بررسی تانن پوست درختان توسکا و بلوط به روش اسپکتروفتومتری[۱و۲]

جواد ترکمن[۳] کاظم دوست‌حسینی[٤] سیداحمد میرشکرایی[٥]

چکیده

در این بررسی پوست درختان توسکا (Alnus subcordata) و بلوط (Quercus castanifolia) با به‌کارگیری سود ۱درصد (10:1v/w) و درجه حرارت ۹۰°C در مدت یک ساعت استخراج گردیدند. بازده خالص استخراج به‌ترتیب ۲۱/٤٤ و۲٤/۰۷ درصد به‌دست آمد. مقدار ترکیبات فنولی فعال با توجه به عدد استیاسنی به‌دست آمده بلوط (۷۰/۰۲) و توسکا (۹۰/۲۸) برای دو گونه توسکا و بلوط به‌ترتیب ۱۹/۳۵ و۱٦/۸٥ درصد برآورد گردید. مقداز تانن متراکم مواد استخراجی از طریق کروماتوگرافی ستونی با سفادکس LH-20 به‌ترتیب ٦/۳و ٤/۲ درصد به‌دست آمد که نشان می‌دهد تانن متراکم توسکا ٥۰ درصد بیشتر از بلوط است. تانن هیدرولیزشدنی (گالوتانن‌ها والاژی تانن‌ها) نیز از طریق روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. مقدار زیاد الاژیک اسید مواد استخراجی بلوط و توسکا (٤۳ و ۳٥/۳ درصد) نشان می‌دهد که تانن این دو گونه از نوع هیدرولیزشدنی است. به‌طور کلی پوست درختان بلوط و توسکا به‌ترتیب دارای ۱۲ و ۹/٦ درصد تانن می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: *تانن متراکم، تانن هیدرولیز شدنی، عدد استیانی، الاژیک اسید، گالیک اسید، سفادکس LH-20 ، اسپکتروفتومتری.*

---

[۱]- تاریخ دریافت:۸۱/٤/۲٤، تاریخ تصویب نهایی:۸۱/۱۰/۳۰

[۲]- این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران انجام شده است.

[۳]- دانش‌آموخته دوره دکتری علوم و صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

[٤]- استاد دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران

[٥]- دانشیار دانشگاه پیام نور

مقدمه

تانن‌های گیاهی فرآورده‌های طبیعی با وزن ملکولی زیاد هستند که قادرند با کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها کمپلکس‌هایی را تشکیل دهند. بر همین اساس از نظر کاربرد صنعتی، فرآورده‌های طبیعی مهمی به شمار می‌روند. مخصوصا در فرآیند دباغی پوست و در ساخت چسب چوب به عنوان ماده جایگزینی رزین فنل‌فرم آلدئید مصرف می‌شوند. تانن‌های گیاهی به دو گروه بزرگ: تانن‌های متراکم و تانن‌های هیدرولیزشدنی طبقه‌بندی می‌شوند.

تانن‌های متراکم یا پروآنتوسیانیدین‌ها در طبیعت به صورت پلی‌فلاونوئیدهایی هستند با زنجیره‌ای از واحدهای فلاوان تری‌اول. مهم‌ترین گروه پروآنتوسیانیدین‌ها، پروسیانیدین‌ها با زنجیره‌ای از کاتشین یا اپی کاتشین هستند. (شکل ۱) که از طریق اتصال 6-4 یا 8-4 به هم متصل شده‌اند. برخلاف تانن‌های هیدرولیز شدنی، تانن‌های متراکم شرایط اسیدی را تحمل می‌کنند و به صورت فلوبافن بی‌شکل یا تانن‌های قرمز پلی مریزه می‌شوند (۳).

تانن‌های هیدرولیزشدنی مخلوطی هستند از قندهای ساده (نظیر گلوکز) و اسیدهای پلی هیدریک فنولی (نظیر گالیک اسید، هگزاهیدروکسی دی فنیک اسید یا الاژیک اسید) و موادی که از اتصال استری آنها تشکیل شده‌اند (شکل ۲).

گالیک اسید برای مثال در اثر حرارت، گروه کربوکسیل را از دست می‌دهد و به پیروگالول تبدیل می‌شود که در نتیجه آن دارای محل‌های واکنش با فرمالدئید در شرایط قلیایی است. قندها نیز با فرم آلدئید و فنول‌های متیلول واکنش انجام می‌دهند در نتیجه در واکنش‌های رزین‌فرم آلدئید شرکت می‌کنند.

گروگالوز و همکاران (۱۹۹۷) از طریق روش‌های اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی HPLC مقدار تانن‌های هیدرولیزشدنی پوست میوه درخت تارا *(Caesalpinia spinosa)* که یک نوع لگومینوز می‌باشد را قبل و بعد از هیدرولیز مورد بررسی قرار دادند آنها مقدار اسید گالیک را ۵۳/۱ درصد و مقدار الاژی اسید را ۶/۹ درصد برآورد نمودند.

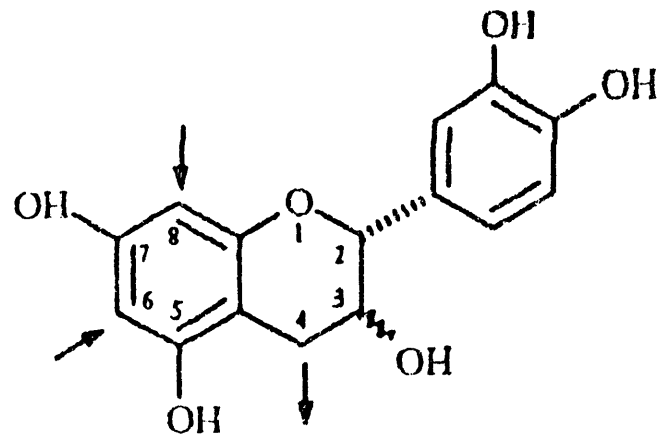
یازاکی و همکاران (۱۹۹۳) از طریق کروماتوگرافی HPLC مواد استخراجی محلول در آب داغ چوب اکالیپتوس *(Eucalyptus pilularis)* را مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که مواد استخراجی چوب اکالیپتوس دارای چهار نوع الاژی تانن D-۱، D-۴، D-۶ و D-۱۳ است که مجموعا ۶۴/۳ درصد مواد را تشکیل می‌دهند و قسمت عمده آنها با ۲۸/۳ درصد از نوع D-۱۳ می‌باشد.

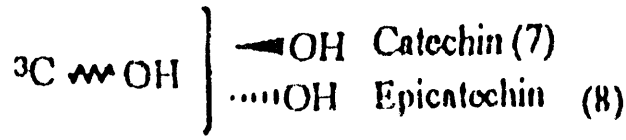
متوسلیان (۱۳۵۹) بر روی درخت بلوط مطالعاتی انجام داده است که مقدار تانن پوست درخت بلوط را ۱۴-۱۳ درصد و مقدار گالیک اسید را ۱/۶ درصد عنوان نموده است.

هدف این بررسی اندازه‌گیری مقادیر تانن متراکم و تانن هیدرولیزشدنی (گالوتانن‌ها والاژی تانن‌ها) و ترکیبات فنولیک فعال موجود در پوست دو گونه توسکا و بلوط با استفاده از روش اسپکتروفتومتری وکروماتوگرافی است.

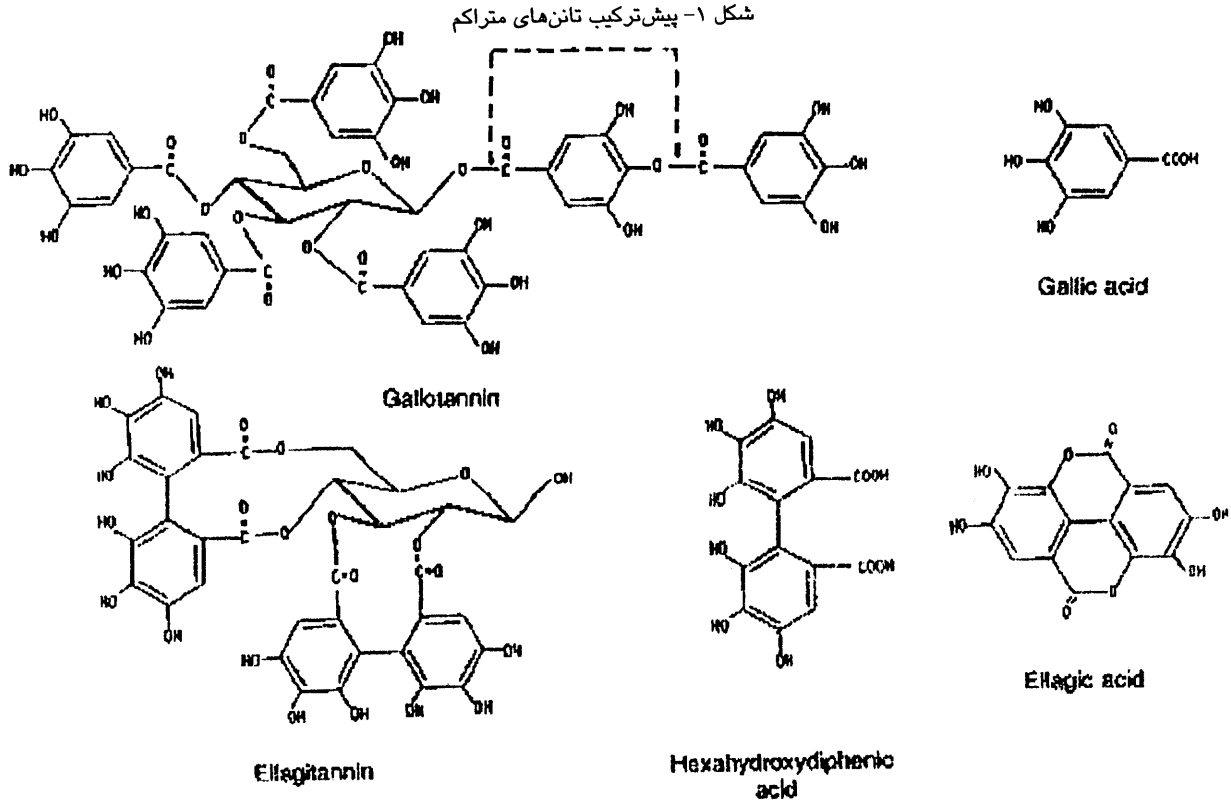
مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از پوست درختان گونه‌های توسکا *(Alnus subcordata)* و بلوط *(Quercus castanifolia)* واقع در منطقه سری ۹ حوزه آبخیز شفارود صورت گرفت. سری ۹ به علت قرارگرفتن در حد ارتفاعی بین ۸۰۰ تا ۲۰۰۰ متر از سطح دریا از نظر کلی و شرایط اکولوژیکی حاکم بر سری رویشگاه راش به شمار می‌آید و تیپ اصلی آن راشستان همراه با گونه‌هایی مانند توسکا، ممرز، پلت، شیردار، بلوط، بارانک و گردو است. درختانی با گروه قطری ۶۰-۳۰ سانتی‌متر انتخاب و در فاصله یک متری از کنده نمونه‌برداری صورت گرفت پوست‌های تهیه شده ابتدا در هوای آزاد خشک و سپس بدون جداسازی پوست داخلی و خارجی بوسیله دستگاه خردکن و آسیاب موجود در کارخانه چوب و کاغذ ایران (چوکا) به آرد پوست تبدیل گردید به منظور جداسازی کرک‌های پوست، آرد پوست از الک ۴۰ مش عبور داده شد.





شکل ۱- پیش‌ترکیب تانن‌های متراکم



شکل ۲- تانن‌های هیدرولیزشدنی (گالوتانن‌ها، الاژی تانن‌ها)

برای اندازه‌گیری درصد ترکیبات فنولی فعال ابتدا مواد استخراجی در شرایط قلیایی (سود۱٪) (۱۰:v/w) و دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت استخراج و سپس مطابق روش استیاسنی (Hillis and urbach 1959, Hillis and yazaki 1980, Voulgaridis 1985, Galvez and Riedl 1997) اندازه‌گیری شد. در این روش ۱۰ml محلول فرمالین ۳۷درصد و 5ml اسیدکلریدریک۳۸ درصد را به ۵۰ ml محلول استخراجی با غلظت ۰/۴ درصد اضافه کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط رفلاکس قرار داده شده است. مواد جامد به‌وسیله کاغذ صافی از محلول جداسازی شده و پس از شستشو با آب مقطر در درجه حرارت ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد اتوخشک و توزین گردید. واکنش‌پذیری مواد از طریق فرمول ذیل محاسبه گردیده است.

$$Sy\%=A/B*100$$

Sy = عدد استیاسنی (٪)؛

A = وزن خشک ماده جامد (گرم)؛

B = وزن خشک ماده استخراجی موجود در ۵۰ml محلول با غلظت ۰/۴ درصد (گرم).

با توجه به اینکه در ماده استخراجی سود وجود دارد برای تصحیح و برآورد صحیح ترکیبات فنولی فعال از فرمول زیر استفاده شده است.

$$S'y=Sy*Ys/Y$$

Ys= بازده مواد استخراجی دارای سود(٪)؛

Y = بازده مواد استخراجی بدون سود (٪)؛

S'y = استیاسنی تصحیح شده (٪).

اندازه‌گیری تانن متراکم

در این روش از کروماتوگرافی ستونی با ماده سفادکس LH-20 مطابق روش (Hagerman 1998) استفاده شده است. اصول کلی مبتنی بر این واقعیت است که سفادکس LH-20 تانن را در الکل جذب می‌کند و آن را در محلول استون رها می‌سازد؛ کروماتوگرافی با سفادکس برای جداسازی تانن از ترکیبات فنولیک غیرتاننی یا تانن‌های هیدرولیزشدنی مفید است. برای اندازه‌گیری مقدار تانن متراکم مواد استخراجی پوست گونه‌های توسکا و بلوط، مقدار یک گرم از مواد استخراجی هر یک از گونه‌ها را در ۱۰ ml الکل ۸۰ درصد ریخته و آنقدر همزده شد تا ماده جامد و به هم چسبیده‌ای در ته ظرف باقی نماند. سپس به مدت یک شب بدون هم‌زدن در داخل یخچال گذاشته شد تا ته‌نشین گردد. به ۲۵ گرم سفادکس مقداری اتانل ۸۰ درصد اضافه گردید تا حجم آن به ۱۰۰ ml برسد. ذرات را به آرامی هم‌زده تا به راحی خیس بخورد پس از ته‌نشین شدن به آرامی ذرات از محلول جداسازی و جهت استفاده بعدی در یخچال ذخیره گردید.

در مرحله بعد سوسپانسیون مواد استخراجی هر یک از گونه‌ها با استفاده از کاغذ صافی صاف شد و به مدت ۳ دقیقه به وسیله مگنت همزده شد و از یک صافی شیشه‌ای زبر عبور داده شد. اگر تانن به مدت طولانی با سفادکس LH-20 مخلوط شود، قیر قهوه‌ای حاصل را مشکل می‌توان از سفادکس جداسازی کرد. سفادکس LH-20 با اتانل ۹۵ شستشو داده شد تا جذب در طول موج۲۸۰ nm به صفر برسد. برای جداکردن تانن متراکم سفادکس را با محلول استون ۵۰ درصد شستشو دادیم و محلول را ذخیره نموده عمل شستشو را ادامه دادیم تا سفادکس سفید شود و محلول تقریبا بی‌رنگ گردد. استون را در درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد از طریق تبخیر در فشار کم خارج می‌کنیم و سپس تانن متراکم را به وسیله اتیل استات استخراج می‌کنیم.

اندازه‌گیری گالیک اسید

اندازه‌گیری گالیک اسیدمطابق روش (Hagerman and Inoue 1988) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل ۶۹۰ انجام گرفت. در این روش مقدار ۵۰ میلی‌گرم از مواد استخراجی پوست هر یک از گونه‌های بلوط و توسکا را با ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال در داخل لوله آزمایش ریخته و در داخل یخچال منجمد کردیم. لوله‌ها را در خلا بسته و به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم. سپس لوله‌های آزمایش را سرد کرده محتویات آنها را با آب مقطر به ۵۰ml رساندیم. ۱/۵ میلی‌لیتر محلول ردانین (۰/۶۶۷ گرم ردانین در ۱۰۰ ml

متانل) و یک میلی‌لیتر از نمونه را با هم مخلوط کرده و درست بعد از ۵ دقیقه مقدار یک میلی‌لیتر محلول پتاس ۰/۵ نرمال به آن اضافه کردیم و بعد از ۲/۵ دقیقه محلول با آب مقطر به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و ۵ تا ۱۰ دقیقه به‌وسیله اسپکتروفتومتر مقدار جذب در طول موج ۵۲۰nm خوانده شد. مقدار جذب را در داخل معادله رگرسیونی (y=۰/۲۹۵x-۰/۰۲۵۲) حاصل از گالیک اسید استاندارد و مقدار جذب قرار داده و مقدار گالیک اسید مواد استخراجی نمونه را محاسبه کردیم.

اندازه‌گیری الاژیک اسید

اندازه‌گیری الاژیک اسید مطابق روش (Hagerman and Wilson 1990) صورت گرفته است. در این روش مقدار ۱۰ میلی‌گرم از مواد استخراجی پوست هر یک از گونه‌های بلوط و توسکا رابا یک میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال را در داخل لوله آزمایش ریخته و در داخل یخچال منجمد می‌کنیم. لوله آزمایش را در خلا بسته و به مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم پس از سردشدن لوله‌ها را باز کرده و محتویات را با پیریدین به ml ۱۰ رساندیم. سپس ۱/۱ میلی‌لیتر از پیریدین و ۱ میلی‌لیتر از نمونه را مخلوط کرده و در داخل لوله آزمایش ریختیم. سپس به آن ۰/۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ اضافه شد. پس از مخلوط‌کردن نمونه با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول یک درصد (نیتریت سدیم در آب) فورا جذب آن در طول موج ۵۳۸nm خواند و ثبت گردید. برای بار دوم پس از ۳۶ دقیقه نگهداری در ۳۰ درجه سانتی‌گراد دوباره جذب در همان طول موج خوانده شد. اختلاف بین شدت دو جذب (ΔA) نسبتی از غلظت الاژیک اسید می‌باشد. با استفاده از معادله رگرسیونی حاصل از الاژیک اسید استاندارد واختلاف جذب (ΔA۵۳۸=۰/۰۳x-۰/۰۴) مقدار الاژیک اسید نمونه محاسبه گردید.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری درصد مواد استخراجی در شرایط قلیایی و مقدار ترکیبات فنولی فعال که براساس عدد استیاسنی برآورد شده است در جدول ۱ درج گردیده است.

جدول ۱- مقایسه میانگین استخراج قلیایی و ترکیبات فنولی بین دو گونه توسکا و بلوط

گونه	راندمان باسود Ys	استیاسنی Sy	راندمان بدون سود Y	استیاسنی اصلاح S'y	ترکیبات فنولی فعال ٪
توسکا	۳۲/۲۵	۵۹/۹۰	۲۱/۴۴	۹۰/۲۸	۱۹/۳۵
بلوط	۳۴/۷۵	۴۸/۵	۲۴/۰۷	۷۰/۰۲	۱۶/۸۵

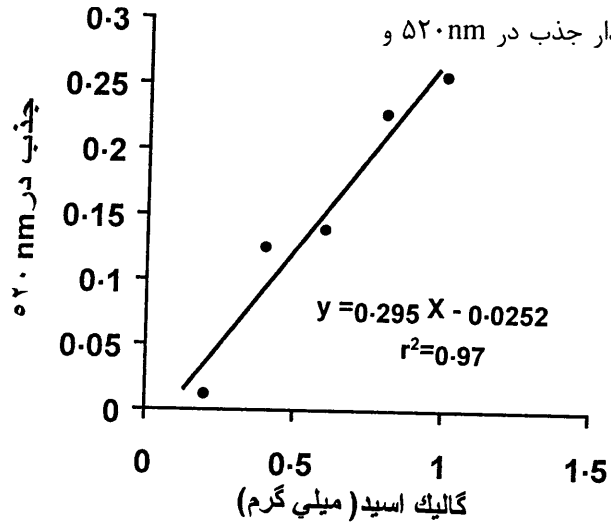
برای تعیین غلظت تانن در مواد استخراجی روش‌های تجزیه‌ای گوناگونی وجود دارد. این روش‌ها عموما به دو دسته بزرگ تقسیم‌بندی می‌شوند. دسته اول روش‌هایی که درک آنها براساس درصد رسوب مواد استخراجیّ درفرآیند دباغی چرم است. عملکرد این روش‌ها براساس اتصال تانن‌ها به پروتئین می‌باشد. محدودیت آنها در تشخیص مونوفلاونوئیدها، بی‌فلاونوئیدها یا مواد فنولیک غیرتاننی است که در مواد استخراجی موجود است. روش پذیرفته شده در این مورد روش گرد پوست است. دسته دوم روش‌هایی هستند که تشخیص آنها براساس درصد مواد استخراجی است که می‌توانند با فرم‌آلدئید واکنش انجام دهند. روش استیاسنی روش پذیرفته شده در این مورد است که براساس واکنش ساختمان فلاونوئیدی تانن متراکم با فرم آلدئید است هر یک از روش‌ها برای تشخیص میزان تانن در شرایط خاصی کاربرد دارند .

در اینجا برای تشخیص تانن‌های هیدرولیزشدنی (گالوتانن‌ها والاژی تانن‌ها) از روش اسپکتوفتومتری و در مورد تانن متراکم از روش کروماتوگرافی ستونی استفاده شده است.

گالوتانن‌ها

روش معتبر برای تجزیه کمی گالوتانن‌ها کاربرد ردانین است. ردانین با گروه‌های هیدروکسیل گالیک اسید واکنش انجام داده و کمپلکس قرمزرنگی را در بیشترین جذب ۵۲۰nm تشکیل می‌دهد. ردانین فقط با گالیک اسید آزاد واکنش می‌دهد و با استرهای گالیک اسید والاژیک اسید یا

دیگر مواد فنولیک موجود در مواد استخراجی واکنش انجام نمی‌دهد. معادله رگرسیون بین مقدار جذب در ۵۲۰nm و گالیک اسید استاندارد مطابق شکل ۳ به‌دست آمده است.

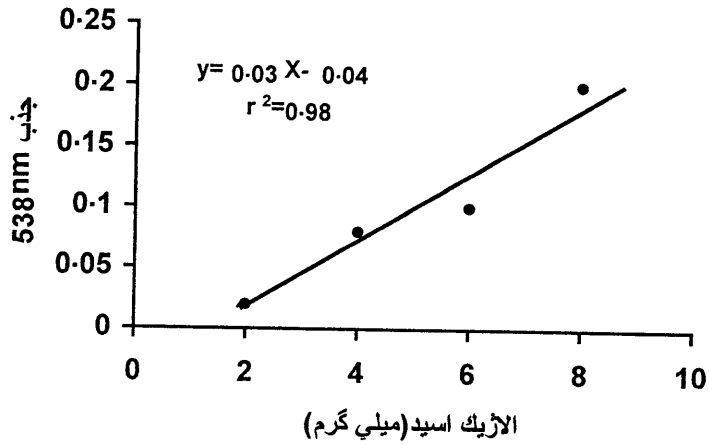


شکل ۳- رابطه رگرسیونی بین گالیک اسید ومقدار جذب در ۵۲۰nm

الاژی تانن‌ها

روش اسپکتروفتومتری برای تعیین مقدار الاژیک اسید براساس تشکیل ماده رنگی است. ماده رنگی از طریق واکنش نمونه محلول در پیریدین بانیتریت سدیم در ۳۰ درجه سانتی‌گراد در حضور اسید کلریدریک به‌عنوان کاتالیزور تشکیل می‌شود واکنش به‌صورت انتخابی فقط با الاژیک اسید آزاد صورت می‌گیرد و با دیگر مواد فنولیک متداول نظیر گالیک اسید، استرهای الاژیک اسید و پروآنتوسیانیدین و فلاونوئیدها صورت نمی‌گیرد.

معادله رگرسیون بین مقدار اختلاف جذب در ۵۳۸nm و الاژیک اسید استاندارد مطابق شکل ۴ به‌دست آمده است.



شکل ٤- رابطه رگرسیون بین الاژیک اسید و اختلاف جذب در ۵۳۸nm

نتایج حاصل از اندازه‌گیری تانن‌ها متراکم و هیدرولیزشدنی (الاژیک اسید و گالیک اسید) در جدول ۲ درج شده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد تانن‌های هیدرولیزشدنی و متراکم بین گونه توسکا و بلوط

تانن / گونه	الاژیک‌اسید	گالیک‌اسید	متراکم	جمع
توسکا	۳۵/۳	۳/۲	۶/۳	۴۴/۸
بلوط	۴۳	۳	۴/۲	۵۰/۲

بحث و نتیجه‌گیری

ترکیبات فنولی فعال ترکیباتی هستند که در شرایط اسیدی با فرم‌آلدئید واکنش انجام داده و رسوب می‌نمایند. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود. عدد استیاسنی برای مواد استخراجی پوست توسکا و بلوط به ترتیب ۹۰/۲۸ و ۷۰/۰۲ درصد است در نتیجه با ضرب‌کردن عدد استیاسنی در راندمان، مقدار ترکیبات فنولی فعال در پوست توسکا (۱۹/۳۵درصد) و بلوط (۱۶/۸۵ درصد) به‌دست آمده است.

همان‌طوری‌که در جدول ۲ مشاهده می‌شود مقدار الاژیک اسید مواد استخراجی پوست بلوط و توسکا به ترتیب ۴۳ و ۳۵/۳ درصد است که نشان‌دهنده بالابودن مقدار الاژیک اسید درهر دو گونه به‌خصوص بلوط است. اندازه‌گیری گالیک اسید مواد استخراجی بلوط و توسکا به ترتیب ۳ و ۳/۲ درصد حاکی از آن است که تفاوتی از نظر مقدار گالیک اسید در بین آنها وجود ندارد. مقدار به‌دست آمده در مورد تانن متراکم مواد استخراجی بلوط و توسکا ۴/۲ و ۶/۳ درصد است که نشان‌دهنده این است که مقدار تانن متراکم توسکا بیشتر از بلوط است. درصورتی‌که مقدرا تانن هیدرولیز شدنی بلوط (۴۶ درصد)نسبت به توسکا (۳۸/۵ درصد) بیشتر است. همان‌طوری‌که مشاهده می‌شود درصد کلی تانن مواداستخراجی پوست بلوط و توسکا به‌ترتیب ۵۰/۲ و ۴۴/۸ درصد است که با توجه به بازده استخراج (جدول ۱) این درصد برای پوست بلوط و توسکا به‌ترتیب ۱۲ و ۹/۶ درصد است. با توجه به مقدار تانن هیدرولیز شدنی و تانن متراکم مشخص می‌شود که تانن غالب در هر دو گونه از نوع هیدرولیزشدنی می‌باشد.

به‌طورکلی از این بررسی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که درصد تانن پوست درختان بلوط و توسکا در شرایط استخراج قلیایی (سود۱درصد) با نسبت حلال به ماده جامد (۱۰:۱v/w) به مدت یک ساعت در درجه حرارت ۹۰ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۱۲ و ۹/۶ درصد می‌باشد. در صورتی‌که نتایج منتشره در مورد پوست درخت بلوط *Q.ilex* مقدار ۱۴-۱۳ درصد و *Q.coccifera* مقدار ۱۸-۱۴ درصد را نشان می‌دهد که بیشتر از گونه‌های دیگر است و به همین دلیل از آنها در دباغی استفاده می‌شود. در مورد پوست درخت *Q.Ilba* مقدار ۱۱ درصد گزارش شده است اما به‌طور کلی پوست درختان بلوط با کیفیت بالای دارای ۱۴-۱۲ درصد تانن می‌باشد. در مورد توسکا، نتایج منتشره شده برای تانن پوست *Alnus nepalensis* مقدار ۷ درصد و در مورد *Alnus glutinosa* مقدار ۱۶-۹ درصد را نشان می‌دهد. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهند پوست هر دو گونه بلوط و توسکا دارای تانن‌های متراکم و تانن‌های هیدرولیزشدنی هستند در صورتی‌که مقدار تانن هیدرولیزشدنی (الاژی تانن‌ها) خیلی بیشتر از تانن‌های دیگر است که این نتیجه کارهای انجام شده توسط آگوستین اسکالبرت (۱۹۸۸) بر روی *Q.robur* (۱۶) و هیروکی نیشیموراد (۱۹۸۶) بر روی *Q.stenophylla*(۱۵) را تائید می‌کند.

بنابراین تانن موجود در پوست بلوط و توسکا، همانند تارا (۳) و اکالیپتوس (۱۸) از نوع تانن هیدرولیزشدنی (الاژی تانن‌ها) هستند.

منابع

۱-متوسلیان محمود، ۱۳۵۹. اندازه‌گیری مواد مستخرجه بلوط برای ارزش غذایی و دارویی آن. دانشگاه تهران، دانشکده داروسازی. پایان‌نامه دکتری.

۲-میرشکرایی سیداحمد، ۱۳۷۳. شیمی و تکنولوژی چسب چوب (ترجمه)، مرکز نشر دانشگاهی. تهران، ص ۳۵۰.

3-Garro Galvez, J.M. B. Riedl & A.H. Conne, 1997. Analytical studies on Tara tannins, Holzforschung, vol.51, No. 3:235-243.

4-Garro Galvez, J.M., M.Fechtal, B. Riedl, 1996. Gallic acid as a model of tannins in condensation with formaldehyde thermochimica Act, 274, 149-163.

5-Hagerman, A.E and K.H. Inoue, 1988. Determination of gallotannins with rhodanine. Anal, biochem. 169:363-369.

6-Hagerman, A. E. and T.C. Wilson,1990. Quantitative dtermination of ellaqic acid J.Agric. Food chem. 38 (8): 167-183.

7-Hillis, W.E. and G.Urbach, 1959. Reaction of polyphenols with formaldehyde. J. Appl. Chem. 1:665-673 .

8-Hillis, W. E, and Y.Yazaki, 1980. Moleculr size distribution of radiata pine bark extracts and Its effect onproperties. Holzforschung. 34:125-130.

9-http/miavx 1.muohio.edu/ hagermae/purif/Quebrach. html.

10-http/ healing tools. Tripod. Com/ wtokbk. htm1.

11-http/palimpset. Stanford. Edu/don/dt/dt2349.html.

12-http/www.hort. purdue.newcrop/duke-energy/Alnus-nepalensis.html.

13-http/palinosest /stabford. Edu/don/dt/dt0073.html.

14-Masquelier. J., 1969. Representative constituents and percentages of pine bark pycnogenol as Determinationby Hplc Analysis. United states patent No. 3, 436-407.

15-Nishimura, H, G.Ichiro Nanako and I. Nishioka, 1986. Scyllo-Queritol gallates and hexahydroxy diphenoates from Quercus Stenophylla, Phytochemistry, Vol. 27, No. 11: 2599-2604.

16-Scalbert, Scalbert, A, B. Monties and J.Michel Favre, 1988. poly phenols of Quercus robur: Adult tree and invitro grown calli and shoots, phytochemistry, Vol. 27, No. 11: 3483-3488.

17-Voulgaridis, E, A. Grigoriu & C.passialis, 1985. Investigation on bark extractives of pinus halepensis mill. Holz Roh-Werkstoff 43:269-272.

18-Yazaki. Y, P.J. Collins and Iwashina, 1993. Extractives from black butt (*Eucalyptus pllularis*) wood which affect Glue bond Quality of phenolic Resins/Holzforschung, 47:5:412-418.

Spectrophotometrical Study on Bark's Tannin of Alder and Oak Trees

J. Torkaman[1] K. Doos Hosseini[2] S.A. Mirshokraie[3]

Abstract

In this study, bark of alder (*Alnus subcordata*) and oak (*Quercus castanifolia*) were extracted by 1% alkali (1:10 w/v) at 90°C for one hour. Net yield of extractions were 21.44% for alder and 24.07% for oak. According to Stiasny number obtained for alder (90.28) and oak (70.02), the value of active polyphenolic compounds for the two species were estimated to be 19.35 and 16.85%, respectively. The amounts of condensed tannin were determined by column chromatography packed with sephadex LH-20 and found to be 6.3% and 4.2%, respectively. The results showed that condensed tannin in alder is 50% more than that in oak. The hydrolysable tannins (gallotannin and ellagitannin) were also estimated by spectrophotometry method. The high amount of ellagic acid in oak and alder extractives (respectively 43% and 35.3%), indicates that most of the tannin in these species are hydrolysable.
In general, the bark of oak and alder contained 21% and 6.9% tannin, respectively.

Keywords: Condensed tannin, Hydrolysable tannin, Stiasny number, Ellagic acid, Gallic acid, Sephadex LH-20, Spectropotometry.

[1] -*Ph.D. Graduate, Univ. of Tehran*

[2] -*Professor, Univ. of Tehran*

[3] -*Assoc. Prof., Payam-e-Noor University*