

Nekateri monomerni polifenoli drevesnih skorij

Vesna Tišler*

Izvleček

Tišler, V.: Nekateri monomerni polifenoli drevesnih skorij, *Gozdarski vestnik*, št. 3/1988. V slovenščini s povzetkom v angleščini, cit. lit. 8.

Avtorica prispevka opisuje raziskavo naravnih polifenolov drevesne skorje s tankoslojno kromatografijo. Z vodno ekstrakcijo skorje in perkolacijo ekstrakta ter sukcesivno ekstrakcijo z etrom in etanolom je pridobila monomerne polifenolne skorje, katerih identiteto je ugotavljala z uporabo referenčnih substanc.

1. UVOD

Kemijska zgradba drevesne skorje je zapletena ter se spreminja glede na drevesno vrsto in morfološke prvine, ki jih vsebuje. Mnogo sestavin lesa nastopa tudi v skorji, čeprav v različnih razmerjih. Značilna za skorjo je visoka količina nekaterih topnih sestavin (ekstraktivne snovi), kot so fenolne spojine, pektin in suberin (4) (5) (8).

Akcesorje skorje fenolnega značaja delimo na **monomerne polifenole**, kamor spadajo flavonoidi, salicini, hidrolizirajoči tanini, stilbeni in drugi razredi spojin; **poliflavonoide**, ki jih delimo na leukoantocianidine in proantocianidine, in **poliflavonoidne polimere**, med katere sodijo kondenzirajoči tanini, flobafeni in fenolne kisline (2) (3).

Odločili smo se za ugotavljanje monomernih polifenolov, saj že te najenostavnejše fenolne spojine predstavljajo izredno veliko število običajnih, pa tudi zelo nenavadnih snovi.

2. MATERIAL IN METODE

Raziskovali smo drevesne skorje prinesene z različnih delov sveta:

Synopsis

Tišler, V.: Some monomeric polyphenols of tree bark samples. *Gozdarski vestnik*, No. 3/1988. In Slovene with a summary in English, lit. quot. 8.

The article deals with the research of natural tree bark polyphenols by means of thin-layer chromatography. Based on the water extraction of the bark, the extract percolation and the successive extraction with ether and ethanol, monomeric polyphenols of the bark were gained, the identity of which was established by the use of reference substances.

drevesne vrste	nahajališče
<i>Picea abies</i>	ZR Nemčija
<i>Pinus nigra</i>	Jugoslavija
<i>Pinus halepensis</i>	Alžirija, Jugoslavija

Odločili smo se za dva načina izolacije monomernih polifenolov iz skorje:

2.1. Vodna ekstrakcija in perkolacija

Vzorci skorje smo klimatizirali v normalni klimi (20°C, 65 % rel. vlage) najmanj tri dni. Nato smo jih zmelili in presejali. Za analizo smo uporabili frakcijo skorje med 0,3 in 0,5 mm. Ker je skorja higroskopična, smo določili količino suhe snovi v vzorcu. Sušili smo jo štiri ure pri temperaturi 105°C.

Za določitev vodnega ekstrakta smo natehtali ca. 15 g vzorca, ga prelihi s ca. 150 ml vode ter po enournem segrevanju pri temperaturi 95°C mešanico prefiltrirali in postopek še dvakrat ponovili. Iz določitve suhe snovi v filtratu smo izračunali količino snovi, ekstrahirane z vročo vodo.

Če bi hoteli s tankoslojno kromatografijo ugotavljati polifenole v originalnem ekstraktu, ne bi dobili zaželenih rezultatov. Fenoli so namreč višje kondenzirani in s toplom ne potujejo po plošči. Do podobnih ugotovitev sta prišla tudi Levitin, ki je leta 1977 raziskoval skorjo bora *Pinus banksiana*, in Ayla leta 1980 pri raziskavi skorje bora *Pinus brutia* (1).

* doc. dr. V. T., dipl. inž. kemije, Biotehniška fakulteta, VTOZD za lesarstvo, Rožna dolina c. VIII. 34, 61000 Ljubljana, YU

Zato smo monomerne polifenole izločili iz vodnega ekstrakta z etrsko perkolacijo. To je tekočinsko-tekočinska ekstrakcija, ki smo jo opravili v aparatu za perkolacijo, v katerem smo iz vodne raztopine ekstrakta skorje z etrom ekstrahirali monomerne polifenole.

2.2. Sukcesivna ekstrakcija

Pri analizi smo uporabili etanolni ekstrakt, ki smo ga pridobili iz skorje, predhodno ekstrahirane z etrom. Odločili smo se za uporabo dveh topil različnih polarnosti. Z etrom smo iz skorje odstranili terpene, maščobe, voske in proste maščobne kisline; v etanolnem ekstraktu pa so ostali enostavni polifenoli in njihovi glikozidi, tanini, flobafeni, monosaharidi in disaharidi.

2.3. Ascendentna tankoslojna kromatografija

To je ena izmed najuspešnejših analiznih metod, pri kateri se sestavine zmesi raztopljene v topilu, različno hitro dvigajo po kromatografski plošči in se s tem ločijo. Za določanje posameznih komponent potrebujemo standardne substance, njihova barva in dolžina potovanja po plošči služi za primerjavo z obnašanjem vzorca. Standardne substance, ki smo jih imeli na razpolago, so

bile katehin, epikatehin, kvercetin, dihidrokvercetin, cianidinklorid, definidinklorid in pelargonidinklorid.

Kromatograme smo izdelali na ploščah DC-Alufo.lien Kieselgel 80. Po pregledu literature (6) smo se odločili za različne kombinacije topil.

3. IZSLEDKI IN NJIHOVA INTERPRETACIJA

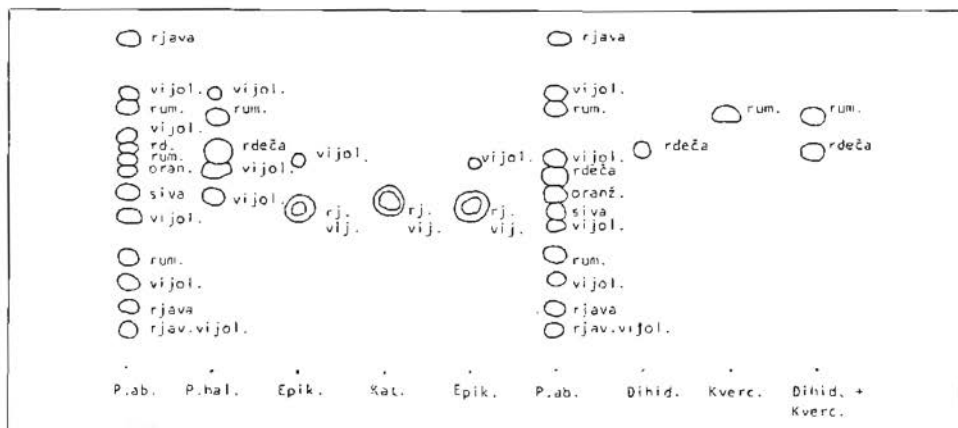
Z vodo smo ekstrahirali in nato perkolirali tri vzorce skorij. Izsledke nam prikazuje preglednica št. 1, iz katere lahko razberemo, da vodni ekstrakti drevesne skorje vsebujejo le manjše količine monomernih polifenolov.

Pri tankoslojnem kromatogramu smo uporabili mešanico treh topil: mravljinčne kisline, etilformiata in toluena v razmerju 10 : 40 : 30. Po 40 minutah smo kromatogram posušili in ga razvili z 10% raztopino H₂SO₄.

Iz tankoslojnega kromatograma vidimo, da kvercetin pušča na plošči rumeno, dihidrokvercetin pa rdečo liso. Obe obarvanji sta na različni oddaljenosti (različni vrednosti R_f) od nanosa snovi. Intenzivna tovrstna obarvanja smo lahko opazili pri etrskem perkolatu vodnega ekstrakta borove skorje, bistveno manj intenzivna obarvanja pa pri etrskem perkolatu vodnega ekstrakta smrekove skorje. Iz tega smo sklepali, da vsebuje

Slika 1: Tankoslojni kromatogram ekstraktov drevesne skorje.

P.ab. – etrski perkolat vodnega ekstrakta skorje smreke *Picea abies*, P. hal. – etrski perkolat vodnega ekstrakta skorje bora *Pinus halepensis*, Epik. – epikatehin, Kat. – katehin, Dihid. – dihidrokvercetin, Kverc. – kvercetin



Preglednica 1: Količine vodnega ekstrakta in etrskega perkolata skorij

Drevesna vrsta	Suha snov skorje (%)	Tristopenjski vodni ekstrakt glede na suho snov skorje (%)	Etrski perkolat glede na vodni ekstrakt (%)
Pinus halepensis Jugoslavija	93,6	23,3	5,6
Pinus halepensis Alžirija	96,4	27,7	4,5
Picea abies ZR Nemčija	87,2	16,3	6,0

skorja *Pinus halepensis* večje količine kvercetina in dihidrokvercetina, medtem ko nalletimo v smrekovi skorji le na sledove teh snovi.

Iz kromatograma smo tudi razbrali, da v obeh vrstah skorje ni bilo katehina in epikatehina, ker ni bilo mogoče ugotoviti ustreznih vijoličastorjavih obarvanj v perkolatih. Kromatogram smo pred razvijanjem pregledali pod UV svetlobo in pri perkolatu smrekovega ekstrakta skorje opazili lise z močno vijolično fluorescenco. Pri poznejših raziskavah nam je uspelo določiti stilbene. Najpo-

membnejša predstavnik smrekove skorje sta stilbenska glukozida astringin in izorapontin (7).

Izsledke zaporedne ekstrakcije skorij z etrom in etanolom prikazuje razpredelnica 2. Z etanolom, ki je polarnejši od etra, ekstrahiramo več drevesne skorje.

Drevesna vrsta	Etrski ekstrakt (%)	Etanolni ekstrakt (%)
Pinus nigra	2,6	3,1
Pinus halepensis (Jugoslavija)	2,5	10,0
Pinus halepensis (Alžirija)	2,5	20,8
Picea abies	5,0	11,9

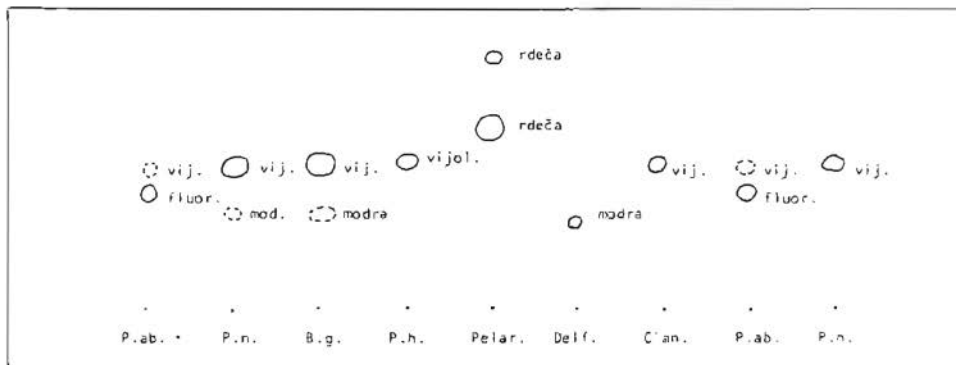
Pri tankoslojnem kromatogramu smo uporabili mešanico treh topil: etilacetata, mravljinčne kisline in vode v razmerju 85 : 6 : 9. Ker so bile standardne substance v obliki kloridov, smo morali tudi naše ekstrakte prevesti v to obliko.

250 mg vzorca smo raztopili v 20 ml etanola, dodali 2,5 ml koncentrirane klorovodikove kisline ter to segrevali 45 minut na vodni kopeli pri temperaturi 60 °C. Po ohladitvi smo vsebino v merilni bučki dopolnili do 25 ml. Tako pripravljene vzorce smo uporabili za kromatogram.

Kromatogram nam kaže prisotnost cianidina v vseh vzorcih skorje. Redkejši je

Slika 2: Tankoslojni kromatogram ekstraktov drevesne skorje

P.ab. – etanolni ekstrakt smrekove skorje (*Picea abies*), dobljen z etrsko ekstrakcijo, P.n. – etanolni ekstrakt borove skorje (*Pinus nigra*) po etrski ekstrakciji, B.g. – etanolni ekstrakt indonezijske mangrove (*Brugiera gymnorrhiza*) po etrski ekstrakciji, P.h. – etanolni ekstrakt borove skorje (*Pinus halepensis*) po etrski ekstrakciji, Cian. – cianidinklorid, Delf. – delfindinklorid, Pelar. – pelargonidinklorid



delfinidin, ki se pojavlja v skorjah črnega bora *Pinus nigra* in v mangrovi. Pelargonidina nismo odkrili pri nobeni izmed obravnavanih drevesnih vrst. Kromatogram smo preiskali tudi pod UV svetlobo in le pri etanolnem ekstraktu smrekove skorje odkrili močno fluorescirajoče lise.

4. SKLEP

V drevesnih skorjah se nahajajo monomerni polifenoli. To so snovi, ki imajo hidroksilne skupine vezane neposredno na aromatsko jedro in jih lahko določamo s tankoslojno kromatografijo. Z raziskavo smo ugotovili, da vsebuje skorja bora *Pinus halepensis* predvsem kvercetin in dihidrokvercetin. Skorje borov *Pinus halepensis*, *Pinus nigra* in skorja smreke *Picea abies* vsebujejo manjše količine cianidina. Kromatogrami ekstraktov smrekove skorje kažejo pod ultravijolično svetlobo močno vijolično fluorescenco, česar pri ostalih dveh skorjah nismo mogli zaznati. Zanimivo je, da v skorjah smreke *Picea abies* in bora *Pinus halepensis* nismo odkrili niti sledov katehina in epikatehina, pač pa se je v skorji bora *Pinus nigra* pojavil delfinidin. Očitno je torej, da je kakovostna in kolikostna sestava monomernih polifenolov v skorji različnih drevesnih vrst različna.

SOME MONOMERIC TREE BARK POLYPHENOLS

Summary

The tree bark composition is a complicated one and it varies as to the tree species and other factors. A potency (concentration) of great quantities of some insoluble components (extractive substances) like phenolic compounds, pectin and

suberin is characteristic of the tree bark. The aim of the research was to establish the presence and quantity of monomeric polyphenols in tree bark types of various tree species from different parts of the world. The tree bark samples of the spruce tree (*Picea abies*) from FRG, the black pine (*Pinus nigra*) from Yugoslavia and the Aleppic pine (*Pinus halepensis*) from Yugoslavia and Algeria were being investigated. Monomeric polyphenols were identified by means of the water extraction, the ether percolation, the successive extraction with ether and ethanol and the ascendent thin-layer chromatography. The presence of catechin, epicatechin, quercetin, dihydroquercetin, cyanidin, delphinidin and pelargonidin were established therein. Cyanidin was found in all tree bark samples, quercetin and dihydroquercetin were established in the tree bark of the Aleppic pine (*Pinus halepensis*). Patches in chromatograms of the spruce tree bark extracts showed under the UV light strong violet fluorescence.

LITERATURA

1. Ayla, C.: Herstellung von feuchtigkeitsbeständigen Leimen aus nachwachsenden Rohstoffen für die Holzindustriedargestellt am Beispiel des Rindenextraktes von *Pinus brutia* Tenore und des Äthanollignins Dissertation, Hamburg, 1980, s. 112-115
2. Fengel, D., Wegener, G.: Wood; Chemistry, Ultrastructure, Reactions Walter de Gruyter, Berlin, New York, 1984, s. 240-267
3. Hemingway, R. W.: Bark: Its chemistry and prospects for chemical utilization, chapter 10 Goldstein, J.: Organic chemicals from biomass, Boca Raton, 1980
4. Hillis, W. E.: Wood extractives, Academic Press, New York, 1962, s. 157-191
5. Sjöström, E.: Wood chemistry; Fundamentals and application, Academic Press, New York, 1981, s. 100-103
6. Stahl, E.: Dünnschicht - Chromatographie, Springer Verlag, Heidelberg, 1967, s. 655-672
7. Tišler, V.: neobjavljeni izsledki raziskav
8. Yuan, Z.: Wood and bark specific gravity determination as affected by water-soluble extractives *Wood Science* (1980) 13 (1), s. 47-49