

Untersuchung von Extraktstoffen aus thermisch modifizierter Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) auf ihre fungizide Wirkung

Alexander Pfriem, Melanie Horbens, Mario Beyer und Jana Peters

1 Einleitung

Die chemischen Veränderungen der Holzbestandteile infolge einer thermischen Modifikation wurden in verschiedenen Arbeiten umfangreich beschrieben (z. B. [3]). Als wesentliche Effekte der thermischen Modifikation stellen sich eine deutlich erhöhte Dimensionsstabilität [1], verringerte Feuchtesorption [14], erhöhte Diffusionswiderstände [13] und erhöhte biologische Resistenz [12, 18, 19] ein. Die Erhöhung der biologischen Resistenz ist maßgeblich von der Holzart, der Prozessführung und -temperatur abhängig [10]. Als eine, jedoch nicht alleinige Ursache für die Verbesserung der biologischen Beständigkeit wird das verringerte Sorptionsverhalten des Holzes angeführt [2, 4, 9]. Bei verschiedenen Holzarten bewirken ähnliche Modifikationsgrade zwar eine vergleichbare Sorptionsreduzierung, jedoch kann sich ihre biologische Resistenz trotzdem deutlich unterscheiden [15]. Weitere Ansatzpunkte zur Erklärung der Erhöhung der Resistenz liefert das eingeeengte, spezifische Wirkprinzip pilzlicher Enzyme, deren Substrate durch thermische Abbauprozesse im Holz zerstört werden [16]. Dagegen sprechen neuere Veröffentlichungen, denen zufolge der Holzabbau durch holzerstörende Pilze trotz fehlender Hemicellulose auf oxidativen Weg stattfinden kann [12]. Ferner wird als mögliche Ursache die Bildung toxischer Reaktionsprodukte angeführt. *Kamdem et al.* (2000) [11] fanden im Extrakt thermisch modifizierter Hölzer toxische, polykondensierte Aromaten vom Phenantrentyp. *Kamdem et al.* (2002) [12] und *Hakkou et al.* (2005) [9] führen die veränderte chemische Struktur der Hemicellulose und des Lignins als weitere Ursache für die erhöhte Dauerhaftigkeit an. Ziel dieser Untersuchungen war es, die widersprüchlichen Aussagen über die fungizide Wirkung von Extraktstoffen thermisch modifizierter Hölzer am Beispiel der Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) zu überprüfen.

2 Material und Methoden

Lufttrockene Hackschnitzel aus Rotbuche (*Fagus sylvatica* L.) wurden bei 170°C und 200°C in trockener, sauerstoffarmer Umgebung im Trockenschrank thermisch

modifiziert (milde Pyrolyse nach *Wienhaus* 1999 [20]). Die Behandlungsdauer lag bei 6 Stunden, davon jeweils 1 Stunde bei 103 °C und 140 °C sowie 4 Stunden bei 170 °C bzw. 200 °C.

Anschließend wurden die so modifizierten Hackschnitzel in einer Laborschlagmühle zu Spänen zerkleinert. In Anlehnung an *Sjöström* und *Alén* (1999) [17] sowie *Kamdem et al.* (2000) [11] wurden jeweils 10 g Späne in Extraktionshülsen aus Zellstoff eingewogen und für 8 Stunden mit jeweils 250 ml der in Tabelle 1 beschriebenen Extraktionsmittel in einer Soxhlet-Apparatur extrahiert.

Von den erhaltenen Lösungen wurde der Extraktstoffgehalt durch Eindampfen im Rotationsverdampfer bestimmt. In Anlehnung an *Grohs* und *Kunz* (1998) [8] sowie *Kamdem et al.* (2000) [11] wurden die Extrakte in jeweils 200 ml Lösungsmittel, die ebenfalls in Tabelle 1 aufgeführt sind, wieder aufgelöst.

Anschließend erfolgte die Tränkung von Probekörpern aus nativem Buchenholz mit den wieder aufgelösten Extrakten. Die Abmessungen der Probekörper betragen in Anlehnung an DIN EN 113 [5] ($50 \pm 0,5$) mm x ($25 \pm 0,5$) mm x ($13 \pm 0,5$) mm. Jeweils 3 Prüfkörper wurden in 200 ml Extraktlösung für ca. 30 Minuten unter Vakuum und danach vollständig mit Lösung bedeckt 2 Stunden unter Atmosphärendruck getränkt. Anschließend lagerten die Prüfkörper zwei Tage an Luft, um das vollständige Entweichen der Lösungsmittel sicherzustellen. Vorversuche zeigten, dass Prüfkörper, die ausschließlich mit den Lösungsmitteln getränkt wurden und zwei Tage an Luft lagerten, keine Veränderungen ihrer Resistenz aufwiesen. Der Gehalt an aufgenommenen Extraktstoffen wurde gravimetrisch bestimmt.

Die Beurteilung der Pilzresistenz der imprägnierten Proben erfolgte nach 8-wöchigem Befall durch *Coriolus versicolor* (L.) unter Berücksichtigung des Masseverlustes in Anlehnung an DIN EN 113 [5]. Dazu wurden die getränkten Prüfkörper mittels Heißdampf im Autoklaven bei 100 °C sterilisiert und unter einer Laminarbox in pilzbewachsenen Petrischalen (Durchmesser 145 mm) in Longitudinalrichtung sternförmig positioniert. Als punktuelle Auflagen dienten ca. 2 mm hohe Glasplättchen. Je Petrischale erfolgte der Einbau von jeweils 3 getränkten Prüfkörpern eines Extraktes sowie einer ungetränkten Nullprobe.

An ausgewählten Extrakten erfolgte abschließend eine Analyse der Inhaltsstoffe mittels Gaschromatografie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS) unter folgenden Messbedingungen:

- Gerät: GC HP 6890 mit MSD 5973,

- Säule: OPTIMA-5 (Länge 30 m, Durchmesser 250 µm, Filmdicke 0,25 µm),
- Splitverhältnis: 20:1,
- Injektortemperatur: 50 °C,
- Temperaturprofil: 5 min 50 °C; mit 5 K/min auf 300 °C aufgeheizt, 15 min 300 °C gehalten,
- Trägergas: Helium.

3 Ergebnisse und Diskussion

Mit steigender Modifikationstemperatur stieg der Anteil extrahierbarer Bestandteile unabhängig vom verwendeten Extraktionsmittel (Tabelle 2). Zu erwarten war, dass die wässrigen Extrakte vorrangig wasserlösliche kurzkettige Polyosen, die Methanol-Extrakte dagegen auch phenolische Bestandteile aus für Buche typischen akzessorischen Bestandteilen sowie Zersetzungsprozessen des Lignins enthalten. Entsprechend unterschiedlich hoch waren die Anteile extrahierbarer Bestandteile, da durch die thermische Modifikation nach *Fengel* und *Wegner* (1989) [7] primär Abbaureaktionen an den Hemicellulosen stattfinden.

Grohs und *Kunz* (1998) [8] zeigten, dass natürlich vorkommende Extraktstoffe und darin getränkte native Hölzer fungizide sowie insektizide Eigenschaften aufweisen und sich als Holzschutzmittel eignen. Jedoch ist die Wirkungsweise der Extrakte sehr spezifisch und im großen Maße konzentrationsabhängig. Einige der hier gewonnenen Extrakte aus thermisch modifizierter Buche wiesen ebenfalls fungizide Eigenschaften auf, wie in Abbildung 1 dargestellt ist. Darin repräsentieren die Balken den Mittelwert der Veränderung der biologischen Abbaubarkeit, die Fehlerindikatoren zeigen die jeweiligen Minima und Maxima.

Die im Propanon-Wasser-Extrakt getränkten Proben zeigten kaum bzw. sehr kleine Änderungen der biologischen Abbaubarkeit im Vergleich zur Nullprobe. Bei den im Wasser-Extrakt getränkten Proben waren erhöhte Masseverluste und eine allgemeine Verschlechterung der Pilzresistenz zu verzeichnen. Dies ist auf den erhöhten Anteil von Poly- und Monosacchariden im Wasser-Extrakt zurückzuführen. Die im Methanol-Extrakt getränkten Prüfkörper erzielten geringere Masseverluste im Vergleich zur Nullprobe. Die maximal erreichte positive Resistenzveränderung von 29,4 % (Methanol-Extrakt aus bei 170°C thermisch modifizierter Buche) ergab nach DIN EN 350-1 [6] eine Zuordnung zur Dauerhaftigkeitsklasse 4, also nicht dauerhaft.

Über die GC-MS-Analyse konnten Aussagen über die stoffliche Zusammensetzung der Extraktlösungen getroffen werden. Abbildung 2 stellt die Methanol-Extrakte der beiden Modifikationsstufen von Buche sowie einer nicht modifizierten (nativen) Vergleichsprobe gegenüber. Im Bereich der Retentionszeiten von 20 bis 45 min wurden unabhängig von der Modifikationsstufe dieselben Stoffsubstanzen phenolischen Ursprungs mit veränderlichen Anteilen detektiert. Während der Peak bei 32,4 min (4-(3-Hydroxy-1-propenyl)-2-methoxyphenol) mit steigender Behandlungstemperatur abnahm, blieben die anderen detektierten Stoffsubstanzen in ihrem Verhältnis zueinander relativ stabil. Der Peak des Dimethoxydihydroxymaldehyds bei 37,6 min, welcher aus reductiven Abspaltungsreaktionen entsteht, dominierte bei den Extrakten nativer und 170°C behandelte Buche. Im Extrakt der höchsten Modifikationsstufe überwog der Peak des Dimethoxymaldehyds bei 37,4 min.

Bei Retentionszeiten zwischen 45 und 60 min wies der Methanol-Extrakt der bei 200°C behandelte Buche zahlreiche Peaks auf, die jedoch nicht alle eindeutig identifiziert werden konnten. Zwischen den Molpeaks in den Massenspektren der Einzelsubstanzen war häufig die Massendifferenz 30 zu erkennen, was auf eine Demethoxylierung schließen lässt. Neben den drei eindeutig bestimmbar Lignan Pino-, Medio- und Syringaresinol wird eine Reihe von Abbauprodukten mit ähnlichen Massenspektren gefunden, die vermutlich auf einer Stilben-Struktur basieren. Die Peakhöhen und somit die extrahierten Stoffmengen stiegen mit zunehmender Modifikationstemperatur.

Als Begründung für die leicht pilzhemmende Wirkung der Methanol-Extrakte aus thermisch modifizierter Buche können die erhöhten Phenolanteile herangezogen werden. Die in den untersuchten Extrakten nachgewiesenen Stoffe, von denen Literaturangaben zufolge eine pilzhemmende Wirkung ausgeht, waren Methoxyeugenol (31,6 min), 4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyd (30,7 min), 4-Hydroxy-3-methoxybenzoesäure (28,6 min) und Vanillin (24,4 min) (Abbildung 3). Ihre Menge stieg jeweils, mit Ausnahme des Methoxyeugenols, bei zunehmender Modifikationstemperatur an. Der absolute Gehalt an Vanillin, Methoxyeugenol und 4-Hydroxy-3-methoxybenzoesäure war jedoch sehr gering, wobei die extrahierbare Menge an 4-Hydroxy-3,5-dimethoxybenzaldehyds (30,7 min) die der anderen Verbindungen deutlich überstieg. Gegebenenfalls könnte mit anderen

Extraktionsmethoden, z. B. durch die Anwendung von überkritischem Kohlendioxid, eine Konzentrationserhöhung der phenolischen Komponenten erreicht werden.

Polyzyklische Aromaten, z. B. solche vom Phenanthrentyp, wie von *Kamdem et al.* (2002) [12] beschrieben, konnten mit den vorliegenden Untersuchungen nicht nachgewiesen werden.

4 Literatur

- 1 Bekhta, P.; Niemz, P.: Effect of High Temperature on the Change in Color, Dimensional Stability and Mechanical Properties of Spruce Wood. *Holzforschung* 57 (2003) 5, S. 539-546
- 2 Boonstra, M.J.; van Acker, J.; Kegel, E.; Stevens, M.: Optimisation of a two-stage heat treatment process: durability aspects. *Wood Science and Technology* 41 (2006) 1, S. 31-57
- 3 Boonstra, M.J.; Tjeerdsma, B.F.: Chemical analysis of heat treated softwoods. *Holz als Roh- und Werkstoff* 65 (2006) 3, S. 204-211
- 4 Buro A. Die Wirkung von Hitzebehandlungen auf die Pilzresistenz von Kiefern- und Buchenholz. *Holz als Roh- und Werkstoff* 12 (1954) 8, S. 297-304
- 5 DIN EN 113 96.11 Prüfverfahren zur Bestimmung der vorbeugenden Wirksamkeit gegen holzerstörende Basidiomyceten
- 6 DIN EN 350-1 1994.10 Dauerhaftigkeit von Holz und Holzprodukten - Natürliche Dauerhaftigkeit von Vollholz - Teil 1: Grundsätze für die Prüfung und Klassifikation der natürlichen Dauerhaftigkeit von Holz
- 7 Fengel, D., Wegener, G.: *Wood Chemistry, Ultrastructure, Reactions*, Walter de Gruyter & Co, Berlin, New York, 1989
- 8 Grohs, B. M.; Kunz, B.: Studie zur Nutzung von Kernholzextrakten als potentiell biologische Holzschutzmittel. *Holz als Roh- und Werkstoff* 56 (1998) 4, S. 217-220
- 9 Hakkou, M.; Pétrissans, M.; Zoulalian, A.; Gérardin, P.: Investigation of the reasons for the increase of wood durability after heat treatment based on changes of wettability and chemical composition. In: Militz, H., Hill, C. [Hrsg.] *Wood Modification: Process, Properties and Commercialisation -The Second European Conference on Wood Modification – Göttingen, 2005*
- 10 Homan, W.J.; Jorissen, A.J.M. Wood modification developments. *HERON* 49 (2004) 4, S. 361-386

- 11 Kamdem, D.P.; Pizzi, A.; Triboulot, C.: Heat-treated timber: potentially toxic by-products presence and extent of wood cell wall degradation. *Holz als Roh- und Werkstoff* 58 (2000) 4, S. 253-257
- 12 Kamdem, D.P.; Pizzi, A.; Jermannaud, A.: Durability of heat-treated wood. *Holz als Roh- und Werkstoff* 60 (2002) 1, S. 1-6
- 13 Pfriem, A.; Grothe, T.; Wagenführ, A.: Einfluss der thermischen Modifikation auf das instationäre Sorptionsverhalten von Fichte (*Picea abies* (L.) Karst.). *Holz als Roh- und Werkstoff* 65 (2007) 4, S. 321-323
- 14 Popper, R.; Niemz, P.; Eberle, G.: Untersuchungen zum Sorptions- und Quellungsverhalten von thermisch behandeltem Holz. *Holz als Roh- und Werkstoff* 63 (2005) 2, S. 135-148
- 15 Scheiding, W.; Kruse, K.; Plaschkies, K.; Weiß, B.: Thermally modified wood (TMW) for playground toys: Investigations on industrially manufactured products. In: Militz, H., Hill, C. [Hrsg.] *Wood Modification: Process, Properties and Commercialisation -The Second European Conference on Wood Modification – Göttingen, 2005*
- 16 Seifert, K.: Die chemische Veränderung der Holzzellwand-Komponenten unter Einfluss pflanzlicher und tierischer Schädlinge – 2. Mitteilung: Abbau von *Pinus sylvestris* (L.) durch *Coniophora cerebella* (Pers.). *Holzforschung* 16 (1962) 4, S. 102-113
- 17 Sjöström, E.; Alén, R.: *Analytical Methods in Wood Chemistry, Pulping and Papermaking*. Springer Verlag, Heidelberg, 1999
- 18 Tjeerdsma, B.; Stevens, M.; Militz, H.; van Acker, J.: Effect of process conditions on moisture content and decay resistance of hydro-thermally treated wood. *Holzforschung und Holzverwertung* 54 (2002) 5, S. 94-99
- 19 Welzbacher, C.R.; Rapp, A.O.: Durability of thermally modified timber (TMT) from industrial scale processes in different use classes: Results from laboratory and field tests. *Wood Material Science and Engineering* 2 (2007) 1, S. 4-14
- 20 Wienhaus, O.: Chemische Änderungen bei der Wärmebehandlung von Holz. *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen* 156 (2005) 11, S. 427-431

Zusammenfassungen deutsch und englisch

Bestimmte Extraktstoffe aus thermisch modifizierter Buche weisen fungizide Eigenschaften auf. Methanol-Extrakte aus thermisch modifizierter Buche, die in Propanon wieder aufgelöst wurden, wiesen eine leichte pilzwachstumshemmende Wirkung auf. Die getränkten Prüfkörper aus Buche erreichten eine Zuordnung zur Dauerhaftigkeitsklasse 4, d. h. nicht dauerhaft. Prüfkörper, die mit anderen Extrakten aus thermisch modifizierter Buche getränkt wurden, dabei insbesondere Wasser-Extrakte, weisen dagegen keine signifikante Resistenzverbesserung auf.

Die Analyse der Methanol-Extrakte mittels Gaschromatografie mit Massenspektrometrie-Kopplung (GC-MS) ließ einen erhöhten Anteil bestimmter phenolischer Verbindungen erkennen, die teilweise Resistenz fördernde Wirkungen haben. Das Vorhandensein dieser Verbindungen kann somit als Begründung der Verbesserung der Resistenz entsprechend imprägnierter Prüfkörper herangezogen werden.

Investigation of extract materials from thermally modified beech (*Fagus sylvatica* L.) on their fungicidal effect

Certain extractives from thermally modified beech have fungicidal properties. Methanol extracts, resolubilized in propanone, caused a significant retardation of fungal growth on native beech specimen. Beech specimen impregnated with these extractives could be assigned to the durability class 4, i. e. not permanent. Other extracts of thermally modified beech, in particular water extracts, did not show significant improvement in resistance.

The analysis of methanol extracts using gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) showed an increased amount of phenolic compounds known to increase resistance. Their presence in organic extracts of thermally modified wood may explain the improvement of the resistance of the impregnated specimen.

Autoren

Dr.-Ing. Alexander Pfriem ist wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Holz- und Faserwerkstofftechnik der TU Dresden. Er promovierte 2006 auf dem Gebiet der Holzmodifikation und beschäftigt sich in Forschung und Lehre mit den Fachgebieten Holzmodifikation und Holz Trocknung.

Dipl.-Ing. Melanie Horbens ist Absolventin der Studienrichtung Holz- und Faserwerkstofftechnik der TU Dresden und zurzeit wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Holztechnologie und Holzbiologie des Johann Heinrich von Thünen-Institutes in Hamburg.

Dr. rer. nat. habil. Mario Beyer ist wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Holztechnologie gemeinnützige GmbH. Er ist promovierter Photochemiker (TH Merseburg) und habilitierte sich 2005 an der TU Dresden für das Fach Holzchemie.

Dr. rer. nat. Jana Peters ist wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Holz- und Pflanzenchemie der TU Dresden. Sie promovierte 2004 an der TU Freiberg als analytische Chemikerin.

Abbildungen

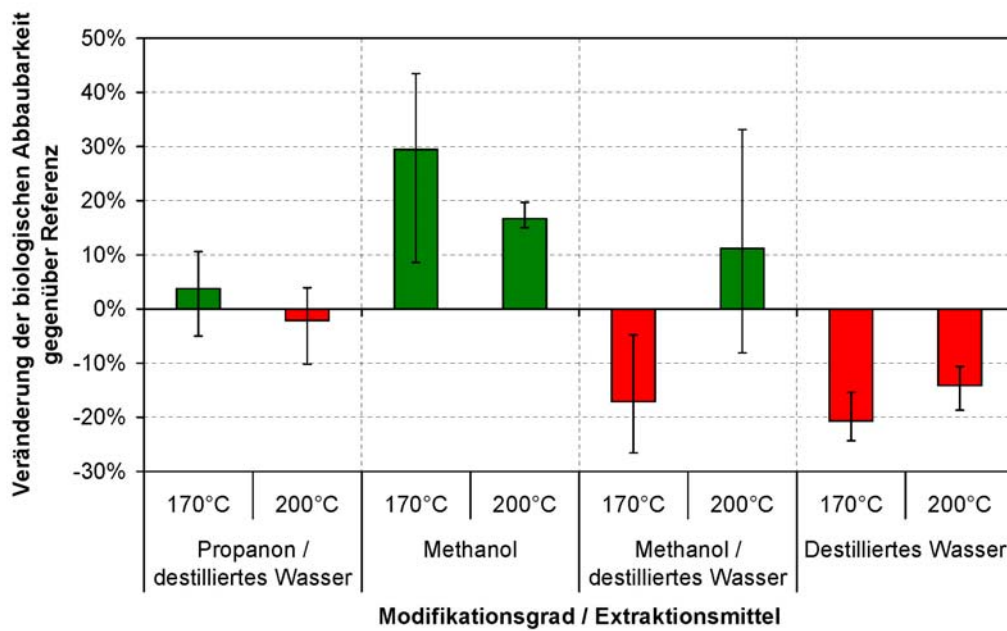


Abb. 1: Veränderung der biologischen Abbaubarkeit nativer Prüfkörper aus Buche nach Tränkung mit Extrakten thermisch modifizierter Buche (grün: Verringerung des Abbaus, rot: Erhöhung des Abbaus), Prüfpilz: *Coriolus versicolor* (L.)

Fig. 1: Change of biodegradability by *Coriolus versicolor* (L.) of native beech specimen after impregnation with extracts of thermally modified beech (green: reduction of biodegradability, red increase of biodegradability)

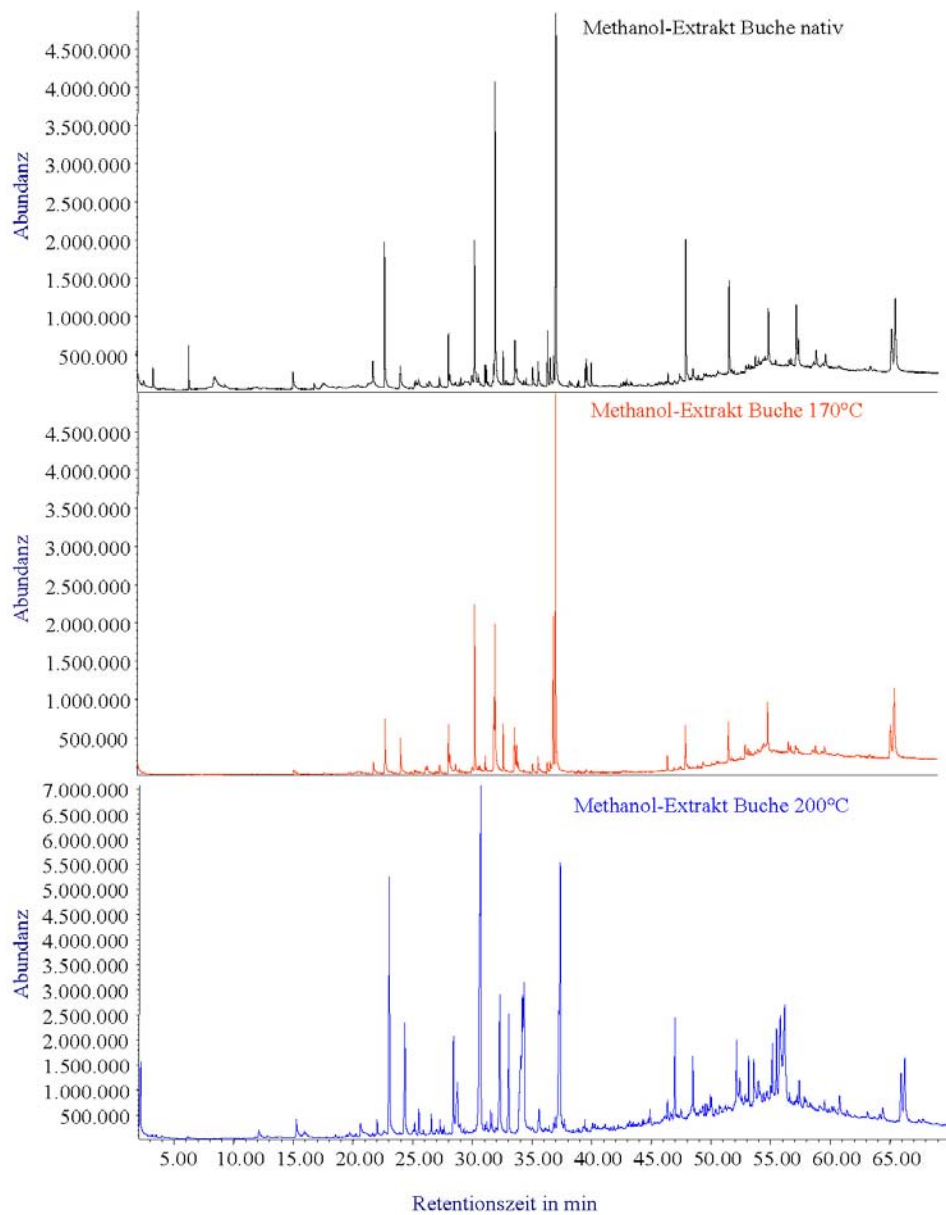


Abb. 2: Vergleich der Chromatogramme der Methanol-Extrakte aus nativer Buche (oben) sowie thermisch modifizierter Buche (170°C Mitte, 200°C unten)

Fig. 2: Overview of the chromatograms of methanol extracts of native beech (top) and thermally modified Beech (centre: 170°C, below: 200°C)

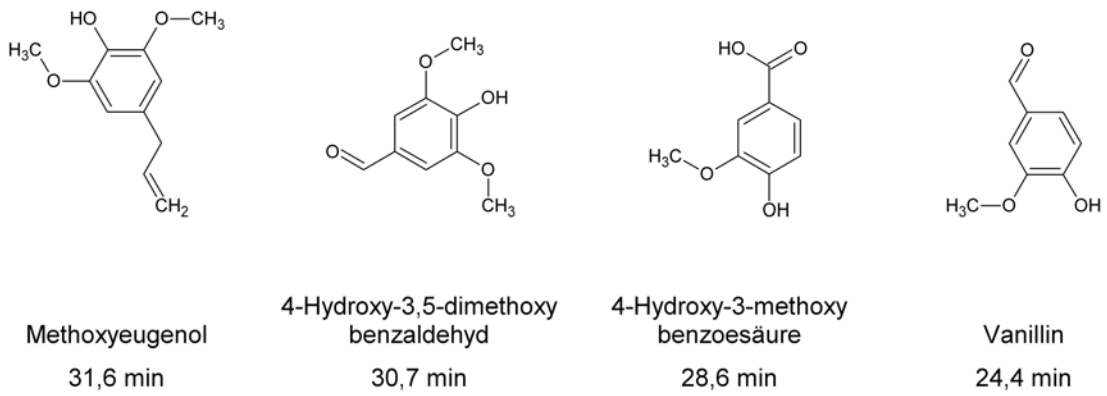


Abb. 3: In den Methanol-Extrakten nachgewiesene phenolische Verbindungen mit Resistenz fördernder Wirkung

Fig. 3: Phenolic compounds with fungicidal effects found in the methanol extracts

Tabellen

Tabelle 1: Verwendete Extraktions- und Lösungsmittel

Table 1: Used extractives and solvents

Extraktionsmittel	Mischungsverhältnis	Mittel zur Wiederauflösung der Extrakte	Mischungsverhältnis
Propanon / destilliertes H ₂ O	10:1	Propanon / destilliertes H ₂ O	10:1
Methanol	-	Propanon	-
Methanol / destilliertes H ₂ O	2:1	Propanon / destilliertes H ₂ O	2:1
Destilliertes H ₂ O	-	Destilliertes H ₂ O	-

Tabelle 2: Charakterisierung der gewonnenen Extrakte

Table 2: Characterisation of the gained extracts

Extraktionsmittel	Modifikationsgrad °C	Extraktstoffgehalt (%)	Extraktgehalt der Prüfkörper nach Tränkung (%)
Propanon / destilliertes H ₂ O	170	3,0	3,6
	200	5,8	6,1
Methanol ¹⁾	170	3,8	5,5
	200	6,2	6,5
Methanol ¹⁾ / destilliertes H ₂ O	170	4,6	5,5
	200	9,5	9,0
Destilliertes H ₂ O	170	5,8	5,8
	200	10,2	8,2

¹⁾ Beim Wiederauflösen der Methanol-Extrakte wurde Propanon verwendet.