

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

پایان‌نامه‌ی حاضر، حاصل پژوهش‌های نگارنده در دوره‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی علوم دامی گرایش تغذیه است که در مهرماه سال ۱۳۹۲ در دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه یاسوج به راهنمایی جناب آقای دکتر اصغر نقی‌ها و دکتر کشتکاران و مشاوره‌ی جناب آقای دکتر مختار خواجوی از آن دفاع شده است و کلیه‌ی حقوق مادی و معنوی آن متعلق به دانشگاه یاسوج است.



دانشکده‌ی کشاورزی
گروه علوم دامی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی علوم دامی گرایش تغذیه دام

جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه‌کننده‌ی تانن از مدفوع
گوسفند و بز بومی استان کهگیلویه و بویراحمد و فرآوری زیستی
میوه‌ی بلوط با این باکتری‌ها برای کاهش تانن

استاد راهنما:

دکتر اصغر نقی‌ها

دکتر علی نقی کشتکاران

اساتید مشاور:

دکتر مختار خواجوی

پژوهشگر:

حسن مصلح

مهر ماه ۱۳۹۲



جداسازی و شناسایی باکتری‌های تجزیه کننده‌ی تانن از مدفوع گوسفند و بز بومی استان کهگیلویه و بویراحمد و فرآوری زیستی میوه‌ی بلوط با این باکتری‌ها برای کاهش تانن

به وسیله‌ی:

حسن مصلح

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه به عنوان بخشی از فعالیت‌های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی:

تغذیه دام

در تاریخ ۱۳۹۲/۷/۱۴ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه‌ی عالی به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنما: دکتر اصغر نقی‌ها با مرتبه‌ی علمی استادیار

۲- استاد راهنما: دکتر علی نقی کشتکاران با مرتبه‌ی علمی استادیار

۳- استاد مشاور: دکتر مختار خواجه‌وی با مرتبه‌ی علمی استادیار

۴- استاد داور داخل گروه: دکتر سیامک پارسایی با مرتبه‌ی علمی استادیار

۵- نام و نام خانوادگی نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه: دکتر ابراهیم انهمی با مرتبه‌ی علمی استادیار

مهرماه ۱۳۹۲

امضا
امضا
امضا
امضا
امضا

تقدیرم به:
خدایی که آفرید

جهان را، انسان را، عقل را، علم را، معرفت را، عشق را

و به کسانی که عیشتان را در وجودم دیده:

پدر و مادرم

که از نگاهشان صلابت

از رفتارشان محبت

و از صبر بی‌شائبه‌ی کنی را آموختم

سپاسگزاری

اکنون که این پژوهش با لطف الهی با موفقیت به پایان رسیده است از پروردگار علیم که فرصت دانش اندوزی و پژوهش را برای اینجانب ارزانی داشت سپاسگزارم و بر خود لازم می‌دانم که از همه عزیزانی که با الطاف بی‌شائبه‌شان در این راه یاریم نمودند، کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

از زحمات اساتید راهنمای عزیز و گرانقدرم جناب آقایان **دکتر نقی‌ها و کشتکاران** که همواره در تمام مراحل انجام این پژوهش با اینجانب کمال همکاری را داشته‌اند و در مهیا نمودن زمینه‌های این پژوهش از هیچ کوششی دریغ ننموده‌اند و به نحو احسن اینجانب را راهنمایی نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارم. از استاد با کمالات و شایسته، جناب آقای **دکتر خواجوی** که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی از هیچ کمکی در این عرصه به من دریغ ننموده، سپاسگزاری می‌نمایم.

از **خانواده عزیزم** که همواره و در تمام مراحل انجام پایان نامه همراه و باعث دلگرمی اینجانب بودند و در این راه دلسوزانه و مهربانانه زحمات زیادی را متقبل شدند، سپاسگزاری می‌نمایم.

از اساتید و مربیان گروه علوم دامی آقایان **دکتر پارسایی، بحرینی بهزادی، هوشمند، معمار، محقق، فروزمنند و قادری** و اساتیدی که از آنها دانش آموختم و کارشناسان آموزشی و آزمایشگاه گروه جناب آقای **مهندس شهریاری، جناب آقای مهندس برخه، سرکار خانم کرمی و سرکار خانم حاجی زاده** همواره باعث دلگرمی اینجانب در این راه بوده‌اند کمال سپاسگزاری را دارم.

برخود لازم می‌دانم از دوستان عزیز و گرانقدرم آقایان محمد امین محمودی، میثم ابراهیمی، محسن ذاکری، حسین ابراهیمی، علی‌رضا عباسی، محمد صفری، رضا قربانی، حسن ناطق احمدی، حسن زارع‌شیبانی، مرصاد باقرپور، نصرآ... مرادی‌کر و رامین فرهادی و خانم‌ها راضیه قاسمی، پریسا جلوه‌گرافام، لیلاحیدری، حمیرا حسینی، رقیه بهالدینی، حمیرا قاسمی، زهرا جوادی‌پور، فاطمه حجتی، مریم کلاهی، سعیده زاهدی و سحر یادگاری سپاسگزاری نموده و زحمات تک تک این عزیزان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

نام: حسن
نام خانوادگی: مصلح
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد
رشته و گرایش: تغذیه دام
اساتید راهنما: دکتر اصغر نقی‌ها و دکتر علی‌نقی کشتکاران
استاد مشاور: دکتر مختار خواجهوی
تاریخ دفاع: ۱۳۹۲/۰۷/۱۴

جداسازی و شناسایی باکتری‌های هیدرولیز کننده تانن از مدفوع گوسفند و بز بومی استان کهگیلویه و بویر احمد و فرآوری زیستی میوه بلوط با جدایه‌ها جهت کاهش تانن

چکیده

مساحت زیادی از رشته کوه‌های زاگرس سرزمین ایران را جنگل‌های بلوط پوشانده‌اند که میوه آن از دیرباز کاربردهای خوراکی برای مردم و دام‌های زاگرس‌نشین داشته است. از ویژگی محدودکننده خوراکی میوه بلوط بالا بودن مقدار تانن آن می‌باشد که افزون بر داشتن مزه تلخ و کاهش خوش‌خوراکی می‌تواند پیامدهای زیانباری بر جانوران داشته باشد. با تانن‌زدایی به روش‌های فرآوری فیزیکی، شیمیایی و زیستی می‌توان مقدار زیادی از تانن را کاست. در دستگاه گوارش جانوران باکتری‌های هیدرولیزکننده تانن یافت می‌شود که می‌توانند مقدار زیادی از تانن را بکاهند. همچنین شمار زیادی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها با داشتن آنزیم تانناز توانایی از میان بردن تانن را دارند و در فرآوری زیستی از آن‌ها استفاده می‌شود. در این پژوهش باکتری‌های هیدرولیز کننده تانن از مدفوع گوسفند و بز بومی استان کهگیلویه و بویر احمد که به صورت آزاد از میوه بلوط استفاده کرده بودند، جداسازی و شناسایی گردید و با استفاده از آزمون‌های تفریقی، تخمیر قندها و کیت API تعیین گونه گردیدند. سپس در یک آزمایش فاکتوریل بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی ۲×۶ با سه تکرار کارایی فرآوری زیستی آرد میوه بلوط با گونه‌های جدا شده به منظور بررسی توانایی کاهش تانن انجام شد. فاکتورهای آزمایشی در برگیرنده‌ی فرآوری زیستی در شش سطح (بدون باکتری و ۵ جدایه که قدرت تانن‌زدایی بیشتری داشتند) و بازه‌ی زمانی با دو سطح ۵ و ۱۰ روز بوده است. در این پژوهش ۷ جدایه با داشتن آنزیم تانناز و رشد روی محیط کشت تانن‌دار و ایجاد هاله روشن اطراف خود شناسایی و جداسازی شدند که ۵ جدایه از گونه‌ی *استرپتوکوکوس پنومونیه* و ۲ جدایه‌ی دیگر گونه‌ی *استرپتوکوکوس بوویس* می‌باشند. در فرآوری زیستی میوه بلوط با جدایه‌ها در سطح ۵ درصد، تفاوت معنی‌داری در مقدار فنل کل، تانن کل، تانن فشرده و تانن هیدرولیز شونده داشت و این گونه‌های باکتریایی جداسازی شده با داشتن آنزیم تانناز توانایی کاستن آمیخته‌های فنلی (تانن) را دارند. جدایه‌های B و D در ۱۰ روز فرآوری ۳۶/۹ و ۳۵/۹ درصد تانن فشرده را کاهش داده‌اند و همچنین جدایه D در ۵ و ۱۰ روز فرآوری توانست ۹۰/۲ و ۶۹/۹ درصد تانن هیدرولیز شونده را کاهش دهد.

کلمات کلیدی: باکتری، تانن، آنزیم تانناز، شناسایی، گوسفند و بز بومی، فرآوری زیستی، مدفوع، میوه بلوط، استان کهگیلویه و بویر احمد.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: پیشینه‌ی پژوهش	۱
۱-۱-پرسمان بنیادی پژوهش	۱
۲-۱- جنگل‌های زاگرس و پراکندگی جغرافیایی گیاه بلوط	۲
۳-۱- ویژگی گیاه شناسی و رده‌بندی	۲
۱-۳-۱- گونه‌های درخت بلوط در ایران	۳
۲-۳-۱- گونه غالب درخت بلوط در ایران و ویژگی‌های آن‌ها	۳
۱-۲-۳-۱- بلند مازو (دار مازو)	۳
۲-۳-۱- شاه بلوط	۳
۳-۲-۳-۱- بلوط ایرانی	۳
۴-۱- کاربردهای بلوط	۴
۵-۱- ترکیبات میوه‌ی بلوط	۵
۶-۱- تانن	۶
۱-۶-۱- تانن هیدرولیزشونده	۷
۲-۶-۱- تانن فشرده	۸
۷-۱- پیامدهای ضد تغذیه‌ای تانن‌ها	۹
۱-۷-۱- پیامد تانن‌ها بر نشخوارکنندگان	۱۰
۲-۷-۱- پیامد تانن‌ها بر تک معده‌ای‌ها	۱۰
۳-۷-۱- اثرات تانن‌ها بر آنزیم‌ها	۱۱
۸-۱- فرآوری میوه‌ی بلوط	۱۲
۱-۸-۱- فرآوری فیزیکی	۱۳
۲-۸-۱- فرآوری شیمیایی	۱۳
۳-۸-۱- فرآوری زیستی	۱۳
۹-۱- میکروارگانسیم‌ها در دستگاه گوارش نشخوارکنندگان	۱۴
۱-۹-۱- میکروارگانسیم‌های هیدرولیز کننده تانن	۱۴
۲-۹-۱- سازوکار و تجزیه‌ی تانن‌ها به‌وسیله باکتری‌ها	۱۷
۱۰-۱- شناسایی و جداسازی باکتری‌های هیدرولیزکننده تانن	۱۷
۱۱-۱- روش‌های باکتری شناسی و تعیین هویت جدایه‌های برگزیده	۱۸
۱۲-۱- اهداف پژوهش	۱۹
فصل دوم: مواد و روش‌ها	۲۰
۱-۲- طرح آزمایشی	۲۰
۱-۱-۲- گردآوری نمونه	۲۰
۲-۱-۲- جداسازی باکتری‌های هیدرولیز کننده تانن	۲۱

۲۳	۳-۱-۲- آماده‌سازی محیط کشت
۲۳	۴-۱-۲- ساخت اسید تانیک سترون
۲۳	۵-۱-۲- ساخت محیط کشت تانن دار
۲۴	۶-۱-۲- کشت باکتری روی محیط کشت تانن دار:
۲۴	۷-۱-۲- شناسایی
۲۵	۸-۱-۲- نگهداری باکتری‌های جداسازی شده
۲۵	۹-۱-۲- آزمون هوازی و بی‌هوازی گونه‌های جداسازی شده
۲۶	۹-۱-۲- آزمون‌ها و رده‌بندی گونه‌های جداسازی شده
۲۶	۱-۹-۱-۲- رنگ آمیزی گرم
۲۶	۲-۹-۱-۲- تعیین گرم
۲۷	۳-۹-۱-۲- آزمون کاتالاز
۲۷	۴-۹-۱-۲- آزمون اکسیداز
۲۷	۵-۹-۱-۲- آزمون همولیتیک
۲۸	۶-۹-۱-۲- آزمون تخمیر قندها
۲۸	۱۰-۱-۲- شناسایی گونه‌های باکتریایی مشکوک با کیت آزمون API
۲۶	۲-۲-۲- فرآوری زیستی میوه‌ی بلوط و توانایی تانن‌زدایی جدایه‌ها
۳۰	۱-۲-۲- فراهم نمودن و آماده‌سازی آرد میوه‌ی بلوط
۳۰	۲-۲-۲- کشت باکتری‌ها
۳۰	۱-۲-۲- شست و شو و شمارش باکتری‌ها
۳۱	۳-۲-۲- افزودن باکتری‌ها به میوه‌ی بلوط
۳۳	۴-۲-۲- اندازه‌گیری pH
۳۳	۶-۲-۲- اندازه‌گیری ماده‌ی خشک
۳۳	۷-۲-۲- اندازه‌گیری تانن
۳۳	۱-۷-۲-۲- شیرابه‌گیری از نمونه‌ها
۳۳	۲-۷-۲-۲- اندازه‌گیری فنل کل
۳۳	۳-۷-۲-۲- اندازه‌گیری فنل غیر تاننی
۳۴	۴-۷-۲-۲- اندازه‌گیری تانن فشرده
۳۵	۵-۷-۲-۲- محاسبه‌ی تانن کل
۳۵	۶-۷-۲-۲- محاسبه‌ی تانن هیدرولیز شونده
۳۵	۸-۲-۲- روش اندازه‌گیری قندهای محلول
۳۵	۳-۲- تجزیه آماری
۳۶	فصل سوم: یافته‌های پژوهش و واکاوی آن‌ها
۳۷	۱-۳- شناسایی و جداسازی باکتری‌های هیدرولیز کننده تانن
۳۷	۲-۳- شناسایی و رده‌بندی جدایه‌ها
۳۸	۱-۲-۳- رنگ آمیزی گرم
۳۸	۲-۲-۳- آزمون کاتالاز و اکسیداز
۳۹	۳-۲-۳- آزمون همولیتیک
۳۹	۴-۲-۳- آزمون بی‌هوازی و هوازی
۴۰	۳-۳- یافته‌های شناسایی و جداسازی درست تر جدایه‌ها
۴۲	۴-۳- بخش توان تانن‌زدایی جدایه‌ها

۴۲ فنل کل	۳-۴-۱
۴۴ فنل غیر تاننی	۳-۴-۲
۴۶ تانن کل	۳-۴-۳
۴۷ تانن فشرده	۳-۴-۴
۵۰ تانن هیدرولیز شونده	۳-۴-۵
۵۳ قندهای محلول	۳-۴-۶
۵۵ اسیدیته (pH)	۳-۴-۷
۵۶ رطوبت	۳-۴-۸
۵۹ نتیجه گیری	۳-۵
۶۰ پیشنهادات	۳-۶
۶۱ منابع	

فهرست نگاره‌ها

صفحه	عنوان
۴.....	نگاره ۱-۱- پیاله، برگ و میوه بلوط ایرانی
۶.....	نگاره ۱-۲- ساختار کلی تانن
۷.....	نگاره ۱-۳- ساختار تانن هیدرولیز شونده
۷.....	نگاره ۱-۴- ساختار الاجی تانن
۷.....	نگاره ۱-۵- ساختار گالوتانن
۸.....	نگاره ۱-۶- ساختار اسید گالیک
۸.....	نگاره ۱-۷- ساختار تانن فشرده
۹.....	نگاره ۱-۸- ساختار کاتچین
۹.....	نگاره ۱-۹- ساختار اپی کاتچین
۲۲.....	نگاره ۲-۱- سریال گیری از نمونه مدفوع رقیق شده
۲۳.....	نگاره ۲-۲- محیط کشت تانن دار و بدون تانن
۲۴.....	نگاره ۲-۳- کشت خطی باکتری روی محیط کشت تانندار
۲۵.....	نگاره ۲-۴- کشت خالص باکتری‌ها پس از گرم‌خانه گذاری
۲۷.....	نگاره ۲-۵- بتاهمولتیک
۲۷.....	نگاره ۲-۶- آلفا همولتیک
۲۸.....	نگاره ۲-۷- مثبت بودن آزمون برای گلوکز
۲۸.....	نگاره ۲-۸- منفی بودن آزمون برای سوربیتول
۲۹.....	نگاره ۲-۹- ریختن سوسپانسیون به درون چاهک کیت API
۲۹.....	نگاره ۲-۱۰- راهنمای شناسایی و رده‌بندی باکتری
۳۰.....	نگاره ۲-۱۱- ارلن دارای محیط کشت مایع سترون
۳۱.....	نگاره ۲-۱۲- سریال گیری باکتری محیط کشت
۳۲.....	نگاره ۲-۱۳- آزمون عاری بودن نمونه شاهد بدون باکتری
۳۲.....	نگاره ۲-۱۴- آزمون عاری بودن نمونه شاهد بدون باکتری
۳۲.....	نگاره ۲-۱۵- جا دادن نمونه در جار بی‌هوازی
۳۷.....	نگاره ۳-۱- رشد باکتری‌های هیدرولیز کننده تانن و ایجاد هاله روشن اطراف پرگنه‌ها
۳۸.....	نگاره ۳-۲- باکتری‌های دیپلوکوکوسی گرم مثبت جداسازی شده
۳۹.....	نگاره ۳-۳- باکتری‌های کوکوسی زنجیره‌ای گرم مثبت جداسازی شده
۳۹.....	نگاره ۳-۴- رشد باکتری‌های جداسازی روی محیط کشت خون دار

فهرست جداول

صفحه	عنوان
۱۵	جدول ۱-۱- میکروارگانیسم‌های دارنده‌ی آنزیم تانناز
۱۷	جدول ۲-۱- باکتری‌های هیدرولیز کننده تانن جداشده از مدفوع
۴۱	جدول ۳-۱- یافته‌های تست‌های تفریقی و کیت API
۴۲	جدول ۳-۲- تجزیه واریانس همگانی برای درصد فنل کل
۴۳	جدول ۳-۳- سنجش آماری میانگین‌های اثرات اصلی فاکتورها و تیمارهای آزمایشی برای درصد فنل کل
۴۴	جدول ۳-۴- تجزیه واریانس همگانی برای درصد فنل غیر تاننی
۴۵	جدول ۳-۵- سنجش آماری میانگین‌های اثرات اصلی فاکتورها و تیمارهای آزمایشی برای درصد فنل غیر تاننی
۴۶	جدول ۳-۶- تجزیه واریانس همگانی برای درصد تانن کل
۴۷	جدول ۳-۷- سنجش آماری میانگین‌های اثرات اصلی فاکتورها و تیمارهای آزمایشی برای درصد تانن کل
۴۸	جدول ۳-۸- تجزیه واریانس همگانی برای درصد تانن فشرده
۴۹	جدول ۳-۹- سنجش آماری میانگین‌های اثرات اصلی فاکتورها و تیمارهای آزمایشی برای درصد تانن فشرده
۵۰	جدول ۳-۱۰- تجزیه واریانس همگانی برای درصد تانن هیدرولیز شونده
۵۱	جدول ۳-۱۱- سنجش آماری میانگین‌های اثرات اصلی فاکتورها و تیمارهای آزمایشی برای درصد تانن هیدرولیز شونده
۵۳	جدول ۳-۱۲- تجزیه واریانس همگانی برای درصد قندهای محلول
۵۴	جدول ۳-۱۳- سنجش آماری میانگین‌های اثرات اصلی فاکتورها و تیمارهای آزمایشی برای درصد قندهای محلول
۵۵	جدول ۳-۱۴- تجزیه واریانس همگانی برای اسیدپته
۵۶	جدول ۳-۱۵- سنجش آماری میانگین‌های اثرات اصلی فاکتورها و تیمارهای آزمایشی برای اسیدپته
۵۷	جدول ۳-۱۶- تجزیه واریانس همگانی برای درصد رطوبت
۵۷	جدول ۳-۱۷- سنجش آماری میانگین‌های اثرات اصلی فاکتورها و تیمارهای آزمایشی برای درصد رطوبت

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۵۰	نمودار ۱-۳- درصد تانن فشرده کاهش یافته سنجش با درصد تانن فشرده کاهش نیافته
۵۲	نمودار ۲-۳- درصد تانن هیدرولیزشونده کاهش یافته سنجش با درصد تانن هیدرولیزشونده کاهش نیافته

فصل اول

پیشینه‌ی پژوهش

۱-۱- پرسمان بنیادی پژوهش

یکی از اساسی‌ترین مسائل کنونی دنیای امروزی فراهم نمودن مواد غذایی به‌ویژه پروتئین بوده که تولیدات دامی در تهیه پروتئین نقش بسزایی را ایفا می‌کنند. امروزه یکی از چالش‌های صنعت دامپروی تأمین خوراک است که در شرایط حال، بیش از ۷۰ درصد هزینه‌ها را به خود اختصاص می‌دهد. یکی از روش‌های مؤثر برای کاهش هزینه خوراک موجود در کشور یافتن جایگزین منابع خوراکی مناسب و عمل آوری این مواد خوراکی است. شناخت کمی و کیفی منابع خوراکی موجود در کشور و جایگزین کردن در جیره جانوران اهلی و ارائه الگوی صحیح و اصولی برای استفاده از این مواد خوراکی از اهمیت بالایی برخوردار است.

مساحت زیادی از رشته کوه‌های زاگرس سرزمین ایران را جنگل‌های بلوط تشکیل می‌دهد. هرساله هزاران تن میوه بلوط در این جنگل‌ها تولید شده که تنها بخش اندکی از آن کاربرد خوراکی برای جانوران و انسان دارد. این میوه درصد بالایی از نشاسته را دارا است که می‌تواند به‌عنوان یک منبع خوراکی در جیره جانوران اهلی استفاده شود. یکی از ویژگی‌های کاهنده‌ی کاربرد خوراکی میوه بلوط، بالا بودن میزان تانن آن است که افزون بر داشتن مزه تلخ و کاهش خوش خوراکی، می‌تواند پیامدهای زیانباری بر جانوران داشته باشد. با تانن‌زدایی به روش‌های فیزیکی و شیمیایی می‌توان مقدار زیادی از تانن را کاست. افزون بر این‌ها شمار زیادی از باکتری‌ها، قارچ‌ها و مخمرها با تولید آنزیم تانناز توانایی از میان بردن تانن را دارند. از آنجایی که استان کهگیلویه و بویراحمد پوشیده از جنگل بلوط است و جانوران اهلی از میوه بلوط آزادانه استفاده می‌کنند، گمان می‌رود باکتری‌های مقاوم به تانن (تولید کننده‌ی آنزیم تانناز) در دستگاه گوارش حیوان‌های اهلی که به‌صورت آزاد از میوه بلوط استفاده کرده‌اند نیز یافت شوند. تاکنون هیچ گزارشی درباره‌ی جداسازی و شناسایی

باکتری‌های تولیدکننده آنزیم تانناز از مدفوع حیوان‌های بومی که به‌صورت آزاد از میوه‌ی بلوط استفاده کرده‌اند، گزارش نشده است. از آنجا که افزایش بهره‌برداری از میوه‌ی بلوط در خوراک انسان و جانوران پرورشی، راهبردی با ارزش برای کشور ایران است، در این پژوهش جداسازی و شناسایی این باکتری‌ها از مدفوع جانوران اهلی صورت گرفته و بررسی کارایی آنها در کاهش تانن میوه انجام خواهد شد.

۲-۱- جنگل‌های زاگرس و پراکندگی جغرافیایی گیاه بلوط

جنگل‌های زاگرس از جنگل‌های نیمه خشک بوده که با وسعت بیش از ۵ میلیون هکتار نزدیک ۴۰ درصد از پوشش گیاهی ایران را در بر می‌گیرند (جزیره‌ای و ابراهیمی رستاقی، ۱۳۸۲). این جنگل‌ها از شمال غرب کشور؛ یعنی پیرانشهر واقع در آذربایجان غربی (طول جغرافیایی ۴۵ درجه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۶ درجه شمالی) و تا حوالی شهر فسا واقع در جنوب فارس (طول جغرافیایی ۵۲ درجه شرقی و عرض جغرافیایی ۲۹ درجه شمالی) گسترده شده‌اند (فاتحی، ۱۳۷۳).

درخت مازو در جنگل‌های زاگرس، شاه بلوط در حاشیه کنار دریای خزر و بلوط ایرانی در غرب ایران از سردشت، کردستان، کرمانشاه، ایلام، بخشی از لرستان، چهارمحال و بختیاری، فارس و کهگیلویه و بویراحمد پراکنده شده است (یوسفی و ازکیا، ۱۳۸۳). هم‌اکنون بخش چشم‌گیری از غرب کشور ایران دارای پوشش جنگل‌های بلوط است. بر اساس گزارشات اداره کل منابع طبیعی استان کهگیلویه و بویر احمد نیز سطحی حدود ۰/۶۸ درصد از مساحت کشور را به خود اختصاص داده و دارای جنگل‌های فراوانی است که گونه‌ی غالب این جنگل‌ها بلوط ایرانی است (رحیمی و همکاران، ۱۳۸۶).

۳-۱- ویژگی گیاه شناسی و رده‌بندی

بلوط با نام علمی *Quercus* که در انگلیسی به نام Oak tree و در زبان پارسی به برو، بلوط ایرانی، بلوط غرب، بلوط زاگرس و در زبان‌های بومی به شکین، ملوین، بلیط، بلو، بلی، بر و درابرو یاد می‌شود (جزیره‌ای و ابراهیمی رستاقی، ۱۳۸۲). بلوط درختی از تیره‌ی راش است که با دارا بودن ۹۰۰۰ گونه درختی و درختچه‌ای خزان‌دار و همیشه سبز یکی از تیره‌های متنوع گیاهی محسوب می‌شود. بلوط با ۳۰۰ تا ۶۰۰ گونه بزرگترین جنس این خانواده است (جنز^۱، ۱۹۸۶؛ جانسون^۲ و همکاران، ۲۰۰۲). بلوط درختی پایا با دوره زندگی ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ سال، بومی مناطق معتدله بوده و بلندای آن گاهی به ۳۰ متر نیز می‌رسد.

1 - Jones

2 - Johnson

۱-۳-۱- گونه‌های درخت بلوط در ایران

در ایران گزارش شده است که چهار گونه آن در زاگرس (*Q. infectoria*، *Q. brantii*، *Q. macrantheria*) و یک گونه (*Q. komarovii*) در جنگل‌های ارسباران در شمال کشور رویش دارند. بلوط گیاهی یک پایه با گل‌های نر و ماده جدا از هم است که گل‌ها روی یک درخت هستند، دانه آن دو لپه‌ای است و در خاک‌های با منشأ آهکی و pH قلیایی می‌روید. میوه‌ی درخت بلوط که به بلوط معروف است، شبیه فندق بوده و قاعده‌اش در پیاله‌ای مرکب از فلس‌های متعدد و بهم فشرده جای می‌گیرد. پس از شکافتن و برداشتن پوشش بیرونی (سلولگنین)، یک لایه‌ی نازک تاننی قهوه‌ای رنگ با مزه‌ی تلخ به نام جفت^۱ هست که مغز میوه‌ی بلوط درون آن جای گرفته است (یوسفی و ازکیا، ۱۳۸۳).

۱-۳-۲- گونه‌های غالب درخت بلوط در ایران و ویژگی‌های آن‌ها

۱-۳-۲-۱- بلند مازو (دار مازو)

این درخت در جنگل‌ها به شکل گروهی است و در ارتفاع ۱۰۰۰ متری از سطح دریا می‌روید. درختی است تنومند که ارتفاع آن به ۴۰ و قطر آن به ۳ متر می‌رسد. میوه‌ی بلند مازو درشت، بیضوی و کشیده است و درون پیاله‌ای سخت و استوانه‌ای قرار دارد (ثابتی، ۱۳۴۶).

۱-۳-۲-۲- شاه بلوط

درختی است با ریشه عمودی و ژرف و ساقه‌ای بلند و برگ‌هایی پهن که دارای حاشیه‌ای دندان‌دار و کرک‌دار است. گل‌های آن تک جنسی بوده و در گل آذین دم‌گره‌ای جمع می‌شوند. شاه بلوط به ۴ گونه‌ی رده‌بندی می‌شود: شاه بلوط آمریکایی^۲، شاه بلوط چینی^۳، شاه بلوط شیرین یا اروپایی^۴ و شاه بلوط ژاپنی^۵.

۱-۳-۲-۳- بلوط ایرانی

بلوط ایرانی درختی بزرگ، به بلندای ۲۰ متر با تاج کروی بزرگ است. برگ‌ها عموماً یکنواخت و تخم‌مرغی شکل با پیرامونی دندان‌دار می‌باشند. کرک‌های ستاره‌ای شکل و انبوه روی برگ و کرک‌های نرم و خزی زرد رنگ، پشت آن را فرا گرفته است. میوه‌ی آن کشیده، شبه بیضی و در پیاله‌ی سفید رنگ مخملی و مخروطی شکل قرار گرفته است. بلوط استفاده شده در پژوهش حاضر از همین نوع بلوط است که در نگاره شماره ۱-۱ نشان داده شده است.

1 - Pair

2- *Castanea Moliissima*

3- *Castanea Creanat*

4- *Castanea deden tata*

5- *Castanea Moliissima*



نگاره ۱-۱- پیاله، برگ و میوه بلوط ایرانی (به ترتیب از چپ به راست)

۴-۱- کاربردهای بلوط

از گیاهان بارز و مفید جنگلی می‌توان بلوط را نام برد که از زمان‌های گذشته در زمینه‌های مختلفی همچون خوراک انسان و دام، دارویی، رنگرزی، دباغی و چرم‌سازی، خانه‌سازی، کشتی‌سازی، صنایع نفت، چسب‌سازی و صنایع سرامیک به‌کار می‌رفت. میوه‌ی کامل بلوط در فصل برداشت به‌وسیله‌ی عشایر و روستائی‌ها در تغذیه‌ی گوسفند و بز مورد استفاده قرار می‌گیرد. در گذشته مصرف میوه‌ی بلوط در تغذیه‌ی انسان نیز معمول بوده است. در برخی از مناطق جنگلی زاگرس، بخشی از میوه‌ی بلوط در فصل پاییز (فصل برداشت) گردآوری شده و برای مصرف در تغذیه دام و یا به دامداران سایر نواحی فروخته می‌شود. از سوی دیگر، با کمبود شدید مراتع و مواد غذایی دام، میوه‌ی بلوط به‌عنوان یک جایگزین غذایی در تغذیه دام می‌تواند نقش بسزایی داشته باشد (یوسفی و ازکیا، ۱۳۸۳).

یکی از فرآورده‌های گیاه بلوط چوب است که ارزش صنعتی ندارد و منبع اصلی تأمین سوخت برای جنگل‌نشینان حوزه‌ی زاگرس است (جزیره‌ای و ابراهیمی رستاقی، ۱۳۸۲). در زمان‌های قدیم، برگ‌های بلوط را روی زخم و بریدگی‌های بدن می‌گذاشتند تا زخم التیام پیدا کند. در مطالعه‌ای که روی *Quercus aucheri* انجام شد، چنین بیان شد که گال‌های بلوط می‌تواند به منظور یک ماده قابض و منعقدکننده‌ی خون استفاده شوند. جوشانده‌ی آن نیز برای درمان اسهال حاد و آماس به کار می‌رود، علاوه بر این برای درمان سوختگی‌ها و زخم‌ها نیز کاربرد دارد (ساکار^۱ و همکاران، ۲۰۰۵). بلوط دارای خاصیت ضد باکتریایی، ضد انگلی، آنتی‌اکسیدان، ضد اسهال و ضد سرطان است (مین و هارت^۲ ۲۰۰۳؛ جیداران^۳ و همکاران، ۲۰۰۷). همچنین ترکیبات فنلی (تانن) موجود در میوه‌ی بلوط دارای اثر آنتی‌اکسیدانی است (راکیک، ۲۰۰۷).

1- Sakar

2- Min and Hart

3- Geidarn

میوهی بلوط و پوست آن به طور سنتی در درمان اسهال حائز اهمیت بوده است و به پایه‌ی پژوهش خسروی و بهزادی^۱ (۲۰۰۶) داشتن تانن اثر مهمی بر درمان اسهال دارد. مغز میوهی بلوط بو داده همانند ترکیبی سفت کننده و پاد زهر استفاده می‌شود (راکیک و همکاران، ۲۰۰۷). پتروویک^۲ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که داشتن اسیدچرب غیراشباع آلفالینولئیک اسید (امگا ۳) در میوهی بلوط عامل مؤثری در پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی است.

۵-۱- ترکیبات میوهی بلوط

میوهی بلوط منبع مناسبی از کربوهیدرات‌ها، پروتئین خام، چربی خام و استرول‌های مختلف است. میوهی تازه این گیاه نزدیک به ۳۲ درصد و میوه خشک بدون پوسته‌ی بیرونی آن ۶۰ درصد نشاسته دارد. از دیگر ترکیبات این میوهی بلوط چربی خام است که میزان آن ۷ تا ۱۴/۴ درصد گزارش شده است (آمکاریک و برنز^۳، ۱۹۷۶). پژوهشگران میزان اسیدهای چرب عمده‌ی میوهی بلوط را به شکل زیر گزارش نموده‌اند: اسید اولیک (۶۳-۴۸ درصد)، اسید لینولئیک (۱۷-۱۶/۵ درصد)، اسید لینولنیک (۵-۱ درصد)، اسید پالمیتیک (۱۳-۱۲/۱ درصد)، اسید استئاریک (۶-۳ درصد)، اسید مریستیک، اسید پالمیتولئیک، اسید آرشیدونیک (۵ درصد) و مقدار خیلی کم کلسترول (۰/۱ درصد) (کانتوس^۴ و همکاران، ۲۰۰۳؛ لپزو برناردو گیل^۵، ۲۰۰۵). شمسانی و همکاران (۱۳۶۱) در تجزیه شیمیایی میوهی بلوط استان کهگیلویه و بویراحمد گزارش کردند که مغز میوهی بلوط دارای ۹۳/۹ درصد ماده خشک، ۵ درصد پروتئین، ۶/۱ درصد الیاف خام، ۷ درصد چربی، ۰/۲۵ درصد کلسیم و ۰/۰۷ فسفر است.

رایسانن^۶ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش نمودند که گیاه بلوط دارای سه گروه از ترکیبات ثانویه آلکالئیدها، فنل و ترپنوئیدها است، که این ترکیبات در زیستگاه و بوم شناسی گیاه نقش به‌سزایی دارند و همچون سد دفاعی در برابر علف‌خواران، باکتری‌ها، قارچ‌ها و غیره عمل می‌کنند. ترکیبات فنلی گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده و نزدیک ۸۰۰۰ ترکیب در این گروه قرار می‌گیرد (شوجی^۷، ۲۰۰۷). ترکیبات فنلی موجود در میوهی بلوط دارای کارکرد آنتی‌اکسیدانی است (راکیک^۸، ۲۰۰۷). برابر گزارش سینک و دیول^۹ (۱۹۸۵) میزان تانن میوهی بلوط سه منطقه پس از پوست کردن به ترتیب ۶/۸۴، ۶/۲، ۶/۶۸ درصد بوده است. ابراهیمی حسینی و همکاران (۱۳۹۱) میزان تانن کل، پروتئین خام و چربی خام میوهی بلوط گردآوری شده از جنگل‌های استان کهگیلویه و بویر احمد به ترتیب ۷/۶۶، ۲/۷ و ۷/۷ گزارش کردند.

1 - Khosravi and Behzadi

2 - Petrovic

3 - Ofcarick and Burns

4- Cantos

5- Lopes and Bernardo-Gil

6 -Raisanen

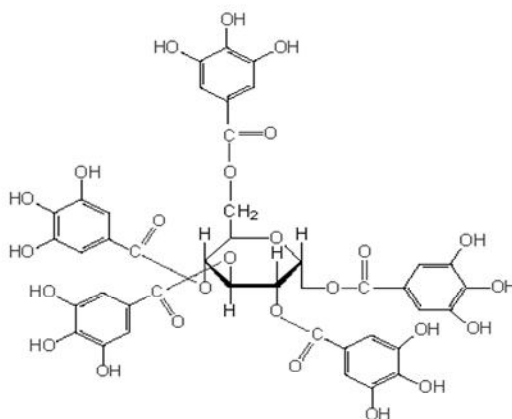
7 - Shoji

8 - Rakic

9 - Singh and Deol

۱-۶- تانن

تانن‌ها (فلاون‌ها) ترکیبات ثانویه گیاهی هستند که در چوب، برگ، پوست و میوه یافت می‌شوند و به نام‌های دیگری چون اسیدتانیک، گالوتانن و اسیدگالوتانیک نیز یاد می‌شوند. تانن‌ها ترکیبات پیچیده‌ی پلی فنولی محلول در حلال‌های قطبی با وزن ملکولی ۵۰۰ تا ۳۰۰۰ دالتون می‌باشند (مانگن^۱، ۱۹۸۸؛ ۱۹۸۸؛ هاسلام^۲، ۱۹۸۱؛ بوتلر^۳، ۱۹۸۹؛ چاکت و هیوز^۴، ۱۹۹۹). این ترکیبات فنولی نزدیک به ۸۰۰۰ ترکیب مختلف را در بر می‌گیرند (شوجی، ۲۰۰۷). تانن با داشتن گروه‌های هیدروکسیل و کربونیل (نگاره ۱-۲) موجب رسوب پروتئین‌ها و پیوند به کربوهیدرات‌ها در دستگاه گوارش پستانداران و پرندگان می‌شود (لندو^۵ و همکاران، ۲۰۰۰؛ جکسن^۶ و همکاران، ۱۹۹۶). تانن‌ها در شرایط آزمایشگاهی توده‌ای بی‌شکل، بی‌رنگ، با مزه‌ی تلخ و گس مانند و قابل حل در آب هستند (گان جان^۷، جان^۸، ۲۰۰۵). ساختار شیمیایی تانن‌ها از چهار پیوند کوالانسی، الکترواستاتیک، هیدروژنی و پیوند آب‌گریز تشکیل شده (برودریک^۸، ۱۹۷۴) و پس از لیگنین فراوان‌ترین پلی فنلی در گیاهان می‌باشند (مولر^۹ و همکاران، ۱۹۸۷). مزه‌ی گس و تلخ موجود در میوه‌های نارس مانند: خرما، توت‌فرنگی، خرمالو و انگور بیشتر به دلیل وجود تانن‌ها است که پس از رسیدن میوه، مزه‌ی گسی و سفت بودن خود را از دست می‌دهند (ونسوست^{۱۰}، ۱۹۹۴؛ راکیک و همکاران، ۲۰۰۷).



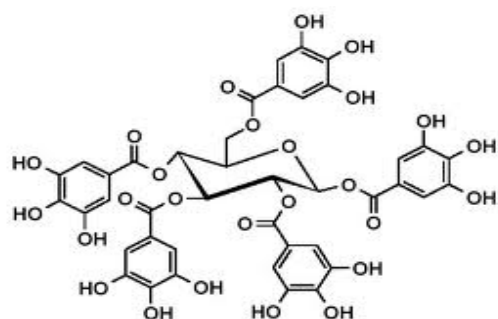
شکل ۱-۲- ساختار همگانی تانن

-
- 1- Mangan
 - 2- Haslam
 - 3- Buttler
 - 4- Choct and Hughes
 - 5- Landau
 - 6- Jakson
 - 7- Gunjan
 - 8 - Broderick
 - 9- Mueller
 - 10- Van Soest

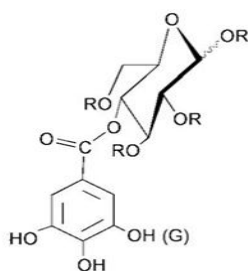
روی هم تانن‌های میوه‌ی بلوط به دو گروه تانن‌های هیدرولیزشونده^۱ و تانن‌های متراکم^۲ دسته بندی می‌شوند (عبادی، ۱۳۷۵؛ فرودبرگ^۳، ۱۹۲۰؛ هاسلام، ۱۹۶۶):

۱-۶-۱- تانن‌های هیدرولیز شونده

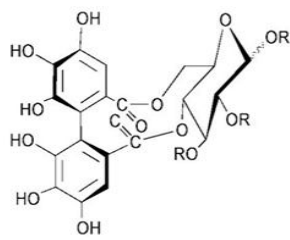
تانن‌های هیدرولیز شونده (نگاره ۱-۳) دارای یک هسته مرکزی کربوهیدراتی هستند (گلوگز) که با اسیدهای کربوکسیلیک فنولی (اسید گالیگ، اسید هگزا هیدروکسی دی فنیک^۴ یا اسید الایک^۵) استریفه شده‌اند (پوررضا و همکاران، ۱۳۸۵؛ گروگالوز^۶ و همکاران، ۱۹۹۶؛ گان‌جان، ۲۰۰۵) و دو گروه الاجی تانن^۷ (نگاره ۱-۴) و گالوتانن^۸ (نگاره ۱-۵) دسته بندی می‌شود (کومار^۹، ۱۹۹۱).



نگاره ۱-۳- ساختار تانن هیدرولیز شونده



نگاره ۱-۵- ساختار گالوتانن



نگاره ۱-۴- ساختار الاجی تانن

-
- 1- Hydrolizable Tannins
 - 2- Condensed Tannins
 - 3- Freudenberg
 - 4- Hexahydroxydiphenic acid
 - 5- Ellagic acid
 - 6- Garro Galvez
 - 7 - Ellagitannin
 - 8-Gallotannin
 - 9- Kumar