

A BÜKK (*FAGUS SYLVATICA* L.) ÁLGESZT SZÍNANYAGAINAK KÉPZŐDÉSI ÉS SZERKEZETVIZSGÁLATA

Hofmann Tamás, Albert Levente és Visiné Rajzci Eszter
Soproni Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Környezet és Természetvédelmi Intézet

Kivonat

Az álgeszt a bükk (*Fagus sylvatica* L.) legjellemzőbb színhibája, mely az utóbbi évtizedek technológiai és marketing próbálkozásai ellenére máig jelentős gazdasági veszteséget okoz. Az értékét és hasznosíthatóságát növelő technológiai eljárások hatékonyságát növelni a színanyagok kémiai szerkezetének, összetételének és sejtfalbeli elhelyezkedésének felderítése, amiről nem közöltek még eredményeket a szakirodalomban. Laboratóriumi, *in vitro* körülmények között tanulmányoztuk az álgeszt színanyagok (kromofórok) képződési reakcióját prekursor (előanyag) vegyületekből. Nagy hatékonyságú kromatográfiás/tandem tömegspektrometriás eljárással elválasztottuk és vizsgáltuk a keletkezett színes reakciótermékek szerkezetét (molekulatömeg). Megállapítottuk, hogy az álgeszt pH-ján bükkenzimkivonat hatására a bükk faanyagának jellemző polifenoljai közül a (+)-katechin és a (-)-epikatechin polikondenzáció és oxidáció hatására színes termékek alakulnak. A taxifolin gyenge reakciókészséget mutat, a fenolkarbonsavak (ferulasav, kumársav) és a kvercetin nem alakulnak át színes vegyületekké. Az izomer (+)-katechin, a (-)-epikatechin reakciói azonosak, a belőlük keletkező taxifolinnal különböző arányú (1:1, 575 m/z; 1:2, 861 m/z és 2:2, 1149 m/z) kondenzációs termékek képeznek, amelyek további reakciókban vesznek részt, újabb színes termékeket hozva létre. A végeredmény egy igen bonyolult anyagkeverék. Az *in vitro* reakcióelegyből elsőként azonosítottunk olyan vegyületeket, (575 m/z, 863 m/z) amelyek az *in vivo* keletkezett álgeszt kivonatában is jelen vannak és bizonyítják a (+)-katechin, a (-)-epikatechin részvételét az álgeszt színanyagainak képzésében. Az azonosított vegyületek vízoldhatóak és molekulatömegük alapján feltételezhetően nem épülnek be a sejtfal szerkezetbe, ami oka lehet az álgeszt faanyag álgesztmenteshez képest valamivel jobb tartósságának gombakárosítókkal szemben, és magyarázhatja az álgeszt színének változékonyságát. A kromofórok összetételének és szerkezetének ismerete új lehetőséget kínál a szín homogénizálására, stabilitásának biztosítására és a gombaállóság növelésére.

Kulcsszavak: bükk, álgesztésedés, kromofórok, polifenolos vegyületek, színhiba, gombaállóság

STUDY OF THE FORMATION AND STRUCTURE OF THE CHROMOPHORIC SUBSTANCES OF RED HEART OF BEECH (*FAGUS SYLVATICA* L.)

Abstract

Red heart is the most common color defect in beech (*Fagus sylvatica* L.), which, despite technological and marketing efforts in recent decades, still causes significant economic losses. Its usability could be increased by investigating the chemical structure, composition, and location of the pigments in the cell walls, but no results have been published in the literature to date. In our present work, we studied the formation reaction of red heartwood pigments (chromophores) from precursor compounds under laboratory, *in vitro* conditions. We separated and examined the



structure (molecular weight) of the resulting colored reaction products using high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. We found that at the pH of red heartwood, under the influence of beech enzyme extract, (+)-catechin and (-)-epicatechin, two of the polyphenols characteristic of beech wood, undergo polycondensation and then oxidation to form colored products. Taxifolin shows weak reactivity, while phenolic acids (ferulic acid, coumaric acid) and quercetin do not transform into colored compounds. (+)-Catechin and (-)-epicatechin and the taxifolin formed from them form different condensation products (1:1, 575 m/z; 1:2, 861 m/z and 2:2, 1149 m/z), which participate in further reactions, creating new colored products. The end result is a very complex mixture of substances. From the *in vitro* reaction mixture, we first identified compounds that are also present in the red heartwood. The identified compounds are water-soluble and - based on their molecular weight- are not likely to be incorporated into the cell wall structure, which may explain why red heartwood is slightly more resistant to fungal damage than non-redheartwooded timber and may also explain the variability in the color of red heartwood. Knowledge of the composition and structure of chromophores offers new opportunities for enhancing color homogenization and stability as well as for implementing strategies for increasing fungal resistance of red heartwooded timber.

Keywords: beech, red heartwood, chromophores, phenolic compounds, color defects, fungal decay

BEVEZETÉS

A bükk (*Fagus sylvatica* L.) Európa legjelentősebb kemény, lombos fafaja. Rendkívül érzékeny az egyre gyakrabban tapasztalható szélsőséges, száraz és forró környezeti viszonyokra, fokozottan ki van téve az állományok egészségi állapotát jelentősen befolyásoló abiotikus és biotikus stressznek (Bíró 2005; Lakatos et al. 2009; Antonucci et al. 2021; Walthert et al. 2021; Langer et al. 2023; Rukh et al. 2023). Ennek egyik következménye, hogy az eddig is jelen lévő, „normál” fiziológiás folyamatként jellemzett álgesztesedés az állományok egyre nagyobb részét érinti (Göntz 2018), jelentősen növelve a gazdasági veszteségeket.

Az utóbbi években a külföldi és hazai felmérések egyértelműen kimutatták, hogy az álgesztesedés legfontosabb hajlamosító tényezője az állományok kora és a törzsátmérő (Knoke 2003; Bíró 2005; Gurda et al. 2017; Trenciansky et al. 2017; Göntz 2018). A bükk álgesztje, a nem elszíneződött faanyaghoz hasonlóan hajlamos a gombakárosodásra is, nem minősül tartós faanyagnak (Arac et al. 2021). Bár inhomogén színe gőzöléssel homogenizálható (Molnár et al. 2001; Tolvaj et al. 2001; Pöhler et al. 2006; Klement & Vilkovska 2019), alacsonyabb áron értékesíthető. A gazdasági veszteségeket az álgesztes faanyag megfelelő „marketingjével”, és innovatív technológiai megoldásokkal (faanyag telítése, modifikáció) is próbálták csökkenteni (Zell et al. 2004). A színyanyagok kémiai szerkezetének és sejten belüli elhelyezkedésének ismerete hozzájárulhat újabb, hatékonyabb technológiák kidolgozásához, az álgesztes faanyag alkalmazhatóságának kiterjesztéséhez, a gazdasági veszteségek csökkentéséhez.

Korábbi vizsgálatainkban azonosítottunk az álgeszt színyanyagainak képződésében résztvevő polifenol előanyagokat (prekurzorokat) (Hofmann et al. 2022). Bizonyítottuk, hogy a bükk polifenolos vegyületei a bükk szíjácsából készített enzimm kivonatok jelenlétében, az álgeszt pH értékén (6,0-6,5) *in vitro* reagálnak, és az álgeszt színével megegyező színű vegyületeket képeznek (Hofmann et al. 2008). Az egyes kromofórok szerkezetének vizsgálata nem történt meg. Jelen kutatásunkban egyenként modelleztük az álgeszt színyanyagainak képződését polifenol prekurzorokból hasonló laboratóriumi (*in vitro*) kísérletekben azzal a céllal, hogy (1) megállapítsuk, mely prekurzorokból keletkeznek színyanyagok és (2) felderítsük az előállított kromofórok szerkezetét. Az eredmények hozzájárulhatnak az álgesztes faanyag jövőbeli alkalmazhatóságának kiterjesztéséhez.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Mintavétel és extrakció

A vizsgálatokhoz egy 110 éves bükk törzsből (Tanulmányi Erdőgazdaság Zrt., Sopron) mellmagassági szintről vett korongot használtunk (törzsátmérő: 36 cm, felhős álgeszt, álgeszt átmérő 18 cm), melyet a további feldolgozásig fagyasztva (-20 °C) tároltunk. Az enzimkivonatok készítéséhez a szíjácsból (kéreg alatti 4-6 cm szövetből, mely mentes volt minden elszíneződéstől) reszeléssel vettünk mintát. 4 g fareszeléket 100 ml pH=6,18 foszfátpufferrel homogenizáltunk mágneses keverőn 10 percig. Az elegyet hűtőszekrényben (4 °C) tároltuk 24 óráig, utána 10 percig kevertük, majd centrifugáltuk (15 perc, 6000/min fordulatszámon). A felülúszó enzimkivonatot elkülönítettük az *in vitro* kísérletekhez.

In vitro reakció

A vizsgált polifenolos prekursor vegyületekből ((+)-katechin, (-)-epikatechin, taxifolin, kvercetin, ferulasav, p-kumársav) 3 mg mennyiségeket bemértünk egy 5 ml-es centrifugacsőbe és hozzáadtunk 4,5 ml enzimkivonatot. A centrifugacsöveket lezártuk és sötétben, szobahőmérsékleten tároltuk 30 napig. A reakcióelegyekből adott napokon (1. nap, 15. nap, 30. nap) mintát vettünk (0,5 ml), lecentrifugáltuk (2x10 perc, 14000/min fordulatszámon) és elvégeztük a polifenolos vegyületek, valamint a reakciótermékek analízisét.

HPLC-PDA-ESI-MS/MS vizsgálatok

A vegyületek elválasztásához és szerkezeti vizsgálatához egy Shimadzu LC-20 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japán) folyadékkromatográfot használtunk. A detektálás egy diódasoros detektorral (Shimadzu SPD 20M) és egy AB Sciex 3200 QTRAP hármass kvadrupól/lineáris ioncsapda típusú tömegspektrométerrel történt (Sciex, Framingham, USA). Állófázisként egy Phenomenex, Synergy Fusion C18, 2,6 µm, 150 mm x 4,6 mm oszlopot használtunk Phenomenex SecurityGuard ULTRA LC előtétoszloppal 40 °C-on. Mozgófázisként A (víz + 0,1% hangyasav) és B (acetonitril + 0,1% hangyasav) gradienst alkalmaztunk: (3% B (0-2 min), 15 % B (36 min), 44 % B (54 min), 100 % B (66-72 min), 3% B (73-80 min) 1,2 ml/min áramlási sebesség mellett. Mintabevitel: 15 µl. A diódasoros detektorral a kromofórokra jellemző elnyelési tartományt (400-500 nm) vizsgáltuk. A polifenolok profilozása és minőségi azonosítása tömegspektrometrián történt. Ionforrás paraméterek: negatív elektroporlasztásos ionizáció (ESI), porlasztófeszültség: -4500 V, ionforrás hőmérséklet: 500 °C, függőnygáz (N₂) nyomás: 40 psi, porlasztógáz (N₂) nyomás: 30 psi, szárítógáz (N₂) nyomás: 30 psi. A polifenolok azonosítását IDA (Information Dependent Analysis) kiértékelés segítségével végeztük a 150-1500 m/z tartományon. A tömegspektrumok kiértékelése és a vegyületek azonosítása a RIKEN (Sawada et al. 2012), a MassBank (Horai et al. 2010) és a Mass Spectrometric Database of North America (Galgonek & Vondrasek 2024) tömegspektrometriás adatbázisok segítségével történt. Az adatgyűjtést, valamint a kromatogramok és a tömegspektrumok kiértékelését Analyst 1.6.3. szoftverrel végeztük (Sciex, Framingham, USA).

Vegyszerek

A (+)-katechin, (-)-epikatechin, taxifolin, kvercetin, ferulasav, p-kumársav standard vegyületeket, a kálium-dihidrogén-foszfátot, nátrium-hidrogén-foszfátot valamint a hangyasavat és acetónitrilt (LCMS minőség) a Merck Kft-től (Budapest, Magyarország) szereztük be. A kromatográfiai analízishez használt vizet hagyományos kétszeres desztillációval állítottuk elő.

EREDMÉNYEK ÉS MEGVITATÁSUK

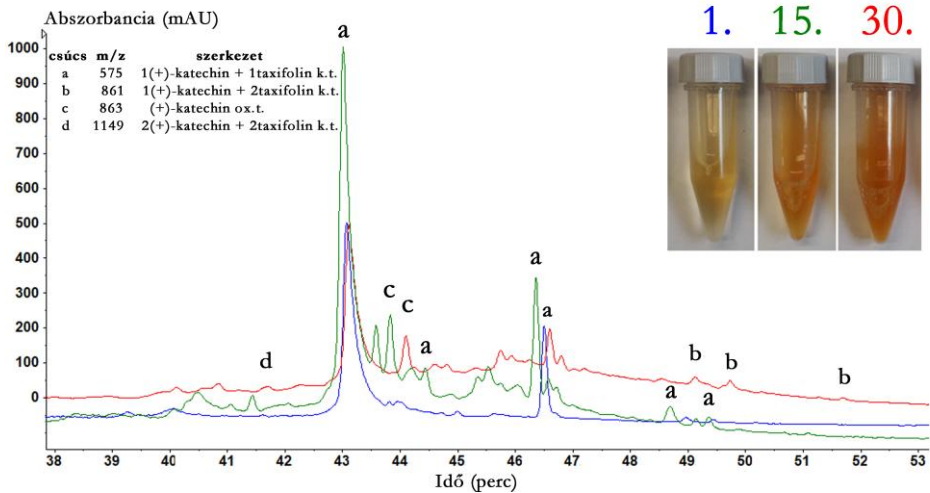
A reakcióelegyekből vett minták kromatográfiai elválasztása során a minta molekuláris összetevői szétválnak és a kromatogramon csúcsként jelennek meg. Kétfajta detektálási módot alkalmaztunk: a *spektrofotometriás detektálást* (ennek alapján készültek az ábrán megjelenített kromatogramok is) 400-500 nm hullámhossz tartományon végeztük, mely a vöröses-barna színnek felel meg, ez a képződő kromofórok jellemző fényelnyelési tartománya. Lehetővé teszi, hogy csak a színes vegyületek csúcsai jelenjenek meg a kromatogramon; a *tömegspektrometriás detektálás* a vegyületek molekulatömegének és szerkezetének vizsgálatára nyújt lehetőséget. A kromatográfiai csúcsok magassága az elválasztott vegyületek mennyiségével arányos.

A kísérlet indításának napján (0. nap) az elegy kémiai összetételét nem vizsgáltuk, mivel szemmel láthatólag még nem képződtek színanyagok. A (+)-katechin és a (-)-epikatechin reakcióelegye 24 óra után színbeli változást mutatott, a többi előanyagot tartalmazó reakcióelegynél megmaradt a kiindulási szín. Ez arra utal, hogy a bükk álgeszt kromofórajainak képződésében szerepet játszó előanyagok jelentősen eltérő reakciókészségűek, így feltételezhetően a színanyagok képződésében és összetételében is eltérő szereppel rendelkezhetnek. Az eredményeket a vizsgált előanyagokra külön-külön tárgyaljuk.

(+)-katechin

A (+)-katechin reakcióelegye már az első nap elszíneződött és a szín az idő előrehaladtával egyre intenzívebbé vált (1. ábra). A kromatogramokon látszik, hogy több keletkezett vegyület csúcsa a 15. napig növekedett, majd csökkent, miközben az organoleptikusan észlelt szín erősödött. Ez azt bizonyítja, hogy a 15. napig keletkezett termékek egy része további reakciókban vett részt, ami újabb termékek képződéséhez vezetett (új csúcsok a 30. napon felvett kromatogramon). A végeredmény egy bonyolult összetételű anyagkeverék. A szerkezetvizsgálatok azt bizonyították, hogy (+)-katechin a kromofórok keletkezésének fontos szereplője, a kísérlet körülményei között oxidációs és kondenzációs folyamatokban vett részt. Az egyik átalakulási terméke a taxifolin, ami szabad formában is megjelenik a reakcióelegyben (csúcs nem látható az 1. ábrán mivel a taxifolin szintelen). A (+)-katechin oxidációs reakcióban bakteriális hatásra is taxifolinná alakul (Matsuda et al. 2008). A keletkezett taxifolin és a (+)-katechin egymással reagálva színes vegyületekké kondenzálódik. A színanyagok molekulatömegének vizsgálata során megállapítottuk, hogy azok többsége 900 Da (g/mol) - nál kisebb. A legjellemzőbb csúcsok a tömegspektrumok alapján a (+)-katechin és a taxifolin különböző (1:1, 575 m/z; 1:2, 861 m/z) arányú kondenzációs termékei, valamint a (+)-katechin oxidációs termékei. Nagyobb molekulatömegű kondenzátumok (2:2, 1149 m/z) a konszekutív reakciók eredményeként a 30. napon voltak kimutathatók, alacsony koncentrációban. Bizonyosságot nyertek a korábbi

feltételezéseink, miszerint a (+)-katechin a bükk enzimjeinek hatására az álgeszt pH-ján *in vitro* nagy molekulatömegű színanyagokká alakul (Hofmann et al. 2008). Az *in vitro* körülmények között képződött kromofórok közül az 575 m/z és a 863 m/z vegyületeket az álgesztes faanyag kivonatából is kimutattuk (Hofmann et al. 2025). Ezzel elsőként sikerült bizonyítanunk a (+)-katechin szerepét az *in vivo* álgesztesedésben és meghatározni az álgeszt színét kölcsönző, (+)-katechinból képződő néhány kromofór szerkezetét.



1. ábra: A (+)-katechin *in vitro* reakciója bükk szíjács enzimmixturával pH=6,18 értéken. A képződött színanyagok kromatográfiai elválasztása és detektálása (400-500 nm) a reakcióelegyből az 1. 15. és 30. napokon. k.t.: kondenzációs termék; ox.t.: oxidációs termék

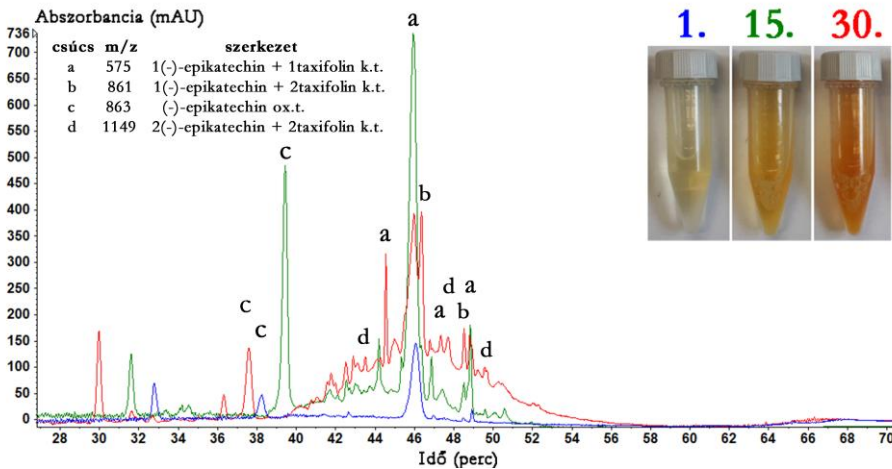
Figure 1: The *in vitro* reaction of (+)-catechin with beech sapwood extract at pH=6.18. Separation of chromophoric substances from the reaction mixture at days 1, 15 and 30 (400-500 nm chromatogram). k.t.: condensation product, ox.t.: oxidation product

(-)-epikatechin

A (-)-epikatechin a (+)-katechin izomere, átalakulási reakció hasonlóak. A (-)-epikatechinből keletkező színanyagok keletkezését és azok kromatográfiai elválasztását a 2. ábra szemlélteti. A kromatográfiai csúcsok emelkedése igazolja az idővel egyre intenzívebbé váló színanyagképződést. Megfigyelhető, hogy bizonyos csúcsok magassága a 15. napig emelkedik, majd utána csökken, miközben az összes színanyagot reprezentáló csúcsok mennyisége (40-54 perc retenció idő között) folyamatosan, „domboszerűen” nő a 30. napig. Ez igazolja a színes vegyületek folyamatos mennyiségi növekedését az egymást követő bonyolult reakciók eredményeként, amelyekben a keletkezett színes primér vegyületek is részt vesznek.

A reakcióelegyből kimutattuk a taxifolint, ami a (-)-epikatechin oxidatív átalakulása nyomán keletkezett, hasonlóan a (+)-katechin reakciójához. A csúcsterületek alapján (2. ábra) a legnagyobb mennyiségben megtalálható kromofór az (-)-epikatechin és taxifolin 1:1 arányú (575 m/z), és 1:2 arányú (861 m/z) kondenzációs terméke. A 900-1500 m/z tömegtartományon is megfigyelhetők re-

akciótermékek (2:2 arányú (-)-epikatechin és taxifolin kondenzációs termék, 1149 m/z), de - hasonlóan a (+)-katechinnél tapasztaltakhoz - ezek koncentrációja alacsony és kialakulásuk csak a 30. napon vizsgált mintából igazolható. A reakcióelegyben megjelennek az álgesztes faanyag kivonatóból már korábban azonosított kromofór csúcsok (575 m/z, 863 m/z). Ez bizonyítja a (-)-epikatechin részvételét is az álgesztesedés *in vivo* folyamataiban. Összevetve a két izomer reakciókészségét ezekben a folyamatokban kijelenthető, hogy *in vitro* körülmények között a (-)-epikatechin reakciókészsége nagyobb, mint a (+)-katechiné. Megjegyzendő, hogy a bükk faanyag sokkal nagyobb mennyiségben tartalmazza a (+)-katechint mint a (-)-epikatechint (Hofmann 2022).

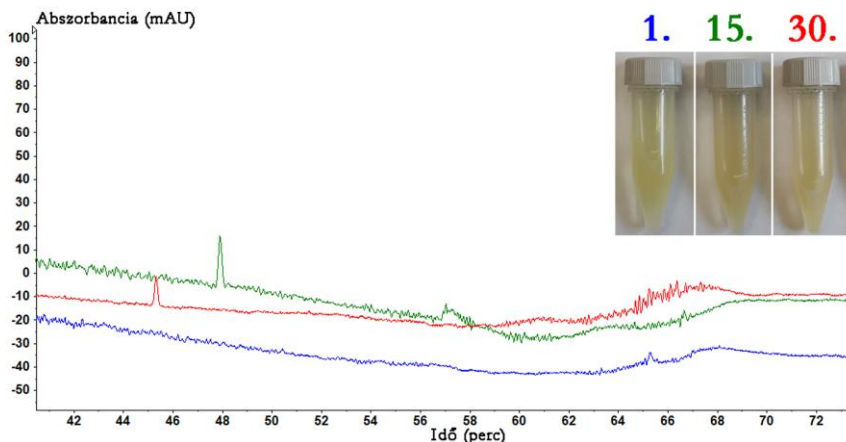


2. ábra: Az (+)-epikatechin *in vitro* reakciója bükk szíjács kivonattal pH=6,18 értéken. A képződött színanyagok kromatográfiás elválasztása és detektálása (400-500 nm) a reakcióelegyből az 1. 15. és 30. napokon. k.t.: kondenzációs termék; ox.t.: oxidációs termék

Figure 2: The *in vitro* reaction of (+)-epicatechin with beech sapwood extract at pH=6.18. Separation of chromophoric substances from the reaction mixture at days 1, 15 and 30 (400-500 nm chromatogram). k.t.: condensation product, ox.t.: oxidation product

Kvercetin

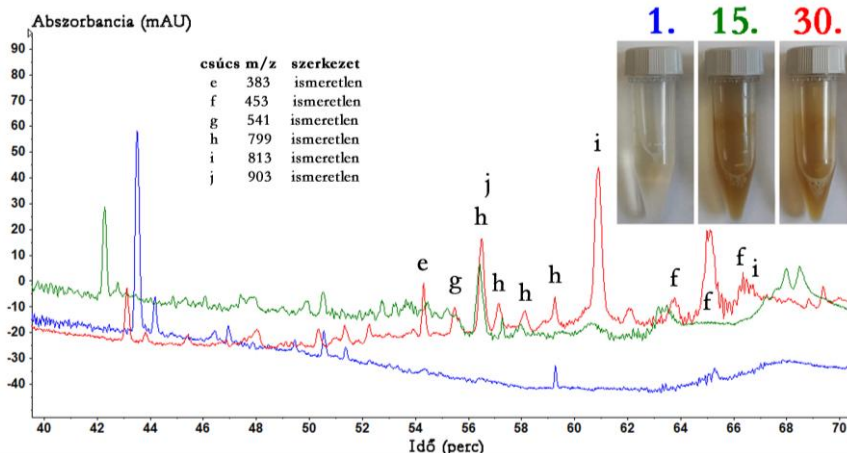
A kvercetin viszonylag alacsony koncentrációban fordul elő a bükk szíjácsában, csak egy glikozidját mutatták ki (Mämmelä 2001; Hofmann 2008). Az álgeszt csak nyomokban tartalmaz szabad kvercetin. Korábbi *in vitro* kísérleti eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a kvercetin bükkkenzimekivonatok hatására nem, vagy csak nagyon kis mértékben reagál (Hofmann et al. 2008). Kísérleti eredményeink megerősítik ezt a tapasztalatot. A reakcióelegy színe a 30. napig nem változott, és a kromatogramokon (eltekintve két kisebb csúcstól) nem jelentek meg egyértelműen képződő színanyagok csúcsai (3. ábra), ami arra utal, hogy a kvercetin nem vesz részt a színanyagok képződési reakcióiban.



3. ábra: A kvercetin *in vitro* reakciója bükk szíjács kivonattal pH=6,18 értéken. A képződött színanyagok kromatográfiás elválasztása és detektálása (400-500 nm) a reakcióelegyből az 1. 15. és 30. napokon
 Figure 3: The *in vitro* reaction of quercetin with beech sapwood extract at pH=6.18. Separation of chromophoric substances from the reaction mixture at days 1, 15 and 30 (400-500 nm chromatogram)

Taxifolin

A taxifolin a bükk faanyagában glikozidjai (pentozyd és hexozid) formájában fordul elő (Hofmann et al. 2004, 2008, 2022; Mämmelä 2001). Az álgeszt belsejében a glikozidok hidrolízisét követően szabad formában kimutatható. *In vitro* kísérleti eredményeink bizonyítják, hogy az álgesztben a katechinek oxidációja során is keletkezik. A 4. ábra alapján megfigyelhető a taxifolin koncentrációjának időbeli csökkenése és ezzel párhuzamosan a reakciótermékeinek mennyiségi növekedése, ami a reakcióelegy barnulását eredményezi.

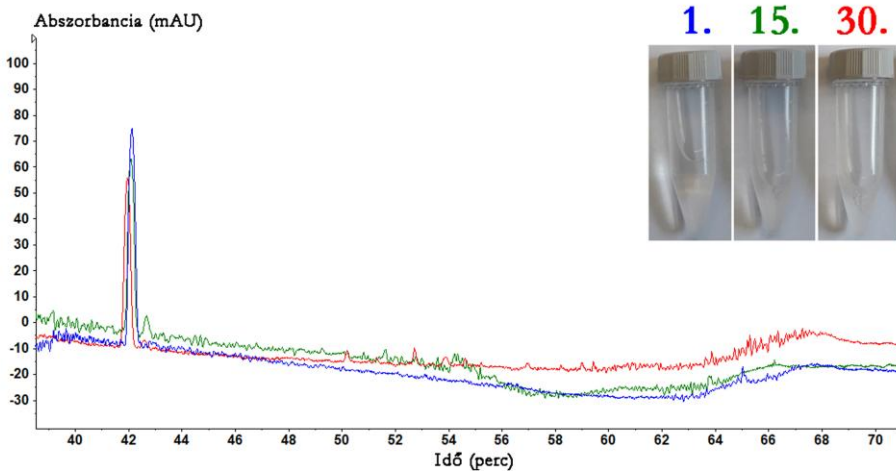


4. ábra: A taxifolin *in vitro* reakciója bükk szíjács kivonattal pH=6,18 értéken. A képződött színanyagok kromatográfiás elválasztása és detektálása (400-500 nm) a reakcióelegyből az 1. 15. és 30. napokon
 Figure 4: The *in vitro* reaction of taxifolin with beech sapwood extract at pH=6.18. Separation of chromophoric substances from the reaction mixture at days 1, 15 and 30 (400-500 nm chromatogram)

A taxifolin részt vesz a kromofórképző reakciókban, de a folyamatok lényegesen lassabbak, mint a katechinek átalakulásai, és a képződő színes termékek csúcsai is kisebbek. (v.ö. 1. és 2. ábrák). A 4. ábrán jelölt átalakulási termékek szerkezetének azonosítása további vizsgálatokat igényel.

Ferulasav

A ferulasavat elsőként mutattuk ki a bükk faanyagában. Bizonyítottuk, hogy ún. „nem-oldható poli-fenol” formában van jelen, a sejtfa mátrix szerkezeti polimerjeihez kapcsolódik, mennyisége az álgeszt határzónájában jelentősen megemelkedik (Hofmann et al. 2025). Ennek alapján feltételezhető, hogy részt vesz az álgesztésedés molekuláris folyamataiban. Az 5. ábra szemlélteti, hogy a ferulasavat tartalmazó reakcióelegy színe még a 30. napon sem változott és a kromatogram sem utal színes átalakulási termékek képződésére. A ferulasavból nem képződnek bükkálgeszt színanyagok.

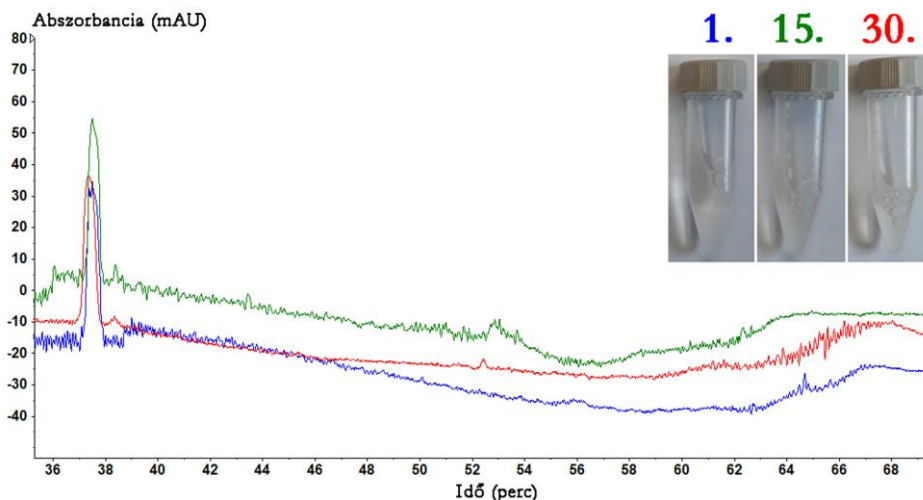


5. ábra: A ferulasav *in vitro* reakciója bükk szíjács kivonattal pH=6,18 értéken. A képződött színanyagok kromatográfias elválasztása és detektálása (400-500 nm) a reakcióelegyből az 1. 15. és 30. napokon

Figure 5: The *in vitro* reaction of ferulic acid with beech sapwood extract at pH=6.18. Separation of chromophoric substances from the reaction mixture at days 1, 15 and 30 (400-500 nm chromatogram)

p-kumársav

Előző kutatásainkban kimutattuk, hogy a szíjács/álgeszt határzónában megemelkedett szabad (Hofmann et al. 2022) és kötött (Hofmann et al. 2025) *p*-kumársav tartalom mérhető. A 6. ábrán egyértelműen látszik, hogy a *p*-kumársavat tartalmazó reakcióelegy színe az időben nem változik, és a kromatogramon kromofór tulajdonságokkal rendelkező vegyületek nem jelennek meg, ami arra utal, hogy a *p*-kumársav nem vesz részt a színanyagok képződésében. Hasonlóan a ferulasavhoz, elsősorban az álgesztés faanyag sejtfa szerkezetében akkumulálódik kötött formában és a szerkezet erősítésében, valamint az antioxidáns védekezési mechanizmusokban vesz részt (Chateigner-Boutin et al. 2016; Bento-Silva et al. 2018; Gesteiro et al. 2021; Khan et al. 2024; López-Malvar et al. 2025)



6. ábra: A *p*-kumársav *in vitro* reakciója bükk szíjács kivonattal pH=6,18 értéken. A képződött színanyagok kromatográfia elválasztása és detektálása (400-500 nm) a reakcióelegyből az 1. 15. és 30. napokon

Figure 6: The *in vitro* reaction of *p*-coumaric acid with beech sapwood extract at pH=6.18. Separation of chromophoric substances from the reaction mixture at days 1, 15 and 30 (400-500 nm chromatogram)

ÖSSZEFOGLALÁS

A bükk álgeszt jelentős mértékben csökkenti a faanyag értékét. A veszteségeket innovatív technológiai megoldásokkal (gőzölés, telítés, modifikáció) próbálják csökkenteni. A színanyagok kémiai szerkezetének és sejten belüli elhelyezkedésének ismerete hozzájárulhat újabb, hatékonyabb technológiák kidolgozásához, amelyekkel a gazdasági veszteségek tovább csökkenthetők. Korábbi vizsgálatainkban azonosítottunk a színanyag képződésében résztvevő polifenol előanyagokat és bizonyítottuk, hogy ezek *in vitro*, a bükk szíjácsából készített enzimmixonatok jelenlétében, az álgeszt pH értékén (6,0-6,5) reagálnak és az álgeszt színével megegyező színű vegyületeket képeznek. A színanyagok szerkezetének vizsgálata nem történt meg.

Jelen kutatásunkban hasonló reakció körülmények között, egyenként modelleztük az előanyagok viselkedését. Nagy hatékonyságú kromatográfia/tandem tömegspektrometria eljárással elválasztottuk és vizsgáltuk a keletkezett színes reakciótermékek szerkezetét (molekulatömeg). Megállapítottuk, hogy vizsgált előanyagok reakciókészsége az alkalmazott reakciókörülmények között jelentősen eltér, legnagyobb reakciókészséggel a (+)-katechin és a (-)-epikatechin rendelkezik. Polikondenzációs és oxidációs reakciókban rövid idő alatt színes termékek alakulnak. A taxifolin gyenge reakciókészséget mutat, a fenolkarbonsavak (ferulasav, kumársav) és a kvercetin nem alakulnak át színes vegyületekké. Az izomer (+)-katechin, a (-)-epikatechin reakciói azonosak. Azonosítottuk a belőlük keletkező taxifolinnal képezett különböző arányú (1:1, 575 m/z és 1:2, 861 m/z) kondenzációs termékeiket, és a 863 m/z oxidációs terméket. Ezek egy része további reakciókban vesz részt, újabb színes termékeket hozva létre. A 30. napon vett mintákból nagyobb molekulatömegű kondenzátumokat (1149 m/z) is kimutattunk. A reakcióelegyben több reakció játszódik le, a végeredmény egy igen bonyolult anyagkeverék.



Az *in vitro* reakcióelegyből azonosított 575 m/z és a 863 m/z vegyületeket az álgesztes faanyag kivonatából is kimutattuk. Ezzel elsőként sikerült bizonyítanunk a (+)-katechin és a (-)-epikatechin szerepét az *in vivo* álgesztesedésben és meghatározni az álgeszt színét kölcsönző, belőlük képződő néhány kromofór szerkezetét. Az azonosított vegyületek vízoldhatók és molekulatömegük alapján feltételezhetően nem épülnek be a sejtfalszerkezetbe. A kromofórok összetételének és szerkezetének ismerete új lehetőséget kínál a szín homogenizálására, stabilitásának biztosítására és a gombaállóság növelésére.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Jelen publikáció a TKP2021-NKTA-43 azonosítószámú projekt keretében a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával, a TKP2021-NKTA pályázati program finanszírozásában valósult meg.

IRODALOMJEGYZÉK

- Antonucci S., Santopuoli G., Marchetti M., Tognetti R., Chiavetta U. & Garfi V. 2021: What Is Known About the Management of European Beech Forests Facing Climate Change? A Review. *Current Forestry Reports* 7: 321–333. <https://doi.org/10.1007/s40725-021-00149-4>.
- Arač K., Orlović J. & Diminić D. 2021: Effect of *Fungus Meripilus giganteus* (Pers.) P. Karst. on Occurrence and Development of False Heartwood and Rot in *Fagus sylvatica* L. Round Wood. *Croatian journal of forest engineering* 42(3): 529–542. <https://doi.org/10.5552/CROJFE.2021.885>.
- Bento-Silva A., Vaz Patto M.C. & do Rosário Bronze M. 2018: Relevance, structure and analysis of ferulic acid in maize cell walls. *Food Chem.* 246: 360-378. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.012>. Epub 2017 Nov 3. PMID: 29291861.
- Bíró B. 2005: A Bükk Álgesztesedés Vizsgálata a Somogyi Erdészeti És Faipari Részvénytársaság Erdőállományaiban. In Proceedings of the Doktori (PhD) disszertáció. Sopron. Magyarország.
- Chateigner-Boutin A.L., Prdaz-Otiz J.J., Alvarado C., Bouchet B., Durand S., Verherbruggen Y. et al. 2016: Developing Pericarp of Maize: A Model to Study Arabinoxylan Synthesis and Feruloylation. *Frontiers in Plant Science* 7: 1476. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01476>
- Galgonek J. & Vondrášek J. 2024: The IDSM Mass Spectrometry Extension: Searching Mass Spectra Using SPARQL. *Bioinformatics* 40(4): btæ174. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btæ174>
- Gesteiro N., Burtón A., Estévez S. & Santiago R. 2021: Unraveling the role of maize (*Zea mays* L.) cell-wall phenylpropanoids in stem-borer resistance. *Phytochemistry* 185: 112683. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2021.112683>
- Göntz B. 2018: Bükk álgeszt kimutatása elektromos mérés segítségével. Doktori (PhD) disszertáció. Soproni Egyetem. Sopron.
- Gurda S., Sokolović D., Knežević J., Hajdarević S. & Avdibegović J. 2017: Impact Of Site Quality And Some Taxation Elements On Beech Red Heart Formation In Forest Compartments. 107. M.U. „Gostelja“ and 47. M.U. „Srednja Drinjača“. *Radovi Šumarskog fakulteta Univerziteta u Sarajevu* 47: 60–76. <https://doi.org/10.54652/rsf.2017.v47.i1.67>.
- Hofmann T., Visi-Rajczi E. & Albert L. 2025: Role of extractable and non-extractable polyphenols in the formation of beech (*Fagus sylvatica* L.) red heartwood chromophores. *Forests* 16, xxx-xxx (közlésre benyújtva, bírálattal alatt).
- Hofmann T., Albert L. & Rétfalvi T. 2004: Quantitative TLC Analysis of (+)-Catechin and (-)-Epicatechin from *Fagus sylvatica* L. with and without Red Heartwood. *JPC-J Planar Chromatography* 17: 350–354. <https://doi.org/10.1556/JPC.17.2004.5.5>
- Hofmann T., Albert L. & Rétfalvi T. et al. 2008: TLC Analysis of the In-Vitro Reaction of Beech (*Fagus sylvatica* L.) Wood Enzyme Extract with Catechins. *JPC-J Planar Chromatography* 21: 83–88. <https://doi.org/10.1556/JPC.21.2008.2.2>

- Hofmann T., Guran R., Zitka O., Visi-Rajczi E. & Albert L. 2022: Liquid Chromatographic/Mass Spectrometric Study on the Role of Beech (*Fagus sylvatica* L.) Wood Polyphenols in Red Heartwood Formation. *Forests* 13: 10. <https://doi.org/10.3390/f131010010>
- Horai H., Arita M., Kanaya S., Nihei Y., Ikeda T., Suwa K. et al. 2010: MassBank: A Public Repository for Sharing Mass Spectral Data for Life Sciences. *Journal of Mass Spectrometry* 45: 703–714. <https://doi.org/10.1002/jms.1777>.
- Khan K.A., Saleem M.H., Afzal S., Hussain I., Ameen F. & Fahad S. 2024: Ferulic acid: therapeutic potential due to its antioxidant properties, role in plant growth, and stress tolerance. *Plant Growth Regulation* 104(3): 1329–1353. <https://doi.org/10.1007/s10725-024-01243-w>
- Klement I. & Vilkovská T. 2019: Color Characteristics of Red False Heartwood and Mature Wood of Beech (*Fagus sylvatica* L.) Determining by Different Chromacity Coordinates. *Sustainability* 11: 690. <https://doi.org/10.3390/su11030690>
- Knoke T. 2003: Predicting Red Heartwood Formation in Beech Trees (*Fagus Sylvatica* L.). *Ecological Modelling* 169: 295–312. [https://doi.org/10.1016/S0304-3800\(03\)00276-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3800(03)00276-X).
- Lakatos F. & Molnár M. 2009: Mass Mortality of Beech (*Fagus Sylvatica* L.) in South-West Hungary. *Acta Silvatica et Lignaria Hungarica* 5: 75–82. <https://doi.org/10.37045/aslh-2009-0006>.
- Langer G.J. & Buřkcamp J. 2023: Vitality Loss of Beech: A Serious Threat to *Fagus Sylvatica* in Germany in the Context of Global Warming. *Journal of Plant Diseases and Protection* 130: 1101–1115. <https://doi.org/10.1007/s41348-023-00743-7>.
- López-Malvar A., Main O., Guillaume S., Jacquemot M.P., Meunier F., Revilla P. et al. 2025: Genotype-dependent response to water deficit: increases in maize cell wall digestibility occurs through reducing both p-coumaric acid and lignification of the rind. *Front Plant Science* 16: 1571407. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1571407>. PMID: 40416088; PMCID: PMC12098441.
- Mämmelä P. 2001: Phenolics in selected European hardwood species by liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. *Analyst* 126: 1535–1538.
- Matsuda M., Otsuka Y., Jin S., Wasaki J., Watanabe J., Watanabe T. & Osaki M. 2008: Biotransformation of (+)-catechin into taxifolin by a two-step oxidation: primary stage of (+)-catechin metabolism by a novel (+)-catechin-degrading bacteria, *Burkholderia* sp. KTC-1, isolated from tropical peat. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 366(2):414–9. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.11.157>. Epub 2007 Dec 7. PMID: 18068670.
- Molnár S., Németh R., Fehér S., Tolvaj L., Papp Gy., Varga F. & Apostol T. 2001: Technical and technological properties of hungarian beech consider the red heart. *Wood Research* 46: 21–30.
- Pöhler E., Klingner R. & Künniger T. 2006: Beech (*Fagus sylvatica* L.) – technological properties, adhesion behaviour and colour stability with and without coatings of the red heartwood. *Annals of Forest Science* 63(2): 129–137. <https://doi.org/10.1051/forest:2005105>
- Rukh S., Sanders T.G.M., Krüger I., Schad T. & Bolte A. 2023: Distinct Responses of European Beech (*Fagus Sylvatica* L.) to Drought Intensity and Length—A Review of the Impacts of the 2003 and 2018–2019 Drought Events in Central Europe. *Forests* 14: 248. <https://doi.org/10.3390/f14020248>.
- Sawada Y., Nakabayashi R., Yamada Y., Suzuki M., Sato M., Sakata A. et al. 2012: RIKEN Tandem Mass Spectral Database (ReSpect) for Phytochemicals: A Plant-Specific MS/MS-Based Data Resource and Database. *Phytochemistry* 82: 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.07.007>.
- Tolvaj L., Varga D., Molnár S. & Pál A. 2001: A gőzölés színváltoztató hatása fehér és színes gesztű bükk faanyag esetében. *Faipar* 4: 11–12.
- Trenčiansky M., Lieskovský M., Merganič J. & Šulek R. 2017: Analysis and Evaluation of the Impact of Stand Age on the Occurrence and Metamorphosis of Red Heartwood. *iForest - Biogeosciences and Forestry* 10: 605. <https://doi.org/10.3832/ifor2116-010>.
- Walther L., Ganthaler A., Mayr S., Saurer M., Waldner P., Walser M. et al. 2021: From the Comfort Zone to Crown Dieback: Sequence of Physiological Stress Thresholds in Mature European Beech Trees across Progressive Drought. *Science of The Total Environment* 753: 141792. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141792>
- Zell J., Hanewinkel M. & Seeling U. 2004: Financial optimisation of target diameter harvest of European beech (*Fagus sylvatica*) considering the risk of decrease of timber quality due to red heartwood. *Forest Policy and Economics* 6: 579–593. [https://doi.org/10.1016/S1389-9341\(03\)00007-8](https://doi.org/10.1016/S1389-9341(03)00007-8)

Érkezett: 2025.09.24.

Közlésre elfogadva: 2025.11.25.