

GDK: 813.11:174.7 *Larix* spp.(045)=163.6

Prispelo / Received: 28. 1. 2008

Sprejeto / Accepted: 25. 7. 2008

Pregledni znanstveni članek
Scientific review paper

POLIFENOLI V RAZLIČNIH VRSTAH MACESNA (*Larix* spp.)

Janja ZULE¹, Gašper KOZJAN²

Izvleček

V članku so predstavljene različne vrste polifenolnih spojin, kot so npr. lignani, oligolignani in flavonoidi, ki jih najdemo v tkivih macesnov, to je dreves iz rodu *Larix*. Opisana je njihova biosinteza, kemijska struktura in lastnosti, med katerimi je poudarjen predvsem njihov antioksidativni potencial. Predstavljene so metode kvantitativne izolacije iz drevesnih tkiv in kemijske karakterizacije z uporabo sodobnih kromatografskih analiznih tehnik. Raziskave so pokazale, da so največje koncentracije lignanov in flavonoidov v grčah, vejah in skorji dreves. Najpomembnejši med flavonoidi v tkivih macesnov je taksifolin. Glavni predstavnik lignanov, ki jih bomo našli predvsem v grčah, je sekoizolaricirezinol, poleg njega pa sta zastopana tudi larcicirezinol in ciklolaricirezinol. Polifenoli so ključnega pomena za obstojnost lesa, saj pomenijo učinkovito kemijsko zaščito pred različnimi okužbami. Zaradi visokih koncentracij bioaktivnih lignanov v grčah iglavcev bi slednje lahko rabile kot vir za tehnološko pridobivanje teh dragocenih komponent.

Ključne besede: macesen (*Larix* spp.), polifenoli, lignani, oligolignani, flavonoidi, obstojnost lesa, antioksidativne lastnosti, kemijska karakterizacija

POLYPHENOLS IN DIFFERENT LARCH (*Larix* spp.) SPECIES

Abstract

Various types of polyphenolic compounds, such as lignans, oligolignans and flavonoids, which occur in different tissues of wood from the larch (*Larix*) genus, are presented in the article. Their biosynthesis, chemical structure and properties, including a distinctive antioxidative potential, are described. The methods of quantitative isolation from wood as well as their chemical characterization by means of sophisticated chromatographic analytical techniques are presented. It has been experimentally established that the highest concentrations of lignans and flavonoids are present in knots, branches and bark of trees. The most important flavonoid in larch tissues is taksifolin, while the predominating lignans in knots are secoisolariciresinol and less abundant larciciresinol and cycloisolariciresinol. The presence of polyphenols is crucial for wood durability, as these compounds represent efficient chemical protection of wood against biological decay. Due to high concentrations of bioactive lignans in knots of conifers, the latter represent a suitable source for technological production of valuable substances.

Key words: larch (*Larix* spp.), polyphenols, lignans, oligolignans, flavonoids, wood durability, antioxidative properties, chemical characterization

UVOD

INTRODUCTION

Macesne oz. drevesa iz rodu *Larix* uvrščamo med golo-semenke iz družine Pinaceae. Najdemo jih v hladnejši delih severne hemisfere, kot so npr. Aljaska, Kanada in Rusija. Macesni rastejo tudi v goratih predelih ZDA, v evropskih Alpah in Karpatih, Mongoliji, Kitajski, Koreji in Japonski (GIERLINGER *et al.* 2004). V rod *Larix* uvrščamo *Larix decidua* Mill. ali evropski macesen, *Larix kaempferi* (Lamb.) Carr. ali japonski macesen, *Larix sibirica* Ledeb., *Larix gmelini* Rupr. Kuzen, katerega rastišče se razprostira v severnemu delu Kitajske (SHEN *et al.* 1986), *Larix gmelinii* (Rupr.) Kuzen. var. *olgensis* (A.Henry) Ostenf. & Syrach, katerega področje je v kitajskih provincah Jilin in Heilongjiang (YANG

et al. 2005), *Larix laricina* (Du Roi) Koch, *Larix potaninii* Batalin, ter druge vrste in podvrste iz roda *Larix*.

Evropski macesni lahko zrastejo prek 50 m v višino in imajo premer tudi do 1,5 m. Posamezna drevesa lahko dosežejo starost celo več kot 600 let. Tipična za macesnov les sta rumenkasta beljava in rdečerjava črnjava. Cenjen je zaradi dobrih mehanskih lastnosti, barve, značilnega ustroja in naravne obstojnosti. Uporabljajo ga predvsem v gradbeništvu in pohištveni industriji.

OBSTOJNOST LESA WOOD DURABILITY

Naravna obstojnost ali odpornost lesa na trohnenje je sposobnost, da se ta upre biološkemu razkroju (EATON / HALE

¹ mag. J. Z. Inštitut za celulozo in papir, Bogiščiška 8, 1000 Ljubljana, SLO

² G. K., univ. dipl. inž. les., Javor Pivka, Snežniška cesta 12, 6257 Pivka

1993). Predvsem je pomembna obstojnost črnjave, ki sestavlja notranji del debla z nižjo vsebnostjo vlage. Črnjava je obarvana jedrovina, ki ne vsebuje več živih celic, nakopičene rezervne snovi pa so se odstranile oz. pretvorile v ekstraktivne spojine. Ekstraktivi so heterogena skupina kemijskih spojin, med katere prištevamo tudi terpenoide, tropolone, flavonoide, stilbene, lignane in druge aromate oz. polifenole (SCHEFFER / COWLING 1966). Povezavo med vsebnostjo ekstraktivov v črnjavi in naravno obstojnostjo so preučevali že številni avtorji (HAWLEY / FLECK / RICHARDS 1924; RUDMAN 1963; SCHULTZ *et al* 1990; SCHULTZ *et al.* 1995; SCALBERT 1991; DEBELL / MORRELL / GARTNER 1997, CELIMENE *et al.* 1999). Čeprav imajo posamezni izolirani ekstraktivi nizko biocidno aktivnost, ustrezne kombinacije spojin po vsej verjetnosti delujejo sinergistično, pri čemer se njihova biocidnost in antioksidativni potencial močno povečata (SCHULTZ / NICHOLAS 2002). Vsekakor na obstojnost lesa pomembno vplivata tako celokupna količina ekstraktivov kot tudi njihova porazdelitev v drevesnih tkivih (HILLIS 1987; KLEIST / SCHMIDT 1999). Številne analize so pokazale, da je pri iglavcih precej več bioaktivnih komponent v grčah, vejah, skorji in celo koreninah kot pa v jedrovini drevesnih debel (HOLMBOM *et al.*, 2003). Grče iglavcev tako v povprečju vsebujejo 5-15 %, v nekaterih ekstremnih primerih pa tudi do 30 % polifenolov, med katerimi prevladujejo lignani, ki sodijo med najbolj učinkovite naravne antioksidante in bio-

cide. Njihova primarna funkcija je kemijska obramba drevesa pred vdorom mikroorganizmov, lahko pa sodelujejo tudi pri regulaciji rasti. Polifenoli tudi bistveno vplivajo na naravno obarvanost lesa. Ker je njihova sinteza genetsko regulirana, vsebuje vsaka drevesna vrsta specifične spojine, po katerih se loči od drugih sorodnih vrst.

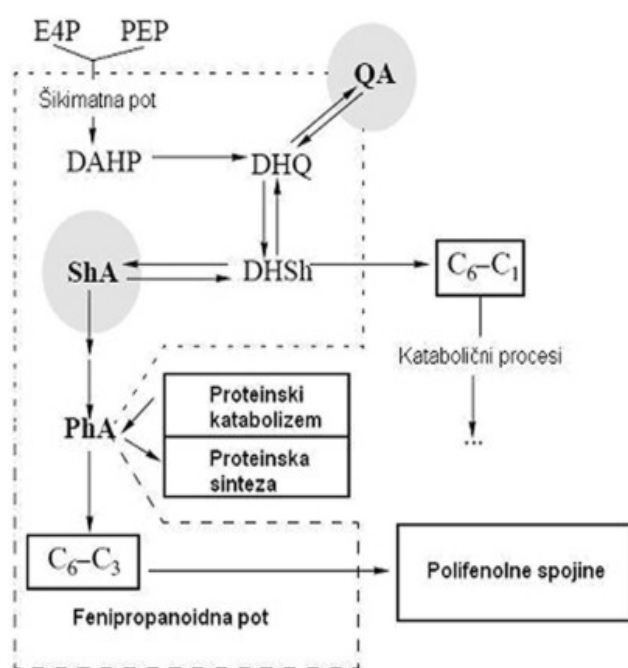
SINTEZA, VRSTE IN LASTNOSTI POLIFENOLOV

SYNTHESIS, TYPES AND PROPERTIES OF POLYPHENOLS

Polifenoli sestavljajo heterogeno skupino spojin, katerih molekule vsebujejo dve ali več fenolnih skupin. Njihova sinteza poteka po šikamatni in fenilpropanoidni poti in je predstavljena na sliki 1.

Med polifenole prištevamo tanine, stilbene, lignane, kinone in flavonoide. Strukturne formule tipičnih predstavnikov posameznih skupin so prikazane na sliki 2.

Flavonoide sestavlja $C_6C_3C_6$ ogljikov skelet, medtem ko strukturo stilbenov karakterizira konjugirana dvojna vez. Za lignane je značilna oksidativna sklopitev dveh fenilpropan-skih (C_6C_3) enot prek vezi med β -mestoma na propanskih stranskih verigah. Poleg dimernih lignanov se v lesu pojavljajo tudi manjše količine trimerov in tetramerov, ki jih v splošnem imenujemo oligolignani (SJÖSTRÖM 1981). Lignani

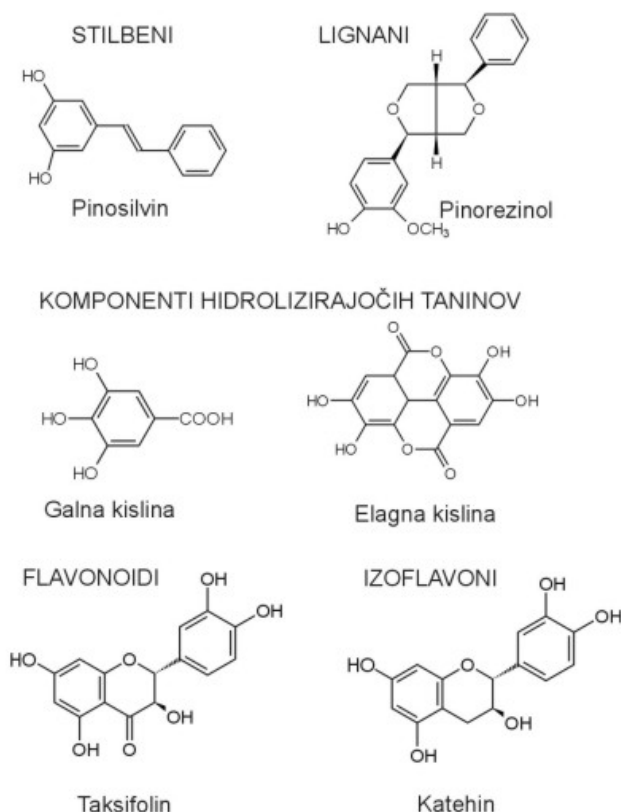


Legenda:

- E4P eritroza-4-fosfat
- PEP fosfoenolpiruvat
- DAHP 3-deoksi-D-arabinoheptulosa-7-fosfat
- DHQ dehidrokinat
- DHSh dehidrošikimat
- QA kininska kislina
- ShA šikimijska kislina
- PhA fenilalanin
- C_6-C_1 hidroksibenzojska kislina
- C_6-C_3 hidroksicimetna kislina.

Slika 1: Sinteza polifenolnih spojin v iglavcih (Shein *et al.* 2001)

Fig. 1: Synthesis of polyphenolic compounds in conifers (Shein *et al.* 2001)



Slika 2: Predstavniki polifenolnih skupin

Fig. 2: Representative polyphenolic compounds

se ne pojavljajo le v olesenelih delih rastlin, marveč tudi v listih, cvetovih, sadežih in semenih. Doslej so jih identificirali že nekaj sto. Najbolj znani lignani v iglavcih so: pinorezinol, laricirezinol, sekoizolaricirezinol, matairezinol, ciklolaricirezinol, hidroksimatairezinol, α -konidendrin in α -konidendrinska kislina (WILLFÖR / SMEDS / HOLMBOM 2006).

Vsebnosti nekaterih lignanov v rastlinskih tkivih, sadežih in prehrabnih proizvodih so prikazane v tabeli 1, iz katere je razvidno, da se izrazito visoke koncentracije lignanov pojavljajo v drevesnih grčah.

Lignani in številni drugi rastlinski polifenoli so zelo učinkoviti antioksidanti. To so kemijske spojine, ki zaradi svoje specifične elektronske konfiguracije preprečujejo ali upočasnjujejo oksidacijo drugih življenjsko pomembnih spojin v živih tkivih, ki so izpostavljena prostim radikalom. Prosti radikali, kot npr. superoksidni ali peroksidni anioni, so zelo reaktivne molekule, ki s svojo aktivnostjo poškodujejo celice, ker v njih tvorijo nove proste radikale. Največkrat povzročajo oksidativne spremembe lipidov, proteinov in deoksiribonukleinske kisline. Po reakciji z molekulami antioksidantov prosti radikali pridobijo manjkajoče elektrone in se pretvorijo

v stabilno stanje ter tako ne morejo več povzročati degenerativnih sprememb v celicah.

Zaradi visoke vsebnosti polifenolov v različnih drevesnih vrstah in njihovega antioksidativnega oz. zaščitnega delovanja je v zadnjih letih čedalje več raziskav posvečenih njihovi izolaciji, kemijski, biološki in fiziološki karakterizaciji ter njihovi potencialni uporabnosti v farmacevtski in živilski stroki.

IZOLACIJA IN KEMIJSKA KARAKTERIZACIJA ISOLATION AND CHEMICAL CHARACTERIZATION

Za določitev sestave in koncentracij polifenolnih spojin v lesu je treba le te izolirati iz matriksa, pri čemer pa se ne smejo kemijsko spremeniti. Vzorčenje lesa, shranjevanje in predobdelava vzorcev so ključnega pomena za uspešnost celotne analize. Pomembno je pridobiti reprezentativne vzorce in jih po odvzemu čimprej zamrzniti, da se izognemo nežele-

Preglednica 1: Količine izbranih lignanov ($\mu\text{g/g}$ suhe teže) v hrani, rastlinah ter lesnih tkivih (Willför / Smeds / Holmbom 2006)

Table 1: Concentrations of selected lignans ($\mu\text{g/g}$ dry weight) in foods, plants and wood tissues (Willför / Smeds / Holmbom 2006)

Material	Sekoizolaricresinol	Matairezol	Laricirezol	Hidroksimatairezol	Pinosrezol
Lanena semena	3700	10,9			
	2900	5,5	30,4		33,2
	12600	58,6			
Sezamova semena	293	4,8	95		0,7
Rženi otrobi	1,3	1,7			
Ržena moka	7,2	1,7			
Temen ržen kruh	0,1	0,1	1,2		1,7
Zeleni ohrovt	0,2	0,1	6		16,9
Brokoli	4,1	0,2			
	0,4	0	9,7		3,2
Česen	0,5	0	2,9		2
Jagode	15	0,8			
	0	0	1,2		2,1
Olivno olje	0	0	0		2,4
Črni čaj	24,2	3			
Zeleni čaj	28,9	2			
<i>Picea abies</i> jedrovina	3-370	10-520	17-370		10-20
<i>Picea abies</i> grče	1400-6800	1700-5500	1000-2500	3600-88000	sledovi
<i>Abies alba</i> jedrovina	140	250	180	150	20
<i>Abies alba</i> grče	29000-36000	2500-2600	4600-10000	7000-7800	360-1000

nim reakcijam, kot so oksidacija, polimerizacija in encimatske pretvorbe.

Pred samo izolacijo sta potrebna še sušenje in mletje v čim milejših razmerah (sušenje z zmrazovanjem, vakuumsko sušenje, mletje s hlajenjem). Ekstrakcijo polifenolov lahko opravimo z različnimi ekstrakcijskimi tehnikami in z uporabo različnih organskih topil.

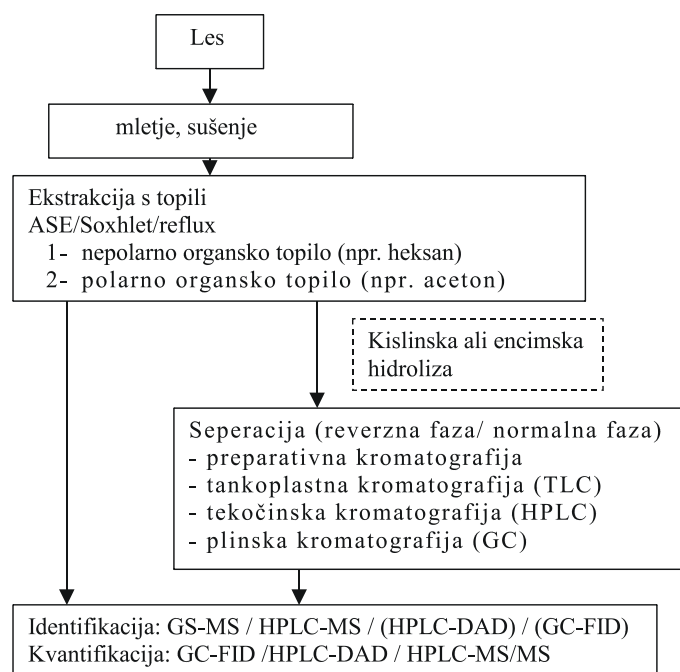
Navadno se uporabljajo kombinacije topil, in sicer kloroforma in etil acetata (SHEN *et al.* 1986), etanola, kloroforma in etil acetata (YANG *et al.* 2005a, YANG *et al.* 2005b), acetona (95 %) in vode (5 %) (WILLFÖR *et al.* 2003a), kloroforma, etil acetata in metanola (OHTSU / TANAKA / MATSUNAGA 1998a), etanola, vode, etil acetata in butanola (XUE *et al.* 2004) ter čisti topili kloroform (OHTSU *et al.* 1998) in metilen klorid (OHTSU / TANAKA / MATSUNAGA 1998b).

Kvalitativno in kvantitativno analizo lahko napravimo s pomočjo različnih vrst kromatografije, kot so tankoplastna (TLC), tekočinska (HPLC) ali plinska (GC), in z uporabo različnih vrst detektorjev, pri čemer velja omeniti masni spektrometer (MS). Analizni postopek za določitev polifenolov je prikazan na sliki 3.

SPECIFIČNI POLIFENOLI V RAZLIČNIH VRSTAH IZ RODU *LARIX* SPECIFIC POLYPHENOLS IN DIFFERENT SPECIES FROM *LARIX* GENUS

Najbolj raziskane vrste macesna so sibirski (*Larix sibirica* Ledeb.) in japonski macesen (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carr.). Po literarnih podatkih vsebujejo japonski macesni večjo koncentracijo polifenolov kot drugi predstavniki (GIERLINGER *et al.* 2004). Pri raziskavah so številni avtorji ugotavljali povezavo med vsebnostjo polifenolov in odpornostjo proti glivam, ki razgrajujejo les (WINDEISEN *et al.* 2002; GIERLINGER *et al.* 2002). Ruski strokovnjaki so se osredotočili na pridobivanje bioaktivnih komponent iz odpadnih oz. tehnološko nepomembnih delov dreves, kot so npr. skorja in veje (LAPTEVA / TYUKAVNIKA / RYZHOVA 1971; BABKIN *et al.* 2001; ALEKSANDROVA *et al.* 2004).

Pri analizah hidrofilnih ekstraktivov različnih vrst macesna so avtorji ugotovili, da sta v vseh prevladujoči polifenolni komponenti flavonoida, in sicer taksifolin (dihidrovercetin oz. 3,3', 4',5,7-pentahidroksiflavanon, $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_7$) in aromadendrin (dihidrokanferol-3,4',5,7-tetrahidroksiflavanon,



Slika 3: Shema analize lignanov, flavonoidov in stilbenov (Willför / Smeds / Holmbom 2006)

Fig. 3: Scheme of lignan, flavonoid and stilbene analysis (Willför / Smeds / Holmbom 2006)

$C_{15}H_{12}O_6$), v manjši meri pa se pojavljata tudi kvercetin (3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavon) in kamferol (3,5,7,4'-tetrahidroksiflavon). Posamezne vrste se med seboj razlikujejo tako po celokupni vsebnosti flavonoidov kot tudi po utežnem razmerju med posameznimi spojinami. Zanimiv je podatek, da so izmerili v jedrovini evropskega macesna v povprečju okrog 1,15 % aromadendrina in taksifolina, medtem ko ju je v japonskem macesnu skupaj kar 2,50 %, preračunano na suho težo lesa. Tudi razmerje med njima je v obeh primerih različno. Medtem ko sta obe spojini približno enako zastopani pri evropskem macesnu, pa je pri japonskem macesnu bistveno več taksifolina (GRIPENBERG 1952; BREWERTON 1956; NAIR / VON RUDLOFF 1959; NAIR / VON RUDLOFF 1959; BARTON / GARDNER 1960; GIWA / SWAN 1975). Flavonoidov je precej več v jedrovini kot v beljavi debla. Njihova koncentracija raste v radialni smeri od sredine navzven, tako da so največje vsebnosti prav na meji jedrovina-beljava. V svoji primerjalni študiji je KOLHIR s sodelavci (1996) primerjal antioksidativne lastnosti taksifolina, izoliranega iz macesna, s komercialnim zdravilom kvercetinom. Prišel je do ugotovitve, da je izolirani taksifolin učinkovitejši antioksidant kot sintetično pripravljene kvercetin.

Polifenoli so tudi dobro zastopani v skorji in grčah macesnov. SHEN in sodelavci (1986) so iz skorje sibirskega macesna ekstrahirali lariksinol, (-)-epiafzelehin, (+)-katehin ter (-)-epikatehin. Yang in sodelavci (2005a; 2005b) so se sistemsko lotili kemijske analize skorje macesna. Izolirali

so (-)-7-hidroksilaricirezinol 9'-*p*-kumarat, (+)-laricirezinol 9'-kofeinat, (+)-izolaricirezinol 9'-*p*-kumarat, (7*R*, 8*S*)-3'-*O*-metilcedrusin 9-*p*-kumarat ter laricirezinol 9'-*p*-kumarat, za katerega so s preliminarnimi testi ugotovili, da ima inhibitorne učinke na rast tumorih celic. SHEIN in sodelavci (2001) so opazovali akumulacijo polifenolov v kalusu *Larix sibirica* Ledeb. Pri izpostavitvi lesa modivkam *Ceratocystis laricicola* in *Ceratocystis polonica* so polifenoli bistveno prispevali k odzivu drevesa na infekcijo. Polifenolni ekstrakt iz skorje *Larix sibirica* Ledeb. je pokazal precej večjo bioaktivnost kot komercialni antioksidant ionol (KHAIRULLINA *et al.* 2006).

Iz grč evropskega macesna je WILLFÖR s sodelavci (2003b) ekstrahirali polifenolne komponente, med katerimi je bilo v ekstraktu okoli 40 % lignanov, 18 % oligolignanov in

17 % flavonoidov. Med lignani so prevladovali izolaricirezinol, laricirezinol in sekoizolaricirezinol.

Lignani in oligolignani dominirajo tudi v ekstraktih grč zvrsti, *Larix laricina* (Du Roi) Koch in *Larix sibirica* Ledeb. V obeh primerih je bilo v grčah največ sekoizolaricirezinola (PIETARINEN *et al.* 2006a). Tabela 2 prikazuje vsebnosti polifenolnih skupin in posameznih komponent, pojavljajočih se v ekstraktih grč *Larix laricina* (Du Roi) Koch in *Larix sibirica* Ledeb.

Strukturne formule tipičnih lignanov, ki se pojavljajo v različnih vrstah iz rodu *Larix* prikazuje slika 4.

Preglednica 2: Vsebnost polifenolov v ekstraktih grč v dveh vrstah macesna (*Larix laricina* (Du Roi) Koch in *Larix sibirica* Ledeb.)

Table 2: Polyphenole content in knot extracts of two larch species (*Larix laricina* (Du Roi) Koch in *Larix sibirica* Ledeb.).

Spojina	<i>Larix laricina</i> (Du Roi) Koch	<i>Larix sibirica</i> Ledeb.
Lignani	22 %	24 %
Sekoizolaricirezinol	15 %	15 %
Laricirezinol		4 %
Nortakelogenin		1 %
Ciklolaricirezinol	3 %	
Todolaktol A+ Izoliovil	2 %	2 %
Oligolignani	12 %	15 %
Flavonoidi	13 %	4 %
Taksifolin	11 %	3 %

GRČE IGLAVCEV – NAJBOGATEJŠI VIR LIGNANOV V NARAVI

KNOTS OF CONIFERS – THE REACHEST SOURCE OF LIGNANS IN NATURE

Grče iglavcev vsebujejo v povprečju 20-100krat večjo koncentracijo polifenolov kot jedrovina. Najbolj raziskane so različne vrste smrek, predvsem navadna smreka (*Picea abies* Karst.), nekatere vrste jelk (*Abies*) in rdeči bor (*Pinus sylvestris* L.). Razlike med njimi so znatne. Za navadno smreko je tipična visoka vsebnost hidroksimatairezinola (HMR), ki je pri številnih poskusih pokazal močno antikancerogeno in antimikrobno delovanje. V jelkah (*Abies lasiocarpa*, *Abies balsamea*) je prevladujoča spojina sekoizolaricirezinol, zaznati pa je tudi precej višjih lignanov oz. oligolignanov. V

grčah rdečega bora je glavni lignan (-)-nortakelogenin, poleg tega pa je najti tudi precej stilbenov. O polifenolni sestavi grč macesnov je manj podatkov, vsekakor pa prevladujeta sekoizolaricirezinol in laricirezinol.

Nedvomno so grče potencialna surovina za pridobivanje posameznih bioaktivnih komponent. Na Finskem je leta 2005 stekla industrijska proizvodnja HMR, pri kateri kot izhodiščni material uporabljajo odpadne grče lesa navadne smreke, ki je sicer namenjen proizvodnji celuloze. Shema postopka je prikazana na sliki 5.

Lignane najprej ekstrahirajo iz grč z etanolom, nato iz zmesi oborijo HMR z dodatkom kalijevega acetata. Nastali adukt ima 90 – 95 % čistost.

Grče, ki motijo proizvodnjo celuloze, bi sicer sežgali, tako pa postanejo koristna surovina. Ocenjujejo, da je možno pri dnevni predelavi 1000 ton smrekovine v celulozna vlakna pridobiti 100 ton HMR letno. HMR je že na tržišču kot prehransko dopolnilo (HOLMBOM *et al.*, 2007).

Prihodnje raziskave bodo nedvomno usmerjene tudi k preučevanju polifenolov v vrstah, kot so npr. macesni, ki pa so zaradi svojih specifičnosti še posebej zanimivi.

ZAKLJUČEK

CONCLUSION

Dobro naravno obstojnost in specifično barvo lesa različnih vrst macesna gre pripisati njihovi specifični polifenolni sestavi. V jedrovini prevladujejo flavonoidi, v grčah in skorji pa je najti tudi lignane. Vse navedene skupine odlikujejo antioksidativne lastnosti, ki bi se jih dalo s pridom izrabljati za različne tehnološke namene. Ker so največje koncentracije



Slika 5: Proizvodnja HMR iz navadne smreke (Holmbom *et al.*, 2007)

Fig. 5: HMR production from Norway spruce (Holmbom *et al.*, 2007)

cije teh spojin v grčah in skorji, velja tem tkivom nameniti še posebno pozornost. Morebitno industrijsko pridobivanje antioksidantov bo temeljilo na številnih raziskavah, saj so vrste in koncentracije bioaktivnih komponent odvisne od vrste, starosti, rastišča in pozicije znotraj drevesa.

Les je obnovljiva surovina in neprecenljivi vir dragocenih kemikalij, zato bo poznavanje njegovega kemizma izredno pomembno tudi v konceptu bodočih biorafinerij.

SUMMARY

Trees from the *Larix* genus belong to the group of gymnosperms, which typically grow in colder parts of the northern hemisphere. They comprise several tree species that are well known for their good mechanical properties, specific colour, typical texture and durability.

The resistance of wood against rotting is closely related to the content of protective compounds, such as polyphenols, which are not uniformly distributed in tree tissues. The highest concentrations may be found in knots and branches. Typical polyphenols are lignans, oligolignans, flavonoids and stilbenes, which contain two or more phenolic groups in their molecular skeleton. Their synthesis is genetically regulated, so each tree species contains specific compounds by which it can be distinguished from others. Most polyphenols are efficient antioxidants and as such protect living cells against detrimental action of free radicals. They can be easily extracted from wood tissues by means of various extraction techniques using different polar organic solvents. Individual compounds can be identified and quantified in the extracts by chromatographic techniques, such as TLC, HPLC and GC-MS.

The most characteristic hydrophilic bioactive extractives in the heartwood of different larch species are flavonoids taxifolin (dihydroquercetin or 3,3',4',5,7-pentahydroxy flavanone) and aromadendrin (dihydrokaempferol or 3,4',5,7-tetrahydroxy flavanone). Quercetin (3,5,7,3',4'-pentahydroxy flavone) and kaempferol (3,5,7,4'-tetrahydroxy flavone) are usually also present, but are much less abundant. The total concentrations of these components in the heartwoods vary between 1,5 and 3% (w/w). Larch knotwoods contain much higher quantities of hydrophilic extractives compared to the heartwood. Beside flavonoids, significant amounts of lignans and oligolignans can be found as well. The predominating are secoisolariciresinol, cyclolariciresinol and lariciresinol. Individual larch species differ in total amount of bioactive extractives as well as in relative distribution of individual

components. Their qualitative composition, however, is quite similar.

In recent years, much research has been dedicated to isolation and characterization of specific polyphenols from the knots and heartwood of conifers, such as spruce, pine and fir species. Some of them exhibit unique bioactive properties, which make them potentially interesting for larger scale extraction for the needs of pharmaceutical, chemical and food industries. The production of the lignan hydroxymatairesinol (HMR) from Norway spruce has already started at the industrial level in Finland.

It has to be kept in mind that wood is a renewable raw material and as such an invaluable source of precious chemicals, which may be easily extracted and efficiently utilized for different purposes.

VIRI

REFERENCES

- ALEKSANDROVA, N.B. / KUZNETSOVA, S.A. / KUZNETSOVA, B.N. / DANILOV, V.G. / TARABANKO, V.E. / SHAMBAZOV, V.K., 2002. Integrated processing of larch wood biomass to fine chemicals.-7th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp, Turku, 2002: 495-498
- BABKIN, V.A. / OSTROUKHOVA, L.A. / MALKOV / YU, A. / BABKIN, D.V. / ONUCHINA, N.A. / IVANOVA, S.Z., 2001. Isolation of biologically active compounds from larch wood.-11th ISWPC International Symposium on Wood and Pulping Chemistry, Nice, June 11-14: 119-122
- BREWERTON H.V., 1956. Extractives of *Larix Decidua* and *Larix Leptolepis*.-New Zealand Journal of Science and Technology, 37B: 626-632
- CELIMENE, C. / MICALES, J. / FERGE, L. / YOUNG, R., 1999. Efficacy of Pinosylvins against White Rot and Brown Rot fungi.-Holzforschung, 53: 491-497
- DEBELL, J.D. / MORRELL, J.J. / GARTNER, B., 1997. Tropolone content of increment cores as an indicator of decay resistance in western redcedar.-Wood and Fiber Science, 29: 364-369
- EATON, R.A. / HALE, M.D.C., 1993. Wood: Decay, Pests and Protection, Vol 1.-Chapman & Hall, London: 311-318
- GARDNER, J.A.F. / BARTON, G.M., 1960. The distribution of dihydroquercetin in Douglas-fir and western larch.-Forest Products Journal, 10(3): 171-173
- GIERLINGER, N. / JACQUES, D. / MARCHAL, M. / WIMMER, R. / SCHWANNINGER, M. / PAQUES, L.E., 2002. Heartwood extractives and natural durability of larch – relationships and their prediction by FT-NIR spectroscopy. - Proceedings of improvement of larch (*Larix spp.*) for better growth, stem form and wood quality, Gap – Auvergne & Limousin. INRA, Olivet Cedex: 414-421
- GIERLINGER, N. / JACQUES, D. / GRABNER, M. / WIMMER, R. / SCHWANNINGER, M. / ROZENBERG, P. / PAQUES, L.E., 2004. Colour of larch heartwood and relationships to extractives and brown-rot decay resistance.-Trees, 18: 102-108
- GIERLINGER, N. / JACQUES, D. / SCHWANNINGER, M. / WIMMER, R. / PAQUES, L.E., 2004. Heartwood extractives and lignin content of different larch species (*Larix spp.*) and relationships to brown-rot decay-resistance.-Trees, 18: 230-236
- GRIPENBERG J., 1952. Flavanones from the heartwood of *Larix Decidua* Mill.-Acta Chemica Scandinavica, 6: 1152-1156

- GIWA, S.A.O. / SWAN, E.P., 1975. Heartwood extractives of a western larch tree (*Larix occidentalis* Nutt.)-Wood and Fiber, 7(3): 216-221
- HAWLEY, L.F. / FLECK, L.C. / RICHARDS, C.A., 1924. The relation between natural durability and chemical composition in wood.-Ind. Eng. Chem. 16: 699-706
- HOLMBOM, B. / ECKERMAN, C. / EKLUND, P. / HEMMING, J. / NISULA, L. / REUNANEN, M. / SJÖHOLM, R. / SUNDBERG, A. / SUNDBERG, K. / WILLFÖR, S., 2003. Knots in trees – A new rich source of lignans.-Phytochemistry Reviews, 2: 331-340
- HOLMBOM, B. / WILLFÖR, S. / HEMMING, J. / PIETARINEN, S. / NISULA, S. / EKLUND, P. / SJOEHOLM, R., 2007. Knots in trees – a rich source of bioactive polyphenols, Materials, Chemicals and Energy from Forest Biomass-ACS Symposium Series 954, ACS, 2007: 350-362
- HILLIS W.E., 1987. Heartwood and tree exudates-Springer-Verlag, Berlin Heidelberg New York
- KHAIRULLINA, V.R. / GARIFULLINA, G.G. / GERCHIKOV, A.Y. / OSTROUKHOVA, L.A. / BABKIN, V.A., 2006. Quantitative antioxidant activity of the ethylacetate extract of *Larix sibirica* bark and its individual components.-Chemistry of Natural Compounds, 42, 2: 160-163
- KLEIST, G. / SCHMITT, U., 1999. Evidence of accessory compounds in vessel walls of Sapelli heartwood (*Entandrophragma cylindricum*) obtained by transmission electron microscopy-Holz als Roh- und Holzstoff, 57: 93-95
- KOLHIR, V.K. / BYKOV, V.A. / BAGINSKAJA, A.I. / SOKOLOV, S.Y. / GLAZOVA, N.G. / LESKOVA, T.E. / SAKOVICH, G.S. / TJUKAVKINA, N.A. / KOLESNIK, Y.A. / RULENKO, I.A., 1996. Antioxidant Activity of a Dihydroquercetin isolated from *Larix gmelinii* (Rupr.) Rupr. Wood.-Phytotherapy research, 10: 478-482
- LAPTEVA, K.I. / TYUKAVNIKA, Y. / RYZHOVA, L.I., 1971. Lignans from *Larix dahurica* and *Larix sibirica* wood.-Khim. Prir. Soedin, 7(6): 829-830
- NAIR, G.V. / VON RUDLOFF, E., 1959. Chemical composition of the heartwood extractives of tamarack (*Larix laricina*).-Can. J. Chem, 37: 1708-1713
- NAIR, G.V. / VON RUDLOFF, E., 1960. Chemical composition of the heartwood extractives of *Larix lyallii*.-Can. J. Chem., 38: 177-181
- OHTSU, H. / TANAKA, R. / MATSUNAGA, S., 1998. 18-nor-Abietatrienes from the Cones of *Larix kaempferi*.-Journal of Natural Products, 61, 3: 406-408
- OHTSU, H. / TANAKA, R. / MATSUNAGA, S., 1998. Abietane Diterpenoids from the Cones of *Larix kaempferi*-Journal of Natural Products, 61, 10: 1307-1309
- OHTSU, H. / TANAKA, R. / MICHIDA, T. / SHINGU, T. / MATSUNAGA, S., 1998. Tetracyclic triterpenes and other constituents from the leaves and bark of *Larix kaempferi*-Phytochemistry, 49, 6: 1761-1768
- PIETARINEN, S.P. / WILLFÖR, S.M. / AHOTUPA, M.O. / HEMMING, J.E. / HOLMBOM, B.R., 2006. Knotwood and bark extracts: strong antioxidants from waste materials.-Journal of Wood Science, 52: 436-444
- RUDMAN P., 1963. The causes of natural durability in timber. Part XI. Some tests on the fungi toxicity of wood extractives and related compounds.-Holzforschung, 17: 54-57
- SCALBERT, A., 1991. Antimicrobial properties of tannins.-Phytochemistry, 30: 3875-3883
- SCHEFFER, T.C. / COWLING, E.B., 1966. Natural resistance to microbial deterioration.-A. Rev. Phytopath. 4: 147-170
- SCHULTZ, T.P. / HUBBARD, T.F. / J. L. FISHER, T.H. / NICHOLAS, D.D. / 1990. Role of stilbenes in the natural durability of wood: fungicidal structure-activity relationships.- Phytochemistry, 29: 1501-1507
- SCHULTZ, T.P. / HARMS, W.B. / FISHER, T.H. / MCMURTREY, K.D. / MINN, J. / NICHOLAS, D.D., 1995. Durability of angiosperm heartwood: the importance of extractives. -Holzforschung, 49: 29-34
- SCHULTZ, T.P. / NICHOLAS, D.D., 2000. Naturally durable heartwood: evidence for a proposed dual defensive function of the extractives.-Phytochemistry, 54: 47-52
- SHEN, Z. / HASIAM, E. / FALSHAW, C.P. / BEGLEY, M.J., 1986. Procyanidins and polyphenols of *Larix gmelini* bark.-Phytochemistry, 25, 11: 2629-2635
- SHEIN, I.V. / POLYAKOVA, G.G. / ZRAZHEVSKAYA, G.K. / PASHENOVA, N.V. / VETROVA, V.P., 2001. Accumulation of Phenolic Compounds in Conifer Callus Cultures in Response to Wood Blue-Stain Fungi.-Russian Journal of Plant Physiology, 48, 2: 216-221
- SJÖSTRÖM, E., 1981. Wood Chemistry, Fundamentals and Applications.- New York, Academic Press
- WILLFÖR, S.M. / AHOTUPA, M.O. / HEMMING, J.F. / REUNANEN, M.H.T. / EKLUND, P.C. / SJÖHOLM, R.E. / ECKERMAN, C.S.E. / POHJAMO, S.P. / HOLMBOM, B.R., 2003. Antioxidant Activity of Knotwood Extractives and Phenolic Compounds of Selected Tree Species.-Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 26: 7600-7606
- WILLFÖR, S. / HEMMING, J. / REUNANEN, M. / ECKERMAN, C. / HOLMBOM, B., 2003. Lignans and Lipophilic Extractives in Norway Spruce Knots and Stemwood.- Holzforschung, 57:27-36
- WILLFÖR, S.M. / SMEDS, A.I. / HOLMBOM, B.R., 2006. Chromatographic analysis of lignans.-Journal of Chromatography A. 1112: 64-77
- WINDEISEN, E. / WEGENER, G. / LESNINO, G. / SCHUMACHER, P., 2002. Investigation of the correlation between extractives content and natural durability in 20 cultivated larch trees.-Holz als Roh- und Werkstoff, 60: 373-374
- XUE, J.J. / FAN, C.Q. / DONG, L. / YANG, S.P. / YUE, J.M., 2004. Novel Antibacterial Diterpenoids from *Larix chinensis* Beissn.-Chemistry & Biodiversity, 1: 1702-1707
- YANG, B.H. / ZHANG, W.D. / LIU, R.H. / LI, T.Z. / ZHANG, C. / ZHOU, Y. / SU, J., 2005. Lignans from Bark of *Larix olgensis* var. *Koreana*.-Journal of Natural Products, 68, 8: 1175-1179
- YANG, B.H. / ZHANG, W.D. / LIU, R.H. / TAN, C.H. / LI, T.Z. / ZHANG, C. / XU, X.K. / SU, J., 2005. Spiro-biflavonoids from *Larix olgensis* Henry var. *Koreana Nakai*.-Helvetica Chimica Acta, 88: 2892-2986