedessen hätte bereits eine begrenzte Migration der Rindensubstanzen stattfinden können. Des Weiteren betonten Peek und Liese (1987), dass bereits Bastreste zu Einfärbungen führen. Da die Stilbenglucoside auf die innere Rinde konzentriert sind, erscheint diese Argumentation schlüssig. Folglich ist auch eine unvollständige Entrindung vor Einlagerung der Stämme als Grund für die „Rindensubstanzen“ bei FK_o und NK_o denkbar.

Verfälschungen der Ergebnisse aufgrund von Rindenresten im Probenmaterial können

mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Rinde und Rindenreste wurden im Zuge der Probenvorbereitung sorgfältig entfernt. Hierbei erfolgte die Entfernung der Rinde zu einem deutlich höheren Grad als es in der Praxis der industriellen Entrindung möglich ist.

Abbildung 4.35 kann entnommen werden, dass zwischen den Lagerungsvarianten in Rinde deutliche Unterschiede auftraten. Bei UFi erbrachte die Extraktion des Splintholzes nur sehr selten und äußerst geringe Mengen an „Rindensubstanzen“. FAi war durch eher niedrige Gehalte charakterisiert. Etwa ein Drittel der Splintholzproben enthielt „Rindensubstanzen“. Dagegen wiesen bei FK_i, NK_i und UW_i 55 bis 90 % aller Splintholzproben „Rindensubstanzen“ auf. Zusätzlich hatten diese Lagerungsvarianten auch die höchsten Gehalte.

Die Gründe für die dargestellten Unterschiede sind nicht eindeutig. Wie bereits erwähnt wurde, führt eine intensivere Beregnung auch zu einer verstärkten Migration von „Rindensubstanzen“ (Persson und Elowson, 2001). Neben der Beregnung müssen aber noch weitere Faktoren den Grad und die Häufigkeit des Vorkommens von „Rindensubstanzen“ beeinflussen, da sonst nur NK_i hohe Werte aufweisen würde. So spielt auch die Temperatur eine wesentliche Rolle. Bei der Wasserlagerung von Fichtenstammholz trat die Splintholzverfärbung in der Praxis erst ab einer Wassertemperatur zwischen 10 und 12°C auf (Ullevalseter, 1965). Auch bei der Nass- und Trockenlagerung erwiesen sich Temperaturen von 10 bis 15°C bei längerer Lagerungsdauer als kritischer Übergangsbereich für intensive Verfärbungen im Splintholz (Peek und Liese, 1987). Des Weiteren stellte Wilhelmsen (1968) fest, dass ins Wasser untergetauchte Stämme eine geringere Verfärbung aufwiesen als Stämme, die über der Wasseroberfläche mit Wasser besprüht wurden. Sie führten dies auf die höhere Temperatur im Vergleich zur Wassertemperatur zurück. Über dem Wasser gelagerte, nicht besprühte Stämme zeichneten sich allerdings nur durch eine geringe Verfärbung aus. Folglich scheinen eine hohe Temperatur sowie eine ausreichende Befeuchtung die Migration der „Rindensubstanzen“ zu begünstigen.

Diese Kombination ermöglicht eine Begründung für die besonders hohen und häufig vorkommenden „Rindensubstanz“-Gehalte bei FK_i. Wie bereits mehrfach angeführt, bildet die Folienkonservierung abgeschlossene, gasdichte Systeme, in denen durchgehend eine hohe Luftfeuchtigkeit herrscht und ein Wechselspiel zwischen Verdunsten und Kondensieren stattfindet (Groß et al., 1992; Maier, 2005). Die Autoren beschreiben, dass innerhalb des Paketes geringere Temperaturschwankungen im Vergleich zur Umgebung gemessen werden. Allerdings wurden die Pakete in den eigenen Versuchen auf einer Freifläche installiert, so dass zumindest tagsüber eine starke Sonneneinstrahlung auch zu hohen Temperaturen innerhalb des Paketes führte. Somit herrschten ideale Bedingungen für die Migration der „Rindensubstanzen“ vor. Zwar war das nasskonservierte Holz (NK_i) der Sonneneinstrahlung direkter ausgesetzt als das folienkonservierte Holz (FK_i), aber die ständige Beregnung gewährleistete nicht nur eine hohe Holzfeuchte, sondern sorgte gleichzeitig noch für eine gewisse Kühlung der Stämme. Daher ist es möglich, dass die Stämme bei der Nasskonservierung durchschnittlich eine niedrigere Temperatur im Vergleich zur Folienkonservierung aufwiesen, so dass auch die Migration der „Rindensubstanzen“ geringer ausfiel.

Überraschenderweise wies auch das Splintholz aus ungeschützter Lagerung im Wald

(UWi) ein häufiges Vorkommen von „Rindensubstanzen“ auf. Vielen Berichten zufolge war die Verfärbung durch Gerbstoffe bei der „Trockenlagerung“ im Vergleich zu verschiedenen Methoden der Nasslagerung deutlich geringer ausgefallen (Ullevalseter, 1965; Wilhelmsen, 1968; Loras und Wilhelmsen, 1974; Persson und Elowson, 2001). Die nicht beregneten oder im Wasser gelagerten Stämme zeichneten sich dabei durch eine im Verlauf der Lagerung deutlich abnehmende Holzfeuchte aus. Bei UWi blieb die Ausgangsholzfeuchte während der Lagerung dagegen erhalten und stieg sogar etwas an (Abbildungen 4.1a und 4.3e bis 4.3h). Die Bedingungen des Waldlagerplatzes könnten daher nicht nur den Erhalt der Holzfeuchte, sondern hiermit auch die Migration von „Rindensubstanzen“ aus der Rinde ins Splintholz begünstigt haben.

Die Holzfeuchte dürfte im Fall der ungeschützten Lagerung auf der Freifläche (UFi) eine entscheidende Rolle für die geringe relative Häufigkeit des Vorkommens von „Rindensubstanzen“ im Splintholz gespielt haben. Das schnelle Abtrocknen der Stämme schon zu Beginn der Lagerung (Abbildungen 4.1a sowie 4.3a bis 4.3d) verhinderte das Wandern der „Rindensubstanzen“ weitestgehend. Des Weiteren besteht jedoch auch die Möglichkeit, dass die „Rindensubstanzen“ öfters und mit höheren Gehalten im Holz vorhanden, diese aber nicht mehr extrahierbar waren.

4.5.5 Einfluss der „Rindensubstanzen“ auf den Weißgrad

Wie bereits in Abschnitt 2.2.6 dargestellt, führt die Lagerung von Holz in Rinde zu Holzschliffen mit geringeren Weißgraden. Die an der TU Darmstadt produzierten und geprüften halbtechnischen Holzschliffe bildeten hierbei keine Ausnahme. In allen Fällen lag der Weißgrad der Schliffe aus Holz in Rinde unterhalb der Schliffe aus entrindetem Holz, wobei die Differenz durchschnittlich etwa 5 %-Punkte ISO betrug (Zwischenbericht, 2006). Verantwortlich gemacht werden „Gerbstoffe“ bzw. „Tannine“, die während der Lagerung aus der Rinde ins äußere Splintholz diffundieren (Keller, 1973; Persson et al., 2002; Holzmann und Wegener, 2004; Lind et al., 2004b). Catechin als Grundbaustein der Fichtenrindengerbstoffe konnte aus gelagertem Holz nur selten in Spuren und aus den Holzschliffen überhaupt nicht extrahiert werden. Entweder war Catechin in den Proben nicht vorhanden, so dass es infolgedessen nicht für die geringeren Weißgrade verantwortlich war, oder es war vorhanden, aber mit den angewandten Methoden nicht extrahierbar. Weitere Untersuchungen, wie etwa chemische Abbaumethoden zur Charakterisierung von polymeren Catechingerbstoffen, könnten zur Klärung dieser Frage beitragen.

Die Ionen von Übergangsmetallen können durch Reaktion mit Gerbstoffen oder Lignin zu Verfärbungen führen und daher geringere Weißgrade verursachen (Bauch, 1984; Lindholm, 1999; Friman et al., 2004; Wulf und Pehl, 2005). Splintholz, das in Rinde gelagert wird, weist allerdings keinen erhöhten Elementgehalt auf (Holzmann, 2002). Die im Prozesswasser vorhandenen Ionen können jedoch ausreichen, um durch Bildung von koordinativen Bindungen mit phenolischen Substanzen konjugierte, farbige Doppelbindungssysteme zu verursachen. Bei den „Rindensubstanzen“ verfügt insbesondere das Flavonoid Dihydroquercetin über die notwendige Disposition zur Bildung von Farbkomplexen. Da nur berindetes, gelagertes Holz diese Substanzen enthält, könnten Metallionen

auch nur beim Verschleifen dieses Holzes zu geringeren Weißgraden führen. Holzschliff aus unberindetem Holz wäre dagegen von den Verfärbungen durch Metallionen nicht betroffen.

Die aus dem Splintholz extrahierten „Rindensubstanzen“ Astringenin, Isorhapontigenin, Resveratrol und Dihydroquercetin können auch ohne Metallionen zu geringeren Weißgraden führen. Stilbene sind Leukochromophore, d. h. ihr Vorkommen führt nicht sofort zu geringeren Weißgraden. Stattdessen verstärken Stilbene durch lichtinduzierte Reaktionen das nachträgliche Abdunkeln von Holzschliffen (Morgan und Orsler, 1968; Gellerstedt und Zhang, 1992). Das Flavonoid Dihydroquercetin könnte dagegen eine direkte Verringerung des Weißgrades zur Folge haben. Nach Koch et al. (2003a) trägt Dihydroquercetin zur Farbe des Falschkerns von Buchenholz (*Fagus sylvatica*) bei. Betz und Styan (1974) machten unter anderem dieses Flavonoid für die geringen Weißgrade von Hembal⁴-Holzschliffen verantwortlich, die zusätzlich zu Hemlock und Balsamtanne auch noch Holz von Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) enthielten. Dihydroquercetin ist ein wesentlicher Inhaltsstoff des farbigen Douglasienkernholzes.

Da die „Rindensubstanzen“ nur aus dem Splintholz und nicht aus den Holzschliffen extrahiert werden konnten, bleibt offen, was mit den „Rindensubstanzen“ während der Holzschliffherstellung passiert ist. Adler (1951) vermutet, dass es zu Lignin-Phenol-Kondensation kommen kann, so dass eine Extraktion nicht mehr möglich ist. Auch Morgan und Orsler (1968) nahmen das Vorkommen von Inhaltsstoffen an, welche sehr „eng“ mit den Hauptbestandteilen der Zellwand verbunden sind. Trocknung und Lichteinfluss führten nach Liese und Karstedt (1971) bei *Picea abies* zur Kondensation der Catechingerbstoffe, die während der Lagerung aus der Rinde ins Splintholz diffundiert waren. Nach Behandlung von Hembal-Holzschliff mit einer Quercetin-Lösung (Flavonoid), konnte nur ein Teil des eingebrachten Quercetins durch Extraktion des Holzschliffes zurückgewonnen werden, da eine hohe Affinität zwischen Holzschliff und Flavonoid vorlag (Betz und Styan, 1974). Die Fluoreszenz von Hoftüpfel-Tori im äußeren Splintholz beregneter, berindeter Fichtenstämme führten Hildén et al. (2006) auf kondensierte Gerbstoffe aus der Rinde zurück, die sich fest mit der pektinreichen Struktur der Tori verbanden. Mohammed-Ziegler et al. (2004) beschrieben anhand von Modellversuchen die Adsorption von Stilbenen an Lignin. Allgemein besitzen neben Lignin auch Cellulose und Hemicellulosen die Fähigkeit organische Substanzen zu binden (Barrera-García et al., 2008). Die genannten Beobachtungen tragen zu der Annahme bei, dass die „Rindensubstanzen“ im Holzschliff vorhanden sind, aber nicht mehr durch Extraktion gewonnen werden können. Infolgedessen kann davon ausgegangen werden, dass die „Rindensubstanzen“ und hierbei insbesondere das Flavonoid Dihydroquercetin die geringeren Weißgrade der Holzschliffe zumindest mitverursachen.

⁴) Mischung aus **Hemlock** (*Tsuga* spp.) und **Balsamtanne** (*Abies balsamea*).

4.6 Enzymversuche

Polyphenoloxidasen sind häufig an enzymatischen Verfärbungsreaktionen beteiligt (Falbe und Regitz, 1995, S. 3354). Beispiele sind etwa die Bräunung der Schnittflächen von Kartoffeln, Obst und Pilzen oder die Braun- und Schwarzfärbung abgefallenen Herbstlaubes. Aber auch beim Holz sind diese Enzyme bekannt. Laver und Musbah (1996) extrahierten aus dem Splintholz von Douglasie (*Pseudotsuga menziesii*) Enzyme, welche mit Catechol, 4-Methylcatechol, (-)-Epicatechin und Dihydroquercetin Aktivität zeigten. Daher wurden sie für die braune Verfärbung des Splintholzes mitverantwortlich gemacht. Peroxidaseaktivität konnte in Parenchymzellen, an Parenchymzellwänden sowie auf Hoftüpfeln der Tracheiden durch Anfärben nachgewiesen werden (Bauch und Berndt, 1973; Bauch et al., 1974; Fagerstedt et al., 1998). Dabei nahm die Peroxidaseaktivität vom äußeren Splintholz in *Pinus sylvestris* Richtung Kernholz ab, war dort aber immer noch in Spuren nachweisbar (Fagerstedt et al., 1998). Des Weiteren wiesen sämtliche Peroxidasen aus dem Xylem der Fichte Aktivität bezüglich Coniferylalkohol auf. Die Autoren gingen davon aus, dass die Peroxidasen an der Ligninbiosynthese beteiligt sind (Marjamaa et al., 2006). In diesem Zusammenhang gelang es Raiskila et al. (2006) durch Imprägnierung von Fichtenholz mit Coniferylalkohol, den Klason-Ligningehalt geringfügig zu steigern und vorher nicht vorhandene phenolische Dimere zu bestimmen. Die im Holz lokalisierten Peroxidasen wurden für die beschriebenen Effekte verantwortlich gemacht. Folglich ist es theoretisch möglich, dass die genannten Enzyme z. B. durch Reaktionen mit phenolischen, aus der Rinde stammenden Substanzen an Verfärbungen während der Lagerung des Fichtenholzes beteiligt sind. Daher wurden Splintholzproben auf die Aktivität von Polyphenoloxidasen (PPO, EC 1.10.3.1), Laccasen (EC 1.10.3.2) sowie Peroxidasen (EC 1.11.1) untersucht.

4.6.1 Pilzabbauversuche

Die Methoden zum Nachweis der Enzymaktivität wurden nicht nur mit Laccase- bzw. Peroxidaselösungen getestet sondern auch mit Holz, welches diese Enzyme enthielt. Aus diesem Grund wurde das Holz mit dem holzerstörenden Weißfäulepilz *Trametes versicolor* beimpft, welcher simultan die Hauptgerüstsubstanzen Cellulose, Hemicellulosen und Lignin attackiert (Liese, 1970; Schmidt, 1994). Ein Teil der Abbauvorgänge geschieht hierbei extrazellulär, wobei die nötigen Enzyme von den Pilzhyphen ausgeschieden werden (Schlosser et al., 1997). Bei *Trametes versicolor* wurde sowohl Laccase- als auch Peroxidaseaktivität nachgewiesen (Szklarz et al., 1989; Machuca und Ferraz, 2001; Valásková und Baldrian, 2006). Da die Polyphenoloxidasen-Aktivität bei Weißfäulepilzen auftritt, bei Braunfäulepilzen dagegen nicht, kann dieser Umstand für die einfache Unterscheidung zwischen Weißfäule- und Braunfäulepilzen eingesetzt werden. Bei der „Bavendamm-Reaktion“ enthält das Kulturmedium des Pilzes dabei Tannin, so dass es infolge der Aktivität der Polyphenoloxidasen nur mit den Weißfäulepilzen zu einer Verfärbung kommt (Rösch, 1972).

Die Pilzabbauversuche wurden gemäß Abschnitt 3.8 durchgeführt und ausgewertet, wobei neben Fichtenholz auch Buchenholz zur Überprüfung der Pilzaktivität eingesetzt

wurde. Dieser Schritt wurde als notwendig angesehen, da *Trametes versicolor* hauptsächlich das Holz von Laubbäumen befällt und bei Nadelholz nur selten anzutreffen ist (Schmidt, 1994).

Die vor der Beimpfung der Proben bestimmte Holzfeuchte betrug bei der Buche 11,9 %, wobei die Einzelwerte der beiden Proben sehr nahe beieinander lagen, da das Buchenholz vorher klimatisiert wurde. Obwohl bei der Fichte alle Proben aus derselben Stammscheibe stammten, wurde bei einer Probe eine Holzfeuchte von 117,2 % und bei einer zweiten Proben 138,8 % bestimmt, so dass der Mittelwert 128,0 % ist. Hiermit ist der Fehler bei der Bestimmung des Masseverlustes des Fichtenholzes aufgrund der Inhomogenität der Holzfeuchte deutlich größer als bei der Buche. Da die Masseverluste aber nur als Richtwerte für eine erfolgreiche Pilzaktivität eingesetzt werden, bleibt selbst der größere Fehler vernachlässigbar.

Tabelle 4.12: Prozentuale Masseverluste von Fichten- und Buchenholz nach vier und acht Wochen Aktivität von *Trametes versicolor*.

Holzart	Probe	Pilzaktivität	Masseverlust
[-]	[-]	[Wochen]	[%]
Fichte	A	4	16,6
Fichte	B	4	18,0
Fichte	C	8	29,0
Fichte	D	8	29,0
Buche	E	4	25,3
Buche	F	4	19,7
Buche	G	8	45,1
Buche	H	8	28,2

Die optische Bewertung der Proben beim Ausbau zeigte, dass sich der Pilz auf allen Proben gut entwickelt hatte. Des Weiteren waren keine Verunreinigungen durch andere Pilze oder durch Schimmel zu erkennen. Die ermittelten Masseverluste sind in Tabelle 4.12 aufgelistet. Sowohl bei der Buche als auch bei der Fichte war schon nach vier Wochen ein deutlicher Masseverlust zu verzeichnen, welcher sich in den folgenden vier Wochen noch weiter fortsetzte. Die Effekte der Aktivität von *Trametes versicolor* konnten auch durch mikroskopische Untersuchungen nachgewiesen werden (siehe Abschnitt 4.7). Da der Masseverlust auf Enzymaktivität zurückzuführen war, enthielten die Proben nun entsprechende Mengen an Enzymen. Deshalb konnten die Proben zur Bestimmung der Enzymaktivität eingesetzt werden.

4.6.2 Bestimmung der Enzymaktivität durch Messung des Sauerstoffverbrauchs

Die Bestimmung der Polyphenoloxidasen-Aktivität durch Messung des Sauerstoffverbrauchs beruht auf der Tatsache, dass die Enzyme für ihre Aktivität Sauerstoff benötigen und verbrauchen (Falbe und Regitz, 1995, S. 3354). Beim vorliegenden Versuchsansatz wurde hierbei 4-Methylcatechol als Substrat der PPO verwendet. Die zu analysierende Lösung bzw. Suspension wurde mit einer definierten Menge 4-Methylcatechol versehen,

so dass in Abhängigkeit von der vorhandenen Enzymmenge und deren Aktivität die Entwicklung des Sauerstoffgehalts in der Suspension nach Zugabe des Substrats verfolgt werden konnte (siehe Abschnitt 3.9.1).

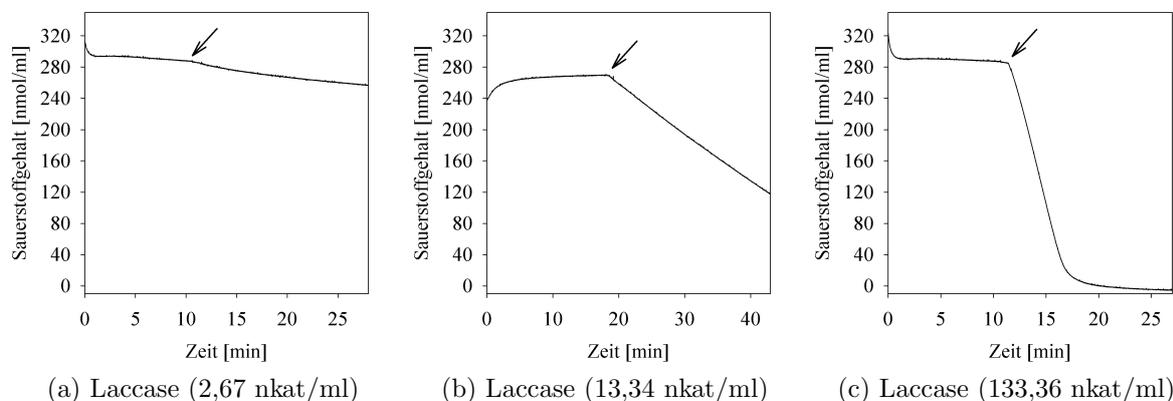


Abbildung 4.36: Darstellung des Verlaufs des Sauerstoffgehalts in der Laccaselösung bei unterschiedlichen Laccasekonzentrationen. Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der 4-Methylcatechol-Zugabe.

Zunächst wurden Laccaselösungen mit unterschiedlichen Konzentrationen, d. h. mit verschiedenen Aktivitäten mit der Sauerstoffelektrode analysiert. Abbildung 4.36 zeigt den Verlauf des Sauerstoffgehalts in drei verschiedenen Laccaselösungen nach Zugabe von 4-Methylcatechol. Bei konstanter 4-Methylcatechol-Menge geht die Verringerung des Sauerstoffgehalts umso schneller vonstatten je höher die eingesetzte Laccaseaktivität ist. Die Analyse der Laccaselösungen verdeutlicht, dass zwischen Sauerstoffverbrauch und vorhandener Enzymaktivität ein linearer Zusammenhang besteht (Abbildung 4.37). Folglich ist die Methode gut für die Ermittlung der PPO-Aktivität geeignet.

Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs bei Einsatz der mit *Trametes versicolor* behandelten Fichten- und Buchenholzproben führte allerdings zu weniger eindeutigen Ergebnissen (Abbildung 4.38a). Die in der Abbildung dargestellten Mittelwerte und Standardabweichung wurden anhand von Dreifachbestimmungen festgelegt. Neben den Proben, welche vier oder acht Wochen mit dem Weißfäulepilz behandelt wurden, kamen bei beiden Holzarten unbehandelte Referenzproben zum Einsatz. Die Werte weisen zum Teil sehr große Schwankungen auf, sei es innerhalb einer Probe oder zwischen verschiedenen Ansätzen. So wurden etwa für die Fichtenreferenzprobe bei drei unabhängigen Versuchsansätzen sehr unterschiedliche Werte bestimmt. Des Weiteren liegen die Werte der pilzbehandelten Proben nur im Bereich der Referenzproben. In Anbetracht der nachgewiesenen Pilzaktivität, die auf dem Wirken von Enzymen beruht, wurde bei den pilzbehandelten Proben ein Sauerstoffverbrauch erwartet, welcher deutlich über dem Verbrauch der Referenzproben liegt. Gründe für die nicht erfüllten Erwartungen können anhand der ermittelten Daten nicht bestimmt werden.

Trotz der Ergebnisse der pilzbehandelten Proben wurde auch gelagertes Fichtenholz mit der Sauerstoffelektrode analysiert. Die mittels Zwei- oder Dreifachbestimmungen

4 Ergebnisse und Diskussion

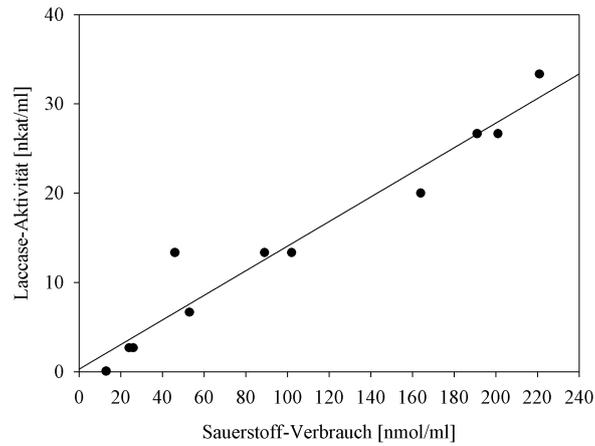
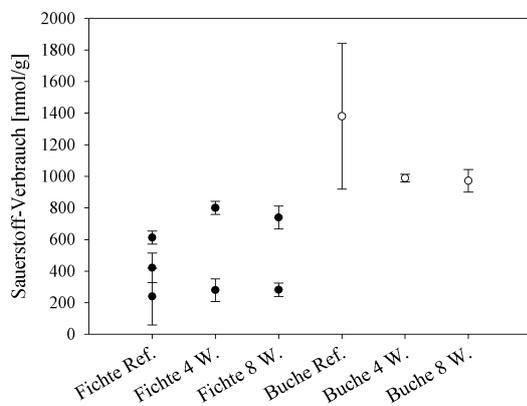
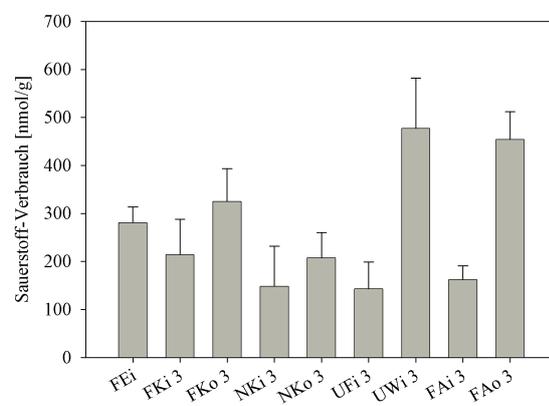


Abbildung 4.37: Sauerstoffverbrauch der Laccaselösungen in Abhängigkeit von deren Enzymaktivität. Die lineare Regression erfolgte mit SigmaPlot 9.



(a) Holz mit *Trametes versicolor*



(b) Gelagertes Holz

Abbildung 4.38: Sauerstoffverbrauch in der Behandlungslösung bei Fichten- und Buchenholz, das mit *Trametes versicolor* behandelt wurde (a), und bei Fichtenholz kurz nach der Holzernte sowie nach dreimonatiger Lagerung (b).

ermittelten Ergebnisse können Abbildung 4.38b entnommen werden. Dabei lagen die Sauerstoffverbräuche vieler Proben im oder unterhalb des Wertebereichs der frisch eingeschlagenen Referenzprobe (FEi). Nur das Holz, welches drei Monate in Rinde ungeschützt im Wald gelagerte wurde (UWi 3), sowie das unberindete, mittels Folienabdeckung gelagerte Holz (FAo 3) setzte sich von den restlichen Proben ab und wies beim Sauerstoffverbrauch höhere Werte auf. Aufgrund der festgestellten Mängel dürfen diese Resultate nicht überbewertet werden. Allerdings wiesen UWi 3 und FAo 3 nach optischer Beurteilung der Stammabschnitte zum Teil auch Pilzbefall auf (Zwischenbericht, 2006). Daher sind die etwas höheren Werte eventuell auf diesen Pilzbefall und damit verbundene Polyphenoloxidasen zurückzuführen.

4.6.3 Bestimmung der Enzymaktivität durch Messung der Oxidation von Syringaldazin

Die Messung des Sauerstoffverbrauchs nach der Zugabe von 4-Methylcatechol funktioniert mit reiner Laccaselösung sehr gut. Bei der Analyse von pilzbehandeltem und gelagertem Holz liefert diese Methode aber keine eindeutigen Ergebnisse. Daher wurde ein neuer Versuchsaufbau angesetzt, welcher auf einem anderen Messprinzip basierte (vergleiche Abschnitt 3.9.2). Zusätzlich wurde auch die Probenvorbereitung optimiert.

Ausgehend von Versuchen zur Bestimmung der Enzymaktivität holzzerstörender Pilze wurden die Enzyme aus dem Holz extrahiert und im Enzymextrakt die Oxidation des Substrats Syringaldazin spektrophotometrisch erfasst (Machuca und Ferraz, 2001; de Souza-Cruz et al., 2004). Nach Leonowicz und Grzywnowicz (1981) reagiert das Syringaldazin spezifisch mit Laccase. Des Weiteren weist es keine Autoxidation auf und die alleinige Anwesenheit von Peroxidase oder Wasserstoffperoxid führt zu keiner Reaktion. Auf diese Weise war Syringaldazin gut geeignet spezifisch Laccase-Aktivität nachzuweisen. Bei Zugabe von Wasserstoffperoxid in den Versuchsansatz kann zusätzlich auch die Peroxidaseaktivität bestimmt werden.

Analog zur Bestimmung der Enzymaktivität durch die Messung des Sauerstoffverbrauchs wurde bei der Oxidation von Syringaldazin zunächst mit Laccase- und Peroxidaselösungen gearbeitet. Abbildung 4.39 veranschaulicht den Effekt unterschiedlicher Konzentrationen von Enzymen und Syringaldazin auf den Verlauf des spektralen Absorptionsmaßes. Der Einsatz einer höheren Enzymkonzentration führte erwartungsgemäß auch zu einem schnelleren Ansteigen der Absorption (Abbildung 4.39a). Folglich korrespondiert eine höhere Enzymaktivität mit einem höheren Steigungswert.

Bei gleichbleibender Enzymmenge und unterschiedlichen Syringaldazinkonzentrationen bleibt dagegen die Steigung der Absorption weitgehend unverändert. Aus Abbildung 4.39b kann entnommen werden, dass der Verlauf nach anfänglichem linearem Anstieg in eine Plateauphase übergeht. Die Höhe des Plateaus hängt hierbei von der eingesetzten Syringaldazinkonzentration ab. Mit Erreichen des Plateaus ist sämtliches Syringaldazin oxidiert, so dass kein weiterer Anstieg mehr erfolgen kann. Bei bekanntem Syringaldazingehalt kann auf diese Weise über die Plateauwerte der molare Absorptionskoeffizient ϵ von Syringaldazin bestimmt werden (vergleiche Abschnitt 3.9.2). Dieselbe Abhängigkeit des Plateaus von der Syringaldazinkonzentration kann auch bei Einsatz

4 Ergebnisse und Diskussion

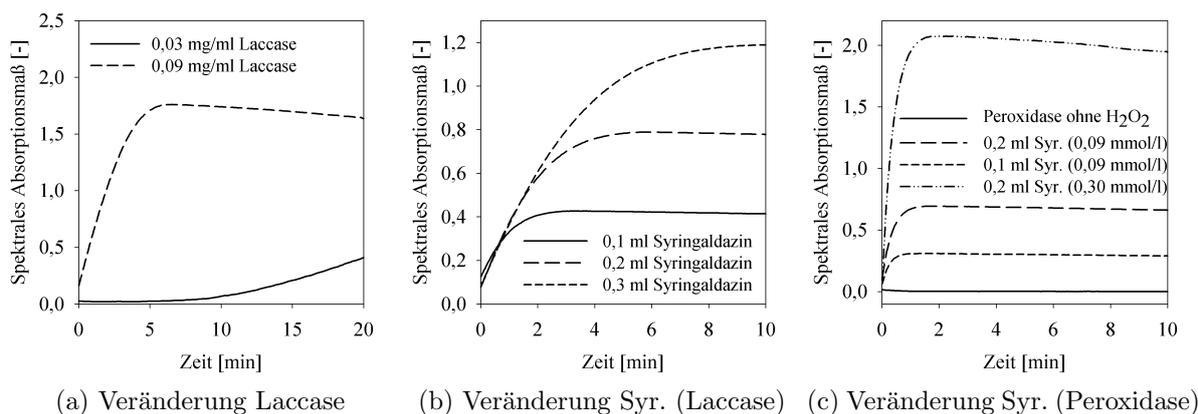


Abbildung 4.39: Verlauf des spektralen Absorptionsmaßes bei unterschiedlichen Laccasemengen (a) sowie bei gleichbleibender Enzymmenge und variierenden Syringaldazinkonzentrationen (Syr., b + c).

von Peroxidaselösungen festgestellt werden (Abbildung 4.39c). Des Weiteren bestätigt die Abbildung, dass die Peroxidase das Syringaldazin nur in Anwesenheit von H_2O_2 oxidiert. Wird H_2O_2 durch Wasser ersetzt, steigt die Absorption nicht an. Daher ermöglicht die Methode bei Zusatz von Wasser die spezifische Untersuchung der Laccaseaktivität. Mit dem Zusatz von H_2O_2 ist dagegen die Analyse der kombinierten Enzymaktivität möglich, d. h. die Summe aus Laccase- und Peroxidaseaktivität. Nach Denaturierung der Enzyme durch Kochen bei 100°C kann sowohl mit Laccase als auch mit Peroxidase keine Enzymaktivität mehr festgestellt werden.

Einige gelagerten und pilzbehandelten Holzproben, die schon bei den Messungen des Sauerstoffverbrauchs Verwendung fanden, wurden extrahiert und mit Syringaldazin oxidiert. Die Differenz zwischen minimalem und maximalem Absorptionsmaß ($\Delta_{min-max}$) lag bei allen Proben unter 0,01, unabhängig davon ob Wasser oder H_2O_2 verwendet wurde. Im Grunde entspricht dies einer nicht vorhandenen bzw. nicht detektierbaren Enzymaktivität. Daraufhin wurde die Probenvorbereitung im Vorfeld der Extraktion verändert. Valásková und Baldrian (2006) stellten fest, dass Laccasen und Peroxidasen von *Trametes versicolor* nach der Gefriertrocknung geringere Aktivitäten aufweisen. Des Weiteren zeigten de Souza-Cruz et al. (2004), dass die produzierten Enzyme auf Holz adsorbieren, so dass eine Enzym-Substrat-Bindung auftritt. Daher ist es wahrscheinlich, dass diese Enzym-Substrat-Bindung durch den Entzug des Wassers bei der Trocknung noch verstärkt wird. Deshalb wurden weitere pilzbehandelte Proben nicht gefriergetrocknet, sondern mit einer Kryo-Mühle gemahlen, da bei der Mahlung in flüssigem Stickstoff auch feuchte Proben eingesetzt werden können. Die Untersuchung dieser Proben unter Zusatz von H_2O_2 war erfolgreich, da $\Delta_{min-max}$ bis zu 0,7 betrug. Anhand der Ergebnisse kann bestätigt werden, dass die Gefriertrocknung für die geringe Enzymaktivität mit verantwortlich ist und daher vermieden werden sollte. Ob die Messung des Sauerstoffverbrauchs zur Bestimmung der Enzymaktivität ohne Gefriertrocknung ebenfalls zu

besseren Ergebnissen geführt hätte, konnte aufgrund der Knappheit des Probenmaterials nicht überprüft werden.

Nach Fertigstellung der Syringaldazin-Methode und Bestimmung des molaren Absorptionskoeffizienten ϵ konnten die pilzbehandelten Fichten- und Buchenholzproben auch quantitativ bestimmt werden. Die auf die Holzeinwaage bezogene spezifische Enzymaktivität ist in Tabelle 4.13 aufgelistet, und die dazu gehörenden Verläufe des spektralen Absorptionsmaßes sind in Abbildung 4.40 dargestellt.

Die Messung der Laccaseaktivität von Fichtenholz, das acht Wochen mit *Trametes versicolor* behandelt wurde, führt nur zu einem sehr schwachen Anstieg des spektralen Absorptionsmaßes (Abbildung 4.40a). Die dementsprechende spezifische Enzymaktivität ist daher ebenfalls gering. In diesem Zusammenhang berichteten Schlosser et al. (1997), dass die Laccaseaktivität von *Trametes versicolor* mit Buchenholz als Substrat nach einer gewissen Zeit auf ein Maximum anstieg und danach abnahm. Dagegen hat der Einsatz von H_2O_2 zur kombinierten Analyse von Laccase- + Peroxidaseaktivität bei der pilzbehandelten Fichtenholzprobe einen starken Anstieg der Absorption (Abbildung 4.40b) und eine hohe spezifische Enzymaktivität zur Folge. Da nur eine sehr schwache Laccaseaktivität nachgewiesen werden kann, sind die hohen Werte hauptsächlich auf die Aktivität von Peroxidase zurückzuführen. Die Doppelbestimmungen zeigen eine gute Übereinstimmung.

Bei der Analyse des pilzbehandelten Buchenholzes traten größere Differenzen auf. Die Laccaseaktivität des Buchenholzes (Abbildung 4.40c) lag über der Laccaseaktivität des Fichtenholzes. Dagegen wurden bei kombinierter Analyse der Laccase- und Peroxidaseaktivität ähnliche und geringere Aktivitäten festgestellt (Abbildung 4.40d). Die Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass bei den pilzbehandelten Buchenproben hauptsächlich Laccaseaktivität vorlag. Prinzipiell ist es allerdings möglich, dass der Extrakt bzw. das Holz bereits H_2O_2 enthielt, und die gemessene Laccaseaktivität daher auch zum Teil auf Peroxidase zurückzuführen ist. Diese Überlegung konnte im Rahmen dieser Arbeit jedoch nicht überprüft werden. Alle Extrakte zeigten nach Denaturierung der Enzyme bei 100°C keinerlei Aktivität, so dass für die beschriebene Zunahme des spektralen Absorptionsmaßes mit Sicherheit Enzyme verantwortlich sind.

Die Daten der pilzbehandelten Holzproben verdeutlichen, dass mit einer veränderten Probenvorbereitung und der Oxidation von Syringaldazin die Aktivität von Laccase und Peroxidase in den Holzproben nachgewiesen werden kann.

Abbildungen 4.41 bis 4.43 stellen die Ergebnisse für die spezifische Laccaseaktivität sowie die kombinierte spezifische Laccase- und Peroxidaseaktivität von gelagertem Fichtenholz nach 3, 12 und 24 Monaten Lagerung dar. Den Abbildungen kann entnommen werden, dass für jeden Lagerungszeitpunkt und für jede Lagerungsvariante zwei Splintholzproben extrahiert und auf ihre Enzymaktivität untersucht wurden. Dabei basieren die vorliegenden Mittelwerte und Standardabweichungen auf Doppelbestimmungen.

Bei den meisten Proben war keinerlei Laccase- oder Peroxidaseaktivität detektierbar. Dies bedeutet keineswegs, dass im analysierten Holz diese Enzyme nicht vorhanden bzw. aktiv waren. Stattdessen lag eher die Enzymaktivität unter der Nachweisgrenze der vorliegenden Methode. Um etwa die in frischem, gesunden Kiefernholz vorhandenen Peroxidasen nachzuweisen, konzentrierten Fagerstedt et al. (1998) ihre Extrakte 20fach

Tabelle 4.13: Quantitative Auswertung der Syringaldazin-Oxidation mit Extrakten von pilzbehandelten Holzproben. Neben der spezifischen Enzymaktivität ist auch die Steigung des spektralen Absorptionsmaßes mit angegeben. Der Verlauf der Absorption ist in Abbildung 4.40 dargestellt.

Nr. [-]	Probe [-]	Zusatz [-]	Steigung [min ⁻¹]	spezifische Enzymaktivität [$\frac{pkat}{g_{Holz}}$]
1	Fichte, 8 Wochen	Wasser	0,00161	6,9
2	Fichte, 8 Wochen	Wasser	0,00220	9,5
3	Fichte, 8 Wochen	H ₂ O ₂	0,18508	795,4
4	Fichte, 8 Wochen	H ₂ O ₂	0,17276	742,4
5	Buche, 8 Wochen	Wasser	0,04577	155,2
6	Buche, 8 Wochen	Wasser	0,01120	38,0
7	Buche, 8 Wochen	Wasser	0,00806	27,3
8	Buche, 8 Wochen	H ₂ O ₂	0,00760	25,8
9	Buche, 8 Wochen	H ₂ O ₂	0,00316	10,7

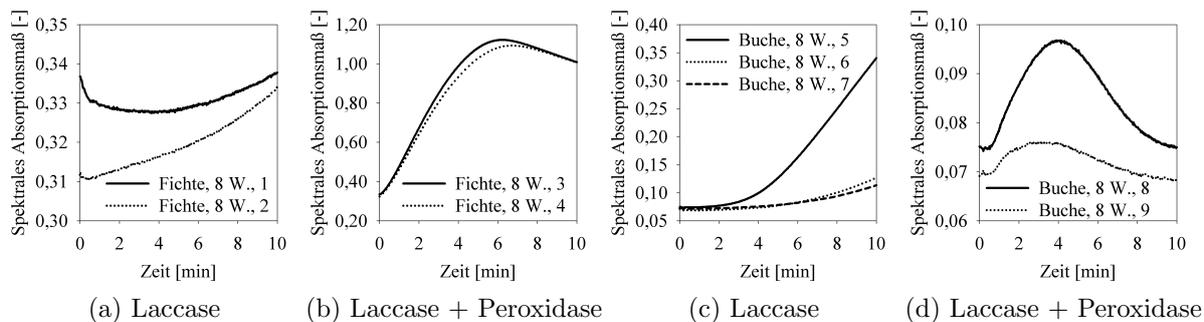


Abbildung 4.40: Verlauf des spektralen Absorptionsmaßes bei der Oxidation der Extrakte von pilzbehandeltem Fichten- und Buchenholz mit Syringaldazin. Die Versuche wurden mit Wasser (Laccaseaktivität) sowie mit H₂O₂ (Laccase- + Peroxidaseaktivität) durchgeführt (vergleiche Tabelle 4.13).

4 Ergebnisse und Diskussion

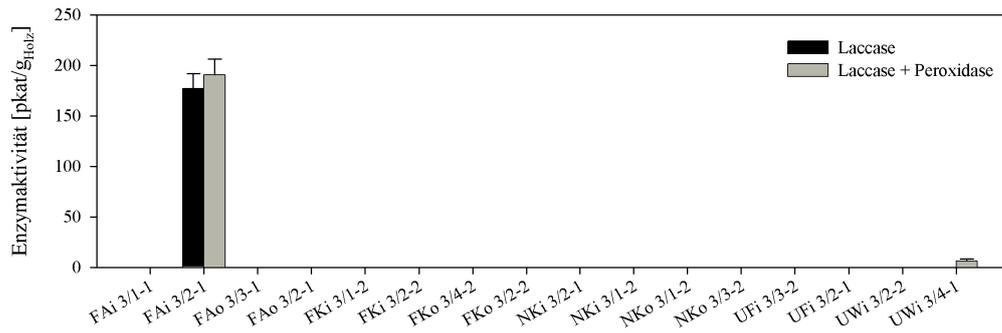


Abbildung 4.41: Enzymaktivität im Splintholz nach 3 Monaten Lagerung durch Messung der Syringaldazin-Oxidation.

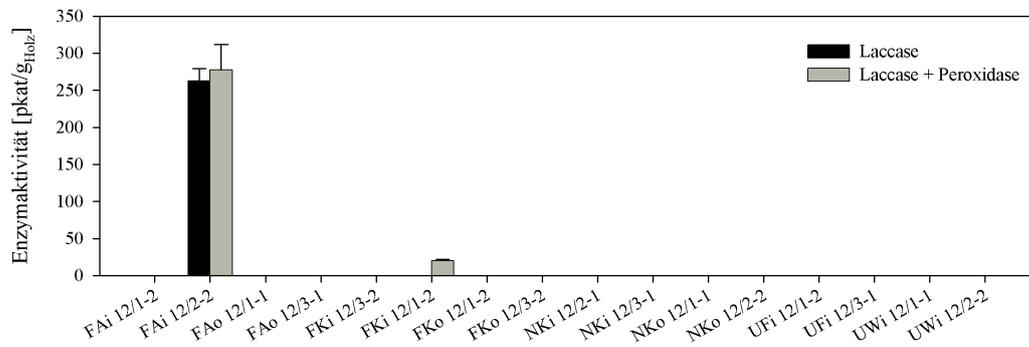


Abbildung 4.42: Enzymaktivität im Splintholz nach 12 Monaten Lagerung durch Messung der Syringaldazin-Oxidation.

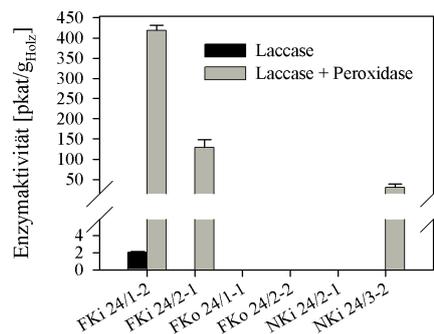


Abbildung 4.43: Enzymaktivität im Splintholz nach 24 Monaten Lagerung durch Messung der Syringaldazin-Oxidation.

auf. Im Rahmen dieser Arbeit erfolgte dagegen keine Aufkonzentrierung. Daher kann davon ausgegangen werden, dass alle hier detektierten spezifischen Enzymaktivitäten $> 0 \frac{\text{pkat}}{\text{gHolz}}$ über die „normale“ Laccase- und Peroxidaseaktivität von frischem, gesunden Fichtenholz hinausgeht.

In den drei Monate lang gelagerten Holzproben konnte bei zwei Proben Enzymaktivität festgestellt werden (Abbildung 4.41). Die hohen Werte von FAi 3/2-1 (Folienabdeckung in Rinde) zeigen, dass die Enzymaktivität hauptsächlich Laccase zugesprochen werden kann, da die kombinierte Enzymaktivität nur geringfügig über der reinen Laccaseaktivität liegt. Als zweite Probe wies UWi 3/4-1 (ungeschützte Walddlagerung) eine geringfügige Enzymaktivität auf, wobei nur Peroxidaseaktivität festgestellt wurde.

Nach 12 Monaten Lagerung wiesen ebenfalls zwei Proben Enzymaktivität auf (Abbildung 4.42). Genau wie nach drei Monaten Lagerung konnte auch nach 12 Monaten bei einer Probe der Lagerungsart Folienabdeckung in Rinde (FAi 12/2-2) eine deutliche Enzymaktivität festgestellt werden. Dabei dominierte wiederum die Laccaseaktivität und die Werte lagen über den Werten der dreimonatigen Lagerung. Zusätzlich konnte bei der Probe FK1 12/1-2 (Folienkonservierung in Rinde) Peroxidaseaktivität nachgewiesen werden.

Zum Zeitpunkt 24 Monate umfasste die Lagerung nur noch die Methoden Folienkonservierung in und ohne Rinde (FKi/o) sowie Nasskonservierung in Rinde (NKi). Bei der Hälfte der analysierten Proben nach 24 Monaten Lagerung wurde Enzymaktivität detektiert (Abbildung 4.43). Beide Proben der Lagerungsmethode FK1 zeigten sehr deutliche Peroxidaseaktivitäten. Zusätzlich wies die Probe mit der höchsten Peroxidaseaktivität (FKi 24/1-2) eine geringfügige Laccaseaktivität auf. Die dritte Probe mit Peroxidaseaktivität war NKi 24/3-2. Alle Extrakte mit Enzymaktivität wurden bei 100°C gekocht und erneut mit Syringaldazin analysiert. Nach der Denaturierung der Enzyme wies keine der Proben Enzymaktivität auf.

Die Messung des Sauerstoffverbrauchs zur Bestimmung der Enzymaktivität hat trotz der eingeschränkten Eignung der Methode zu ähnlichen Ergebnissen wie die Oxidation von Syringaldazin geführt. In beiden Fällen konnten nach drei Monaten Lagerung bei der ungeschützten Lagerung im Wald sowie bei der Folienabdeckung Hinweise auf eine erhöhte Enzymaktivität festgestellt werden. Beim Sauerstoffverbrauch wurde bei FA die Aktivität bei einer Probe ohne Rinde und mit Syringaldazin bei einer Probe in Rinde detektiert. Allerdings handelt es sich in beiden Fällen um eine Laccaseaktivität, da die angewandte „Sauerstoffmethode“ keine Peroxidaseaktivität messen kann. Des Weiteren wurde die FAi-Laccaseaktivität auch nach 12 Monaten Lagerung nachgewiesen. Wie bereits angeführt, wiesen FA und UWi teilweise Pilzbefall auf. Außerdem wurde insbesondere bei FAi aber auch bei UWi ein zum Teil sehr starker Befall durch rinden- und holzbrütende Insekten festgestellt (Zwischenbericht, 2006). Bei der visuellen Überprüfung von gelagerten FAi-Proben registrierte Maier zusätzlich stellenweise Zersetzungserscheinungen im Splintholz. Da auch Insekten Laccase produzieren können (Mäkelä et al., 2006) sowie rinden- und holzbrütende Insekten oft von Pilzbefall begleitet werden (Schmidt, 1994; Brignolas et al., 1998; Viiri et al., 2001; Lieutier et al., 2003), wurde die Enzymaktivität von FAi wahrscheinlich durch einen kombinierten Insekten- und Pilzbefall verursacht.

Bei der Nasskonservierung spielen holzerstörende Pilze und Insekten bei korrekter Durchführung der Lagerung fast keine Rolle. Stattdessen ist bekannt, dass die hohe Holzfeuchte zu erhöhter Aktivität von Bakterien im Holz führen kann, wobei vor allem die Hoftüpfelmembranen abgebaut werden (Adolf et al., 1972; Schmidt und Liese, 1994). Da Bakterien sowohl Laccase (Mäkelä et al., 2006) als auch Peroxidase (Jeon et al., 2002) produzieren, kann die Enzymaktivität von NKi 24 eventuell auf Bakterien im Splintholz zurückgeführt werden.

Die Folienkonservierung zeichnet sich dadurch aus, dass sie unter anderem guten Schutz vor holzerstörenden Pilzen und Insekten bietet (Groß et al., 1992; Maier, 2005). Des Weiteren konnten auch in folienkonserviertem Holz Bakterien festgestellt werden, im Vergleich zur Nasskonservierung allerdings in deutlich geringerem Umfang (Maier, 2005). Infolgedessen kann anhand der vorhandenen Daten keine schlüssige Erklärung für die hohen Peroxidaseaktivität bei FK_i gegeben werden.

Die Ergebnisse der Laccase- und Peroxidaseaktivität zeigen eindeutig, dass die geringeren Weißgrade der Holzschliffe nicht auf eine erhöhte Enzymaktivität des Holzes zurückzuführen sind. Gleichzeitig kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die im Holz vorhandenen, aber nicht detektierten Enzyme zur Polymerisierung von phenolischen Substanzen aus der Rinde beitragen und letztendlich für die geringeren Weißgrade mitverantwortlich sind. Neben anderen Einflussgrößen können diese Substanzen wahrscheinlich aufgrund einer solchen Polymerisierung nicht mehr durch einfache Extraktion aus Holz und Holzschliff abgetrennt und analysiert werden.

4.7 Mikroskopische Untersuchungen

Mikroskopische Techniken ermöglichen die Visualisierung und damit auch die Lokalisierung der verschiedenen Zellen und Zellbestandteile im Holz. Die UMSP-Technik kann speziell UV-aktive Substanzen topochemisch auf subzellulärer Ebene detektieren und semiquantitativ bestimmen (Koch und Kleist, 2001). Zahlreiche Veröffentlichungen belegen, dass die UMSP-Technik zur Bestimmung des Ligningehalts in der Zellwand und zur Aufdeckung der Ligninzusammensetzung in den Zellwandschichten eingesetzt werden kann (Fergus et al., 1969; Takabe et al., 1992; Sander und Koch, 2001; Lehringer et al., 2008). Auch der Verlauf der Delignifizierung durch Pilzaktivität oder im Zuge der Zellstoffherstellung kann durch UMSP dokumentiert werden (Kleist und Seehann, 1997; Koch et al., 2003b; Mendonça et al., 2004; Irbe et al., 2006). Neben der Gerüstsubstanz Lignin eignet sich die UMSP-Technik auch besonders zur Lokalisierung und Bestimmung von phenolischen Inhaltsstoffen im Holzgewebe (Koch et al., 2003a, 2006; Mayer et al., 2006).

4.7.1 Fichtensplintholz

Abbildung 4.44 enthält die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen des Splintholzes von *Picea abies*. Die lichtmikroskopischen Aufnahmen (Abbildungen 4.44a und 4.44b) zeigen mit Tracheiden, Holzstrahlen und einem Harzkanal die wesentlichen Strukturbestandteile von Fichtenholz. Dabei liegt der Harzkanal inklusive der umgebenden

4 Ergebnisse und Diskussion

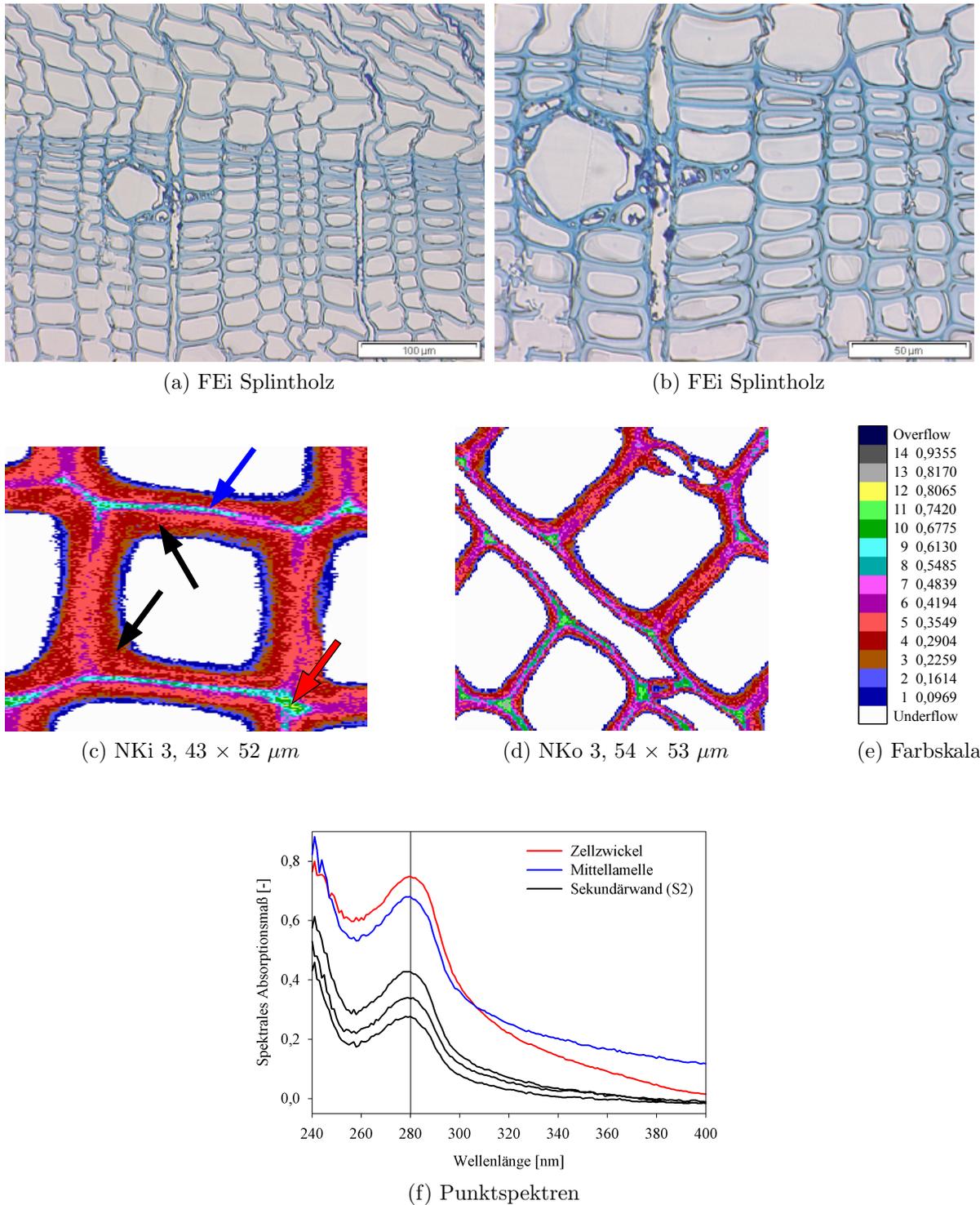


Abbildung 4.44: Fichtensplintholz im Querschnitt: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – e) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert; (f) UMSP-Punktspektren von verschiedenen, durch farbige Pfeile markierte Zellwandschichten.

Epithelzellen in direkter Nachbarschaft zu einem Holzstrahl und ist im Bereich der dickwandigen Spätholztracheiden angesiedelt. Zusätzlich befindet sich oberhalb des Harzkanales der scharfe Übergang von Spät- zu Frühholz, welcher die Jahrringgrenze markiert. Des Weiteren sind im rechten Bildbereich von Abbildung 4.44b einige Hoftüpfel zwischen den Tracheiden erkennbar. In den mit Toluidinblau O eingefärbten Dünnschnitten treten hierbei auch die Tori der Hoftüpfel zum Vorschein.

Einzelne Tracheiden und angrenzende Bereiche wurden mittels UMSP bei 280 nm gescannt. Beim Flächenscan wird dabei an jedem Punkt des Zellausschnitts das gemessene spektrale Absorptionsmaß gemäß einer Farbskala (Abbildung 4.44e) in ein farbiges Pixel umgewandelt, so dass nach Beendigung des Scanvorgangs Bilder entstehen, wie sie in den Abbildungen 4.44c und 4.44d dargestellt sind. Die unterschiedlichen Ligningehalte der verschiedenen Zellwandschichten sind deutlich zu erkennen. Die höchsten Werte sind in den Zellwickeln (roter Pfeil) zu finden. Ähnlich hohe Werte können der Mittellamelle (blauer Pfeil) zugeordnet werden. Die Sekundärwand S2 (schwarze Pfeile) zeichnet sich dagegen durch deutlich geringere Ligningehalte aus. Diese Ergebnisse stimmen mit den Angaben der Literatur überein (Fergus et al., 1969; Sander und Koch, 2001; Koch und Kleist, 2001; Koch und Grünwald, 2004).

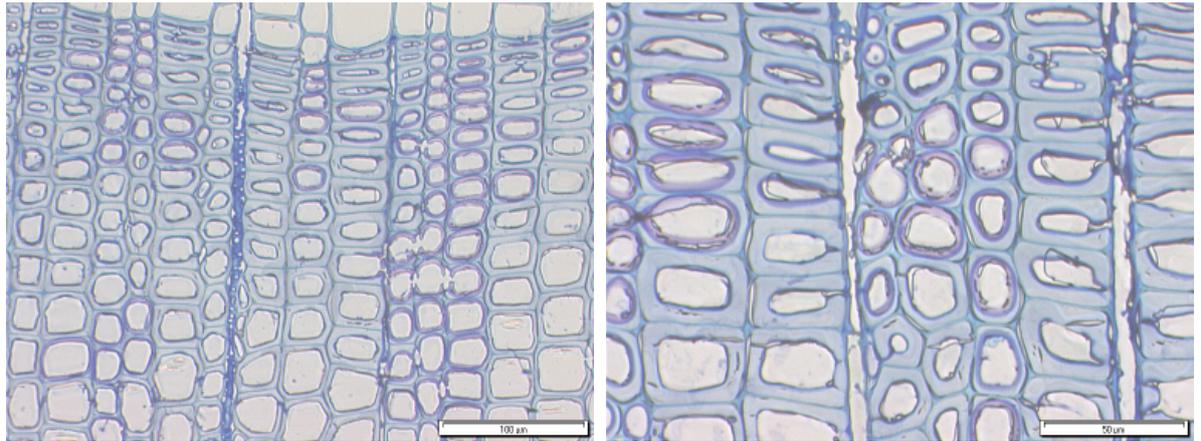
Neben den Flächenscans ganzer Zellen bei festgelegter Wellenlänge können mittels UMSP an ausgewählten Punkten auch vollständige UV-Spektren aufgenommen werden. In Abbildung 4.44f sind die Spektren der verschiedenen Zellwandbereiche aufgeführt. Nach Goldschmid (1971) ist ein typisches Ligninspektrum von Nadelholz durch ein Maximum bei 205 nm, eine Schulter bei 230 nm, ein flaches Minimum bei 260 nm sowie durch ein charakteristisches geringeres Maximum bei 280 nm und anschließendem raschen Abfall der Absorption in Richtung des längerwelligen Bereichs des Spektrums gekennzeichnet. Bei der eingesetzten UMSP-Apparatur kann das Spektrum erst ab 240 nm aufgenommen werden. Daher sind das erste Maximum und die Schulter nicht in den UMSP-Spektren enthalten. Die restlichen Merkmale von Nadelholzlignin sind jedoch gut identifizierbar, so dass die Spektren das Vorhandensein von Lignin erwartungsgemäß bestätigen. Die Ligninspektren der verschiedenen Zellwandschichten unterscheiden sich nur in der Höhe der Absorption und weisen ansonsten eine gute Übereinstimmung des Spektrenverlaufs auf.

4.7.2 Pilzbehandeltes Fichtensplintholz

Im Zuge der Enzymversuche (Abschnitt 4.6) wurde auch Fichtensplintholz verwendet, welches mit dem Weißfäulepilz *Trametes versicolor* beimpft wurde. Die erfolgreiche Pilzaktivität konnte gravimetrisch und durch die Bestimmung von Laccase- bzw. Peroxidaseaktivität nachgewiesen werden.

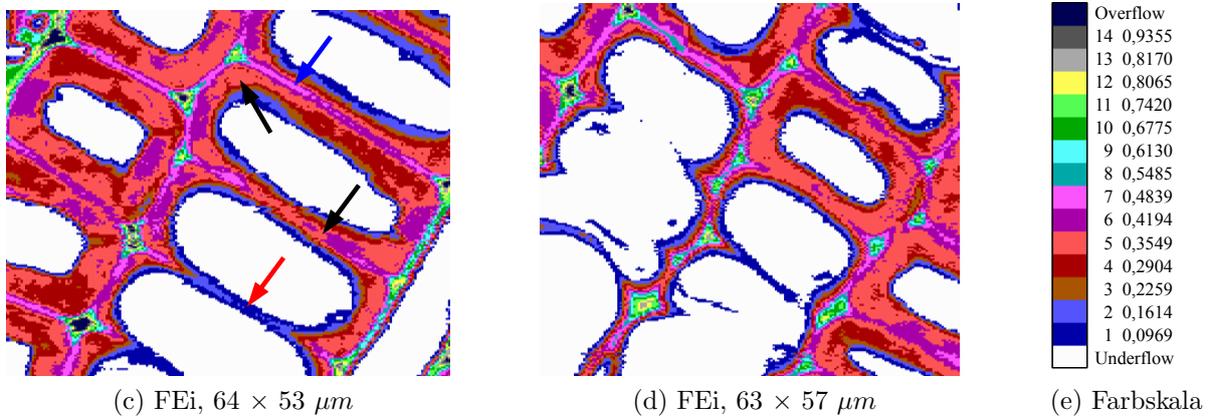
Abbildung 4.45 fasst die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen der pilzbehandelten Fichtensplintholzproben zusammen. In den lichtmikroskopischen Aufnahmen (Abbildungen 4.45a und 4.45b) sind Unterschiede im Vergleich zu den unbehandelten Proben in Abbildung 4.44 erkennbar. Einzelne Tracheiden sowie Gruppen von Tracheiden weisen abweichende Färbungen der Sekundärwand auf. Des Weiteren sind die Zellwände der betroffenen Tracheiden zum Teil dünner als die der umliegenden, nicht betroffenen

4 Ergebnisse und Diskussion



(a) FEi Splintholz pilzbehandelt

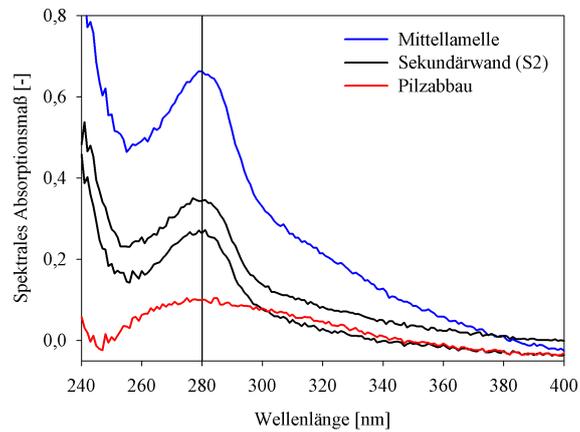
(b) FEi Splintholz pilzbehandelt



(c) FEi, $64 \times 53 \mu\text{m}$

(d) FEi, $63 \times 57 \mu\text{m}$

(e) Farbskala



(f) Punktspektren

Abbildung 4.45: Von *Trametes versicolor* angegriffenes Fichtensplintholz im Querschnitt: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – e) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert; (f) UMSP-Punktspektren von verschiedenen, durch farbige Pfeile markierte Zellwandschichten.

Zellen.

Die UMSP-Flächenscans bringen zum Vorschein, dass die Zellwände der betroffenen Tracheiden durch die Pilzaktivität deutlichen Veränderungen unterworfen sind (Abbildungen 4.45c bis 4.45e). Die Zellwände sind zum Teil deutlich dünner, weisen eine geringere Absorption auf oder können bei 280 nm überhaupt nicht detektiert werden. Diese Ergebnisse deuten auf erheblich geringere Ligningehalte der betroffenen Zellwände hin.

Neben den UMSP-Spektren von intakten Zellwandschichten (schwarze und blaue Pfeile) wurden auch Punktspektren von Zellwandbereichen aufgezeichnet, welche von der Aktivität von *Trametes versicolor* betroffen waren (roter Pfeil). Wie schon aus den Flächenscans hervorgeht, weist das „Pilzabbau-Spektrum“ im Vergleich zur Mittellamelle und zur Sekundärwand eine deutlich geringere Absorption auf. Zudem ist das Minimum im Vergleich zu den „normalen“ Ligninspektren etwas verschoben und im Bereich der höheren Wellenlängen verläuft der Abfall des spektralen Absorptionsmaßes flacher. Diese Unterschiede zeigen, dass das Lignin im Laufe der Pilzaktivität verändert und abgebaut wurde. Bei der Untersuchung von Holz, welches von *Trametes versicolor* besiedelt wurde, zeigten Faix et al. (1991), dass durch die Pilzaktivität der Anteil an Carbonylgruppen und Doppelbindungen in den aliphatischen Seitengruppen der Ligninbausteine anstieg.

Wie bereits in Abschnitt 4.6.1 aufgeführt, verursacht *Trametes versicolor* die simultane Weißfäule, welche durch den gleichzeitigen Abbau von Cellulose, Hemicellulosen und Lignin gekennzeichnet ist. Nach dem Eindringen der Pilzhyphen in die Tracheiden erfolgt der Zellwandabbau hierbei vom Zelllumen aus und schreitet Richtung Mittellamelle voran (Liese, 1970). Auch die Aktivität des Erregers der Rotstreifigkeit (*Stereum sanguinolentum*) wurde von Kleist und Seehann (1997) mikrospektrophotometrisch verfolgt und wies ein ähnliches Abbauverhalten wie *Trametes versicolor* auf. Insgesamt bestätigen die mikroskopischen Untersuchungen des pilzbehandelten Holzes die erfolgreiche Aktivität von *Trametes versicolor*, und hiermit die Einsatzfähigkeit dieser Proben zum Nachweis von Laccase- bzw. Peroxidaseaktivität (Abschnitt 4.6).

4.7.3 Splintholz von NKo 3

Die Splintholzprobe von nassgelagertem Holz ohne Rinde nach drei Monaten Lagerung (NKo 3), welche für die mikroskopischen Untersuchungen eingesetzt wurde, unterschied sich deutlich von allen anderen mikroskopierten Holz- und Holzschliffproben. Daher werden die Ergebnisse der Untersuchung der Einzelprobe in Abbildung 4.46 aufgeführt.

In den lichtmikroskopischen Abbildungen sind einige Tracheiden vorhanden, deren Zellwände durchlöchert erscheinen. Die UMSP-Flächenscans bestätigten diesen Eindruck. Dieses Abbaumuster deutet auf die Aktivität von Moderfäulepilzen hin, die im Nadelholz innerhalb der Zellwand wachsen und dabei Kavernen bilden, welche im mikroskopischen Querschnitt als Löcher auftreten (Liese, 1970; Schmidt, 1994; Schwarze, 2007). Dabei erfolgt der Abbau vor allem in der Sekundärwand, während die Tertiärwand lange Zeit nicht angegriffen wird. Auf diese Weise kann sich bei fortschreitender Zerstörung der Sekundärwand die Tertiärwand vollständig von der restlichen Zellwand ablösen (siehe Abbildung 4.46d). Schmidt (1994) zitiert zahlreiche Beispiele für das Vorkommen von Moderfäulepilzen in gelagertem und verbautem Holz, das sehr hohe Holzfeuchten

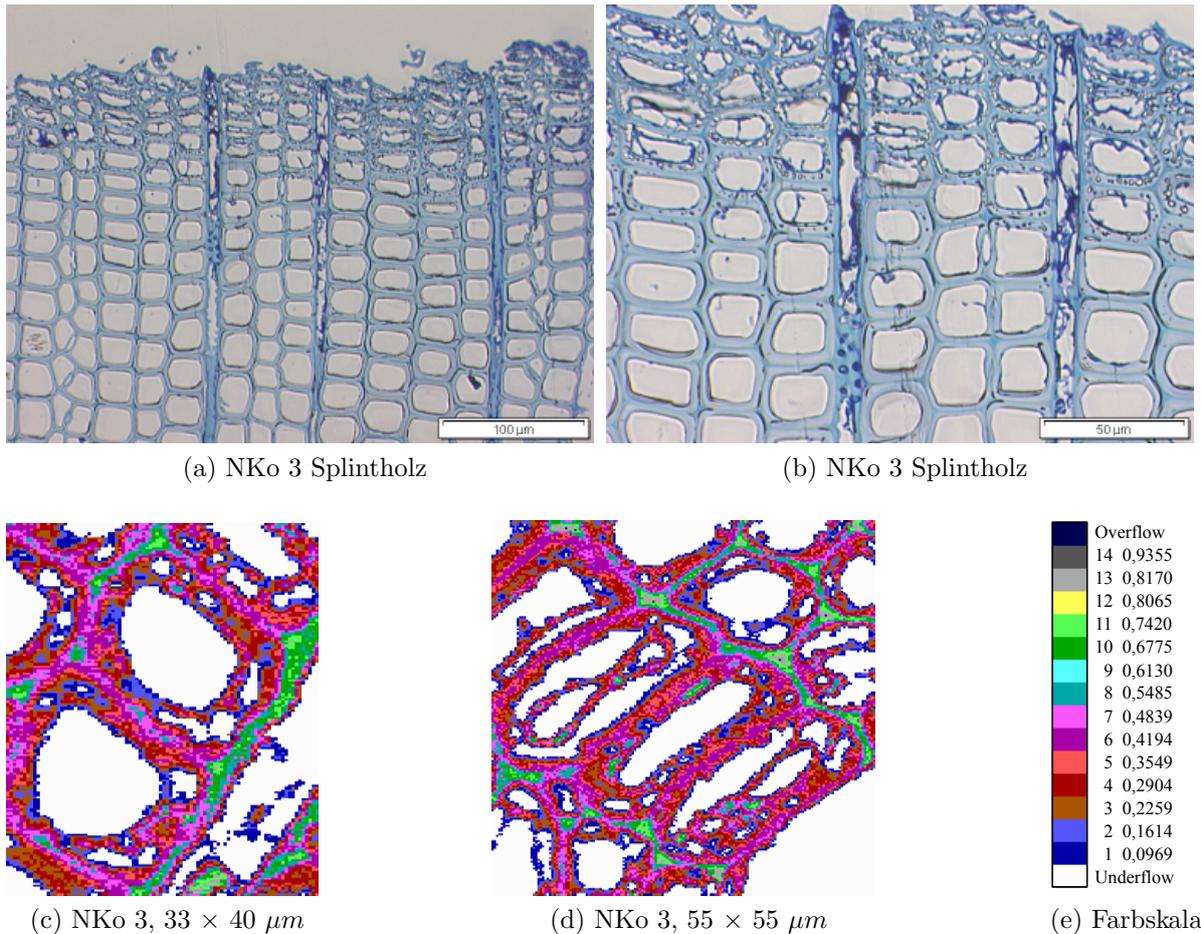


Abbildung 4.46: NKO 3 Splintholz im Querschnitt mit Löchern in der Sekundärwand einiger Tracheiden: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – e) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert.

aufweist. Aufgrund der hohen Holzfeuchte von NKO 3 (Abschnitt 4.1), dem detektierten Abbaumuster und der fehlenden Rinde ist daher ein Befall mit Moderfäule bei dieser Probe sehr wahrscheinlich. Die Tatsache, dass die Moderfäule nur bei einer Probe von NKO 3 detektiert wurde, lässt keinen Rückschluss auf das Vorkommen von Moderfäule im Allgemeinen sowie bei den anderen Lagerungsarten zu.

4.7.4 Fichtensplintholz in Rinde gelagert

In Abschnitt 4.5 wurde gezeigt, dass aus Splintholz, welches in Rinde gelagert wurde, häufig sogenannte „Rindensubstanzen“ extrahiert werden können. Daher wurden zahlreiche mit und ohne Rinde gelagerte Splintholzproben mikroskopisch untersucht, um weitere Informationen zu den „Rindensubstanzen“ zu erhalten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abbildung 4.47 zusammengefasst.

Bei den lichtmikroskopischen Analysen des in Rinde gelagerten Fichtensplintholzes

4 Ergebnisse und Diskussion

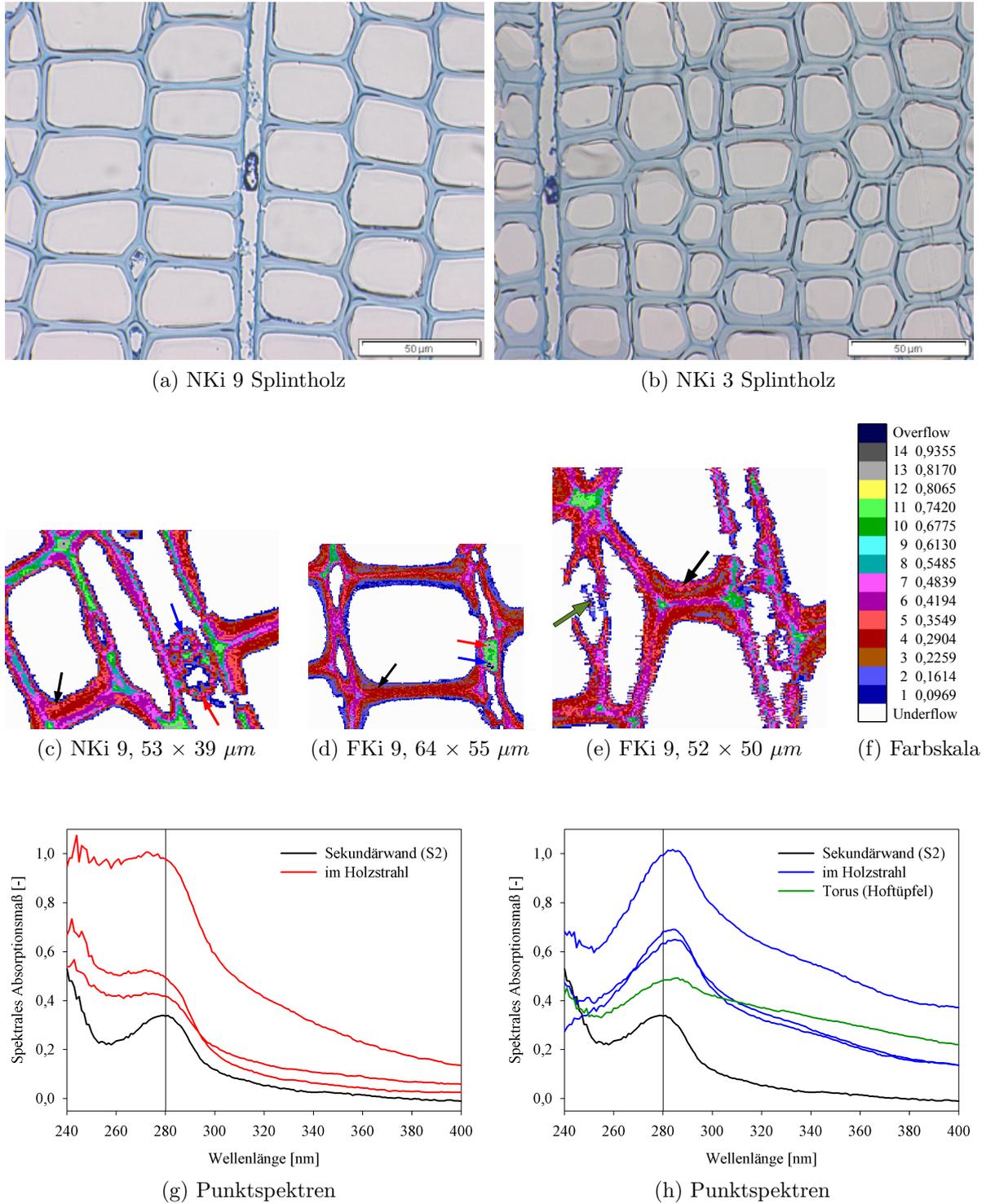


Abbildung 4.47: In Rinde gelagertes Fichtensplintholz mit auffälligen Strukturen im Holzstrahl und am Hoftüpfel: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – f) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert; (g + h) UMSP-Punktspektren der mit farbigen Pfeilen markierten Zellstrukturen.

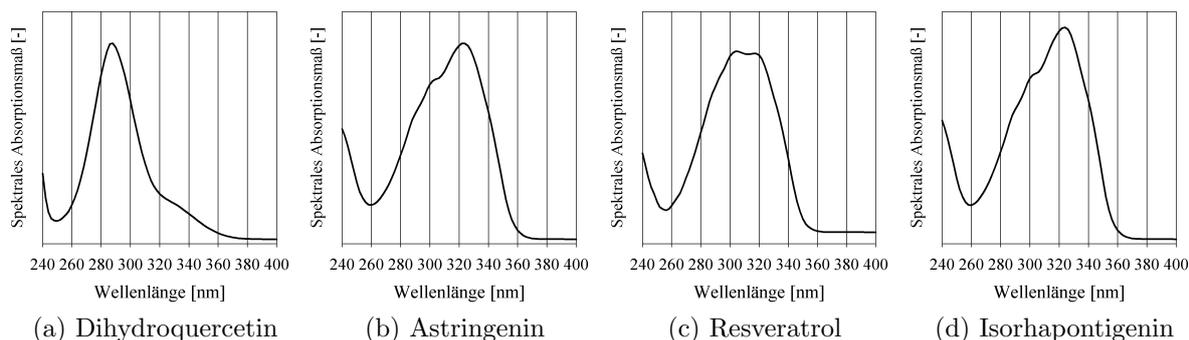
wurden in vielen Fällen Querschnitte untersucht, wie sie beispielhaft in den Abbildungen 4.47a und 4.47b dargestellt sind. Die Abbildungen verdeutlichen, dass die Aufnahmen in weiten Teilen mit den Aufnahmen von frischem Fichtensplintholz (Abbildungen 4.44a und 4.44b) übereinstimmen. Im Gegensatz zum frischen Holz können allerdings in vielen Holzstrahlen des in Rinde gelagerten Holzes ovale oder runde Strukturen festgestellt werden. Nach Ullevalseter (1965) gelangen die Substanzen aus der Rinde über die Holzstrahlen ins Holz.

Die ovalen bzw. runden Strukturen in den Holzstrahlen wurden auch in den UMSP-Flächenscans wiedergefunden (Abbildungen 4.47c – 4.47f). Diese Tatsache beweist, dass es sich bei den Strukturen im Holzstrahl um UV-aktive Substanzen handelt. Wie die UMSP-Flächenscans zeigen, haben die Substanzen im Holzstrahl bei 280 nm zum Teil höhere Absorptionswerte als die umliegenden Zellwände. Zusätzlich ist auch teilweise der Torus einiger Hoftüpfel in den UMSP-Flächenscans erkennbar (Abbildung 4.47e). In diesem Zusammenhang detektierten Hildén et al. (2006) im äußeren Splintholz von nassgelagertem Fichtenholz Tori, die grün fluoreszierten und in frischem Splintholz nicht vorhanden waren. Da die Hoftüpfel erst im Zuge der Verkernung lignifizieren, wurden unter anderem aus der Rinde migrierte phenolische Substanzen für die Fluoreszenz der Tori verantwortlich gemacht.

Weitere Informationen zu den UV-aktiven Substanzen konnten durch die Aufzeichnung von UMSP-Punktspektren gewonnen werden. Dabei wurden sowohl Spektren der Sekundärwand (schwarze Pfeile) als auch Spektren der Substanzen in den Holzstrahlen (blaue und rote Pfeile) und der UV-aktiven Tori (grüner Pfeil) aufgenommen. Die Spektren der Sekundärwände zeigen den charakteristischen Verlauf eines Nadelholzlignins, wie er bereits in Abschnitt 4.7.1 beschrieben wird.

Neben der zum Teil höheren Absorption, die bereits in den Flächenscans deutlich wird, weichen die Spektren der Holzstrahl-Substanzen auch in ihrem Verlauf von den Spektren des Zellwandlignins ab. Wie Abbildung 4.47g zeigt, ist ein Teil der Spektren durch ein Fehlen des Minimums bei 260 nm bzw. durch das Fehlen eines Maximums bei 280 nm gekennzeichnet. Infolgedessen erscheint das sonst für Nadelholzlignin charakteristische Maximum bei 280 nm nur als Schulter, wobei zusätzlich die Schulter selbst zu einer etwas niedrigeren Wellenlänge hin verschoben ist. Die Spektren in Abbildung 4.47h weisen ebenfalls Abweichungen im Vergleich zum Nadelholzligninspektrum auf. Die auffälligsten Unterschiede sind hierbei die Verschiebung des Maximums zu einer Wellenlänge > 280 nm sowie einem deutlich langsameren Abfall der Absorption zu höheren Wellenlängen hin. Zusätzlich ist das Minimum im Vergleich zum Lignin verschoben oder gar nicht vorhanden.

Die UMSP-Punktspektren der Holzstrahl-Substanzen und der Hoftüpfel-Substanzen ermöglichen keine genaue Zuordnung zu einer bestimmten Substanz. Ein Vergleich der Spektren mit den UV-DAD-Spektren der „Rindensubstanzen“ (Abbildung 4.48) deutet jedoch darauf hin, dass die „Rindensubstanzen“ zumindest zum Teil für den Verlauf der UMSP-Spektren verantwortlich sind. Dihydroquercetin zeichnet sich etwa durch ein Maximum bei 288 nm aus, was mit den Spektren in Abbildung 4.47h übereinstimmt. Zusätzlich liegt bei Dihydroquercetin das Minimum bei 250 nm, so dass eine weitere Übereinstimmung mit einigen UMSP-Punktspektren vorhanden ist. Die drei Stilbene



Abbildungung 4.48: UV-DAD-Spektren der „Rindensubstanzen“. Zur besseren Vergleichbarkeit der Spektren mit den UMSP-Spektren wurde nur der Wellenlängenbereich 240 bis 400 nm abgebildet.

haben ihre Maxima im Wellenlängenbereich 300 – 320 nm, so dass sie wahrscheinlich für das langsame Abfallen des spektralen Absorptionsmaßes einiger UMSP-Punktspektren mitverantwortlich sind. Ähnliche Spektren mit allgemein hoher Absorption, verschobenen Maxima und in Richtung des sichtbaren Bereichs des Spektrums langsam abfallenden Absorptionswerten sind auch bei der UMSP-Analyse verschiedener farbiger bzw. verfärbter Laubhölzer festgestellt worden (Koch et al., 2003a, 2006; Mayer et al., 2006). Die Autoren führten den Verlauf der Spektren hierbei auf phenolische Inhaltsstoffe zurück. Des Weiteren wird das Vorkommen von Inhaltsstoffe in den Zelllumina damit begründet, dass die Substanzen zu einer hochmolekularen Struktur kondensiert sind, was eine Imprägnierung der Zellwände mit diesen Inhaltsstoffen verhindert. Mayer et al. (2006) untermauerten diese Ansicht, da das Holz auch noch nach der Extraktion gefärbt blieb. Sie führten dies ebenfalls auf höhermolekulare Inhaltsstoffe zurück, welche sich nicht mit der eingesetzten Methode extrahieren ließen.

Der Verlauf der UMSP-Punktspektren in Abbildung 4.47g konnte durch die UV-DAD-Spektren der „Rindensubstanzen“ nicht direkt erklärt werden. Allgemein gesehen setzt sich ein UV-Spektrum aus einer Vielzahl von miteinander in Wechselwirkung tretenden Faktoren zusammen. Goldschmid (1971) führte im Fall von Lignin etwa Art, Zahl und Position von Substituenten am aromatischen Ring als wichtige Einflussgrößen an, die sich in komplexer Weise gegenseitig beeinflussen. Die einzelnen Substituenten führen zu Einzelbanden, die in ihrer Summe den Verlauf des gesamten Spektrums bestimmen. Goldschmid (1971) beschrieb, dass freie und veretherte phenolischen *OH*-Gruppen signifikant zum charakteristischen Maximum von Nadelholzlignin bei 280 nm beitragen. In Versuchen mit Modellsubstanzen demonstrierte der Autor zudem, dass eine Doppelbindung der Phenylpropanseitenkette direkt am phenolischen Ring ein Maximum bei 260 nm bewirkt. Im Vergleich zum Lignin kann daher theoretisch ein geringerer Anteil an phenolischen *OH*-Gruppen sowie ein höherer Anteil an Doppelbindungen für den Verlauf der UMSP-Spektren in Abbildung 4.47g verantwortlich sein. Dagegen wurden phenolische *OH*-Gruppen, welche mit Carbonylgruppen, *C – C*-Doppelbindungen oder

Biphenylstrukturen konjugiert vorliegen, für eine höhere Absorption im Bereich 300 – 400 nm verantwortlich gemacht (Goldschmid, 1971).

Die Überlegungen verdeutlichen die Komplexität der Einflüsse auf den Verlauf eines UV-Spektrums. Tatsache ist jedoch, dass sich die UMSP-Punktspektren der Holzstrahl- und Hoftüpfel-Substanzen in mehreren Bereichen deutlich von den Ligninspektren unterscheiden und zusätzlich gewisse Übereinstimmungen mit den extrahierten „Rindensubstanzen“ vorliegen. Infolgedessen kann davon ausgegangen werden, dass es sich bei den mikroskopisch detektierten Substanzen um phenolische Inhaltsstoffe handelt, welche während der Lagerung aus der Rinde ins äußere Splintholz diffundierten.

4.7.5 Holzschliffe

Neben den verschiedenen Fichtensplintholzproben wurden auch mehrere Holzschliffe eingebettet und mikroskopisch analysiert. Im Gegensatz zum Holz war es beim Holzschliff nicht möglich genau definierte Schnittebenen wie etwa den Querschnitt herzustellen, da der Schleifvorgang das geordnete Holzgefüge auflöst und die einzelnen Holzschliffbestandteile infolgedessen nicht mehr einheitlich strukturiert sind. Bei der Auswertung musste diese Vielfalt der Strukturen beachtet werden. Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen der Holzschliffe wurden in Abbildung 4.49 zusammengefasst.

Die lichtmikroskopischen Aufnahmen (Abbildungen 4.49a und 4.49b) zeigen die Inhomogenität der Holzschliffe. In den Abbildungen sind einzelne Früh- und Spätholztracheiden aber auch ganze Tracheidenbündel zu erkennen, die während der Holzschliffproduktion nicht vollständig vereinzelt wurden. Neben den offensichtlich intakten Tracheiden verdeutlichen die Aufnahmen das Vorkommen zahlreicher Zell- bzw. Zellwandbruchstücke, die für den Feinstoffanteil der Holzschliffe verantwortlich sind. Wie bereits in Abschnitt 4.3.7 erwähnt, wird bei der Holzschliffherstellung ein Großteil der Parenchymzellen zerstört (Allen, 1975). Zusätzlich zeigt Abbildung 4.49b, dass auch Tracheiden während des Holzschleifens beschädigt werden. Fernando et al. (2007) demonstrierten ebenfalls, dass neben den Parenchymzellen auch die Tracheiden durch die mechanischen Vorgänge beim Holzschleifen brechen bzw. Teile der Tracheiden abreißen können. Unterschiede zwischen Holzschliffen aus Holz ohne Rinde gegenüber solchen aus Holz in Rinde konnten in den lichtmikroskopischen Untersuchungen nicht festgestellt werden.

Mehrere UMSP-Flächenscans verschiedener Holzschliffe sind in den Abbildungen 4.49c bis 4.49f aufgeführt. Die Zellwandbestandteile Zellzwickel, Mittellamelle und Sekundärwand können bei den hier dargestellten Tracheiden gut unterschieden werden. Insbesondere in Abbildung 4.49d und 4.49e fallen die hohen spektralen Absorptionsmaße auf, die über den Werten des Splintholzes in Abbildung 4.44 liegen. Des Weiteren zeigen die UMSP-Flächenscans, dass die Tracheiden zum Teil fast nur aus Sekundärwand bestehen (Abbildung 4.49c), oder aber neben der eigenen Sekundärwand und der Mittellamelle auch noch Reste der Sekundärwand der benachbarten Tracheiden aufweisen (Abbildung 4.49d). Folglich wurden die Tracheiden bei der Holzschliffherstellung nicht direkt in der Mittellamelle voneinander getrennt, sondern die Bruchlinie lief eher unspezifisch durch Sekundärwand und Mittellamelle. Refiner-Holzstoff (RMP) weist ein ähnliches Bruchbild auf (Franzén, 1986; Htun und Salmén, 1996). Die Trennung der

4 Ergebnisse und Diskussion

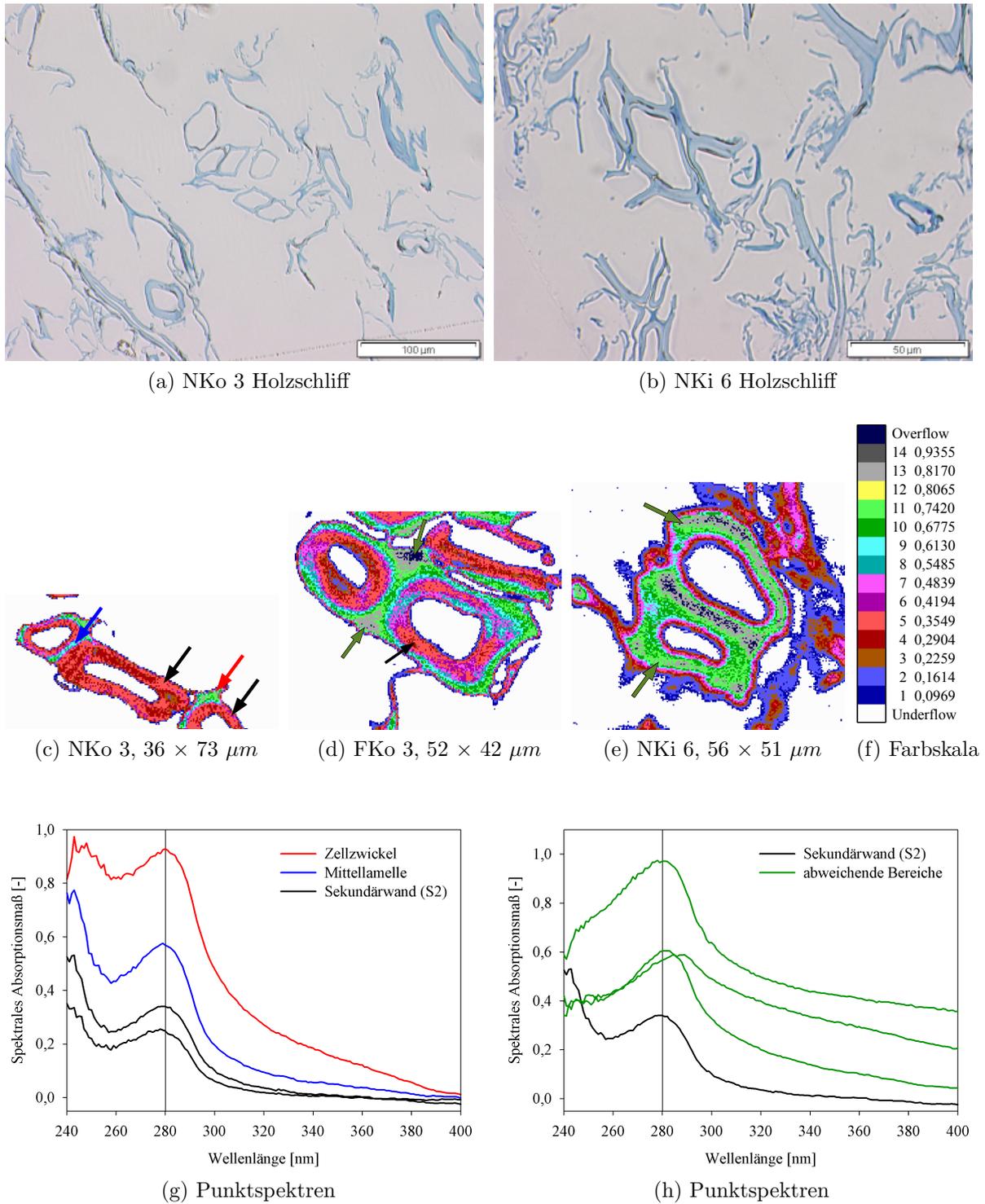


Abbildung 4.49: Schnitte von eingebetteten Holzschliffen: (a + b) Lichtmikroskopische Aufnahmen; (c – f) UMSP-Flächenscans und Farbskala, welche die spektralen Absorptionsmaße repräsentiert; (g + h) UMSP-Punktspektren der verschiedenen, mit farbigen Pfeilen markierten Holzschliffstrukturen.

Tracheiden bei der Herstellung des chemo-thermo-mechanischen Holzstoffs (CTMP), bei dem die Hackschnitzel im Gegensatz zum RMP chemisch und thermisch vorbehandelt werden und eine höhere Prozesstemperatur eingesetzt wird, erfolgt dagegen direkt in der Mittellamelle.

Viele der Holzschliff-UMSP-Punktspektren weisen wie die Spektren in Abbildung 4.49g das charakteristische Spektrum von Nadelholzlignin auf. Übereinstimmend mit den Ligninspektren im Splintholz unterscheiden sich die Spektren dabei nur in der Höhe der Absorption, die wiederum von der jeweiligen Zellwandschicht abhängt. Wie die UMSP-Flächenscans bereits andeuteten, wurden auch UMSP-Spektren ermittelt, welche sich von den Ligninspektren unterscheiden (Abbildung 4.49h). Hierbei weisen diese Spektren die gleichen Merkmale wie die der Holzstrahl- und Hoftüpfel-Substanzen auf (Abbildung 4.47). Das Minimum bei 260 nm fehlt überwiegend und teilweise ist die Absorption sehr hoch. Zudem sind einige Spektren durch ein verschobenes Maximum gekennzeichnet und die Absorption nimmt in Richtung des sichtbaren Lichts nur langsam ab. Mögliche Einflüsse auf den Verlauf des Spektrums wurden bereits in Abschnitt 4.7.4 besprochen.

Aus den Daten geht hervor, dass die vom nativen Lignin abweichenden Spektren sowohl bei Schliffen aus Holz in Rinde, als auch bei Schliffen aus entrindetem Holz festgestellt wurden. Diese Tatsache deutet darauf hin, dass in den Holzschliffen nicht nur der Einfluss der „Rindensubstanzen“ zu den abweichenden Spektren führt. Die bei der Holzschliffproduktion auftretenden mechanischen Beanspruchungen, hohen Holzfeuchten und Temperaturen können Veränderungen des Lignins bewirken (Gierer et al., 1973; Lindholm, 1999). Nach Kollmann et al. (1951) wird durch die chemische Veränderung des Lignins in der Regel die Farbe des Lignins vertieft, was mit einer geringeren Abnahme der Absorption in Richtung des sichtbaren Bereichs des Spektrum verbunden ist. Dabei gingen die Autoren von der Neubildung chromophorer Gruppen aus. Auch bei der TMP-Produktion, die allerdings bei höheren Temperaturen im Vergleich zum Holzschliff durchgeführt wird, entstehen neue chromophore Gruppen (Johansson et al., 2002). Wie stark sich modifiziertes Lignin von nativem Lignin unterscheiden kann, demonstrierten Sander und Koch (2001) bei der UMSP-Analyse von acetyliertem und hydrothermal modifiziertem Holz im Vergleich zu nicht modifiziertem Holz.

Die UMSP-Analysen bestätigen, dass die Holzschliffproduktion eine Veränderung von UV-aktiven Substanzen im Vergleich zum Ausgangsholz verursacht. Da auch die Holzschliffe betroffen sind, deren Holz ohne Rinde gelagert wurde, ist das Lignin von diesen Änderungen betroffen. Gründe für die niedrigeren Weißgrade von Holzschliffen aus Holz in Rinde, konnten durch die UMSP-Untersuchungen nicht ermittelt werden. Die Übereinstimmung einiger UMSP-Punktspektren der Holzschliffe mit den „Rindensubstanz“-Spektren des gelagerten Splintholzes deutet jedoch darauf hin, dass auch „Rindensubstanzen“ an den Veränderungen der UV-aktiven Substanzen beteiligt sind.

5 Zusammenfassung und Bewertung

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Fichtenrundholzabschnitte, die mittels verschiedener Methoden gelagert wurden, sowie daraus produzierte Holzschliffe wurden analysiert. Dabei wurden die Lagerungsvarianten ungeschützte Lagerung im Wald (UW), ungeschützte Lagerung auf der Freifläche (UF), Nasskonservierung (NK), Folienabdeckung (FA) und Folienkonservierung (FK) untersucht. Zusätzlich zur Lagerung in Rinde (i) wurden die Varianten NK, FA und FK auch ohne Rinde (o) durchgeführt.

Holzfeuchte

Nach einer Lagerungsdauer von 12 Monaten wies das Fichtenholz bei fast allen Lagerungsarten eine mittlere Holzfeuchte von über 100 % auf, d. h. während der Lagerung wurde eine hohe Holzfeuchte konserviert. Nur die ungeschützte Lagerung auf der Freifläche (UFi) führte erwartungsgemäß zu einem schnellen Abtrocknen des Holzes auf Holzfeuchten um 20 %. Bei der ungeschützten Lagerung im Wald (UWi) muss beachtet werden, dass nur optimale äußere Bedingungen, wie z. B. gute Beschattung der Holzpolter, die Holzfeuchte auf einem hohen Niveau erhalten können (Keller, 1973; Maier, 2005). Bei der Folienabdeckung (FA) und -konservierung (FK) wies die Holzfeuchte unabhängig vom Berindungsgrad eine leicht abwärtsgerichtete Tendenz auf. Die Berechnung führte bei NKi zu einem Anstieg der Holzfeuchte, während NKo niedrigere Werte aufwies, wobei immer noch die Ausgangsholzfeuchte konserviert wurde. Die Holzfeuchteprofile der Lagerungsvarianten, welche die Holzfeuchte auf einem hohen Niveau erhielten, glichen weitestgehend den Holzfeuchteprofilen der frischen Ausgangsproben (FEi). Nur bei der Nasskonservierung in Rinde (NKi) hatte der allgemeine Anstieg der Holzfeuchte auch eine deutliche Erhöhung der Kernholzfeuchte zur Folge.

Die Untersuchungen zum Verlauf der Holzfeuchte während der Lagerung bestätigten die Schutzwirkung der Rinde vor Austrocknung. So wies NKi deutlich höhere Werte als NKo auf, obwohl beide in gleichem Maße beregnet wurden. Zusätzlich trocknete NKo sehr schnell, wenn etwa technische Probleme keine Beregnung ermöglichten. Bei der Lagerung ohne Rinde muss zudem darauf geachtet werden, dass zwischen Entrindung und Einlagerung möglichst wenig Zeit vergeht, damit die exponierten Rundholzabschnitte nicht schon vor der Lagerung trocknen. Dies war bei einige Proben von FKo beobachtet worden.

Freie Zucker und Stärke

Unabhängig von der Lagerungsmethode und dem Berindungsgrad verringerte sich der Gehalt an freien Zuckern und Stärke im Splintholz von *Picea abies* bereits während der

ersten drei Monate der Lagerung deutlich. Die Gehalte an freien Zuckern und Stärke schwanken in Abhängigkeit von der Jahreszeit. Daher wurden die bereits niedrigen Ausgangswerte auf den Zeitpunkt des Holzeinschlags zurückgeführt. Die Gründe für die z. T. höheren Gehalte freier Zucker in FKi konnten nicht abschließend aufgeklärt werden.

Lipophile Inhaltsstoffe

Die Bestimmung der lipophilen Inhaltsstoffe erfolgte für Splint- und Kernholzproben sowie für die Holzschliffe. Quantitativ wiesen die vier Hauptstoffgruppen Fettsäuren, Harzsäuren, Sterylester und Triglyceride die höchsten Werte auf. Weitere quantifizierte Stoffgruppen mit geringeren Gehalten waren Sterole, langkettige Alkohole und Alkylferulate. Das Sterolderivat Sitosterolglucopyranosid wurde durch GC-MS/MS-Untersuchungen zum ersten Mal im Holz von *Picea abies* nachgewiesen.

Die Gesamtgehalte an lipophilen Substanzen im Splint- und Kernholz stimmten über einen weiten Bereich überein. In ihrer Zusammensetzung unterschieden sich Splint- und Kernholz dagegen. Sämtliche vier Hauptstoffgruppen konnten im Kernholz in deutlichen Mengen festgestellt werden. Im Splintholz waren die Triglyceridgehalte sehr gering und gleichzeitig die Gehalte an Fettsäuren höher als im Kernholz. Dies wird verständlich, da die meisten Analysen an gelagertem Holz durchgeführt wurden. Während der Holzlagerung werden die Triglyceride des Splintholzes enzymatisch zu Fettsäuren hydrolysiert (Assarsson et al., 1963; Assarsson und Åkerlund, 1967; Ekman und Hafizoğlu, 1993). Im Kernholz findet die Hydrolyse der Triglyceride in deutlich geringerem Maße statt.

Aus den halbtechnisch produzierten Holzschliffen wurden weniger lipophile Inhaltsstoffe extrahiert als aus Fichtenholz. Die Sterylestergehalte der Schliffe entsprachen den Mengen in den Holzproben. Es wurden ähnlich geringe Mengen an Triglyceriden wie im Splintholz festgestellt. Fett- und Harzsäuren konnten nur in sehr niedrigen Konzentrationen detektiert werden. Untersuchungen an Industrieholzschliffen belegten, dass die Extraktionsmethode nicht für die geringen Werte verantwortlich war. Im Zuge der Holzschliffherstellung freigesetzte lipophile Substanzen sind im Prozesswasser gelöst bzw. kolloidal dispergiert (Holmbom und Sundberg, 2003). Insbesondere kolloidale Tröpfchen können wieder an den Fasern adsorbieren oder z. B. bei der Filtration im Holzschliff zurückgehalten werden (Allen, 1975; Schmitt et al., 1990; Fernando et al., 2008). Fett- und Harzsäuren, die im Vergleich zu Sterylestern und Triglyceriden eine bessere Wasserlöslichkeit aufweisen, werden dagegen z. T. bei der Filtration dauerhaft zusammen mit dem Prozesswasser aus dem Holzschliff entfernt.

Die Gesamtgehalte der Proben blieben über die ganze Lagerungsdauer weitestgehend konstant. Im Kernholz veränderten sich auch die Anteile der Stoffgruppen nicht. Während die Werte der Harzsäuren und Sterylester im Splintholz ebenfalls keine Veränderungen aufwiesen, wurde bei den Fettsäuren mit fortschreitender Lagerungsdauer eine tendenzielle Zunahme festgestellt. Die niedrigen Triglyceridwerte von nicht gelagertem, frischem Splintholz können auf Verzögerungen nach der Holzernte sowie den Transport nach Hamburg zurückgeführt werden. Bei dem Sterylestergehalt der Holzschliffe konnte keine Abhängigkeit von der Lagerungsdauer beobachtet werden. Dagegen waren die Triglyceride durch eine deutliche Entwicklung während der Lagerung gekennzeichnet. Sie

nahmen in den Holzschliffen mit fortschreitender Lagerung kontinuierlich ab.

Beim Vergleich der Gesamtgehalte konnten im Kernholz in Abhängigkeit von der eingesetzten Lagerungsart keine Unterschiede festgestellt werden. Die Splintholz- und Schliffproben wiesen ebenfalls eine gute Übereinstimmung auf. Hierbei wurde jedoch in beiden Fällen bei der Lagerungsvariante UF die geringsten Werte ermittelt. Die Analyse der lipophilen Stoffgruppen des Splintholzes zeigte, dass vor allem die Fettsäuren in deutlich geringerem Maße als bei den restlichen Lagerungsarten detektiert werden konnte. Aber auch bei den Harzsäuren und Sterylestern wurden für UF die geringsten Werte festgestellt. Die Triglyceride hatten im Splintholz bei allen Lagerungsvarianten dasselbe niedrige Niveau. Bei den Holzschliffen wurden die geringen Werte von UF durch geringere Sterylestergehalte verursacht. Die Mengen an Fettsäuren, Harzsäuren und Triglyceriden der Holzschliffe wiesen keine Abhängigkeit von der Lagerungsart auf. Versuche an gefriergetrockneten Industrieholzschliffen bestätigten, dass die geringeren Gehalte der UF-Proben wahrscheinlich überwiegend auf autoxidative Vorgänge zurückzuführen sind. Nur bei der ungeschützten Lagerung auf der Freifläche war ein schneller Abfall der Holzfeuchte zu beobachten, der das Holz für Sauerstoff zugänglich machte.

Abschließend wurde der Einfluss des Berindungsgrades während der Lagerung untersucht. Bei der Folienabdeckung konnten keine Unterschiede festgestellt werden. Die Hauptstoffgruppen der Splintholzproben ohne Rinde hatten bei der Folienkonservierung tendenziell geringere Werte als mit Rinde. Am deutlichsten waren die Abweichungen im Fall der Nasskonservierung. Die Gehalte der Hauptstoffgruppen von NKi und NKO wiesen nur eine kleine Schnittmenge auf. Dabei hatte NKO immer die niedrigeren Werte. Für die geringeren Werte nach der Lagerung ohne Rinde wurden der fehlende Schutz der Rinde gegen Mikroorganismen und Autoxidation verantwortlich gemacht.

Phenolische Inhaltsstoffe

An phenolischen Inhaltsstoffen enthält Fichtenholz fast ausschließlich die Stoffgruppe der Lignane. Die Analysen bestätigten, dass die Lignane auf das Kernholz beschränkt sind und im Splintholz nur in Spuren vorkommen. Im Holzschliff wurden deutlich geringere Lignangehalte detektiert, da ein Teil der Substanzen während der Holzschliffherstellung in Lösung geht. Übereinstimmend mit der Literatur war das Lignan Hydroxymatairesinol sowohl im Kernholz als auch im Schliff das dominierende Lignan. Zum Teil überproportional hohe Lignanwerte wurden auf das Vorkommen von Astholz zurückgeführt, welches bei *Picea abies* Lignane in sehr hohen Konzentrationen enthalten kann. Zwischen den Proben konnten in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer, der Lagerungsart und des Berindungsgrades keine Unterschiede aufgedeckt werden, so dass die Lagerung keinen Einfluss auf die Lignane hatte.

Zusätzlich konnten in einigen Proben mit den drei Stilbenen Astringenin, Isorhaponigenin und Resveratrol sowie mit dem Flavonoid Dihydroquercetin weitere phenolische Inhaltsstoffe identifiziert werden, die normalerweise nicht Bestandteile von Fichtenholz sind. Diese Substanzen wurden beim Holz nur im Splint festgestellt. Dabei war hauptsächlich das Holz in Rinde betroffen. Die innere Fichtenrinde weist hohe Konzentrationen an Stilbenglucosiden und Dihydroquercetin auf. Nach Ekman und Hafizoğlu (1993) dif-

fundieren die Substanzen während der Lagerung aus der Rinde über die Holzstrahlen ins Splintholz, wo die Glucose abgespalten wird, so dass die Stilbenaglucone freigesetzt werden. UMSP-Messungen zeigten, dass Holz in Rinde UV-aktive Substanzen in den Holzstrahlen enthalten konnte, deren UV-Spektren Übereinstimmungen mit den Spektren der extrahierten Substanzen aufwiesen. Auch an den Tori mancher Hoftüpfel wurden diese Spektren erfasst.

Bereits nach drei Monaten Lagerung wurden deutliche Konzentrationen der „Rindensubstanzen“ im Splintholz festgestellt. Mit fortschreitender Lagerungsdauer war jedoch keine weitere quantitative Steigerung erkennbar. Die „Rindensubstanzen“ konnten nicht in allen gelagerten Splintholzproben mit Rinde detektiert werden. Zusätzlich waren deutliche Unterschiede zwischen den Lagerungsarten vorhanden. Aus dem rasch abgetrockneten UFi-Holz konnten die „Rindensubstanzen“ nur selten und in verhältnismäßig geringen Mengen extrahiert werden. Hohe Holzfeuchten begünstigten dagegen insbesondere bei FK_i, NK_i und UW_i die Migration, so dass die „Rindensubstanzen“ häufiger und mit höheren Gehalten festgestellt wurden. Abschließend konnte jedoch nicht geklärt werden, ob das Ausbleiben der quantitativen Steigerung bei zunehmender Lagerungsdauer und die generell geringen Werte mancher Lagerungsvarianten z. T. auch mit einer Verringerung der Extrahierbarkeit der „Rindensubstanzen“ zusammenhängt.

Die „Rindensubstanzen“ konnten nur aus zwei Holzschliffen in Spuren extrahiert werden. In den UMSP-Messungen wurden wie beim Splintholz vom nativen Nadelholzlignin abweichende UV-Spektren festgestellt. Da diese Spektren aber in allen Schliffen gefunden wurden, konnten nicht die „Rindensubstanzen“ sondern eher im Zuge der Holzschliffherstellung verändertes Lignin als Quelle der abweichenden Spektren ausgemacht werden. Obwohl die „Rindensubstanzen“ im Holzschliff nicht detektiert wurden, wiesen die Schliffe aus Holz in Rinde trotzdem geringere Weißgrade als die restlichen Schliffe auf. Folglich hing die Lagerung in Rinde mit den geringeren Weißgraden zusammen. Die ursächlichen Substanzen konnten in den Holzschliffen allerdings nicht direkt nachgewiesen werden. Eventuell führten Vorgänge während der Holzschliffherstellung zum Verlust der Extrahierbarkeit. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass die „Rindensubstanzen“, und hierbei insbesondere das Flavonoid Dihydroquercetin, für die niedrigen Weißgrade zumindest mitverantwortlich sind.

5.2 Bewertung der Lagerungsmethoden für Schleifholz

Das Ziel der Untersuchungen dieser Arbeit war die Aufdeckung und Bewertung von Unterschieden zwischen den verschiedenen Lagerungsmethoden für Fichtenschleifholz im Hinblick auf das Endprodukt. Die Bewertung der untersuchten Lagerungsmethoden basiert dabei auf den vorgestellten Ergebnissen der Analysen an Holz und Holzschliff.

Da eine hohe Holzfeuchte Grundvoraussetzung für die Herstellung von Holzschliffen mit guten mechanischen Eigenschaften ist, kann die ungeschützte Lagerung auf der Freifläche (UF) nicht empfohlen werden, da das Holz sehr schnell abtrocknet. Bei allen anderen Lagerungsvarianten konnte die Ausgangsholzfeuchte konserviert werden. Allerdings wurde bei der ungeschützten Waldlagerung (UW) in zahlreichen Fällen auch ein Absin-

ken der Holzfeuchte beobachtet, so dass UW nur bei kurzzeitiger Lagerung akzeptiert werden sollte. Die Folienabdeckung (FA) kann anhand der vorliegenden Daten nur bei einer Durchführung im Wald empfohlen werden, wenngleich FA auf der Freifläche nicht untersucht wurde. Bei der Nasskonservierung in Rinde (NKi) wurde sogar ein Anstieg der Holzfeuchte im Kernholz beobachtet, so dass NKi einen leichten Vorteil gegenüber der Folienkonservierung (FK) und FA aufweist. Vom Gesichtspunkt der Holzfeuchte aus eignen sich die drei Methoden FA, FK und NK ansonsten gut für die langfristige Lagerung von Schleifholz. Bei einer Lagerung ohne Rinde muss im Allgemeinen beachtet werden, dass eine entsprechende Exponiertheit deutlich schneller zu Feuchteverlusten führt als in Rinde. Um das Holzfeuchteniveau zuverlässig konservieren zu können, muss das entrindete Holz unmittelbar nach der Entrindung eingelagert werden und bei NKO muss die Berechnung noch zuverlässiger als bei NKi erfolgen.

Die lipophilen Inhaltsstoffe, welche im Holzschliff verbleiben, haben relativ geringe direkte Auswirkungen auf die Holzschliffeigenschaften. Anreicherungen im Prozesswasser können allerdings zu Aggregation und Ablagerung dieser Substanzen führen, so dass die Papierproduktion gestört und die Papierqualität herabgesetzt werden kann. Nur UF führte zu einer erkennbaren Verminderung der Gehalte lipophiler Inhaltsstoffe in Holz und Holzschliff. UF könnte daher in diesem Zusammenhang als bevorzugte Lagerungsvariante empfohlen werden, wenn die niedrigen Holzfeuchten nicht dagegensprechen. Die restlichen Lagerungsvarianten stimmten in Gehalt und Zusammensetzung der lipophilen Extraktstoffe gut überein und sind daher in diesem Punkt als gleichwertig zu betrachten. Da im Laufe der Lagerung die äußerst hydrophoben Triglyceride zu etwas besser wasserlöslichen Fettsäuren hydrolysiert werden, kann gelagertes Holz im Vergleich zu waldfischem Holz eine verringerte Bildung von Ablagerungen zur Folge haben.

Die Lagerung von Fichtenholz in Rinde führt in Abhängigkeit von der Holzfeuchte, der Lagerungsdauer und der Temperatur zur Diffusion von phenolischen Substanzen aus der Rinde ins äußere Splintholz. Infolgedessen verfärbt sich das Splintholz und der daraus produzierte Schliff hat geringere Weißgrade. Um auch nach langer Lagerung hohe Ausgangsweißgrade erreichen zu können, wird daher die Lagerung ohne Rinde empfohlen. Ist eine Entrindung vor der Lagerung technisch oder ökonomisch nicht sinnvoll, muss die Lagerung in Rinde erfolgen. In diesem Fall konnten bei FK_i, NK_i und UW_i am Häufigsten und die höchsten Mengen an „Rindensubstanzen“ aus dem Holz extrahiert werden. Allerdings ließ dies keinen direkten Rückschluss auf die Höhe des Weißgradverlustes der Holzschliffe zu. Obwohl aus UF_i die „Rindensubstanzen“ nur selten und in geringen Konzentrationen extrahiert werden konnten, wiesen auch die Holzschliffe aus UF_i deutlich geringere Weißgrade im Vergleich zu Holzschliffen „ohne Rinde“ auf. In Bezug auf den Weißgrad kann daher auf Basis der vorhandenen Daten bei der Lagerung in Rinde keine eindeutige Empfehlung für eine bestimmte Lagerungsmethode gegeben werden.

Unter der Voraussetzung einer sorgfältigen Durchführung der Lagerung bieten letztendlich die drei Lagerungsvarianten NKO, FAo und FKo im Falle einer langen Lagerung wesentliche Vorzüge. Die Holzfeuchte kann auf einem hohen Niveau konserviert werden und gleichzeitig ist der Weißgradverlust minimal. Des Weiteren gibt es Anzeichen dafür, dass die Lagerung ohne Rinde die Gehalte an lipophilen Substanzen etwas verringert. In der Praxis sind diese Lagerungsvarianten unter den gegebenen technischen Vorausset-

zungen aber mit einigen Schwierigkeiten behaftet. Zum einen sind die Betriebe (noch) nicht dafür ausgerüstet, die Entrindung vor der Lagerung durchzuführen. Zum anderen sind die frisch entrindeten Rundholzabschnitte sehr glatt, und daher schwieriger mit den aktuellen mechanischen Greifarmen zu fassen und zu stapeln. Technische Anpassungen könnten hierbei sicher Abhilfe schaffen. Andererseits spielen auch noch weitere, in dieser Arbeit nicht behandelte Aspekte eine Rolle. So besteht etwa bei NKo die Gefahr, dass die Holzoberfläche durch den Einfluss des Sonnenlichts dunkler wird und sich der Weißgrad des Holzschliffs dadurch verringert. Dagegen ist bei FAo ein stärkerer Pilzbefall möglich, was Verfärbungen und einen Verlust an Holzmasse zur Folge hat. Sonnenlicht und Pilzbefall stellt bei FKo kein Problem dar. Stattdessen zeichnet sich das folienkonservierte Holz aufgrund der Gärungsvorgänge z. T. durch einen auffälligen Geruch aus, welcher im Holzschliff allerdings nicht mehr vorhanden ist, da die Substanzen bei der Herstellung ausgewaschen werden.

Zusätzlich hängt der Einsatz einer bestimmten Lagerungsart auch von den entstehenden Kosten ab. So müssen die Betriebe etwa kalkulieren, ob sich ein geringerer Einsatz von Bleichmitteln nach einer Lagerung ohne Rinde gegenüber eventuell höheren Lagerungskosten rechnet. Des Weiteren spielen auch die Lagerungskosten allgemein eine Rolle. So ist die Nasskonservierung eine etablierte Methode und daher leicht umzusetzen. Die Kosten der Einrichtung der Nasskonservierung sind niedriger als die der Erstellung der verschweißten Polter der Folienkonservierung. Dagegen weist NK aber höhere laufende Kosten als FK auf, so dass FK insbesondere bei langer Lagerung wieder günstiger und wartungsärmer sein kann. Letztendlich muss jeder Betrieb auf die jeweilige Situation angepasste Entscheidungen treffen, wobei im Rahmen dieser Arbeit wesentliche Vorzüge und Nachteile sowie Abweichungen zwischen den verschiedenen Methoden der Schleifholzlagerung erarbeitet wurden.

Literaturverzeichnis

- ADLER, E.; 1951; Sulfit pulping of spruce wood from unpeeled, floated logs. Part I. Catechol tannins in the surface layer of the sapwood; *Svensk Papperstidning*; 54(13): 445–450.
- ADOLF, P., GERSTETTER, E. und LIESE, W.; 1972; Untersuchungen über einige Eigenschaften von Fichtenholz nach dreijähriger Wasserlagerung; *Holzforschung*; 26(1): 18–25.
- ALHOJÄRVI, J. und ALM, A.; 1957; The effect of various methods of storage on the formation of bark stain in sulphite spruce wood (*Picea excelsa*); *Paperi ja Puu*; 5: 265–276.
- ALLEN, L. H.; 1975; Pitch in wood pulps; *Pulp & Paper Canada*; 76(5): 70–77.
- ARNOLD, M.; 2003; Rundholzlagerung - Erfahrungen nach dem Orkan „Lothar“ (1999); EMPA, Schweiz; Synthesebericht.
- ASSARSSON, A.; 1966; Studies on wood resin, especially the change in chemical composition during seasoning of the wood, Part 3: Chemical reactions of spruce wood resin during chip seasoning; *Svensk Papperstidning*; 69(9): 291–298.
- ASSARSSON, A., CROON, I. und DONETZHUBER, A.; 1963; Studies on wood resin, especially the change in chemical composition during seasoning of the wood, Part 2. A comparison of chip seasoning of spruce wood (*Picea abies* Karst.) with log seasoning; *Svensk Papperstidning*; 66(22): 940–948.
- ASSARSSON, A. und ÅKERLUND, G.; 1966; Studies on wood resin, especially the change in chemical composition during seasoning of the wood, Part 4: The composition of the petroleum ether soluble nonvolatile extractives from fresh spruce, pine, birch and aspen wood; *Svensk Papperstidning*; 69(16): 517–525.
- ASSARSSON, A. und ÅKERLUND, G.; 1967; Studies on wood resin, especially the change in chemical composition during seasoning of the wood, Part 5. Changes in composition of nonvolatile extractives during water seasoning of unbarked spruce, pine, birch and aspen logs; *Svensk Papperstidning*; 70(6): 205–212.
- ATACK, D. und PYE, I.; 1964; The measurement of grinding zone temperature; *Pulp & Paper Magazine of Canada*; 65(9): T363–T376.
- BACK, E. L.; 2000; The locations and morphology of resin components in the wood; in: BACK, E. L. und ALLEN, L. H. (Hg.), *Pitch control, wood resin and deresination*; Kapitel 1, 1–35; Tappi Press, Atlanta.

- BACK, E. L.; 2002; A pattern of parenchyma and canal resin chemistry in hardwoods and softwoods - 1. Review for softwoods; *Nordic Pulp & Paper Research Journal*; 17(2): 153–158.
- BARRERA-GARCÍA, V. D., GOUGEON, R. D., KARBOWIAK, T., VOILLEY, A. und CHASSAGNE, D.; 2008; Role of wood macromolecules on selective sorption of phenolic compounds by wood; *Journal of Agriculture and Food Chemistry*; 56(18): 8498–8506.
- BARTON, G.; 1968; Significance of western hemlock phenolic extractives in pulping and lumber; *Forest Products Journal*; 18(5): 76–80.
- BAUCH, J.; 1980; Variation of wood structure due to secondary changes; in: BAUCH, J. (Hg.), *Natural variations of wood properties*; BFH-Mitteilungen Nr. 131; 69–97; Proceedings of IUFRO Working Party S.5.01-01, Oxford, UK; Kommissionsverlag Max Wiedebusch.
- BAUCH, J.; 1984; Discolouration in the wood of living and cut trees; *IAWA Bulletin*; 5(2): 92–98.
- BAUCH, J. und BERNDT, H.; 1973; Variability of the chemical composition of pit membranes in bordered pits of gymnosperms; *Wood Science and Technology*; 7(1): 6–19.
- BAUCH, J., SCHWEERS, W. und BERNDT, H.; 1974; Lignification during heartwood formation – Comparative study of rays and bordered pit membranes in coniferous woods; *Holzforschung*; 28(3): 86–91.
- BELITZ, H.-D., GROSCH, W. und SCHIEBERLE, P.; 2001; *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*; 5. Auflage; Springer, Berlin Heidelberg.
- BENGS, U. und LÖNNBERG, B.; 1994; Pressurized grinding of sapwood and heartwood of spruce; *Paperi ja Puu*; 76(9): 586–592.
- BERTAUD, F. und HOLMBOM, B.; 2004; Chemical composition of earlywood and latewood in Norway spruce heartwood, sapwood and transition zone wood; *Wood Science and Technology*; 38(4): 245–256.
- BETZ, R. G. und STYAN, G. E.; 1974; Brightening of Douglas fir groundwood; *Pulp & Paper Magazine of Canada*; 75(Convention issue): T121–T124.
- BLECHSCHMIDT, J. und HEINEMANN, S.; 2006a; Latency and properties of mechanical pulp; in: SIXTA, H. (Hg.), *Handbook of Pulp*; Band 2; 1137–1145; Wiley-VCH, Weinheim.
- BLECHSCHMIDT, J. und HEINEMANN, S.; 2006b; Mechanical Pulping – Introduction; in: SIXTA, H. (Hg.), *Handbook of Pulp*; Band 2; 1069–1072; Wiley-VCH, Weinheim.
- BLECHSCHMIDT, J. und HEINEMANN, S.; 2006c; Mechanical pulping processes; in: SIXTA, H. (Hg.), *Handbook of Pulp*; Band 2; 1079–1112; Wiley-VCH, Weinheim.

- BLECHSCHMIDT, J. und HEINEMANN, S.; 2006d; Processing of mechanical pulp and reject handling: Screening and cleaning; in: SIXTA, H. (Hg.), Handbook of Pulp; Band 2; 1113–1122; Wiley-VCH, Weinheim.
- BLECHSCHMIDT, J. und HEINEMANN, S.; 2006e; Raw materials for mechanical pulping; in: SIXTA, H. (Hg.), Handbook of Pulp; Band 2; 1075–1078; Wiley-VCH, Weinheim.
- BÖTTGER, J., SCHULTZ, M.-L. und KRAUSE, T.; 1978; Analysis of water soluble components of mechanical wood pulp and chemical pulp; *Das Papier*; 32(10A): V39–V45.
- BRAUS, H., ECK, J. W., MUELLER, W. M. und MILLER, F. D.; 1957; Whiskey clarity, isolation and identification of a sterol glucoside from whiskey; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 5(6): 458–459.
- BRECHT, W. und KLEMM, K.; 1953; The mixture of structures in a mechanical pulp as a key to the knowledge of its technological properties; *Pulp & Paper Magazine of Canada*; 54(1): 72–80.
- BRENES, M., GARCÍA, A., RIOS, J. J., GARCÍA, P. und GARRIDO, A.; 2002; Use of 1-acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils; *International Journal of Food Science and Technology*; 37(6): 615–625.
- BRIGNOLAS, F., LIEUTIER, F., SAUVARD, D., CHRISTIANSEN, E. und BERRYMAN, A. A.; 1998; Phenolic predictors for Norway spruce resistance to the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) and an associated fungus, *Ceratocystis polonica*; *Canadian Journal of Forest Research*; 25(5): 720–728.
- BUCHERT, J., MISTRANTO, A., TAMMINEN, T., SPETZ, P. und HOLMBOM, B.; 2002; Modification of spruce lignans with *Trametes hirsuta* laccase; *Holzforschung*; 56(6): 579–584.
- BUIARELLI, F., COCCIOLI, F., JASIONOWSKA, R., MEROLLE, M. und TERRACCIANO, A.; 2007; Analysis of some stilbenes in Italian wines by liquid chromatography/tandem mass spectrometry; *Rapid Communications in Mass Spectrometry*; 21(18): 2955–2964.
- CHAN, H. W.-S. (Hg.); 1987; Autoxidation of unsaturated lipids; *Food science and technology*; Academic Press, London.
- CISNEROS, H. und DRUMMOND, J.; 1995; Release of resins during mechanical pulping; in: Annual Meeting - Technical Section, Canadian Pulp and Paper Association, Preprints; B97–B103; Montreal, Canada.
- CLARK, J., LELAND C., WOLF, R., GRANGER, D. und TAYLOR, Z.; 1953; Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography; *Journal of Applied Physiology*; 6(3): 189–193.

- COHEN, W. E.; 1962; The influence of resins on paper manufacture; in: HILLIS, W. E. (Hg.), Wood extractives and their significance to the pulp and paper industries; Kapitel 13, 421–450; Academic Press, New York.
- CUNNINGHAM, J., HASLAM, E. und HAWORTH, R. D.; 1963; The constitution of piceatannol; Journal of the Chemical Society; 2875 – 2883.
- DIETRICH, H. H.; 1964; Das Verhalten von Kohlenhydraten bei der Holzverkernung; Holzforschung; 18(1): 14–24.
- DIETZ, P., KELLER, B. und ARTMANN, T.; 1976; Die Bewertung der Qualität von Nadel-Schleifholz – ein Beitrag zur optimalen Holzvewertung – Teil II; Das Papier; 30(1): 1–7.
- DIN EN 113; 1996-11; Wood preservatives: Determination of the toxic values against wood destroying Basidiomycetes cultured on agar medium; Beuth Verlag, Berlin, 26 S.
- DONALDSON, L. D.; 2001; Lignification and lignin topochemistry – an ultrastructural view; Phytochemistry; 57(6): 859–873.
- EGGER, B., EINIG, W., SCHLERETH, A., WALLEDA, T., MAGEL, E., LOEWE, A. und HAMPP, R.; 1996; Carbohydrate metabolism in one- and two-year-old spruce needles, and stem carbohydrates from three months before until three months after bud break; Physiologia Plantarum; 96(1): 91–100.
- EKLUND, P. C., BACKMAN, J., KRONBERG, L. und SJÖHOLM, R.; 2005; A method for the identification of lignans by liquid chromatography-electrospray ion trap mass spectrometry; Poster; Funchal, Madeira (Portugal).
- EKLUND, P. C., BACKMAN, M. J., KRONBERG, L. ., SMEDS, A. I. und SJÖHOLM, R. E.; 2008; Identification of lignans by liquid chromatography-electrospray ionization ion-trap mass spectrometry; Journal of Mass Spectrometry; 43(1): 97–107.
- EKMAN, R.; 1976; Analysis of lignans in Norway spruce by combined gas chromatography - mass spectrometry; Holzforschung; 30(3): 79–85.
- EKMAN, R.; 1979a; Analysis of the nonvolatile extractives in Norway spruce sapwood and heartwood; Acta Academiae Aboensis, Ser. B; 39(4).
- EKMAN, R.; 1979b; Distribution and seasonal variation of extractives in Norway spruce; Acta Academiae Aboensis, Ser. B; 39(8).
- EKMAN, R.; 2000; Resin during storage and in biological treatment; in: BACK, E. L. und ALLEN, L. H. (Hg.), Pitch control, wood resin and deresination; Kapitel 7, 185–204; Tappi Press, Atlanta.

- EKMAN, R., ECKERMAN, C. und HOLMBOM, B.; 1990; Studies on the behaviour of extractives in mechanical pulp suspensions; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 5(2): 96–102.
- EKMAN, R. und HAFIZOĞLU, H.; 1993; Changes in spruce wood extractives due to log storage in water; in: Proceedings of the 7th ISWPC Beijing; Band 3; 92–96.
- EKMAN, R. und HOLMBOM, B.; 1989; Analysis by gas chromatography of the wood extractives in pulp and water samples from mechanical pulping of spruce; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 4(1): 16–24.
- EKMAN, R. und SJÖHOLM, R.; 1979; Alkyl ferulates in Norway spruce wood; Finnish Chemical Letters; (5): 158–160.
- FAGERSTEDT, K., SARANPÄÄ, P. und PIISPANEN, R.; 1998; Peroxidase activity, isoenzymes and histological localisation in sapwood and heartwood of Scots pine (*Pinus sylvestris*); Journal of Forest Research; 3(1): 43–47.
- FAIX, O., BREMER, J., SCHMIDT, O. und TATJANA, S. J.; 1991; Monitoring of chemical changes in white-rot degraded beech wood by pyrolysis–gas chromatography and Fourier-transform infrared spectroscopy; Journal of Analytical and Applied Pyrolysis; 21(1-2): 147–162.
- FALBE, J. und REGITZ, M. (Hg.); 1995; Römpp Chemie Lexikon; 9. Auflage; Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- FENGEL, D. und GROSSER, D.; 1975; Chemische Zusammensetzung von Nadel- und Laubhölzern - Eine Literaturübersicht; Holz als Roh- und Werkstoff; 33(1): 32–34.
- FENGEL, D. und WEGENER, G.; 1983; Wood: Chemistry, ultrastructure, reactions; Walter de Gruyter.
- FENGEL, D., WEGENER, G., HEIZMANN, A. und PRZYKLENK, M.; 1978; Analyse von Holz und Zellstoff durch Totalhydrolyse mit Trifluoressigsäure; Cellulose Chemistry and Technology; 12(1): 31–37.
- FERGUS, B. J., PROCTER, A. R., SCOTT, J. A. N. und GORING, D. A. I.; 1969; The distribution of lignin in sprucewood as determined by ultraviolet microscopy; Wood Science and Technology; 3(2): 117–138.
- FERNANDO, D., HAFRÉN, J., GUSTAFSSON, J. und DANIEL, G.; 2008; Micromorphology and topochemistry of extractives in Scots pine and Norway spruce thermomechanical pulps: A cytochemical approach; Journal of Wood Science; 54(2): 134–142.
- FERNANDO, D., ROSENBERG, P., PERSSON, E. und DANIEL, G.; 2007; Ultrastructural aspects of fibre development during the stone groundwood process: New insights into derived pulp properties; Holzforschung; 61(5): 532–538.

- FRANZÉN, R.; 1986; General and selective upgrading of mechanical pulps; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 1(3): 4–13.
- FREIRE, C. S. R., SILVESTRE, A. J. D., SILVA, A. M. S., NETO, C. P. und DOMINGUES, P.; 2004; New glucosides from Eucalyptus globulus wood, bark and kraft pulps; Holzforschung; 58(5): 501–503.
- FREUDENBERG, K. und KNOF, L.; 1957; Die Lignane des Fichtenholzes; Chemische Berichte; 90(12): 2857–2869.
- FREUDENBERG, K. und NEISH, A. C.; 1968; Constitution and biosynthesis of lignin; Springer-Verlag.
- FRIMAN, L., HÖGLUND, H., HÖGBERG, H. E. und AGNEMO, R.; 2004; Tannin-iron impregnated thermomechanical pulp. Part I: Effects of extractions and heat on brightness; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 19(2): 229–236.
- GELLERSTEDT, G. und ZHANG, L.; 1992; Formation and reactions of leucochromophoric structures in high-yield pulping; Journal of Wood Chemistry and Technology; 12(4): 387–412.
- GIERER, J., NORRSTRÖM, H. und STOCKMAN, L.; 1973; Warum sind Holz und Zellstoffe gefärbt?; Das Papier; 27(10A): 469–474.
- GIESE, E.; 1966; Die Feinstoffkomponenten des Holzschliffs und ihre Auswirkung auf Blattformation und Blatteigenschaftswerte; Zellstoff und Papier; 15(6): 163–169.
- GOLDSCHMID, O.; 1971; Ultraviolet spectra; in: SARKANEN, K. und LUDWIG, C. (Hg.), Lignins - Occurrence, formation, structure and reactions; 241–266; Wiley Interscience, New-York.
- GORING, D. A. I.; 1963; Thermal softening of lignin, hemicellulose and cellulose; Pulp & Paper Magazine of Canada; 64(12): T517–T527.
- GROSS, M., MAHLER, G. und METZLER, B.; 1992; Ergebnisse der Holzlagerung unter Schutzgas; Versuchsberichte der FVA Baden-Württemberg, Abteilung AWF; Freiburg i. Br.; 35 S.
- GUTIÉRREZ, A. und DEL RIO, J. C.; 2001; Gas chromatography/mass spectrometry demonstration of steryl glycosides in eucalypt wood, Kraft pulp and process liquids; Rapid Communications in Mass Spectrometry; 15(24): 2515–2520.
- GUTIÉRREZ, A., DEL RÍO, J. C., GONZÁLEZ-VILA, F. J. und MARTÍN, F.; 1998; Analysis of lipophilic extractives from wood and pitch deposits by solid-phase extraction and gas chromatography; Journal of Chromatography A; 823(1-2): 449–455.
- HAFRÉN, J., DANIEL, G. und WESTERMARK, U.; 2000; The distribution of acidic and esterified pectin in cambium, developing xylem and mature xylem of *Pinus sylvestris*; IAWA Journal; 21(2): 157–168.

- HEIKKURINEN, A. und LESKELÄ, L.; 1999; The character and properties of mechanical pulp; in: SUNDHOLM, J., GULLICHSEN, J. und PAULAPURO, H. (Hg.), Mechanical pulping; Papermaking Science and Technology; Kapitel 15, 394–413; Fapet Oy, Helsinki.
- HERGERT, H. L.; 1992; The nature of non-proanthocyanidin units in 'condensed tannins' from conifer wood and bark; in: HEMINGWAY, R. W. und LAKS, P. E. (Hg.), Plant polyphenols. synthesis, properties, significance; 385–409; Plenum Press, New York.
- HIGUCHI, T.; 2006; Look back over the studies of lignin biochemistry; Journal of Wood Science; 52(1): 2–8.
- HILDÉN, L., ZHANG, J., PERSSON, E., JOHANSSON, G. und BRÄNDSTRÖM, J.; 2006; Distribution and characterisation of discolouring substances in Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) pulp wood stored under water sprinkling; Holzforschung; 60(1): 93–98.
- HILLIS, W. E.; 1987; Heartwood and tree exudates; Springer-Verlag.
- HÖLL, W.; 1985; Seasonal fluctuation of reserve materials in the trunkwood of spruce (*Picea abies* (L.) Karst.); Journal of Plant Physiology; 117(4): 355–362.
- HÖLL, W.; 2000; Distribution, fluctuation and metabolism of food reserves in the wood of trees; in: SAVIDGE, R. A., BARNETT, J. R. und NAPIER, R. (Hg.), Cell and molecular biology of wood formation; Experimental Biology Reviews; Kapitel 28, 347–362; BIOS, Oxford.
- HOLMBOM, B.; 1977; Improved gas chromatographic analysis of fatty and resin acid mixtures with special reference to tall oil; Journal of the American Oil Chemists' Society; 54(7): 289–293.
- HOLMBOM, B.; 1999a; Analysis of papermaking process waters and effluents; in: SJÖSTRÖM, E. und ALÉN, R. (Hg.), Analytical Methods in wood chemistry, pulping and papermaking; 269–285; Springer-Verlag.
- HOLMBOM, B.; 1999b; Extractives; in: SJÖSTRÖM, E. und ALÉN, R. (Hg.), Analytical methods in wood chemistry, pulping and papermaking; 125–148; Springer-Verlag.
- HOLMBOM, B., ECKERMAN, C., EKLUND, P., HEMMING, J., NISULA, L., REUNANEN, M., SJÖHOLM, R., SUNDBERG, A., SUNDBERG, K. und WILLFÖR, S.; 2003; Knots in trees - A new rich source of lignans; Phytochemistry Reviews; 2(3): 331–340.
- HOLMBOM, B. und SUNDBERG, A.; 2003; Dissolved and colloidal substances accumulating in papermaking process waters; Wochenblatt für Papierfabrikation; 131(21): 1305–1311.
- HOLMBOM, T., REUNANEN, M. und FARDIM, P.; 2008; Composition of callus resin of Norway spruce, Scots pine, European larch and Douglas fir; Holzforschung; 62(4): 417–422.

- HOLZMANN, M.; 2002; Einfluss der Nasslagerung auf die Qualität des Rohholzes und des Holzschliffes; Diplomarbeit; Holzforschung München, TU München.
- HOLZMANN, M. und WEGENER, G.; 2004; Der Einfluss der Nasslagerung von Fichtenschleifholz auf die Qualität des Holzschliffes; AFZ-DerWald; 59(15): 816–818.
- HOVELSTAD, H., LEIRSET, I., OYAAS, K. und FIKSDAHL, A.; 2006; Screening analyses of pinosylvin stilbenes, resin acids and lignans in Norwegian conifers; Molecules; 11(1): 103–114.
- HTUN, M. und SALMÉN, L.; 1996; Die Bedeutung der physikalischen und chemischen Holzeigenschaften für einen effizienten Energieeinsatz bei der Holzstofferzeugung; Wochenblatt für Papierfabrikation; 124(6): 232–235.
- VON HUNDT, H.; 1990; Verfärbungen von Eichenkernholz und von Ilomba während der Trocknung und Entwicklung vorbeugender Schutzmaßnahmen; Dissertation; Universität Hamburg.
- IMAI, T., SATO, M., TAKAKU, N., KAWAI, S., OHASHI, H., NOMURA, M. und KUSHI, M.; 2005; Characterization of physiological functions of sapwood IV: Formation and accumulation of lignans in sapwood of *Cryptomeria japonica* (L.f.) D. Don after felling; Holzforschung; 59(4): 418–421.
- IRBE, I., NOLDT, G., KOCH, G., ANDERSONE, I. und ANDERSONS, B.; 2006; Application of scanning UV microspectrophotometry for the topochemical detection of lignin within individual cell walls of brown-rotted Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) sapwood; Holzforschung; 60(6): 601–607.
- JEAN-DENIS, J. B., PEZET, R. und TABACCHI, R.; 2006; Rapid analysis of stilbenes and derivatives from downy mildew-infected grapevine leaves by liquid chromatography - atmospheric pressure photoionisation mass spectrometry; Journal of Chromatography A; 1112(1-2): 263–268.
- JEON, J. H., HAN, Y. J., KANG, T. G., KIM, E. S., HONG, S. K. und JEONG, B. C.; 2002; Purification and characterization of 2,4-dichlorophenol oxidizing peroxidase from *Streptomyces* sp. AD001; Journal of Microbiology and Biotechnology; 12(6): 972–978.
- JERKOVIC, V., CALLEMIEN, D. und COLLIN, S.; 2005; Determination of stilbenes in hop pellets from different cultivars; Journal of Agricultural and Food Chemistry; 53(10): 4202–4206.
- JOHANSSON, M. und GELLERSTEDT, G.; 2000; Chromophoric content in wood and mechanical pulps; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 15(4): 282–286.
- JOHANSSON, M., ZHANG, L. M. und GELLERSTEDT, G.; 2002; On chromophores and leucochromophores formed during the refining of wood; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 17(1): 5–8.

- KALLIOINEN, A., VAARI, A., RÄTTÖ, M., KONN, J., SIIKA-AHO, M. und VIIKARI, L.; 2003; Effects of bacterial treatments on wood extractives; *Journal of Biotechnology*; 103(1): 67–76.
- KANGAS, H., SUURNÄKKI, A. und KLEEN, M.; 2007; Modification of the surface chemistry of TMP with enzymes; *Nordic Pulp & Paper Research Journal*; 22(12): 415–423.
- KAWAMURA, F., MIYACHI, M., KAWAI, S. und OHASHI, H.; 1998; Photodiscoloration of western hemlock (*Tsuga heterophylla*) sapwood - III. Early stage of photodiscoloration reaction with lignans; *Journal of Wood Science*; 44(1): 47–55.
- KEELING, C. I. und BOHLMANN, J.; 2006; Diterpene resin acids in conifers; *Phytochemistry*; 67(22): 2415–2423.
- KELLER, B.; 1973; Einflüsse des Einschlagszeitpunktes, der Lagerart und Lagerdauer auf den Wert von Fichten-Schleifholz; Dissertation; Universität Freiburg.
- KIMLAND, B. und TORBJÖRN, N.; 1972; Wood extractives of common spruce, *Picea abies* (L.) Karst.; *Svensk Papperstidning*; 75(10): 403–408.
- KLEIST, G. und SEEHANN, G.; 1997; Colonization patterns and topochemical aspects of sap streak caused by *Stereum sanguinolentum* in Norway spruce; *European Journal of Forest Pathology*; 27(6): 351–361.
- KOCH, G. und GRÜNWARD, C.; 2004; Application of UV Microspectrophotometry for the topochemical detection of lignin and phenolic extractives in wood fibre cell walls; in: SCHMITT, U., ANDER, P., BARNETT, J., EMONS, A., JERONIMIDIS, G., SARANPÄÄ, P. und TSCHEGG, S. (Hg.), *Wood fibre cell walls: Methods to study their formation, structure and properties*; 119–129; Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- KOCH, G. und KLEIST, G.; 2001; Application of Scanning UV Microspectrophotometry to localise lignins and phenolic extractives in plant cell walls; *Holzforschung*; 55(6): 563–567.
- KOCH, G., PULS, J. und BAUCH, J.; 2003a; Topochemical characterization of phenolic extractives in discoloured beechwood (*Fagus sylvatica* L.); *Holzforschung*; 57(4): 339–345.
- KOCH, G., RICHTER, H. G. und SCHMITT, U.; 2006; Topochemical investigation on phenolic deposits in the vessels of afzelia (*Afzelia* spp.) and merbau (*Intsia* spp.) heartwood; *Holzforschung*; 60(6): 583–588.
- KOCH, G., ROSE, B., PATT, R. und KORDSACHIA, O.; 2003b; Topochemical investigations on delignification of *Picea abies* [L.] Karst. during alkaline sulfite (ASA) and bisulfite pulping by scanning UV microspectrophotometry; *Holzforschung*; 57(6): 611–618.

- KOKKONEN, P., FARDIM, P. und HOLMBOM, B.; 2004; Surface distribution of extractives on TMP handsheets analyzed by ESCA, ATR-IR, ToF-SIMS and ESEM; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 19(3): 318–324.
- KOLJONEN, K., OSTERBERG, M., JOHANSSON, L. S. und STENIUS, P.; 2003; Surface chemistry and morphology of different mechanical pulps determined by ESCA and AFM; Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects; 228(1-3): 143–158.
- KOLLMANN, F., KEYLWERTH, R. und KÜBLER, H.; 1951; Verfärbungen des Vollholzes und der Furniere bei der künstlichen Holz Trocknung; Holz als Roh- und Werkstoff; 9(10): 382–391.
- KRAMER, P.; 2000; Holzlager abdecken - Vorteile mit Geovlies; Holz und Wald; 82(3): 50–51.
- KRONAUER, H.; 2000; Lothar stellt Wiebke in den Schatten. Schwere Sturmschäden in Baden-Württemberg; AFZ-DerWald; 55(2): 92–93.
- KU, K.-L., CHANG, P.-S., CHENG, Y.-C. und LIEN, C.-Y.; 2005; Production of stilbenoids from the callus of *Arachis hypogaea*: a novel source of the anticancer compound piceatannol; Journal of Agricultural and Food Chemistry; 53(10): 3877–3881.
- KUBEL, H., WEISSMANN, G. und LANGE, W.; 1988; Untersuchungen zur Carcinogenität von Holzstaub. Die Extraktstoffe von Buche und Fichte; Holz als Roh- und Werkstoff; 46(6): 215–220.
- KYLLIÄINEN, O. und HOLMBOM, B.; 2004; Chemical composition of components in spruce bark waters; Paperi ja Puu; 86(4): 289–292.
- LA LANDE, W. A.; 1931; Resin studies. I. The preparation and autoxidation of precipitated lead rosinate; Journal of the American Chemical Society; 53(5): 1858–1868.
- LAVIER, M. L. und MUSBAH, D. A. A.; 1996; An enzyme extract from douglas-fir sapwood and its relationship to brown staining; Wood and Fiber Science; 28(1): 2–6.
- LEHRINGER, C., GIERLINGER, N. und KOCH, G.; 2008; Topochemical investigation on tension wood fibres of *Acer* spp., *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L.; Holzforschung; 62(3): 255–263.
- LEONOWICZ, A. und GRZYWNOWICZ, K.; 1981; Quantitative estimation of laccase forms in some white-rot fungi using syringaldazine as a substrate; Enzyme and Microbial Technology; 3(1): 55–58.
- LI, S.-H., NIU, X.-M., ZAHN, S., GERSHENZON, J., WESTON, J. und SCHNEIDER, B.; 2008; Diastereomeric stilbene glucoside dimers from the bark of Norway spruce (*Picea abies*); Phytochemistry; 69(3): 772–782.

- LIEBEREI, R. und BIEHL, B.; 1978; Activation of latent phenolase from spinach chloroplasts by ageing and by frost; *Phytochemistry*; 17(8): 1427–1429.
- LIESE, W.; 1970; Ultrastructural aspects of woody tissue disintegration; *Annual Review of Phytopathology*; 8: 231–258.
- LIESE, W. und KARNOP, G.; 1968; Über den Befall von Nadelholz durch Bakterien; *Holz als Roh- und Werkstoff*; 26(6): 202–208.
- LIESE, W. und KARSTEDT, P.; 1971; Erfahrungen mit der Wasserlagerung von Windwurfhölzern zur Qualitätserhaltung; *Forstarchiv*; 42(3): 41–47.
- LIEUTIER, F., BRIGNOLAS, F., SAUVARD, D., YART, A., GALET, C., BRUNET, M. und VAN DE SYPE, H.; 2003; Intra- and inter-provenance variability in phloem phenols of *Picea abies* and relationship to a bark beetle-associated fungus; *Tree Physiology*; 23(4): 247–256.
- LIN, L.-Z. und HARNLY, J.; 2007; A screening method for the identification of glycosylated flavonoids and other phenolic compounds using a standard analytical approach for all plant materials; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 55(4): 1084–1096.
- LIND, T., LÖNNBERG, B., PERSSON, E., ELOWSON, T. und ELSANDER, A.; 2004a; Dry-storage and water sprinkling of spruce pulpwood. Part 1. Effects on wood properties; *Paperi ja Puu*; 86(6): 450–455.
- LIND, T., LÖNNBERG, B., PERSSON, E., ELOWSON, T. und ELSANDER, A.; 2004b; Dry-storage and water sprinkling of spruce pulpwood. Part 2. Effects on groundwood pulp properties; *Paperi ja Puu*; 86(8): 561–564.
- LINDHOLM, C.-A.; 1999; Bleaching; in: SUNDHOLM, J., GULLICHSEN, J. und PAULAPURO, H. (Hg.), *Mechanical pulping*; *Papermaking Science and Technology*; Kapitel 11, 311–343; Fapet Oy, Helsinki.
- LIUKKO, K. und ELOWSON, T.; 1999; The effect of bark condition, delivery time and climate-adapted wet storage on the moisture content of *Picea abies* (L.) Karst. pulpwood; *Scandinavian Journal of Forest Research*; 14(2): 156–163.
- LORAS, V. und WILHELMSSEN, G.; 1974; Virkeslagringens betydning for blekbarhet og lyshetsstabilitet av mekaniske masser (Del 1); *Norsk Skogindustri*; 28(6): 158–164.
- LÜBBERS, P. und GROSS, M.; 1992; Entwicklung der Verfärbung und der Holzfeuchte von beregnetem Tannen- und Fichten-Stammholz; *Versuchsberichte der FVA Baden-Württemberg, Abteilung AWF*; Freiburg i. Br.; 11 S.
- LUHDE, F.; 1959; Temperature within the grinding zone. Part I.; *Pulp & Paper Magazine of Canada*; 60(9): T269–T271.

- LUHDE, F.; 1962; Der Aufschluß des Holzes beim Schleifverfahren und beim Hackschnitzel-Refinerverfahren; *Das Papier*; 16(11): 655–663.
- LUNABBA, P.; 1985; Avhartsning av CTMP – ett ytkemiskt problem; *Nordisk Cellulosa*; 2(4): 122.
- LUUKKO, K., LAINE, J. und PERE, J.; 1999; Chemical characterization of different mechanical pulp fines; *Appita Journal*; 52(2): 126–131.
- LUUKKO, K. und PAULAPURO, H.; 1999; Mechanical pulp fines: Effect of particle size and shape; *Tappi Journal*; 82(2): 95–101.
- MACHUCA, A. und FERRAZ, A.; 2001; Hydrolytic and oxidative enzymes produced by white- and brown-rot fungi during *Eucalyptus grandis* decay in solid medium; *Enzyme and Microbial Technology*; 29(6-7): 386–391.
- MAGEL, E. A.; 2000; Biochemistry and physiology of heartwood formation; in: SAVIDGE, R. A., BARNETT, J. R. und NAPIER, R. (Hg.), *Cell and molecular biology of wood formation*; *Experimental Biology Reviews*; Kapitel 29, 363–376; BIOS, Oxford.
- MAGEL, E. A., EINIG, W. und HAMPP, R.; 2000; Carbohydrates in trees; in: GUPTA, A. K. und KNAUR, N. (Hg.), *Carbohydrate reserves in plants - Synthesis and regulation*; *Development in Crop Science* 26; 317–336; Elsevier, Amsterdam.
- MAIER, T.; 2005; Konservierung von Rundholz unter Sauerstoffabschluss - Folienkonservierung; Dissertation; Albert-Ludwig-Universität; Freiburg.
- MAIER, T., SCHÜLER, G. und MAHLER, G.; 1999; Ganzjährig frisches Rundholz aus dem Lager. Eine neue Konservierungsmethode für die Forst- und Holzwirtschaft; *Holz-Zentralblatt*; 125(73): 1092–1094.
- MÄKELÄ, M., HILDÉN, K., HAKALA, T., HATAKKA, A. und LUNDELL, T.; 2006; Expression and molecular properties of a new laccase of the white rot fungus *Phlebia radiata* grown on wood; *Current Genetics*; 50(5): 323–333.
- MANNER, H., REPONEN, P., HOLMBOM, B. und KURDIN, J. A.; 1999; Environmental impacts of mechanical pulping; in: SUNDHOLM, J., GULLICHSEN, J. und PAULAPURO, H. (Hg.), *Mechanical pulping*; *Papermaking Science and Technology*; Kapitel 14, 374–393; Fapet Oy, Helsinki.
- MANNILA, E. und TALVITIE, A.; 1992; Stilbenes from *Picea abies* bark; *Phytochemistry*; 31(9): 3288–3289.
- MAREŠ, P. und HUSĚK, P.; 1985; Quantitative capillary gas-liquid chromatography of triglycerides on a fused-silica column with a chemically bonded stationary phase; *Journal of Chromatography A*; 350: 87–103.

- MARJAMAA, K., KUKKOLA, E., LUNDELL, T., KARHUNEN, P., SARANPÄÄ, P. und FAGERSTEDT, K. V.; 2006; Monolignol oxidation by xylem peroxidase isoforms of Norway spruce (*Picea abies*) and silver birch (*Betula pendula*); *Tree Physiology*; 26(5): 605–611.
- MARTON, R.; 1964; Fiber structure and properties of different groundwoods; *Tappi Journal*; 47(1): 205A–208A.
- MAYER, I., KOCH, G. und PULS, J.; 2006; Topochemical investigations of wood extractives and their influence on colour changes in American black cherry (*Prunus serotina* Borkh.); *Holzforschung*; 60(6): 589–594.
- MENDONÇA, R., FERRAZ, A., KORDSACHIA, O. und KOCH, G.; 2004; Cellular UV-microspectrophotometric investigations on pine wood (*Pinus taeda* and *Pinus elliottii*) delignification during biopulping with *Ceriporiopsis subvermispora* (Pilát) Gilbn. & Ryv. and alkaline sulfite/anthraquinone treatment; *Wood Science and Technology*; 38(7): 567–575.
- MOHAMMED-ZIEGLER, I., HOLMGREN, A., FORSLING, W., LINDBERG, M. und RANHEIMER, M.; 2004; Mechanism of the adsorption process of pinosylvin and some polyhydroxybenzenes onto the structure of lignin; *Vibrational Spectroscopy*; 36(1): 65–72.
- MONAGAS, M., SUÁREZ, R., GÓMEZ-CORDOVÉS, C. und BARTOLOMÉ, B.; 2005; Simultaneous determination of nonanthocyanin phenolic compounds in red wines by HPLC-DAD/ESI-MS; *American Journal of Enology and Viticulture*; 56(2): 139–147.
- DE MONTMORENCY, W. H.; 1964; The moisture in wood as a factor in the groundwood process; *Pulp & Paper Magazine of Canada*; 65(6): T235–T245.
- MORGAN, J. W. und ORSLER, R. J.; 1968; The chemistry of colour changes in wood. I. The significance of stilbenes; *Holzforschung*; 22(1): 11–16.
- NÜSSLEIN, S.; 2007; Orkan Kyrill trifft Deutschlands Wälder. Kyrill nicht mit Wiebke oder Lothar vergleichbar.; *LWF Waldforschung aktuell*; 14(2): 52–53; (Nr. 57).
- ÖRSA, F. und HOLMBOM, B.; 1994; A convenient method for the determination of wood extractives in papermaking process waters and effluents; *Journal of Pulp and Paper Science*; 20(12): J361–J365.
- ÖRSA, F., HOLMBOM, B. und HÄÄRÄ, M.; 1996; Effects of grinder shower water temperature on the release of spruce wood components into water; *Paperi ja Puu*; 78(10): 605–609.
- ÖRSA, F., HOLMBOM, B. und THORNTON, J.; 1997; Dissolution and dispersion of spruce wood components into hot water; *Wood Science and Technology*; 31(4): 279–290.

- ÖSTERBERG, M., KOLJONEN, K. und JOHANSSON, L.-S.; 2005; Detecting wood extractives on pulp fibre surfaces using AFM and ESCA; in: Appita Annual Conference; Band 2; 69–74; Centre for Chemical Analysis, Helsinki University of Technology, Finland.
- OTERO, D., SUNDBERG, K., BLANCO, A., NEGRO, C., TIJERO, J. und HOLMBOM, B.; 2000; Effects of wood polysaccharides on pitch deposition; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 15(5): 607–613.
- OTTO, M.; 1997; Chemometrie: Statistik und Computereinsatz in der Analytik; VCH, Weinheim.
- PAN, H.; 1995; Studies on phenolic and terpenoid constituents extracted from bark of birch, spruce and pine in Sweden.; Dissertation; Department of Chemistry, Swedish University of Agricultural Sciences; Uppsala, Sweden.
- PEEK, R.-D. und LIESE, W.; 1987; Braunfärbungen an lagernden Fichtenstämmen durch Gerbstoffe; Holz-Zentralblatt; 113(98/99): 1372.
- PERSSON, E., BERGQUIST, J., ELOWSON, T., JÄKÄRÄ, J. und LÖNNBERG, B.; 2002; Brightness, bleachability and colour reversion of groundwood made of wet- and dry-stored Norway spruce (*Picea abies*) pulpwood; Paperi ja Puu; 84(6): 411–415.
- PERSSON, E. und ELOWSON, T.; 2001; Moisture content and discoloration of wood during dry and wet storage of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) pulpwood; Paperi ja Puu; 83(2): 132–137.
- PIISPANEN, R. und SARANPÄÄ, P.; 2002; Neutral lipids and phospholipids in Scots pine (*Pinus sylvestris*) sapwood and heartwood; Tree Physiology; 22(9): 661–666.
- PIISPANEN, R., WILLFÖR, S., SARANPÄÄ, P. und HOLMBOM, B.; 2008; Variation of lignans in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) knotwood: Within-stem variation and the effect of fertilisation at two experimental sites in Finland; Trees - Structure and Function; 22(3): 317–328.
- PRANOVICH, A., KONN, J. und HOLMBOM, B.; 2005; Variation in spatial distribution of organic and inorganic compounds across annual growth rings of Norway spruce and aspen; in: Appita Annual Conference; Band 2; 453–460; Process Chemistry Centre, Laboratory of Wood and Paper Chemistry, Åbo Akademi University, Turku, Finland.
- PRINZ, S., MÜLLNER, U., HEILMANN, J., WINKELMANN, K., STICHER, O., HASLINGER, E. und HÜFNER, A.; 2002; Oxidation products of abietic acid and its methyl ester; Journal of Natural Products; 65(11): 1530–1534.
- PULKKI, R.; 1992; Wood quality considerations in wood procurement decision-making; Pulp & Paper Canada; 93(4): T88–T93.

- PULS, J. und RADEMACHER, P.; 1986; Chemische Untersuchungen an Fichten aus Waldschadensgebieten; Holz als Roh- und Werkstoff; 44(8): 307–312.
- PULS, J. und RADEMACHER, P.; 1988; Jahreszeitliche Schwankungen im Gehalt von löslichen Zuckern, Stärke und Extraktstoffen im Holz gesunder und geschädigter Fichten (*Picea abies* (L.) Karst.); in: BAUCH, J. und MICHAELIS, W. (Hg.), Das Forschungsprogramm Waldschäden am Standort „Postturm“, Farchau/Ratzeburg; GKSS 88/E/55; 327–336; GKSS-Forschungszentrum Geesthacht GmbH.
- PUTZ, H.-J., PACHNIEWSKI, J. und GÖTTSCHING, L.; 1986; Waldschäden und Holzstoffqualität; Das Papier; 40(10A): V171–V181.
- QIN, M., HANNUKSELA, T. und HOLMBOM, B.; 2003; Physico-chemical characterisation of TMP resin and related model mixtures; Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects; 221(1-3): 243–254.
- QIN, M. und HOLMBOM, B.; 2008; Effect of hydrophilic substances in spruce TMP resin on its physico-chemical characterization and deposition tendency; Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects; 312(2-3): 226–230.
- RAISKILA, S., FAGERSTEDT, K., LAAKSO, T., SARANPÄÄ, P., LÖIJA, M., PAAJANEN, L., MAHLBERG, R. und RITSCHKOFF, A.-C.; 2006; Polymerisation of added coniferyl alcohol by inherent xylem peroxidases and its effect on fungal decay resistance of Norway spruce; Wood Science and Technology; 40(8): 697–707.
- RALPH, S., PARK, J.-Y., BOHLMANN, J. und MANSFIELD, S.; 2006; Dirigent proteins in conifer defense: Gene discovery, phylogeny, and differential wound- and insect-induced expression of a family of DIR and DIR-like genes in spruce (*Picea* spp.); Plant Molecular Biology; 60(1): 21–40.
- RHÉN, C., ÖHMAN, M., GREF, R. und WÄSTERLUND, I.; 2007; Effect of raw material composition in woody biomass pellets on combustion characteristics; Biomass and Bioenergy; 31(1): 66–72.
- ROGERS, I. H.; 1967; A review of the wood and bark extractives of spruces.; Forest Products Laboratory, Information Report, No. VP-X-16; Vancouver, British Columbia, Canada.
- RÖSCH, R.; 1972; Detection of phenoloxidases by Bavendamm's reaction using the ring dish test; Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene; 127(6): 555–563.
- RUDMAN, P.; 1966; Heartwood formation in trees; Nature; 210(5036): 608–610.
- SADHRA, S., FOULDS, I. S. und GRAY, C. N.; 1998; Oxidation of resin acids in colophony (rosin) and its implications for patch testing; Contact Dermatitis; 39(2): 58–63.

- SAKA, S.; 2001; Chemical composition and distribution; in: HON, D. N.-S. und SHIRAISHI, N. (Hg.), Wood and Cellulosic Chemistry; 2. Auflage; Kapitel 2, 51–81; Marcel Dekker, Inc.
- SAKAKIBARA, A., SASAYA, T., MIKI, K. und TAKAHASHI, H.; 1987; Lignans and Brauns' lignins from softwoods; Holzforschung; 41(1): 1–11.
- SALMÉN, L., LUCANDER, M., HÄRKÖNEN, E. und SUNDHOLM, J.; 1999; Fundamentals of mechanical pulping; in: SUNDHOLM, J., GULLICHSEN, J. und PAULAPURO, H. (Hg.), Mechanical pulping; Papermaking Science and Technology; Kapitel 4, 34–65; Fapet Oy, Helsinki.
- SANDER, C. und KOCH, G.; 2001; Effects of acetylation and hydrothermal treatment on lignin as revealed by cellular UV-spectroscopy in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.); Holzforschung; 55(2): 193–198.
- SARANPÄÄ, P. und HÖLL, W.; 1987; Steryl glycosides and acylated steryl glycosides of *Pinus sylvestris* L. sapwood and heartwood; Trees - Structure and Function; 1(4): 215–218.
- SCHLOSSER, D., GREY, R. und FRITSCHKE, W.; 1997; Patterns of ligninolytic enzymes in *Trametes versicolor*. Distribution of extra- and intracellular enzyme activities during cultivation on glucose, wheat straw and beech wood; Applied Microbiology and Biotechnology; 47(4): 412–418.
- SCHMIDT, O.; 1994; Holz- und Baumpilze - Biologie, Schäden, Schutz, Nutzen; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- SCHMIDT, O. und LIESE, W.; 1994; Occurrence and significance of bacteria in wood; Holzforschung; 48(4): 271–277.
- SCHMITT, G., SCHEMPP, W. und KRAUSE, T.; 1990; Water soluble constituents of mechanical pulp - Their analysis and effects during paper-production; Das Papier; 44(10A): V49–V55.
- SCHMITT, G. und SCHREMPP, W.; 1988; Identification of „interfering material“ in mechanical wood pulp filtrates; Das Papier; 42(6): 270–273.
- SCHWARZE, F. W.; 2007; Wood decay under the microscope; Fungal Biology Reviews; 21(4): 133–170.
- SEIGLER, D. S.; 1998; Triterpenes and steroids; in: Plant secondary metabolism; Kapitel 23, 427–455; Kluwer Academic Publishers.
- SESHADRI, T. R. und VEDANTHAM, T. N. C.; 1971; Chemical examination of the barks and heartwoods of *Betula* species of american origin; Phytochemistry; 10(4): 897–898.

- SHAO, Z. und LI, K.; 2006; The effect of fiber surface lignin on interfiber bonding; Journal of Wood Chemistry and Technology; 26(3): 231–244.
- SINGLETON, V. L., ORTHOFER, R. und LAMUELA-RAVENTÓS, R. M.; 1999; Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent; in: PACKER, L. (Hg.), Oxidants and antioxidants; Band A von Methods in enzymology; 152–178; Academic Press, San Diego.
- SITHOLÉ, B. B., SULLIVAN, J. L. und ALLEN, L. H.; 1992; Identification and quantitation of acetone extractives of wood and bark by ion exchange and capillary GC with a spreadsheet program; Holzforschung; 46(5): 409–416.
- SOLHAUG, K. A.; 1990; Stilbene glucosides in bark and needles from *Picea* species; Scandinavian Journal of Forest Research; 5(1): 59–67.
- DE SOUZA-CRUZ, P. B., FREER, J., SIIKA-AHO, M. und FERRAZ, A.; 2004; Extraction and determination of enzymes produced by *Ceriporiopsis subvermispora* during biopulping of *Pinus taeda* wood chips; Enzyme and Microbial Technology; 34(3-4): 228–234.
- STEVANIC, J. und SALMÉN, L.; 2008; Characterizing wood polymers in the primary cell wall of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) using dynamic FT-IR spectroscopy; Cellulose; 15(2): 285–295.
- STRAUSS, J. und BÄR, G.; 1995; Untersuchungen zum Einfluß der Lagerungsdauer und der Lagerungsbedingungen von Holz auf die Eigenschaften von Holzschliff; PTS-Forschungsbericht 6/95; Papiertechnische Stiftung, München; 59 S.
- STRÖM, G.; 2000; Physico-chemical properties and surfactant behaviour; in: BACK, E. und ALLEN, L. H. (Hg.), Pitch control, wood resin and deresination; Kapitel 5, 139–149; Tappi Press, Atlanta.
- SUNDBERG, A., HOLMBOM, B., WILLFÖR, S. und PRANOVICH, A.; 2000; Weakening of paper strength by wood resin; Nordic Pulp & Paper Research Journal; 15(1): 46–53.
- SUNDBERG, K., THORNTON, J., HOLMBOM, B. und EKMAN, R.; 1996; Effects of wood polysaccharides on the stability of colloidal wood resin; Journal of Pulp and Paper Science; 22(7): J226–J230.
- SUNDHOLM, J.; 1999; What is mechanical pulping?; in: SUNDHOLM, J., GULLICHSEN, J. und PAULAPURO, H. (Hg.), Mechanical pulping; Papermaking Science and Technology; Kapitel 2, 16–21; Fapet Oy, Helsinki.
- SUZUKI, S. und UMEZAWA, T.; 2007; Biosynthesis of lignans and norlignans; Journal of Wood Science; 53(4): 273–284.

- SZKLARZ, G. D., ANTIBUS, R. K., SINSABAUGH, R. L. und LINKINS, A. E.; 1989; Production of phenol oxidases and peroxidases by wood-rotting fungi; *Mycologia*; 81(2): 234–240.
- TAKABE, K., MIYAUCHI, S., TSUNODA, R. und FUKAZAWA, K.; 1992; Distribution of guaiacyl and syringyl lignins in japanese beech (*Fagus crenata*): Variation within an annual ring; *IAWA Bulletin*; 13(1): 105–112.
- THURBIDE, K. B. und HUGHES, D. M.; 2000; A rapid method for determining the extractives content of wood pulp; *Industrial & Engineering Chemistry Research*; 39(8): 3112–3115.
- TIMELL, T. E.; 1967; Recent progress in the chemistry of wood hemicelluloses; *Wood Science and Technology*; 1(1): 45–70.
- TOSCANO-UNDERWOOD, C. D. und PEARCE, R. B.; 1991; Astringin and isorhapontin distribution in Sitka spruce trees; *Phytochemistry*; 30(7): 2183–2189.
- UÇAR, M. B.; 2005; A comparative study on the chemical composition of the oriental spruce woods *Picea orientalis* from planted and natural forests; *Chemistry of Natural Compounds*; 41(5): 494–498.
- ULLEVALSETER, R. O.; 1965; Storage of unbarked spruce cause damage of tannin on pulpwood; *Norsk Skogindustri*; 19(11): 475–485.
- VAINIO, A., KANGAS, J. und PAULAPURO, H.; 2007; The role of TMP fines in interfibre bonding and fibre-segment activation; *Journal of Pulp and Paper Science*; 33(1): 29–34.
- VALÁSKOVÁ, V. und BALDRIAN, P.; 2006; Estimation of bound and free fractions of lignocellulose-degrading enzymes of wood-rotting fungi *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* and *Piptoporus betulinus*; *Research in Microbiology*; 157(2): 119–124.
- VERCOE, D., STACK, K., BLACKMAN, A. und RICHARDSON, D.; 2005; A multicomponent insight into the interactions leading to wood pitch deposition; *Appita Journal*; 58(3): 208–213.
- VERCOE, D., STACK, K., BLACKMAN, A., YATES, B. und RICHARDSON, D.; 2004; An innovative approach characterising the interactions leading to pitch deposition; *Journal of Wood Chemistry and Technology*; 24(2): 115–137.
- VIIRI, H., ANNILA, E., KITUNEN, V. und NIEMELÄ, P.; 2001; Induced responses in stilbenes and terpenes in fertilized Norway spruce after inoculation with blue-stain fungus, *Ceratocystis polonica*; *Trees - Structure and Function*; 15(2): 112–122.
- VINTILA, E.; 1939; Untersuchungen über Raumgewicht und Schwindmaß von Früh- und Spätholz bei Nadelhölzern; *Holz als Roh- und Werkstoff*; 2(10): 345–357.

- WANG, D., HANG, T., WU, C. und LIU, W.; 2005; Identification of the major metabolites of resveratrol in rat urine by HPLC-MS/MS; *Journal of Chromatography B*; 829(1-2): 97–106.
- WEISSMANN, G.; 1981; Untersuchung der Rindenextrakte von *Picea abies* Karst; *Holz als Roh- und Werkstoff*; 39(11): 457–461.
- WESTERMARK, U., HARDELL, H.-L. und IVERSEN, T.; 1986; The content of protein and pectin in the lignified middle lamella/primary wall from spruce fibers; *Holzfor- schung*; 40(2): 65–68.
- WILHELMOSEN, G.; 1968; Water storage of unbarked mechanical pulp wood of Norway spruce; *Norsk Skogindustri*; 22(6): 207–211.
- WILLFÖR, S., EKLUND, P., SJÖHOLM, R., REUNANEN, M., SILLANPÄÄ, R., VON SCHOULTZ, S., HEMMING, J., NISULA, L. und HOLMBOM, B.; 2005a; Bioactive phenolic substances in industrially important tree species Part 4: Identification of two new 7-hydroxy divanillyl butyrolactol lignans in some spruce, fir, and pine species; *Holzfor- schung*; 59(4): 413–417.
- WILLFÖR, S., HEMMING, J., REUNANEN, M., ECKERMAN, C. und HOLMBOM, B.; 2003a; Lignans and lipophilic extractives in Norway spruce knots and stemwood; *Holz- forschung*; 57(1): 27–36.
- WILLFÖR, S., NISULA, L., HEMMING, J., REUNANEN, M. und HOLMBOM, B.; 2004a; Bioactive phenolic substances in industrially important tree species. Part 1: Knots and stemwood of different spruce species; *Holzfor- schung*; 58(4): 335–344.
- WILLFÖR, S., NISULA, L., HEMMING, J., REUNANEN, M. und HOLMBOM, B.; 2004b; Bioactive phenolic substances in industrially important tree species. Part 2: Knots and stemwood of fir species; *Holzfor- schung*; 58(6): 650–659.
- WILLFÖR, S., REUNANEN, M., EKLUND, P., SJÖHOLM, R., KRONBERG, L., FARDIM, P., PIETARINEN, S. und HOLMBOM, B.; 2004c; Oligolignans in Norway spruce and Scots pine knots and Norway spruce stemwood; *Holzfor- schung*; 58(4): 345–354.
- WILLFÖR, S., SUNDBERG, A., HEMMING, J. und HOLMBOM, B.; 2005b; Polysaccha- rides in some industrially important softwood species; *Wood Science and Technology*; 39(4): 245–257.
- WILLFÖR, S. M., AHOTUPA, M. O., HEMMING, J. E., REUNANEN, M. H. T., EKLUND, P. C., SJÖHOLM, R. E., ECKERMAN, C. S. E., POHJAMO, S. P. und HOLMBOM, B. R.; 2003b; Antioxidant activity of knotwood extractives and pheno- lic compounds of selected tree species; *Journal of Agriculture and Food Chemistry*; 51(26): 7600–7606.

- WOODWARD, S. und PEARCE, R. B.; 1988; Wound-associated responses in Sitka spruce root bark challenged with *Phaeolus schweinitzii*; *Physiological and Molecular Plant Pathology*; 33(1): 151–162.
- WULF, A. und PEHL, L.; 2005; Zum Auftreten wertmindernder dunkler Holzverfärbungen in gesunden Fichten; *AFZ-DerWald*; 60(6): 288–289.
- YOSHIDA, K., NISHIGUCHI, M., HISHIYAMA, S., KATO, A. und TAKAHASHI, K.; 2006; Generation and alteration of norlignans in a transition zone during the drying of a *Cryptomeria japonica* log; *Journal of Wood Science*; 52(4): 372–375.
- ZINKEL, D. F.; 1975; Tall oil precursors of loblolly pine; *Tappi Journal*; 58(2): 118–121.
- ZWISCHENBERICHT; 2006; Einfluss der Lagerungsbedingungen von Papierholz auf die Holzstoffqualität unter Berücksichtigung ökonomischer und ökologischer Aspekte; Institution for Paper Science and Technology - gGmbH, Darmstadt, Projekt-Förderkennzeichen FNR 220 151 02, Berichtszeitraum 01.01.2006 - 31.12.2006.