

بررسی تانن پوست درختان صنوبر اورامریکن و دلتوئیدس

جواد ترکمن¹، شهره سیام²

چکیده

پوست درختان جنگلی دارای ترکیباتی هستند که قسمت عمده آن را تانن تشکیل می دهد. تاننها از چندین نوع ترکیب شیمیایی با ماهیت پلیمری و پلی فنولی تشکیل شده اند که به علت طعم تلخ و اثر قابض و قابلیت واکنش با پروتئین پوست، دارای کاربرد پزشکی و صنعتی می باشند. هدف از این بررسی اندازه گیری راندمان استخراج، میزان ترکیبات فنولی فعال و تانن موجود در پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن می باشد. در این بررسی برای برآورد راندمان استخراج مطابق آیین نامه T204 om-88 روش استاندارد TAPPI با استفاده از سوکسله طی سه مرحله با حلال های استن، الکل ۹۵ درصد و آب داغ و همچنین با استفاده از حمام بن ماری به تنهای با حلال سود ۱ درصد (۱:۱۰ w/v) و به مدت یک ساعت در درجه حرارت ۹۰ درجه سانتی گراد عصاره گیری شد. جهت دستیابی به ترکیبات فنولی فعال مواد استخراجی از روش استیاسنی استفاده شد. اندازه گیری تانن متراکم مطابق روش هگرم (۱۹۹۸) با استفاده از ستون کروماتوگرافی و ماده سفادکس LH-20 و برای اندازه گیری تانن های قابل هیدرولیز از محلول یک درصد آبی کلرور فریک استفاده شد. راندمان خالص استخراج پوست صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن ۱۲/۵ و ۱۹/۲ درصد پوست خشک به دست آمد. که با توجه به عدد استیاسنی ۴۲ و ۵۲ درصد میزان ترکیبات فنولی فعال به ترتیب ۵/۲۵ و ۹/۹۸ درصد پوست خشک برآورد شد. میزان تانن پوست به ترتیب ۱/۳ و ۱/۲ درصد پوست خشک است که میزان تانن متراکم آنها به ترتیب ۰/۲۴ و ۰/۴۵ درصد و تانن های قابل هیدرولیز ۱/۰۶ و ۰/۷۵ درصد برآورد گردید. با توجه به نتایج حاصل میزان مواد استخراجی پوست صنوبر اورامریکن ۵۴ درصد بیشتر از دلتوئیدس است. میزان ترکیبات فنولی فعال و تانن متراکم آن نیز دو برابر دلتوئیدس می باشد.

واژه های کلیدی: صنوبر دلتوئیدس، اورامریکن، عدد استیاسنی، سفادکس LH-20، تانن متراکم، تانن قابل

هیدرولیز

1- استادیار گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان j_torkaman@yahoo.com

2- مربی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان

مقدمه

تانن در معالجه سوختگی‌ها با پروتئین‌های قشر خارجی پوست تشکیل یک ماده ضعیف ضد عفونی کننده می‌دهد و بدین وسیله قشر محافظی برای آن لایه به وجود می‌آورد. گروه‌های فنولی تانن‌ها قابض بوده و همچنین خاصیت ضد عفونی کننده داشته و نیز با نمک‌های آهن ایجاد رنگ می‌کنند. تانن‌ها دارای اثر ضد سرطان نیز هستند. برای مثال الاژیک اسید ترکیبی فنولی است که در پوست، دانه‌ها و میوه‌های خاصی وجود دارد و دارای اثر ضد جهش و ضد سرطان بوده و مانع رشد سلول‌های سرطانی می‌شود. در صنعت از گذشته‌های دور تبدیل پوست حیوانات به چرم به وسیله مواد استخراجی قابل حل در آب گیاهان در فرایند دباغی مرسوم بوده است. تانن مورد مصرف در صنعت دباغی را می‌توان به دو دسته کاتکول و پیروگالول تقسیم بندی کرد که با استفاده از هر کدام می‌توان چرم خاصی را از نظر محکمی، نرمی، طراوت، سبکی یا سنگینی به وجود آورد. کاتکول‌ها (تانن‌های متراکم) به شدت قابض هستند و سریع تر از پیروگالول‌ها عمل دباغی را انجام می‌دهند. این ترکیب‌ها به صورت رسوب قرمز رنگی که به عنوان قرمزها یا فلوبافن‌ها شناخته شده هستند ته نشین می‌شوند و توده‌هایی سختی به رنگ قهوه‌ای تیره یا قرمز و صورتی تولید می‌کنند. همچنین در ترکیب با املاح آهن لکه‌های سبز تیره ایجاد می‌کنند. پیروگالول‌ها (تانن‌های قابل هیدرولیز) به صورت رسوب کم رنگی که الاژیک اسید نامیده می‌شود در چرم باعث بهبود خواص مقاومت به ساییدگی و رطوبت می‌شود. از این جهت برای تولید چرم کفش، چرم صحافی کتاب، روکش مبلمان که در آنها دوام و طول عمر اهمیت دارد مناسب می‌باشد. رنگ چرم تولیدی از کرم یا زرد تا قهوه‌ای روشن متغیر است. پیروگالول‌ها در ترکیب با املاح آهن لکه‌های آبی سیاه ایجاد می‌کنند. سماق، شاه بلوط، گال‌های بلوط و چوب و پوست بلوط دارای مقدار قابل توجهی پیروگالول می‌باشند [3]. نوع و مقدار مواد استخراجی پوست ارتباط نزدیکی با گونه و حلال مصرفی دارد (جدول 1).

جدول 1- مواد قابل استخراج از پوست و چوب درون به وسیله حلال‌های مختلف

حلال					
نوع ماده استخراجی	اتر نفت	اتیل اتر	اتانل	آب داغ	محلول قلیایی
ترین ها ، چربیها ، موم‌ها	*	*	*	*	*
فلاون‌ها		*	*		*
فلاونول‌ها		*	*	*	*
استیلین‌ها		*	*	*	*
پروآنتوسیانیدین‌ها		*	*	*	*
لیگنین قابل حل			*	*	*
قندهای ساده				*	*
پکتین				*	*
آرابینوگالاکتان‌ها				*	*
زابلن‌ها				*	*
خاکستر (اکسالات و غیره)				*	*
اسیدهای پلی فنولی				*	*
لیگنین				*	*

واژه ترکیبات فنولی شامل تعداد زیادی از مواد موجود در گیاه بوده که همگی دارای یک حلقه عطری هستند که بر روی آن یک یا چند عامل هیدروکسیل قرار دارد. تانن‌ها به ترکیبات فنولی تعلق داشته و تمام ترکیبات فنولی از شیکیمیک اسید مشتق شده و به فنیل پروپانویید نیز معروف هستند. روش مشابهی نیز جهت تشکیل فنول‌های دیگر نظیر ایزوفلاون‌ها، کومارین‌ها، لیگنین‌ها و آمینواسیدهای آروماتیک (تریپتوفان، فنیل آلانین و تیروزین) وجود دارد.

تانن‌ها معمولاً به دو گروه تقسیم می‌شوند: تانن‌های هیدرولیزشدنی (گالوتانن‌ها و الازی تانن‌ها) و تانن‌های متراکم که بیشتر به پروآنتوسیانیدین‌ها معروفند و به تخریب هیدرولیتیک مقاوم هستند. روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی موجود در گیاهان استفاده شده است که به برخی از آنها اشاره می‌شود.

نظرنژاد (1375) در یک بررسی میزان مواد استخراجی چوب صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن را 0/84 و 1/4 درصد برآورد نموده است [4].

نی شی مورا و نوناکا و نی شی اوکا¹ (1986) گالوتانن‌ها و الازی تانن‌های پوست بلوط² را مورد بررسی قرار دادند و از طریق روش‌های شیمیایی و اسپکتروسکوپی NMR ساختمان آنها را بر پایه Scyllo-quercitol شناسایی کردند [10].

لانکز و همینگوی³ (1987) بر روی تانن متراکم پوست درخت کاج⁴ در شرایط قلیایی مطالعاتی انجام دادند و ساختمان اسیدهای فنولی را از طریق ¹³C NMR مورد شناسایی قرار دادند و نتیجه گرفتند که تانن‌های از نوع فلوروگلوکوسینولی به علت واکنش پذیری بالا با فرم آلدیید کمتر در تهیه چسب به کار می‌روند [9].

فیور و مونتیز و اسکالبرت⁵ (1988) پوست، چوب، برگ و ریشه درخت بلوط⁶ را به وسیله حلال متانل مورد استخراج قرار دادند و از طریق کروماتوگرافی کاغذی و HPLC پلی فنول‌ها را شناسایی کردند. بیشتر آنها از پروآنتوسیانیدین و الازییک اسید تشکیل شده‌اند که در پوست، چوب درون و برگ‌های درخت بلوط به مقدار زیادی مشاهده شده است [11].

هدف از این بررسی اندازه‌گیری راندمان استخراج، میزان ترکیبات فنولی فعال و تانن موجود در پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن می‌باشد.

¹ Nishioka, Nonaka, Nishimura

² Quercus stenophylla

³ Lunks, Hemingway

⁴ Loblolly pine

⁵ Favre, Monties, Scalbert

⁶ Quercus robur

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از پوست گونه صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن در مرکز تحقیقات صفرا بسته گیلان انجام گرفت. این منطقه در 6 کیلومتری شمال غربی آستانه اشرفیه واقع است و طول جغرافیایی آن 55° و 45° شمالی و عرض جغرافیایی آن 17° و 37° شرقی و ارتفاع آن از سطح دریا 10 متر می‌باشد. با توجه به این که قطر درخت و ارتفاع نمونه‌برداری پوست از درخت تاثیر تعیین کننده‌ای بر درصد کلی مواد استخراجی ندارد [2] برای این تحقیق درختانی با گروه قطری 30 تا 60 سانتی‌متر انتخاب و در فاصله یک متری از سطح زمین نمونه‌برداری انجام گرفت. ابتدا پوست‌های تهیه شده در هوای آزاد خشک شده و سپس بدون جدا سازی پوست داخلی و خارجی به وسیله 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 40 مش عبور داده شد.

اندازه‌گیری مواد استخراجی

عصاره‌گیری از پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن بر طبق روش استاندارد TAPPI (T204om-88) انجام گرفت که شامل سه مرحله استخراج با استن، الکل و آب در داخل دستگاه سوکسله است [12] بود. در این روش 10 گرم از آرد پوست هر یک از گونه‌ها در داخل کارتوش دستگاه سوکسله ریخته شد. پس از وصل کردن سوکسله به بالن محتوی 300 سی‌سی سی‌سی حلال، دستگاه بر روی گرمکن (هیتر) مستقر گردید. عمل بخار شدن و مجدداً مایع شدن و عبور از نمونه باعث استخراج مواد قابل حل در حلال می‌شود. مدت زمان استخراج بستگی به سرعت تبخیر حلال و مواد موجود در نمونه دارد. این زمان معمولاً برای استن و الکل کمتر و برای آب بیش از 3 ساعت است. پس از جداسازی مواد از حلال توسط دستگاه تبخیر در خلاء و خشک کردن آن، نسبت مواد استخراجی به آرد پوست نشان دهنده درصد مواد استخراجی نمونه است.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی فعال مواد استخراجی

در ابتدا عصاره‌گیری با استفاده از سود سوزآور (هیدروکسید سدیم) 1% به مدت یک ساعت در درجه حرارت 90 درجه سانتی‌گراد در داخل حمام بن ماری انجام شد. سپس ترکیبات فنولی فعال مواد استخراجی از طریق واکنش پذیری مواد استخراجی با فرم آلدید مشخص گردید که به روش عدد استیاسنی معروف است. در این روش 10 میلی‌لیتر محلول فرمالین 37 درصد و 5 میلی‌لیتر اسید کلریدریک 38 درصد به 50 میلی‌لیتر محلول استخراجی فوق با غلظت 0/4 درصد اضافه شده و به مدت 30 دقیقه در شرایط رفلاکس قرار داده شد. مواد جامد به وسیله کاغذ صافی از محلول جداسازی شده و پس از شستشو با آب مقطر در درجه حرارت 105°C خشک و توزین شد. عدد استیاسنی ترکیبات فنولی با استفاده از فرمول زیر محاسبه

گردید [13].

$$Sy = \text{عدد استیاسنی} = \frac{A}{B} \times 100$$

A = وزن خشک ماده جامد (گرم)

B = وزن خشک ماده استخراجی موجود در 50 میلی لیتر محلول با غلظت 0/4 درصد با توجه به این که

در محلول علاوه بر مواد استخراج شده ماده هیدروکسید سدیم نیز وجود دارد، لذا جهت تصحیح و برآورد صحیح ترکیبات فنولی فعال از فرمول زیر استفاده شده است.

$$YS = \text{راندمان استخراج با در نظر گرفتن هیدروکسید سدیم موجود در محلول} = Sy \times \frac{YS}{Y}$$

Y = راندمان استخراج بدون در نظر گرفتن هیدروکسید سدیم موجود در محلول

Sy' = عدد استیاسنی تصحیح شده

اندازه گیری تانن های متراکم و قابل هیدرولیز مواد استخراجی

در این روش از کروماتوگرافی ستونی با ماده سفادکس LH-20 مطابق روش آسکویت و باتلر¹ (1985) [5] و هگرم (1988) [8] استفاده شده است. در این روش سفادکس LH-20 تانن ها را در الکل جذب کرده و آنها را در محلول استن رها می سازد. کروماتوگرافی با سفادکس برای جداسازی تانن های متراکم از تانن های قابل هیدرولیز مفید است. برای اندازه گیری مقدار تانن متراکم مواد استخراجی پوست گونه های صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن مقدار یک گرم از مواد استخراجی هریک از گونه ها را در 10 میلی - لیتر الکل اتانل 80 درصد ریخته شد. محلول پس از مخلوط کردن دستی، به مدت 24 ساعت، در دمای 5°C قرار داده شد..

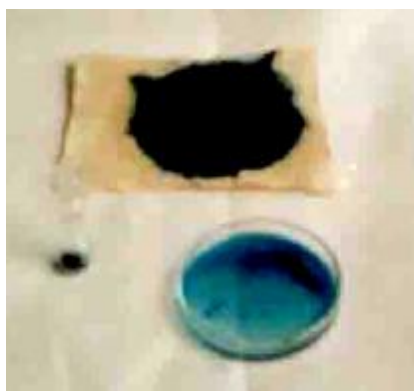
به 25 گرم سفادکس اتانل 80 درصد اضافه گردید تا حجم آن به 100 میلی لیتر برسد. ذرات پس از ته نشین شدن از محلول جدا شدند. عمل شستشو ذرات با اتانل سه بار تکرار شد و جهت استفاده بعدی در یخچال ذخیره گردید.. جهت آزمایش، سوسپانسیون مواد استخراجی هر یک از گونه ها پس از عبور از کاغذ صافی به مخلوط سفادکس LH-20 و اتانل 80 اضافه گردید. محلول پس از 3 دقیقه هم زدن در داخل ستون کروماتوگرافی ریخته شد. سفادکس LH-20 با اتانل 95 درصد شستشو داده شد تا جذب در طول موج 280 نانومتر به صفر برسد. برای این که اگر تانن به مدت طولانی با سفادکس مخلوط شود قیر قهوه ای حاصل را مشکل می توان از سفادکس جداسازی کرد، بنابراین سریعاً سفادکس با محلول استن 50 درصد شستشو داده شد تا سفید گردد. تانن متراکم در درجه حرارت 30°C از طریق تبخیر در فشار کم از محلول استن خارج و به وسیله اتیل استات خالص سازی گردید.

¹ Asquith and Butler



شکل ۱- ستون کروماتوگرافی با سفادکس LH-20 شکل ۲- رنگ سبز ناشی از واکنش تانن متراکم با کلرور فریک

برای اندازه‌گیری تانن‌های قابل هیدرولیز از محلول یک درصد آبی کلرور فریک استفاده شد. پس از جداسازی تانن‌های متراکم از طریق سفادکس، کلرور فریک با تانن‌های قابل هیدرولیز محلول استخراجی تشکیل رسوب آبی رنگ می‌دهد که پس از جداسازی با کاغذ صافی و خشک کردن تحت خلاء رسوب حاصل توزین گردید (شکل ۳). تانن‌های متراکم نیز در تماس با محلول کلروفریک رسوب سبز رنگ تولید می‌کنند (شکل ۲).



شکل ۳- رنگ آبی ناشی از واکنش تانن‌های قابل هیدرولیز با کلرور فریک

تجزیه و تحلیل آماری

جهت مقایسه نتایج حاصل از اندازه‌گیری درصد مواد استخراجی، ترکیبات فنولی و تانن بین پوست دو گونه صنوبر از آزمون t-student در سطح احتمال ۹۵ درصد استفاده شده است.

نتایج

نتایج حاصل از اندازه‌گیری درصد کلی مواد استخراجی پوست هر یک از گونه‌های مورد بررسی بر طبق روش استاندارد در جدول 1 و توسط سود 1% در جدول 2 مندرج است.

جدول 1- راندمان استخراج مطابق آئین نامه T204om-88 استاندارد Tappi

پوست	استن %	الکل %	آب داغ %	راندمان استخراج %
صنوبر دلتوئیدس	3	2	7/2	12/2
صنوبر اورامریکن	6/4	3	8/3	17/7

جدول 2- راندمان استخراج با استفاده از محلول سودسوزآور 1%

پوست	راندمان استخراج با احتساب سود %	راندمان استخراج بدون احتساب سود %
صنوبر دلتوئیدس	22/5	12/5
صنوبر اورامریکن	29/2	19/2

نتایج حاصل از اندازه‌گیری ترکیبات فنولی فعال از طریق واکنش پذیری با فرم آلدیید در جدول 3 درج شده است.

جدول 3- میزان ترکیبات فنولی فعال پوست صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن

پوست	عدد استیاسنی %	استیاسنی اصلاح شده %	ترکیبات فنولی فعال %
صنوبر دلتوئیدس	21	42	5/25
صنوبر اورامریکن	33	52	9/98

نتایج حاصل از اندازه‌گیری تانن‌ها در جدول 4 مندرج است.

جدول 4- مقدار تانن پوست صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن

پوست	کل تانن %	تانن متراکم %	تانن هیدرولیز %
صنوبر دلتوئیدس	1/3	0/24	1/06
صنوبر اورامریکن	1/2	0/45	0/75

جدول 5- نتایج حاصل از آنالیز آماری

دلتوئیدس ----- اورامریکن	میانگین	خطای استاندارد میانگین	درجه آزادی	t	sig
تانن ----- تانن	0/1	0/05774	2	1/732	0/225
مواد استخراجی -- مواد استخراجی	6/7	0/17321	2	38/68	0/001
ترکیبات فنلی ----- ترکیبات فنلی	4/73	0/42147	2	11/223	0/008

جدول 6- ترکیبات مواد استخراجی پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن

گونه	تانن %	ترکیبات فنولی %	ترکیبات غیرفنولی %	کل مواد استخراجی %
صنوبر دلتوئیدس	1/3	5/25	5/95	12/5
صنوبر اورامریکن	1/2	9/98	8/02	19/2

ترکیبات غیر فنولی که شامل چربی‌ها، قندها.....می‌باشند در صنوبر اورامریکن بیشتر از دلتوئیدس است که بیشتر بودن مواد قابل حل در استن و آب (جدول 1) تایید کننده این مطلب است.

بحث و نتیجه گیری

راندمان استخراج پوست درختان صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن به روش قلیایی (هیدروکسیدسدیم 1%) قابل ملاحظه بوده و بازده خالص این دو گونه به ترتیب 12/5 و 19/2 درصد تعیین شده است که بیشتر از روش معمول و استاندارد می باشد. مشابه آنچه که هر جرت¹ (1989) و وازکوئز (1996) عنوان کرده اند روش قلیایی بهترین روش استخراج می باشد. استخراج قلیایی بازده بالایی دارد. زیرا تمام مواد قابل حل را از پوست خارج می کند (جدول 1). ترکمن (1382) راندمان استخراج پوست درختان بلوط و توسکا را به روش قلیایی به ترتیب 24/07 و 21/44 درصد گزارش کرده است (1) که بیشتر از راندمان استخراج پوست درختان صنوبر می باشند. به طور متوسط درصد مواد استخراجی پوست درختان سوزنی برگ 25 درصد و پوست درختان پهن برگ 17 درصد گزارش شده است (7). عدد استیاسنی نشان دهنده میزان واکنش پذیری ترکیبات فنولی با فرم آلدید است. در این بررسی به دلیل بیشتر بودن عدد استیاسنی صنوبر اورامریکن (52 درصد) نسبت به صنوبر دلتوئیدس (42 درصد)، مقدار ترکیبات فنولی فعال صنوبر اورامریکن بیشتر از دلتوئیدس است. همچنین با استفاده از روش کروماتوگرافی ستونی با سفادکس LH-20 مشخص گردید که تانن متراکم اورامریکن بیشتر از دلتوئیدس است. برآورد کمی تانن های هیدرولیز شدنی (گالوتانن ها و الاژی تانن ها) در واکنش با کلرور فریک گویای زیاد بودن تانن هیدرولیز شدنی دلتوئیدس در مقایسه با اورامریکن است. نتایج نشان دهنده این است که تانن عمده هر دو گونه از نوع هیدرولیز شدنی (الاژی تانن ها) است. این نتایج مشاهدات انجام شده بر روی پوست گونه های پهن برگ دیگر نظیر بلوط و توسکا توسط آگوستین اسکالبرت (1988) و هیروکی نیشیمورا (1986) و ترکمن (1382) را تأیید می کند. درصد تانن نسبت به وزن خشک پوست صنوبر اورامریکن و دلتوئیدس به ترتیب 1/2 و 1/3 درصد است که در مقایسه با تانن پوست بلوط و توسکا (12 و 9/6 درصد) کمتر است. به طور کلی با توجه به جدول 6 می توان نتیجه گیری کرد که: راندمان استخراج پوست صنوبر اورامریکن بیشتر از دلتوئیدس است و با توجه به عدد استیاسنی میزان ترکیبات فنولی اورامریکن بیشتر از دلتوئیدس می باشد. تانن متراکم اورامریکن بیشتر و تانن قابل هیدرولیز آن کمتر از دلتوئیدس است که با توجه به نتایج حاصل از آنالیز آماری این تفاوت در سطح احتمال 95 درصد بین دو گونه صنوبر معنی دار است در حالی که درصد کلی تانن بین آنها معنی دار نمی باشد.

¹ Hergert

منابع

- 1- ترکمن ج، ک. دوست حسینی و س.ا. میرشکرای 1382 بررسی تانن پوست توسکا و بلوط به روش اسپکتروفتومتر، مجله منابع طبیعی ایران، دانشگاه تهران، شماره 2 جلد 56.
- 2- ترکمن ج، 1372. آنالیز مواد استخراجی پوست پنج گونه از درختان پهن برگ ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده منابع طبیعی. دانشگاه تربیت مدرس
- 3- میر شکرائی. س. 1؛ 1373. شیمی و تکنولوژی چسب چوب (ترجمه). مرکز نشر دانشگاهی تهران، 350 صفحه
- 4- نظر نژاد، ن، ح. رسائی، ا. جهان لیبیاری، ع. حسین زاده، م. ذبیح زاده، م. طلائی پور، 1376. بررسی خصوصیات خمیر و کاغذ باران دمان بالا (cmp) از دو گونه صنوبر دلتوئیدس و اورامریکن، مجله پژوهش و سازندگی. شماره 36: 32-34
- 5) Asquith and Butler. 1985. Purification of Quebracho Tannin. *J. Chem. Ecol.* 11:1535-1544
- 6) Hergert. H.L. 1989. Condensed Tannins in Adhesives Introduction and historical perspectives, *Adhesives From Renewable resources*, Chapter 12, Tannin in Adhesive P:155-171
- 7) [Http // www.chem . vt .edu/ hem.- dept/ helm 3434 wood /notes 1/extract .html-16k](http://www.chem.vt.edu/hem.-dept/helm3434wood/notes1/extract.html-16k)
- 8) Inoue and Hagerman. 1988. Gallotannin Determination with Rhodanine. *Anal. Biochem.* 169:363-369 .
- 9) Lunks, P.E, R.W. Heminway. 1987. Condensed Tannins Structure of the Phenolic acid. *Holzforchung* 41:287-292
- 10) Nishimura. H; G.I. Nonaka & I. Nishioka. 1986. Scyllo-Quercitol Gallates and Hexahydroxy diphenolates from *Quercus Steno Phylla*. *Phyto Chemistry* . vol. 25. No.11: 2599-2604
- 11) Scalbert .A; B. Monties 8 J.M. Favre. 1988. Poly phenols of *Quercus Robur*: Adult tree and Invitro grown Calli and Shoots. *Phytochemistry* Vol. 27. No.11:3483-3488
- 12) TAPPI (Technical Association of the pulp and paper industry) test methods. Tappi Press. 1992-1993.
- 13) Voulgardis . E; A. Grigoriou & C. Passialis. 1985. Investigations on bark extractives of *pinus halepensis* mill. *Holz als Roh - und werkstoff* . Vol . 43: 269-272