

## بررسی شیمیایی و آناتومیکی تغییرات رنگی روکش‌های راش ایران (*Fagus orientalis* L.) در اثر خشک‌کردن و کهنگی

لعیا جمالی‌راد<sup>۱\*</sup>، کاظم دوست‌حسینی<sup>۲</sup>، سید احمد میرشکرایی<sup>۳</sup> و گerald کخ<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> استادیار دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران

<sup>۲</sup> استاد دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، ایران

<sup>۳</sup> استاد دانشگاه پیام نور، ایران

<sup>۴</sup> استاد دانشگاه هامبورگ، آلمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۵/۸، تاریخ تصویب: ۱۳۸۹/۷/۵)

### چکیده

تغییرات رنگی چوب ناشی از عوامل زیستی یا غیرزیستی و یا ترکیبی از هر دو، باعث کاهش کیفیت چوب، افزایش هزینه‌های فرآوری و همچنین کاهش کیفیت محصول نهایی می‌گردند. در این تحقیق تغییرات آناتومیکی و توپوشیمیایی مواد استخراجی و لیگنین قبل و بعد از تیمارهای خشک‌کردن و کهنگی در برون چوب راش با استفاده از روش میکرواسپکتروفوتومتری UV در سطح سلولی (UMSP) مورد مطالعه قرار گرفته است. تجزیه و تحلیل ترکیبات شیمیایی به روش کروماتوگرافی مایع فشار بالا (HPLC) صورت پذیرفت. نتایج به دست آمده نشان می‌دهند که با افزایش دمای خشک‌کن تا ۱۸۰°C و افزایش مدت زمان کهنگی تا ۶ ماه مقدار مواد استخراجی در حفره آوندها و حفره سلول‌های پارانشیمی و میزان لیگنین در لایه‌های مختلف دیواره سلولی افزایش می‌یابد. همچنین می‌توان یک ارتباط مستقیم بین شدت تغییر رنگ مشاهده شده و میزان جذب مواد استخراجی در محدوده طول موج ۲۸۰-۷۰۰ nm تعریف کرد. هرچه تغییر رنگ مشاهده شده شدیدتر باشد، به همان اندازه میزان جذب مواد استخراجی در طول موج ۲۸۰ nm بیشتر خواهد بود. آزمایش‌های HPLC نشان می‌دهد که با افزایش دما و مدت زمان کهنگی، تغییرات رنگی بیشتر و واضح‌تری در بافت چوب راش اتفاق می‌افتد و ترکیبات لیگنین و مواد استخراجی دستخوش تغییراتی می‌شوند و می‌توان سیگنال‌های مربوط به کاتکین و ۲ و ۶-دی‌متوکسی بنزوکینون را مشاهده کرد که از جمله پیش ترکیب‌های اصلی گروه‌های رنگ‌ساز در چوب راش هستند.

**واژه‌های کلیدی:** چوب راش ایران - روکش - کروماتوگرافی مایع فشار بالا - میکرواسپکتروفوتومتری UV (UMSP) - کهنگی - مواد استخراجی - تغییرات رنگی

## مقدمه

از آنجایی که غالباً تقاضای بیشتری برای روکش‌های با رنگ یکنواخت‌تر و روشن‌تر وجود دارد، تغییرات رنگی که در درخت زنده، در حین انبار کردن چوب و در اثر خشک‌کردن چوب در کوره به وجود می‌آیند، عیب مهمی محسوب شده و به عنوان یک مشکل اساسی در صنعت روکش قابل توجه می‌باشند. این تغییرات رنگی از یک سو باعث کاهش کیفیت و ارزش چوب شده و از سوی دیگر باعث افزایش هزینه‌های تولید و کاهش درآمد به علت کاهش کیفیت محصول نهایی می‌گردند. جهت پیشگیری و جلوگیری از این تغییرات، باید مطالعاتی بر روی واکنش‌های بیوشیمیایی و شیمیایی که موجب این تغییرات رنگی می‌شوند، انجام گیرد (Chong, 1999). به همین دلیل ضروری است که مشخص شود که این تغییرات رنگی به فرآیندهای فیزیولوژیکی در درخت زنده مربوط می‌شود و یا به واکنش‌های شیمیایی که در حین بخارزنی و یا خشک‌کردن اتفاق می‌افتند (Bauch, 1984). به‌طور کلی تغییرات رنگی چوب ممکن است ناشی از عوامل زیستی یا غیرزیستی و یا ترکیبی از هر دو باشد. در درخت زنده، تغییرات رنگی به شاخه‌ها و ریشه‌های خشک‌شده و یا زخمی شده مربوط می‌شوند (Shigo et al., 1976). زیرا وقتی که اکسیژن از راه زخم‌ها به داخل بافت‌ها نفوذ می‌کند، در اثر واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، مواد استخراجی و تیل تشکیل می‌شوند. این واکنش‌ها در سلول‌های پارانشیمی زنده، باعث تغییرات رنگی چوب راش تازه قطع شده می‌شوند. علاوه بر این تغییرات رنگی می‌توانند در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها شامل قارچ‌ها و باکتری‌ها نیز به وجود آیند که سطح چوب انبارشده و یا خشک شده در کوره را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این نوع تغییرات رنگی به متابولیسم میکروارگانیسم‌ها مربوط می‌شوند که کربوهیدرات‌ها و مواد ذخیره شده قابل حل را تجزیه می‌کنند (Bauch et al., 1985).

علاوه بر این مطالعات زیادی نشان داده‌اند که خشک‌کردن و تیمار حرارتی چوب در دماهای بالا باعث تغییر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی چوب می‌شود (Aydin et al., 2002 & 2005; Letinen et al., 1998). اما در رابطه با اینکه وقتی که روکش‌های نازک در حرارت‌های بالاتر اما مدت زمان کوتاه‌تر در مقایسه با چوب خشک می‌شوند، آیا تغییرات مشابه‌ای اتفاق می‌افتد یا نه، مطالعات زیادی انجام نشده است (Letinen et al., 1998). پیشرفت تغییرات رنگی چوب در اثر خشک‌کردن در کوره به نظر می‌رسد که به آرامی اتفاق

می‌افتد اما بسته به شرایط خشک‌کردن نیز متفاوت بوده و متأثر از شرایط مختلف میزان حرارت، مقدار رطوبت چوب و میزان خشک‌کردن می‌باشد (Charrier et al., 1995). تغییرات رنگی چوب اغلب با افزایش دمای خشک‌کردن مصنوعی آن افزایش می‌یابند و در زیبایی ظاهری چوب نقش مهمی ایفا می‌کنند. شناخت این نوع تغییرات رنگی اهمیت دارد، زیرا ناشی از تغییر ترکیبات چوب بوده و بر روی ویژگی‌های آن از جمله ویژگی‌های مقاومتی تأثیر می‌گذارد. بنابراین، فرآیند خشک‌کردن چوب در کوره به همراه کنترل تغییرات رنگی آن، مطلوب خواهد بود (Sundquist, 2002). تغییرات رنگی که در حین بخارزنی و خشک‌کردن چوب حاصل می‌شوند را می‌توان به هیدرولیز همی سلولزها نیز نسبت داد. بدین ترتیب که همی سلولزها به تدریج تخریب شده و به مونوساکاریدها تبدیل می‌شوند که می‌توانند با نیتروژن موجود در چوب نیز واکنش دهند. در دمای بالاتر از  $80^{\circ}\text{C}$  در حین فرآیند بخارزنی، واکنش‌های شیمیایی مولکول‌های لیگنین نیز شروع می‌شوند و به علت جدا شدن گروه‌های هیدروکسیل، ممکن است اتصالات دوگانه در  $\text{C}_3$  مولکول لیگنین تشکیل گردد (Kollman et al., 1951). این واکنش‌های شیمیایی در چوب راش در دمای بالای  $40^{\circ}\text{C}$  و مقدار رطوبت بین ۳۰-۶۰٪ اتفاق می‌افتند و کاهش pH چوب در حین خشک‌کردن آن نیز باعث تشدید فرآیند هیدرولیز می‌گردد (Ifju, 1973). آزاد شدن اسید استیک در فرآیند تیمار حرارتی راش و کاج اسکات در نتیجه تخریب همی سلولزها می‌باشد و اسید استیک به عنوان کاتالیزور باعث تخریب لیگنین می‌شود (Sundquist, 2002). همچنین، تیمار بخاردهی باعث حرکت ترکیبات قابل حل در آب (مانند کربوهیدرات‌ها و نشاسته) و یا فرآورده‌های حاصل از هیدرولیز شده و از طریق واکنش‌های اکسیداسیون و متراکم شدن تغییرات رنگی اولیه را به وجود می‌آورد. البته واکنش‌های لیگنین تغییرات رنگی یکنواخت قرمز رنگی را در چوب راش به وجود می‌آورند و تغییرات رنگی نامنظم در چوب راش از طریق واکنش‌های شیمیایی ترکیبات فنولی که به صورت نامنظم پراکنده شده‌اند، حاصل می‌گردند (Koch et al., 2002).

علاوه بر این عوامل، در بین عوامل محیطی، اشعه UV یکی از مؤثرترین پارامترهایی است که باعث هوازگی چوب می‌شود. در اثر انبار کردن روکش‌ها و تأثیر اشعه UV، پتانسیل گسترده‌ای برای تغییر رنگ چوب به وجود می‌آید. چوب قادر به جذب همه طول موج‌های الکترومغناطیسی است که باعث شروع واکنش‌های فتوشیمیایی شده و سبب تغییرات رنگی در

مورد بررسی قرار گرفت.

#### – اسکن میکرواسپکتروفوتومتري UV در سطح سلولی<sup>۲</sup>

جهت مطالعه و بررسی توپوشیمیایی مواد استخراجی قبل و بعد از تیمارهای خشک کردن و کهنگی، از آنالیز اسکن میکروطیف UV در سطح سلولی بر طبق روش Koch و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شده است. بدین ترتیب که جهت آنالیز اسپکتروسکوپی UV، ابتدا نمونه‌های چوبی کوچکی به ابعاد (۱×۱×۵mm) از روکش‌های برون‌چوب تیمار نشده (شاهد) و تیمار شده با ۱۰ تکرار تهیه گردیدند. سپس نمونه‌ها خشک شده و بلافاصله در رزین Spurr (Spurr et al., 1969) تحت خلاء ملایم طی چند بار انجام خلاء و تهویه متوالی قرار گرفتند. سپس همه نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰°C نگهداری شدند. بعد از آن مقاطع ۱ μm توسط تیغه الماسی از نمونه‌ها تهیه گردید و بر روی اسلایدهای میکروسکوپی کوارتز قرار داده شده و در گلیسرین غوطه‌ور گردید. بعد از انجام این مراحل، آنالیز و بررسی نمونه‌ها توسط میکرواسپکتروفوتومتري UMSP که مجهز به مرحله اسکن و تهیه پروفیل‌هایی در طول موج‌های متوالی با استفاده از برنامه ترکیبات فنولی، طول موج ۲۸۰nm انتخاب گردید. جهت شناسایی طول موج برای مطالعه نحوه پراکنش لیگنین در دیواره سلولی، استفاده گردید. همچنین جذب در ناحیه UV/VIS ترکیبات موجود در بافت‌ها، با اندازه‌گیری ناحیه‌ای به مساحت ۱ μm<sup>2</sup> و بین طول موج‌های ۲۸۰-۲۴۰nm، با استفاده از برنامه LAMWIN (Zeiss)، انجام گرفت.

#### – کروماتوگرافی مایع فشار بالا (HPLC)

به منظور شناسایی نوع ترکیبات شیمیایی مواد استخراجی قبل و بعد از تیمارهای مورد نظر روش جداسازی HPLC استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا از روکش‌های مورد نظر خلال چوب تهیه شد و پس از آن خلال‌ها در دستگاه آسیاب مجهز به تیغه چرخشی تبدیل به آرد چوب شدند. با استفاده از روش استخراج با حلال تسریع شده (ASE 200, Dionex)، مواد استخراجی مورد نظر توسط حلال‌های استن-آب (۹-۱) و متانول-آب (۳-۱) استخراج شدند.

برای جداسازی کیفی با استفاده از روش HPLC فاز

آن می‌گردد. تخریب چوب تحت تأثیر نور اساساً به دلیل واکنش‌های فتوشیمیایی لیگنین می‌باشد (Feist et al., 1984). پیوندهای α-کربونیل، بی‌فنیل و پیوندهای دوگانه حلقه‌ای در لیگنین قادر به جذب امواج UV بوده و باعث تشکیل گروه‌های رنگ‌ساز<sup>۱</sup> می‌گردند. این واکنش تخریب از طریق واکنش‌های رادیکالی صورت می‌گیرد. بدین ترتیب که نور UV توسط گروه‌های رنگ‌ساز لیگنین باعث تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌گردد. این رادیکال‌ها با اکسیژن واکنش داده و باعث تشکیل گروه‌های رنگ‌ساز کربونیل و کربوکسیل می‌شوند. این ساختارها سبب تغییرات رنگی در چوب می‌شوند (Fengel et al., 1982). از سوی دیگر تغییرات ساختاری ایجاد شده در مواد استخراجی در اثر اشعه UV می‌تواند عامل دیگر تغییر رنگ و به عبارت دیگر تغییر شیمیایی سطح روکش‌ها باشد (Chang et al., 2001). در نتیجه شرایط خشک کردن و کهنگی می‌تواند رنگ روکش‌ها را تحت تأثیر قرار دهد. این تغییرات می‌توانند کیفیت ظاهری لایه‌ها و محصول نهایی را نیز تحت تأثیر قرار دهند. توسعه راهبردهای جدید به منظور جلوگیری از بروز این گونه تغییرات نیازمند مطالعه دقیق بر روی فرآیندهای شیمیایی و آناتومیکی و بررسی تغییرات آنها پس از دو مرحله مهم و حساس خشک کردن و کهنگی با استفاده از ابزارهای پیشرفته تحقیقاتی می‌باشد. لذا به منظور درک بهتر فرآیندهای شیمیایی که منجر به تغییرات رنگ چوب راش ایران در اثر خشک کردن و کهنگی می‌شوند، در این تحقیق پراکنش توپوشیمیایی و واکنش‌های شیمیایی مواد استخراجی در سطح سلولی و تغییرات آناتومیکی در چوب راش رنگی شده مورد مطالعه قرار گرفته است. این نوع مطالعات می‌تواند در بهبود و توسعه تیمارهای حفاظتی جدید جهت کاهش تغییرات رنگی در حین فرآیندها، مفید واقع شوند.

#### مواد و روش‌ها

در این تحقیق، از لایه‌های چوب راش ایران به ضخامت ۲ mm و از بخش برون‌چوب (بدون دل قرمزی) گرده‌بینه راش استفاده شده است. پس از آماده‌سازی و انتخاب لایه‌ها، ویژگی‌های توپوشیمیایی و آناتومیکی لایه‌های تیمار نشده مورد ارزیابی واقع شده و سپس لایه‌ها تحت تأثیر تیمارهای خشک کردن (دمای ۱۰۰°C و ۱۸۰°C) به مدت ۲ ساعت و کهنگی تسریع شده با استفاده از اشعه UV با طول موج ۲۴۰-۵۶۰ nm (به مدت ۱، ۲ و ۳ روز و معادل ۲، ۴ و ۶ ماه) قرار گرفته و مجدداً ویژگی‌های توپوشیمیایی و آناتومیکی آنها

<sup>1</sup> Chromophors

<sup>2</sup> (UMSP) UV Microspectrophotomer

دیواره‌های سلولی لیگنینی شده (رنگ آبی) را نشان می‌دهد. در حفره سلول‌ها نیز رسوبی از ترکیبات فنولی دیده نمی‌شود (اثری از رنگ سبز و سیاه دیده نمی‌شود). تنها در شکل ۴ به علت افزایش مدت زمان کهنگی تا حدودی مواد استخراجی در سلول‌های پارانشیم طولی مشاهده می‌شود. شکل‌های ۵ تا ۹ پروفیل‌های UV مربوط به بافت چوب راش خشک شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان‌های متفاوت کهنگی (۲، ۴ و ۶ ماه) را نشان می‌دهند. به طور کلی تغییر ساختار لیگنین در لایه‌های مختلف دیواره‌های سلولی (افزایش رنگ قهوه‌ای) و مقدار رسوب مواد استخراجی در سلول‌های پارانشیم اشعه و سلول‌های پارانشیم طولی افزایش یافته است (افزایش رنگ سبز و سیاه) (شکل ۶، ۷ و ۹). از طرفی تیمار خشک کردن باعث حل شدن ترکیبات قابل حل در آب (مانند کربوهیدرات‌های قابل حل) و یا فرآورده‌های حاصل از هیدرولیز شده که از سلول‌های پارانشیمی به داخل حفره آوندها و الیاف منتقل شده و باعث تشکیل تیل می‌گردد (شکل ۸). با افزایش مدت زمان کهنگی نیز مشاهده می‌گردد که این نوع تغییرات بیشتر شده است. به طوری که در شکل ۹ دیده می‌شود مقدار مواد استخراجی در سلول‌های اشعه پارانشیم تا حد زیادی افزایش یافته است.

#### - بررسی آناتومیکی و شناسایی UV اسپکتروسکوپی ترکیبات فنولی

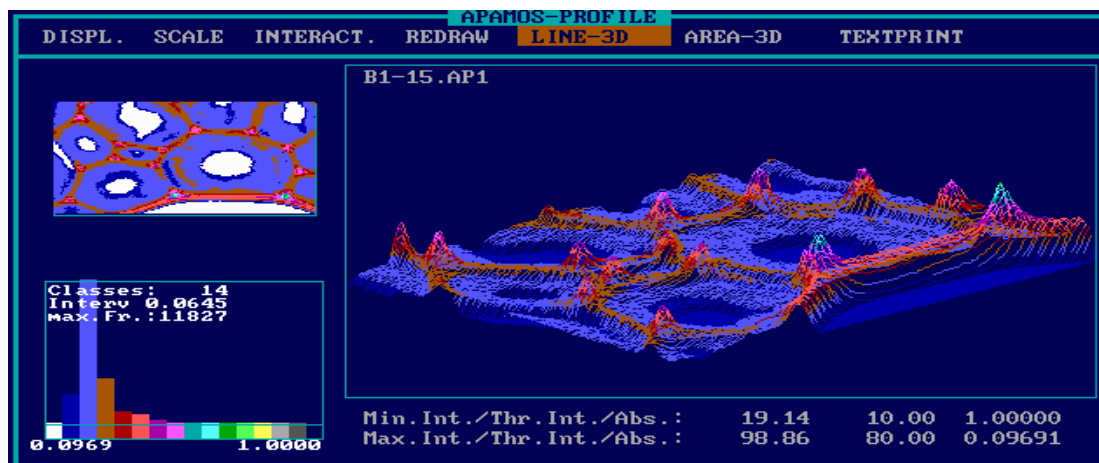
به منظور شناسایی ترکیبات آروماتیک می‌توان ابتدا بررسی آناتومیکی و بعد از آن از روش UV اسپکتروسکوپی با استفاده از تعیین طول موج جذب آنها استفاده نمود. زیرا ترکیبات موجود در حفره سلول‌های پارانشیمی و آوندها می‌توانند مواد آلی همراه با ترکیبات آروماتیک باشند که در این روش از طریق جذب حداکثر در طول موج‌های بین ۲۸۰ و ۲۹۰ نانومتر شناسایی و به صورت منحنی‌های طیف UV مربوط به لایه‌های مختلف دیواره سلولی و مواد استخراجی نمایش داده شوند.

معکوس، استون و متانول عصاره تبخیر شده و مواد باقیمانده در استونیتریل (فاز متحرک سیستم HPLC) حل و محلول بلافاصله مستقیماً به سیستم تزریق شد. سپس آنالیز با استفاده از سیستم Kontron ستون J.T. Baker octyl  $5\ \mu\text{m}$  (۴/۶×۲/۵۰ nm) انجام شد. فاز متحرک شامل دو جزء A (۱ mmol  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) و B ( $\text{CH}_3\text{CN}$ ) به ترتیب زیر استفاده گردید: ۰ تا ۱۰٪ A (به مدت ۱۰ دقیقه)، و سپس ۱۰٪ B (به مدت ۱۵ دقیقه) با سرعت جریان ۱ ml/min. ترکیبات فنولی با استفاده از شناساگر Photo-dido (Kontron ۵۴۰) در محدوده ۲۰۰ تا ۳۴۰ nm شناسایی شدند.

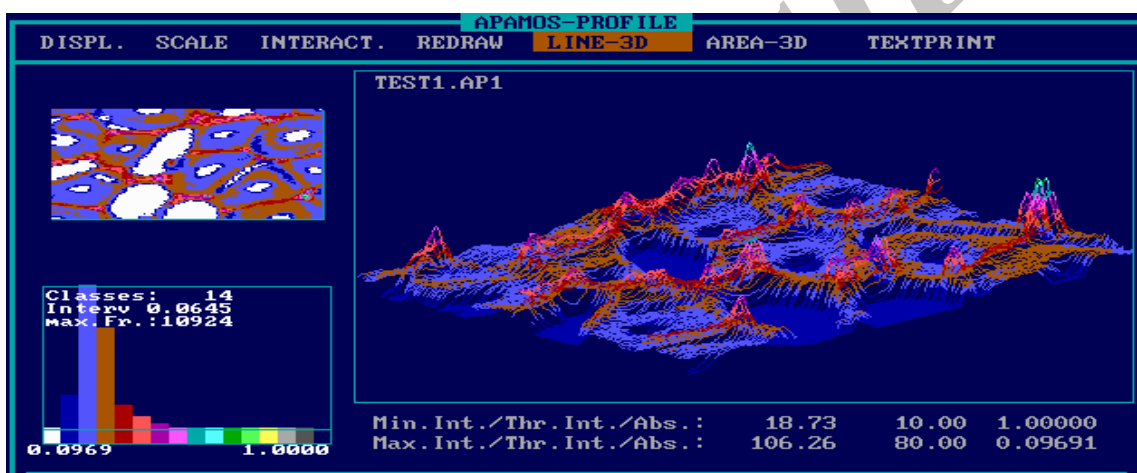
#### نتایج

- شناسایی توپوشیمیایی مواد استخراجی در بافت چوب راش به منظور شناسایی پراکنش مواد استخراجی، بافت چوب راش تیمار نشده و تیمار شده به روش طیف‌سنجی UV در سطح سلولی با طول موج ۲۸۰ nm، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. شکل‌های ۱ تا ۹ پروفیل‌های ۲ بعدی و ۳ بعدی حاصل از میکرواسپکتروفوتومتری UV شناسایی مواد استخراجی در چوب راش تغییر رنگ داده شده را نشان می‌دهد. همچنین در کنار مواد استخراجی، پراکنش لیگنین در لایه‌های مختلف دیواره سلولی در این شکل‌ها نشان داده شده است. رنگ‌های مختلف، شدت جذب متفاوت UV را در طول موج ۲۸۰ nm نشان می‌دهند. رنگ آبی نشان دهنده میزان جذب نرمال لیگنین می‌باشد. رنگ قهوه‌ای کم‌رنگ دلالت بر افزایش جذب اشعه UV و به عبارت دیگر نشان‌دهنده تغییر ساختار لیگنین دارد. هر چه به سمت طیف‌های سبز و سیاه پیش می‌رویم، رسوب مواد استخراجی فنولی بیشتر می‌شود.

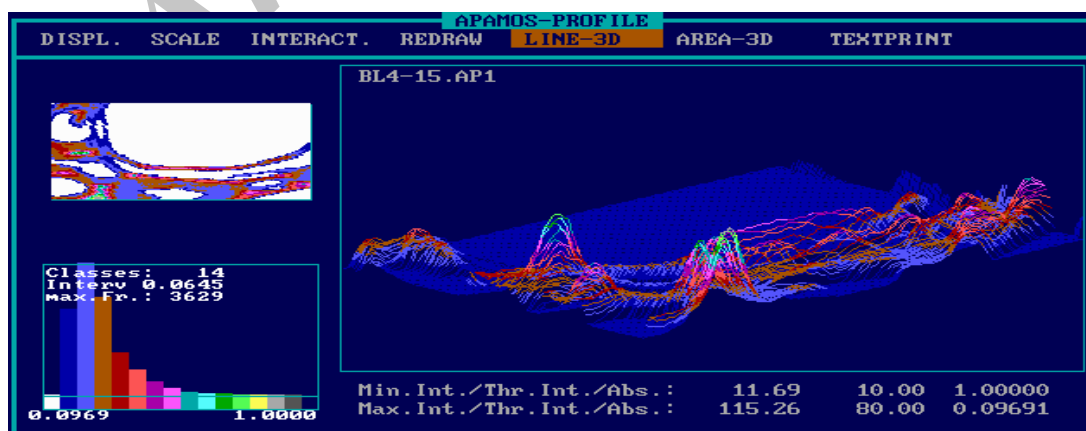
شکل ۱ پروفیل‌های UV بافت چوب راش شاهد که تیماری روی آن صورت نگرفته و بدون تغییرات رنگی می‌باشد را نشان می‌دهد. حفره سلول‌های پارانشیم طولی، آوندها و فیبرها رسوب مقدار کمی از ترکیبات فنولی را نشان می‌دهند و دیواره‌های سلولی میزان جذب نرمال لیگنین در لایه‌های مختلف دیواره سلول را نشان می‌دهند و بیشتر جذب UV توسط لیگنین در محدوده رنگ آبی قرار دارد. شکل‌های ۲ تا ۴ پروفیل‌های UV مربوط به بافت چوب راش خشک شده در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان‌های متفاوت کهنگی (۲، ۴ و ۶ ماه) را نشان می‌دهند. همانطور که در این شکل‌ها مشاهده می‌گردد، تغییرات زیادی در غلظت لیگنین در دیواره‌های سلولی دیده نشده است، یعنی میزان جذب عادی در



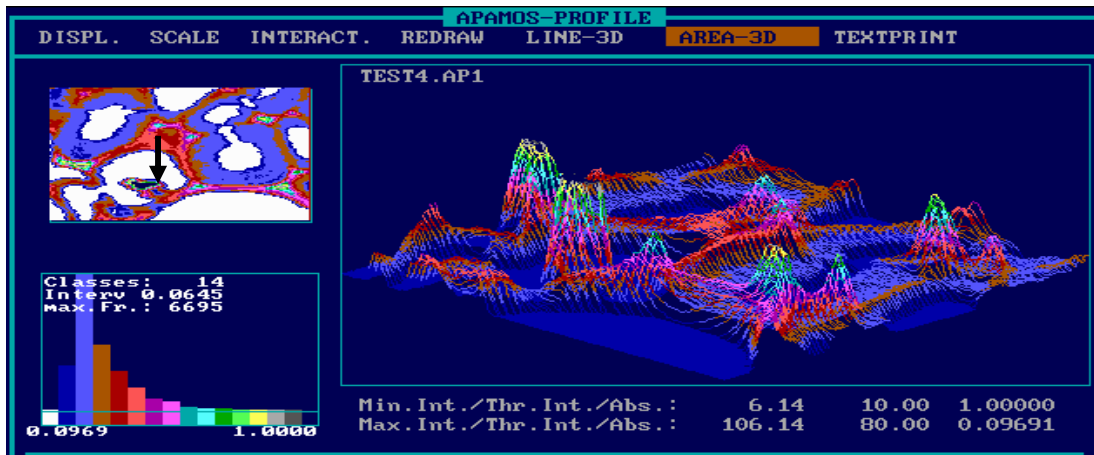
شکل ۱- پروفیل حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار نشده



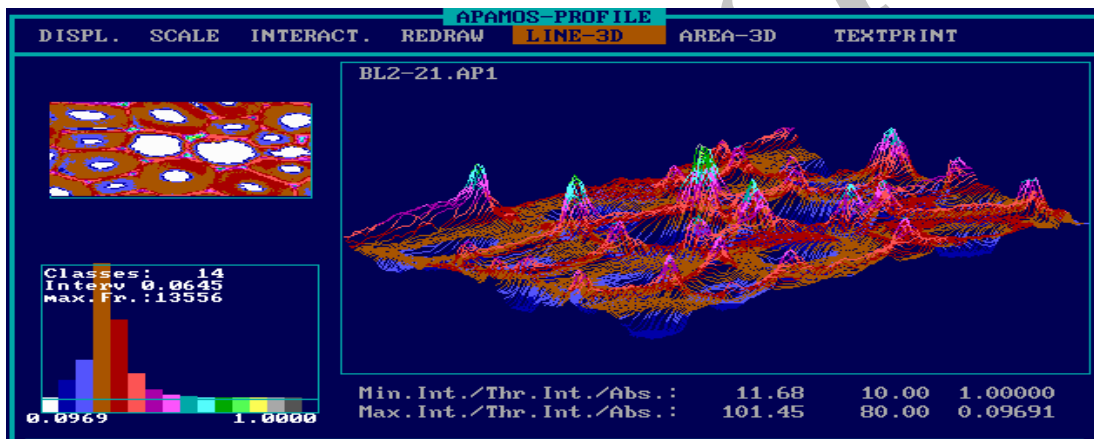
شکل ۲- پروفیل حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای ۱۰۰ °C و مدت زمان ۲ ماه کهنگی



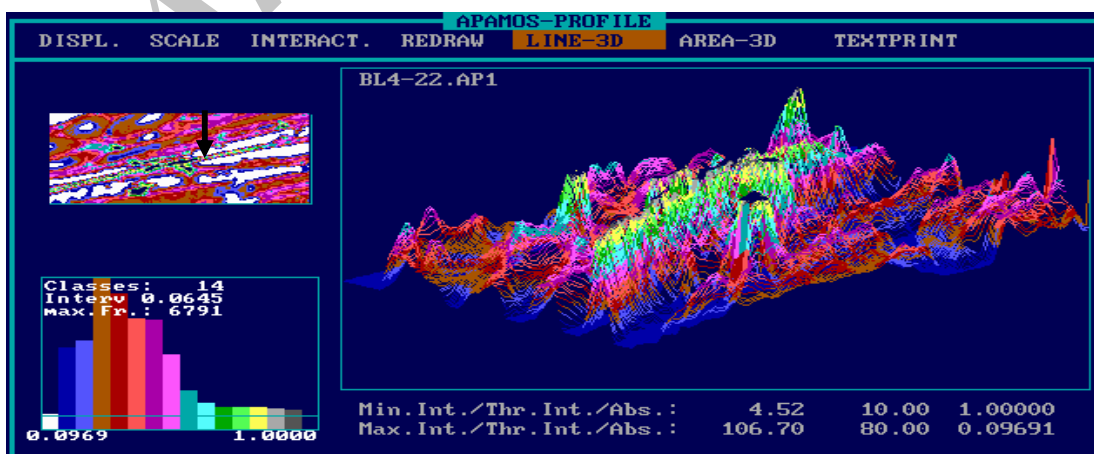
شکل ۳- پروفیل حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای ۱۰۰ °C و مدت زمان ۴ ماه کهنگی



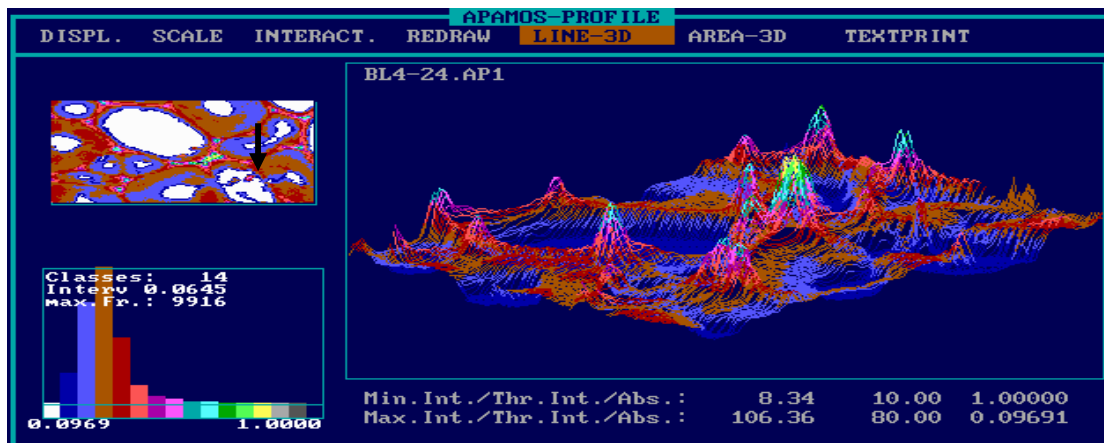
شکل ۴- پروفیل حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی



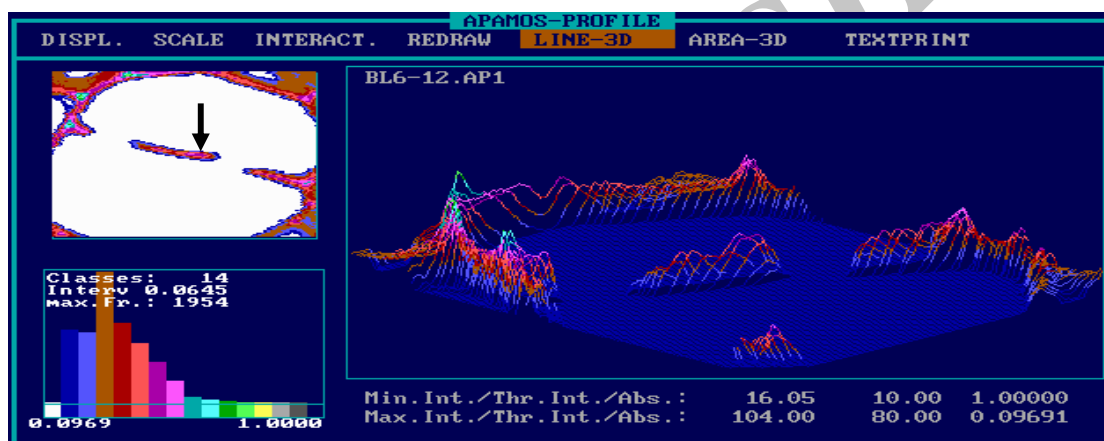
شکل ۵- پروفیل حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۲ ماه کهنگی



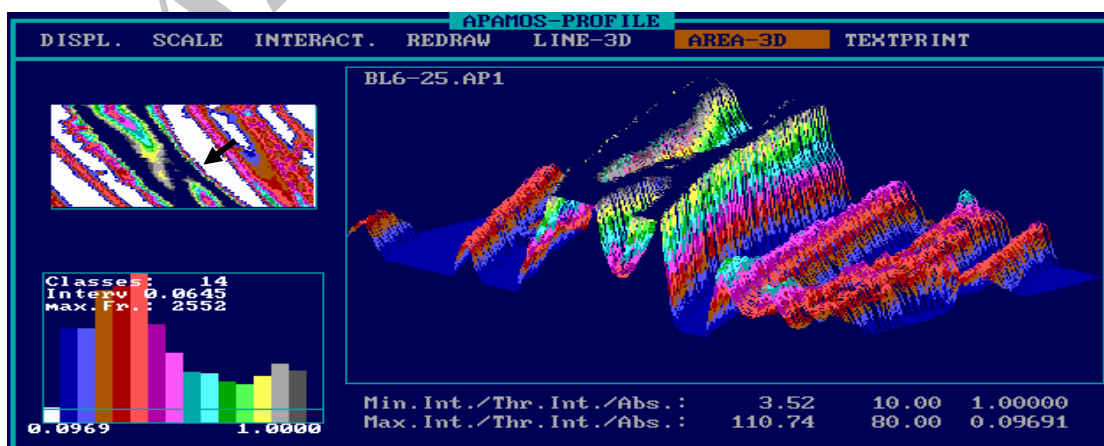
شکل ۶- پروفیل حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۴ ماه کهنگی



شکل ۷- پروفیل حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای ۱۸۰°C و مدت زمان ۴ ماه کهنگی



شکل ۸- پروفیل‌های حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای ۱۸۰°C و مدت زمان ۶ ماه کهنگی



شکل ۹- پروفیل‌های حاصل از طیف‌سنجی UV در سطح سلولی بافت برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای ۱۸۰°C و مدت زمان ۶ ماه کهنگی

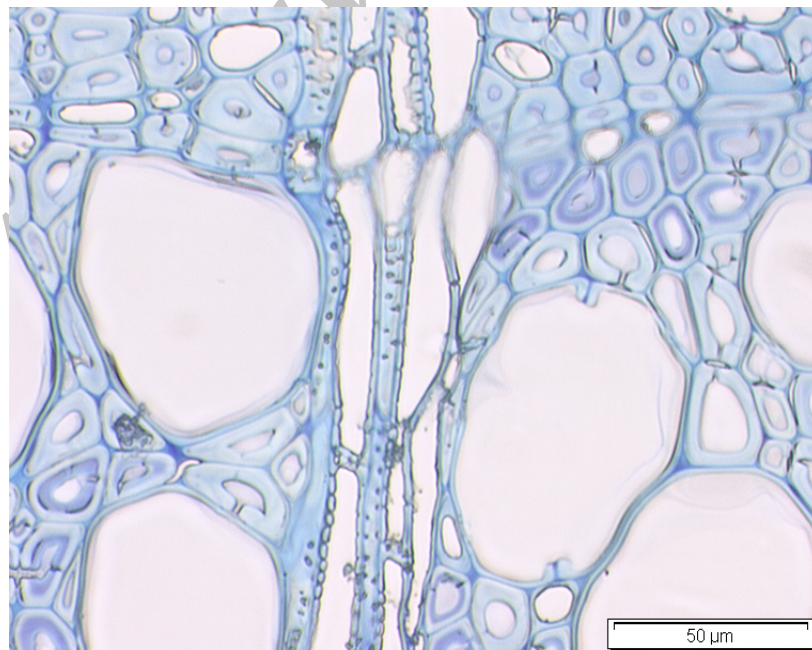


بافت‌های اطراف آن باشد که در هر دو حالت ورود اکسیژن هوا در این زمینه نقش اساسی دارد.

همان‌طور که در شکل‌ها مشخص است در بافت چوب تیمار شده در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی آثار تشکیل تیل مشاهده می‌گردد اما در حفره آوندها و سلول‌های پارانشیمی، رسوبی از مواد استخراجی به وضوح دیده نمی‌شود. در بافت چوب تیمار شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی نه تنها آثار تشکیل تیل مشاهده می‌گردد بلکه می‌توان رسوب مواد استخراجی را در حفره سلول‌های پارانشیمی (پارانشیم اشعه و پارانشیم طولی) که با پیکان نشان داده شده است را نیز مشاهده کرد. همچنین تغییرات رنگی در دیواره سلول‌ها (شدت رنگ آبی) افزایش تراکم لیگنین در دیواره سلول را نشان می‌دهد که در شکل ۱۲ بیشتر نمایان می‌گردد (نمایش واضح‌تر این تغییرات به صورت پروفیل‌هایی در شکل‌های ۱ تا ۹ آمده است).

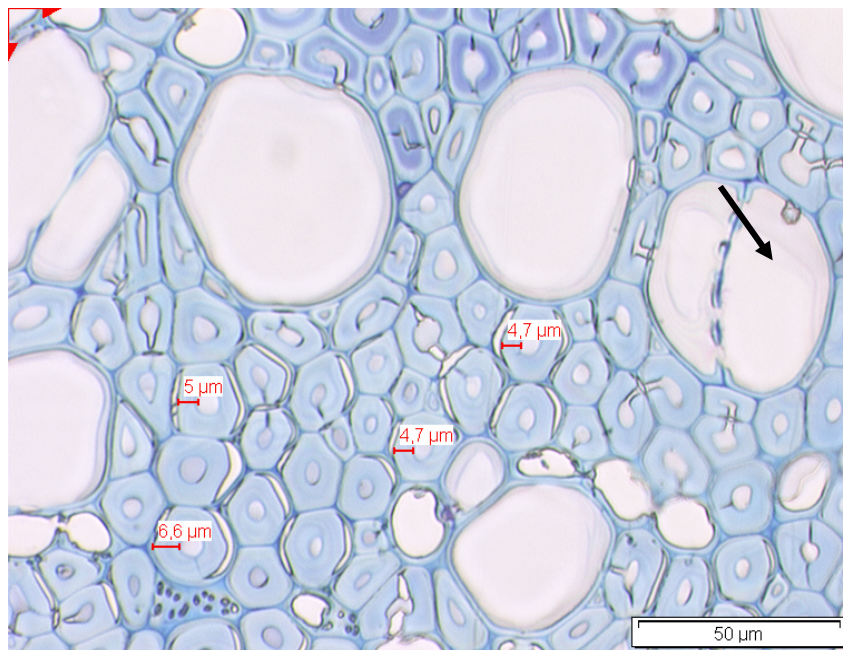
در شکل ۱۳ و ۱۴ میزان جذب UV ترکیبات استخراجی رسوب کرده در لایه‌های مختلف دیواره سلولی و حفره آوندها و حفره سلول‌های پارانشیمی بافت چوب تیمار شده با توجه به قسمت‌های مشخص شده در شکل‌های میکروسکوپی، نشان داده شده است.

تصاویر میکروسکوپی (شکل‌های ۱۰-۱۲) نشان می‌دهند که بافت چوب راش دارای درصد نسبتاً بالایی از سلول‌های پارانشیمی (اشعه چوبی و پارانشیم‌های طولی) می‌باشد و این نسبت تقریباً زیاد سلول‌های پارانشیمی فعال از نظر فیزیولوژیکی یک علت اصلی واکنش‌های شدید رنگی در چوب راش می‌باشد. بدین ترتیب که در پایان فصل رویش و به عبارت دیگر در آغاز فصل بهره‌برداری در بخش خارجی برون چوب مقدار زیادی نشاسته ذخیره می‌شود که در چوب راش تازه قطع شده، در اثر انبار کردن نامناسب از طریق واکنش‌های فیزیولوژیکی می‌تواند به مواد استخراجی رنگی تبدیل شود، زیرا در طی انبار کردن، در اثر کاهش رطوبت و ورود میزان قابل توجهی اکسیژن هوا (افزایش فشار جزئی اکسیژن) در سلول‌های پارانشیمی که هنوز زنده هستند، واکنش‌های فیزیولوژیکی به وقوع می‌پیوندد که بدین طریق تخریب مواد ذخیره‌ای کربوهیدراتی و نشاسته منجر به ایجاد ترکیبات استخراجی رنگی می‌شود. از طرفی تشکیل تیل در بافت چوب راش که یک ویژگی انحصاری در درخت زنده و یا چوب راش تازه قطع شده در انبار می‌باشد، می‌تواند یا به علت تغییرات متابولیسمی سلول‌های پارانشیمی مسن و یا مرده و یا به علت اختلاف فشار بین پروتوپلاست سلول‌های پارانشیمی و

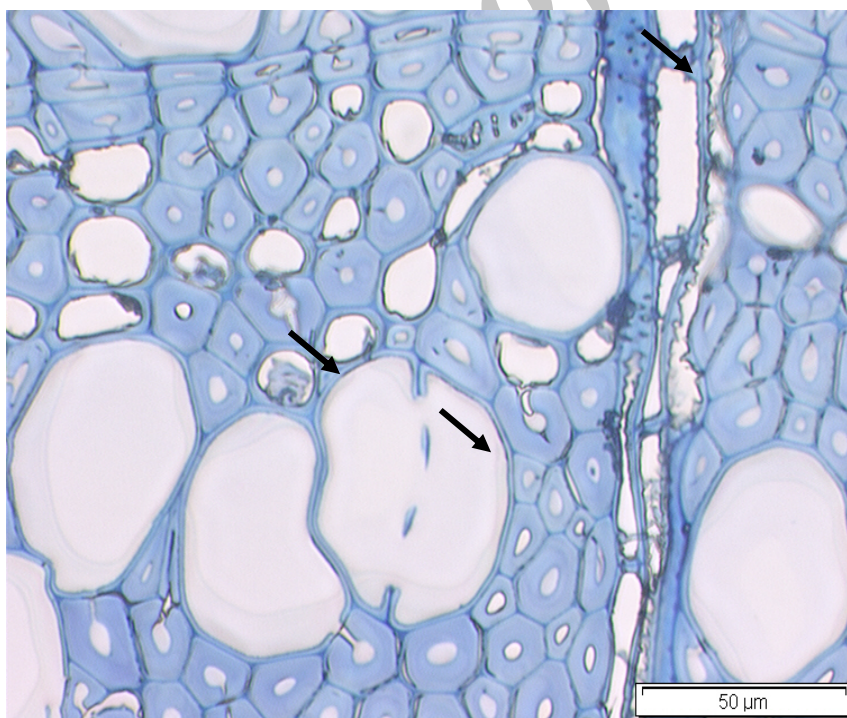


شکل ۱۰- بافت برون چوب تیمار نشده

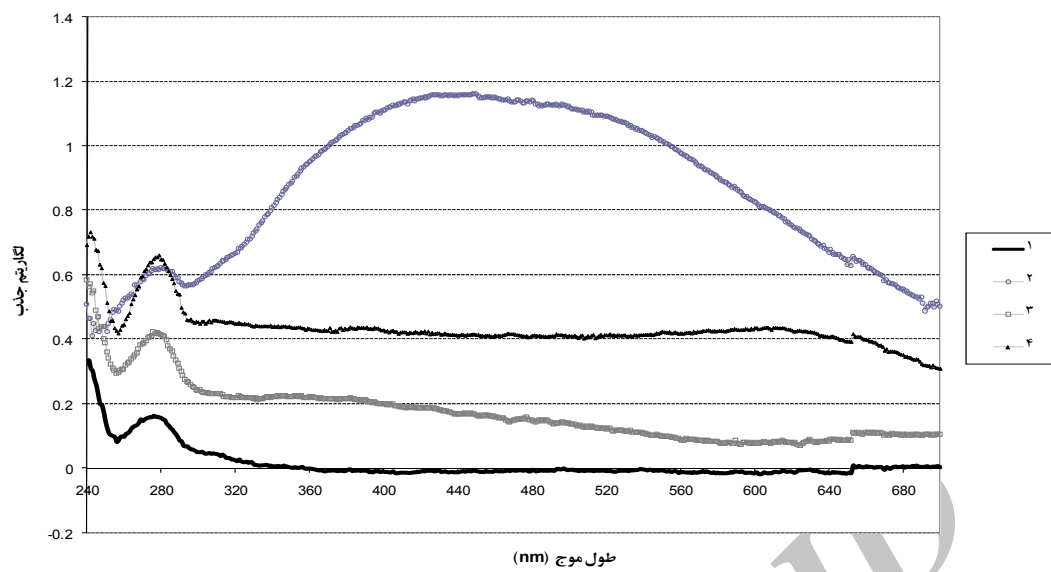




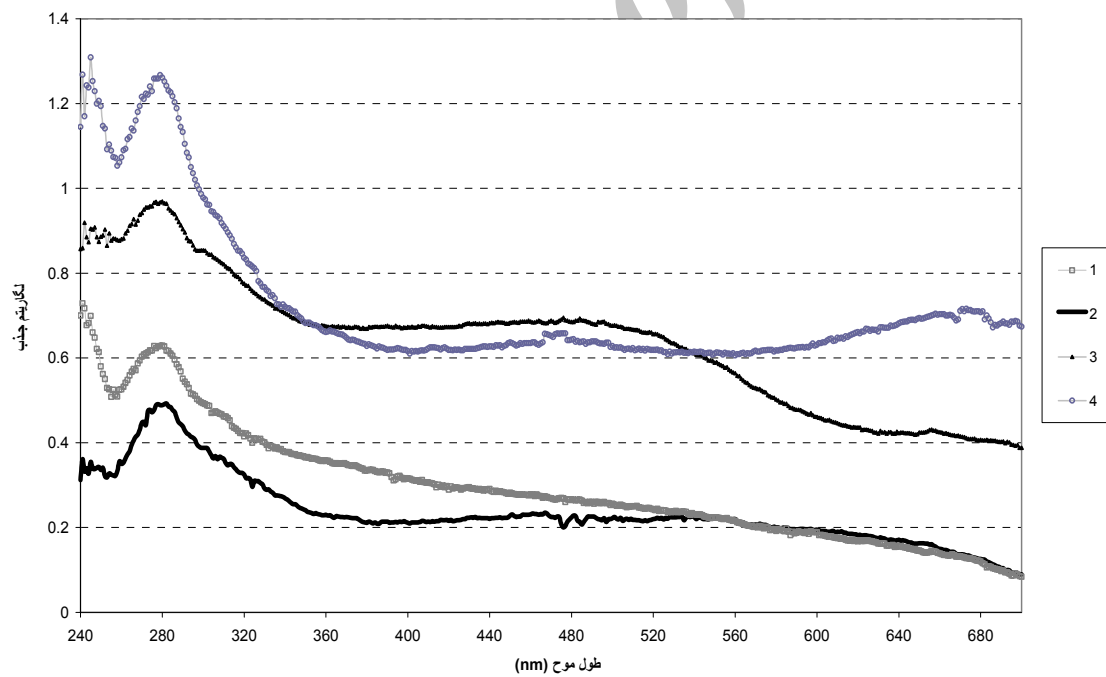
شکل ۱۱- نمونه تیمار حرارتی شده در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی  
(آثار تشکیل تیل توسط پیکان نشان داده شده است)



شکل ۱۲- نمونه تیمار حرارتی شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی  
(پیکان‌ها آثار تشکیل تیل در حفره آوند و رسوب مواد استخراجی در سلول‌های پارانشیم محوری و پارانشیم طولی را نشان می‌دهند)



شکل ۱۳- میزان جذب UV در طول موج ۲۸۰ nm در بافت برون چوب راش تیمار شده در دمای ۱۰۰ °C و مدت زمان ۶ ماه کهنگی (۱- دیواره ثانویه، ۲- حفره آوند، ۳- لایه بین سلولی، ۴- حفره سلول‌های پارانشیمی اشعه)



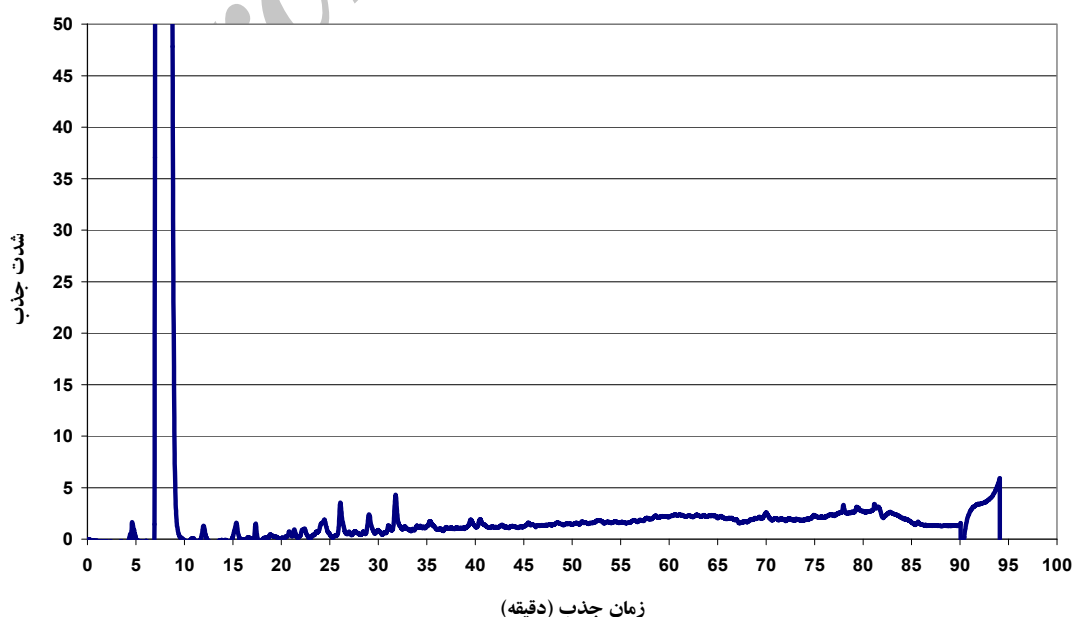
شکل ۱۴- میزان جذب UV در طول موج ۲۸۰ nm در بافت برون چوب راش تیمار شده در دمای ۱۸۰ °C و مدت زمان ۶ ماه کهنگی (۱- لایه بین سلولی، ۲- حفره پارانشیم طولی، ۳- حفره آوند، ۴- حفره سلول‌های پارانشیمی اشعه)

ترتیب ۱/۳ و ۰/۹۸ می‌باشد. لذا می‌توان عنوان کرد که با افزایش دما و مدت زمان کهنگی میزان رسوب مواد استخراجی در سلول‌های پارانشیمی و حفرات آوندی افزایش یافته است.

#### جداسازی و شناسایی ترکیبات به روش HPLC -

جهت تجزیه و تحلیل شیمیایی و تعیین نوع ترکیبات رنگ‌ساز (با استفاده از روش HPLC) ۳ کروماتوگرام شاخص نمایش داده شده است (شکل‌های ۱۷-۱۵). کروماتوگرام اول مربوط به چوب راش تیمار نشده (شکل ۱۵) و کروماتوگرام دوم مربوط به چوب راش تیمار حرارتی شده با دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی (شکل ۱۶) و کروماتوگرام سوم مربوط به چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی می‌باشد (شکل ۱۷). با توجه به شکل ۱۵ مشخص می‌گردد که بافت‌های تیمار شده غلظت بسیار کمی از مواد استخراجی فنولی (آروماتیک) را دارند و پیک‌های ضعیف یافت شده متعلق به ترکیبات با وزن مولکولی پایین به عنوان مثال کانیفریل الکل و سیناپیل الکل می‌باشند که از پیش ترکیب‌های بیوسنتز لیگنین هستند (سیگنال قوی در زمان جذب ۷/۴ دقیقه در همه کروماتوگرام‌ها- ناشی از حلال استونیتریل می‌باشد که فاز متحرک سیستم HPLC بوده است). علاوه بر آن، فورفورال در ماده استخراجی همه نمونه‌ها یافت گردیده است.

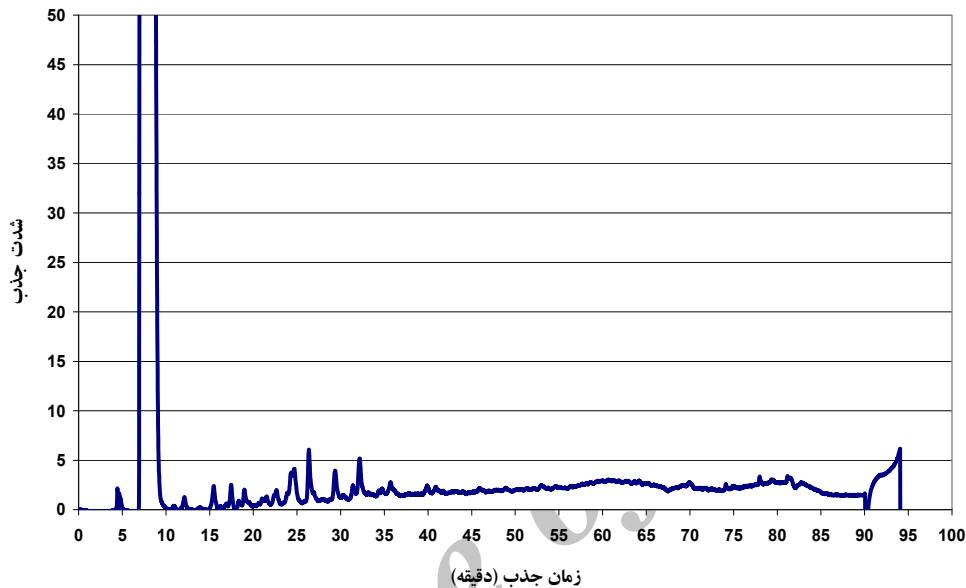
به منظور مقایسه و درک بهتر، طیف‌های نرمال لایه‌های دیواره سلولی (شامل دیواره ثانویه  $[S_2]$  و لایه بین سلولی  $[ML]$ ) الیاف چوب راش نشان داده شده است. با توجه به میزان جذب حداکثر در طول موج‌های بین ۲۸۰ و ۲۹۰ نانومتر می‌توان مواد آلی یا ترکیبات آروماتیک موجود در حفره سلول‌های پارانشیمی (RP) و آوندها (Charrier *et al.*, 1995) را شناسایی کرد. به منظور مقایسه تیمارهای مختلف، بالاترین حد میزان کهنگی را در نظر می‌گیریم، زیرا تغییرات بیشتر و واضح‌تری را نشان می‌دهند. نمودار اول مربوط به چوب تیمار شده در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی و نمودار دوم مربوط به چوب تیمار شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی است. به طور کلی در هر دو نمودار مواد استخراجی در سلول‌های پارانشیمی و حفره آوندها، در طول موج ۲۸۰ nm میزان جذب بالاتری را نسبت به دیواره سلولی (دیواره ثانویه و لایه بین سلولی) نشان می‌دهند. اما با مقایسه ۲ نمودار مشخص می‌گردد که با افزایش دما، میزان جذب در طول موج ۲۸۰ nm افزایش می‌یابد که نشان دهنده مقدار بیشتر مواد استخراجی در سلول‌های پارانشیمی و حفره آوندهاست. بدین ترتیب که میزان جذب در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  در دیواره سلولی شامل ۰/۱۸ در دیواره ثانویه و ۰/۴۱ در لایه بین سلولی و در سلول‌های پارانشیمی و حفره آوندی به ترتیب شامل ۰/۶۸ و ۰/۶۱ می‌باشد. اما در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  این میزان افزایش یافته و شامل ۰/۲۸ در دیواره ثانویه و ۰/۶۲ در لایه بین سلولی و در سلول‌های پارانشیمی و حفره آوندی نیز به



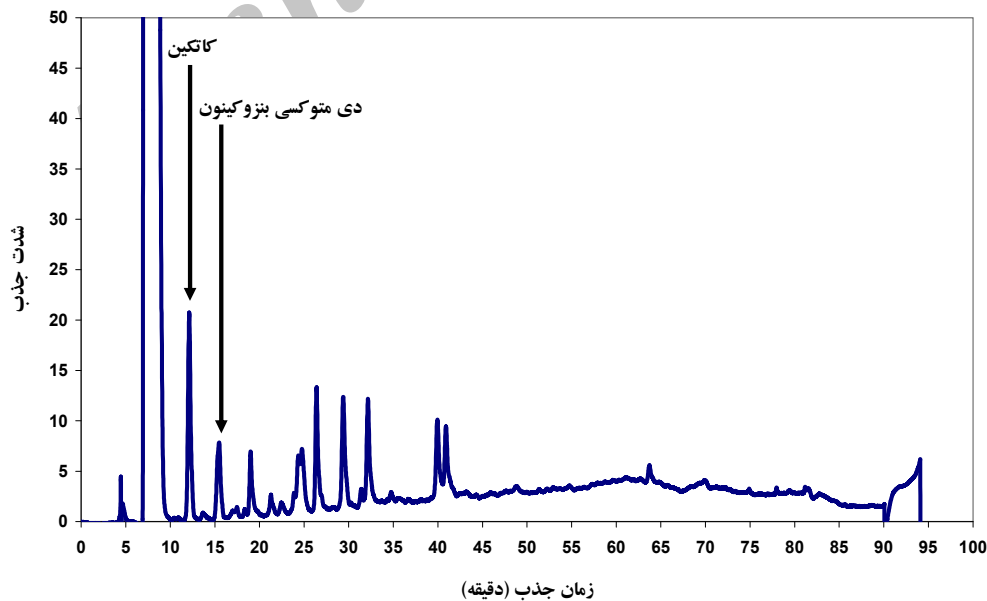
شکل ۱۵- کروماتوگرام HPLC مواد استخراجی متانول-آب حاصل از برون چوب راش تیمار نشده

راش تیمار حرارتی شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی است، سیگنال‌های واضحی از پروآنتوسیانیدین‌های پلیمر شده مانند کاتکین و ۲-دی‌متوکسی بنزوکینون (در زمان جذب ۱۲ و ۱۶ دقیقه) را نشان می‌دهد. این ترکیبات از جمله پیش ترکیب‌های اصلی ترکیبات رنگ‌ساز در چوب راش تغییر رنگ یافته می‌باشند.

شکل ۱۶ که مربوط به چوب تیمار حرارتی شده در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی است نشان می‌دهد که مواد استخراجی فنولی غلظت کمی دارند و مجدداً پیک‌های ضعیف مربوط به ترکیبات با وزن مولکولی پایین مشاهده می‌گردند. در مقابل این دو نمودار، نمودار سوم (شکل ۱۷) که کروماتوگرام مربوط به مواد استخراجی متانول-آب بافت چوب



شکل ۱۶- کروماتوگرام HPLC مواد استخراجی متانول-آب حاصل از برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی



شکل ۱۷- کروماتوگرام HPLC مواد استخراجی متانول-آب حاصل از برون چوب راش تیمار حرارتی شده در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۶ ماه کهنگی

## بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این تحقیق می‌توان عنوان کرد که با افزایش دما و مدت زمان کهنگی لیگنین و مواد استخراجی دستخوش تغییراتی می‌گردند. با مقایسه شکل‌های ۱ تا ۹ می‌توان مشاهده کرد که مقدار مواد استخراجی در حفره آوندها و الیاف و حفره سلول‌های پارانشیمی افزایش می‌یابد و از طرفی میزان تجمع لیگنین در لایه‌های مختلف دیواره سلولی نیز افزایش می‌یابد. بر اساس طیف‌سنجی UV در سطح سلولی مشخص گردید که مواد استخراجی یافت شده در بافت‌های پارانشیمی برون چوب راش، در محدوده طول موج ۲۸۰ nm نسبت به لایه‌های سلولی لیگنینی شده میزان جذب بالاتری را نشان می‌دهند. در این راستا یک ارتباط مستقیم بین شدت تغییر رنگ مشاهده شده و میزان جذب مواد استخراجی در محدوده طیف UV قابل شناسایی است. یعنی هر چه تغییر رنگ مشاهده شده شدیدتر باشد، به همان اندازه میزان جذب مواد استخراجی در طول موج ۲۸۰ nm بیشتر خواهد بود. همچنین با مقایسه نمودارهای مربوط به UV اسپکتروسکوپی می‌توان دریافت که در دمای °C ۱۸۰ و مدت زمان ۶ ماه کهنگی میزان جذب مواد استخراجی فنولی در طول موج ۲۸۰ nm نسبت به دمای °C ۱۰۰ و مدت زمان ۶ ماه کهنگی بالاتر است که نشان دهنده نسبت بیشتر مواد استخراجی فنولی در سلول‌های پارانشیمی و حفرات آوندی است. آزمایش‌های HPLC نشان می‌دهند که با افزایش دما سیگنال‌های مربوط به پروآنتوسیانیدین‌های پلیمر شده مانند کاتکین و ۲ و ۶-دی‌متوکسی بنزوکینون را می‌توان مشاهده کرد که از جمله پیش ترکیب‌های اصلی ترکیبات رنگ‌ساز در چوب راش هستند. این مکانیسم تغییر رنگ را می‌توان به این صورت تشریح نمود که در ابتدا تراکم مونومرهای کاتکین اتفاق می‌افتد و به تشکیل کینون منجر می‌گردد و در نهایت از این کینون‌ها، پلیمرهای کاتکین حاصل می‌شوند. در حالی که به نظر می‌رسد که تراکم کاتکین عامل اصلی ایجاد رنگدانه‌های قهوه‌ای رنگ در چوب راش تغییر رنگ یافته باشد، سایر مواد استخراجی مانند ۲، ۶-دی‌متوکسی بنزوکینون و تاکسیفولین نیز می‌توانند در تغییر رنگ نهایی حاصله سهیم باشند. تحت شرایط داغ و اسیدی این فنول‌های با وزن مولکولی پایین به ترکیبات بسیار متراکم غیرقابل حل با تحرک کروماتوگرافی کم و وزن مولکولی زیاد تبدیل می‌شوند. زیرا در اثر خشک کردن چوب راش تحت تأثیر دمای بالا، مواد استخراجی به حرکت در می‌آیند و در اثر واکنش‌های

اکسیداسیون و متراکم شدن به ترکیبات رنگ‌ساز دارای وزن مولکولی بالا تبدیل می‌شوند. Straze و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی خود بر تغییرات رنگی چوب زبان‌گنجشک (*Fraxinus excelsior L.*) در اثر خشک کردن مصنوعی چوب اعلام می‌دارند که در دماهای پایین‌تر خشک کردن، رنگ طبیعی چوب چندان دچار تغییر نمی‌شود. هر چه میزان خشک کردن کمتر، دما بالاتر و مقدار رطوبت بین ۲۹٪ تا ۳۶٪ باشد، شرایط برای تغییرات رنگی چوب مناسب‌تر است. همچنین رسوبات موجود در سلول‌های اشعه پارانشیم و سلول‌های پارانشیم طولی چوب زبان‌گنجشک، از عوامل اصلی تغییرات رنگی آن شناخته شده‌اند (Straze et al., 2003). در اثر خشک کردن در دمای بالا درجه روشنی روکش‌های راش کاهش یافته و سطح آنها تیره‌تر می‌شود. به علاوه، با افزایش مدت زمان ماندن روکش‌های راش و توسکا در شرایط آزمایشگاه، تغییرات رنگی به طور خطی افزایش می‌یابد. به طوری که کمترین تغییرات رنگی بعد از ۱ ماه و بیشترین تغییرات بعد از ۶ ماه حاصل شده است (Aydin et al., 2005). Sundqvist (2002) بیان می‌دارد که در تیمار حرارتی چوب، ترکیبات استخراجی فنولی باعث بروز تغییرات رنگی در سطوح چوب می‌شوند. همچنین شدت این تغییرات در اثر افزایش دما، افزایش می‌یابد.

طبق بررسی‌های بیولوژیکی و شیمیایی جهت جلوگیری از تغییر رنگ روکش‌های گیلاس آمریکایی (*Prunus serotina Borkh*) نشان داد شده است که تغییر رنگ ایجاد شده ناشی از تیمار حرارتی به ساختار مواد استخراجی فلاونوئیدی مربوط می‌شود. بر اثر تیمار چوب در دمای °C ۶۵-۶۰ به مدت ۳۶-۷۲ ساعت تغییرات شیمیایی ساختار فلاونوئیدها اتفاق می‌افتد که منجر به رنگ تیره روکش‌های این گونه می‌گردد. همچنین این تغییر رنگ را می‌توان به تشکیل ساختارهای کینونی و کینوئیدی نسبت داد که در جریان اکسایش چوب در هنگام پخت به وجود می‌آیند. از طرفی این محققین اعلام می‌دارند که تغییر شرایط فرآیند مانند تغییر دمای حوضچه پخت و خشک کردن روکش‌ها، تأثیر نور شدید و یا به عبارت دیگر کهنگی ناشی از نور (اشعه UV) موجب تغییرات شدید رنگ روکش‌ها می‌شود که عمدتاً این تغییرات به فتواکسایش ساختارهای فلاونوئیدی نسبت داده می‌شود (Mayer et al., 2007).

روکش‌ها تا میزان ۶ ماه میزان رسوب مواد استخراجی در حفرة آوندها و حفرة سلول‌های پارانشیمی و حرکت این ترکیبات به سمت سطح و همچنین میزان تغییرات ساختاری لیگنین در دیواره سلولی افزایش می‌یابد. در نتیجه می‌توان به صنعت روکش و تخته‌لایه توصیه نمود که روکش‌های راش را کمتر از ۶ ماه انبار کرده و دمای خشک‌کن کمتر از  $180^{\circ}\text{C}$  باشد تا از بروز تغییرات رنگی زیاد در سطح روکش‌ها جلوگیری شود.

به وجود آمدن تغییر رنگ در هنگام تیمارهای حرارتی صنعتی را اغلب به واکنش‌های اکسایش و متراکم شدن مواد استخراجی فنولی نسبت می‌دهند (Koch *et al.*, 2003).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که خشک کردن روکش‌ها در دمای  $100^{\circ}\text{C}$  و انبار کردن روکش‌ها و قرار گرفتن آنها در معرض نور UV و به عبارت دیگر کهنگی روکش‌ها تا ۲ ماه تأثیر زیادی بر تغییرات رنگی سطح روکش‌های راش نخواهد گذاشت. در اثر خشک کردن روکش‌ها در دمای  $180^{\circ}\text{C}$  و کهنه کردن

## References

- Aydin, I. and Colakuglu, G. 2002. The effect of veneer drying temperature on wettability, surface roughness and some properties of plywood, 6<sup>th</sup> Panel Products Symposium, Wales, Landudno: 60-70. UK.
- Aydin, I. and Colakuglu, G. 2005. Effects of surface inactivation, high temperature drying and preservative treatment on surface roughness and color of alder and beech wood. *Surface Science*. 252: 430-440.
- Bauch, J. 1984. Discolouration in the wood of living and cut trees. *IAWA Bulletin*. 5: 92-98.
- Bauch, J. Schmidt, O. Yazaki, Y. and Starch, M. 1985. Signification of bacteria for the discoloration of Ilomba wood (*Pycnonthus angolensis Exell.*). *Holzforchung*. 39: 249-252.
- Chang, S.T. and Cheng, S.S. 2001. Effects of environmental factors on the color of sugi (*Cryptomeria japonica D. Don*) yellowish heartwood. *Holzforchung*. 55: 459-463.
- Charrier, B. Haluk, J. P. and Metche, M. 1995. Characterization of European Oak wood constitutes acting in the brown discoloration during kiln drying. *Holzforchung*. 49: 168-172.
- Chong, S.T. Wang, S.Y. Su, Y.C. Hung, S.H. and Kuo, Y.H. 1999. Chemical constituents and mechanisms of discoloration of Taiwania (*Taiwania egyptomerioides Hayata*) heart wood. *Holzforchung*. 53: 142-146.
- Fengel, D. and Wegener, G. 1982. *Wood, Chemistry, Ultra structure, Reactions*, de Gruyter, Berlin, 612 pp.
- Feist, WC. and Hon, DNS. 1984. Chemistry of weathering and protection, In: Rowell R.M. *The chemistry of solid wood*. American Chemical Society. Washington D.C, pp. 401- 451.
- Ifju, G. 1973. Influence of steaming on the properties of red oak. Part I. structural and chemical changes. *Wood Science and Technology*. 6: 87-94.
- Koch, G. and Kleist, G. 2001. Application of scanning UV-microspectrophotometry to localise lignins and phenolic extractives in plant cell walls. *Holzforchung*. 55: 563-567.
- Koch, G. Bouch, J. Puls J. and Welling, J. 2002. Ursachen unel wirtschaftliche bedeutung von Holzverfärbungen. *AFZ. Der. Wald*. 57: 315-318.
- Koch, G. Puls, J. and Bauch, J. 2003. Topochemical characterization of phenolic extractives in discolored beech wood (*Fagus sylvatica L.*). *Holzforchung*. 57: 339-345.
- Kollmann, F. Keylwerth, R. and Kübler, H. 1951. Verfärbung des vollholzes und der Furniere bei der künstlichen Holzrocknung. *Holz als Roh-und werkstoff*. 9: 382-391.
- Letinen, M. 1998. Effects of manufacturing temperatures on the properties of plywood. Laboratory of Structural Engineering and Building Physics, Helsinki University of Technology, TRT Reports No. 92. Finland.
- Mayer, I. Koch, G. and Plus, J. 2007. Biologische and chemische untrschungen zur vermeidung von ver färbungen im Amerik. Kirschbaum (*Prunus serotina Borch*), Arbeitsbericht des Institutes für Holzbiologie und Holzschutz, Hamburg, 44 pp.



- Shigo, A.L. 1976. Compartmentalization of discolored and decayed wood in trees. *Material und Organismen*. 3: 221-226.
- Spurr, A. R. 1969. A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructure Research*. 26: 31-43.
- Straze, A. Oven, P. Zupancic, M. and Gorisek, Z. 2003. Color changes of Ash-wood (*Fraxinus excelsior L.*) during conventional drying. The 8<sup>th</sup> International IUFRO Wood Drying Conference. 465-469.
- Sundqvist, B. 2002. Color response of Scots pine (*Pinus sylvestris*), Norway spruce (*Picea abies*) and birch (*Betula pubescens*) subjected to heat treatment in capillary phase. *Holz als Roh-und werkstoff*. 60: 106-114.

Archive of SID

## Chemical and Anatomical Characterization of Discoloration in Beach (*Fagus orientalis L.*) Veneer During Kiln Drying and Aging

L. Jamalirad<sup>1\*</sup>, K. Doosthoseini<sup>2</sup>, S.A. Mirshokraie<sup>3</sup> and G. Koch<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Assistant professor, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Gonbad Kavous, I.R. Iran

<sup>2</sup> Professor, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, I.R. Iran

<sup>3</sup> Professor, Chemistry Department, Payame Noor University, I.R. Iran

<sup>4</sup> Professor, University of Hamburg, Germany

(Received:30 August 2009, Accepted:27 September 2010)

### Abstract

Discoloration of wood due to biotic and abiotic factors or combination of both deteriorates the quality of wood, increases production costs and also decreases the quality of end-products. In this study, anatomical variations and topochemical distribution of lignin and extractives before and after drying and aging were investigated using the UMSP method. Chemical analysis was carried out using HPLC method. Results showed that increasing drying temperature up to 180 °C and increasing aging duration up to 6 months, increased extractives amount in vessel lumen and parenchyma cells and as well as lignin concentration in cell wall layers. A direct relationship between intensity of visual discoloration and the amount of UV absorption by extractives could be observed. It means that the higher the visual discoloration, the higher the absorption at 280 nm wavelength. HPLC analysis revealed that with increasing drying temperature and aging duration, higher and clearer discolorations in beach wood texture could be observed. Acetone and methanol extracts of discolored wood showed the presence of different low molecular compounds such as catechin and 2, 6 dimethoxy benzoquinon, which are transformed to high condensation compounds during kiln-drying and aging.

**Keywords:** Iranian beach, Veneer, High performance liquid chromatography, UV microspectrophotometry (UMSP), Aging, Extractives, Discoloration.