
مقایسه چهار روش مختلف استخراج تانن از میوه گونه‌های مختلف بلوط ایران

دکتر محمدرضا مسعودی نژاد¹، دکتر منصور رضازاده آذری²

Title: Comparison of four methods of tannin extraction from the fruits of oak species in Iran.

Authors: Masoudi Nejad MR, (PhD); Rezazade Azary M, (PhD).

Abstract: Introducing the most suitable method to obtain useful materials and reapplication and multiple-use of materials and natural resources is one of the most effective methods for preserving environment. Tannin, one of the most important substances in oak tree, has various applications in pharmaceutical, ink, leather, oil well drilling, wood coating, and wood glue industries. This study was conducted to achieve the most suitable method of tannin extraction from the fruit of oak.

Out of 36 species and sub-species, 10 species and sub-species which cover a more extended area of Iranian woods in north Alborz, Arasbaran region and the west region of Zagros Mountains, were selected in term of their dispersion and then, 5 samples of each specie were taken. The tannins of the samples were extracted and measured through the four methods of maceration, decoction, percolation and soxhlet extractor.

The results of the study reveals that *Quercus brantii belangri* has the most amount of tanin with 9.7 percent and this rate for other 9 species and sub-species which cover a more extended area of Iranian woods is between 3.2 and 7.5 percent.

Keywords: tannin, oak, maceration, decoction, percolation, soxhlet.

- 1- گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- 2- گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده:

معرفی مناسب‌ترین شیوه برای دستیابی به مواد مؤثره و کاربری مجدد و مضاعف برای مواد و منابع طبیعی، یکی از کارآمدترین روشهای حفاظت محیط زیست تلقی می‌شود. تانن در صنایعی نظیر دارو سازی، جوهرسازی، چرم‌سازی، حفاری چاههای نفت، روکش چوب، ساخت چسب چوب و غیره کاربرد فراوان دارد. این مطالعه به منظور دستیابی به مناسبترین شیوه استخراج تانن از میوه درختان بلوط به انجام رسیده است.

در سال 1379 از 36 گونه و زیرگونه شناسائی شده 10 گونه و زیرگونه که از نظر پراکنش، سطح وسیعتری از جنگلهای ایران را در نواحی شمالی البرز، ناحیه ارسباران و نواحی غربی رشته کوههای زاگرس در بر می‌گیرد، انتخاب و از هر گونه 5 نمونه جمع‌آوری و روی میوه نیم کوب شده از هر سری نمونه‌برداری، 5 بار با روشهای چهارگانه مشتمل بر خیساندن، جوشاندن، پرکولاسیون و سوکسله عصاره‌گیری و از طریق آزمون صحت و دقت تجزیه و تحلیل گردید.

نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که حداکثر غلظت تانن معادل 9/7 درصد، مربوط به گونه *Quercus belangri brantii* می‌باشد، و بقیه 9 گونه مهم دیگر اندازه‌گیری شده، بین حداقل 3/2 تا حداکثر 7/5 درصد تانن داشته‌اند.

گل‌واژگان: تانن، میوه بلوط، خیساندن، جوشاندن، پرکولاسیون، سوکسله.**مقدمه:**

جنگلهای منطقه غرب و شمال غرب ایران که رویشگاه اصلی درختان بلوط کشور می‌باشد، 5/2 میلیون هکتار مساحت داشته و بالغ بر 49 درصد از جنگلهای کل کشور را شامل می‌شود. از کل وسعت 12/3 میلیون هکتار جنگلهای ایران 85 درصد بصورت جنگل تنک و غیر متراکم و فقط 15 درصد از آن در نواحی ارسباران و حاشیه شمالی البرز به صورت انبوه وجود دارد که از تنوع گونه‌ای مناسب از جمله درختان بلوط برخوردار است. هرچه از این نواحی انبوه به سمت نواحی جنوبی رشته کوههای زاگرس نزدیک شویم به علت شرایط اقلیمی، جنس خاک، میزان بارندگی، درجه حرارت سالیانه و عوامل دیگر از تنوع گونه‌ای درختان کاسته می‌شود بطوریکه در استانهای کرمانشاه، لرستان و کهگیلویه و بویراحمد گونه غالب را فقط بلوط تشکیل می‌دهد(1). بطور کلی جنگلهای مناطق غرب و شمال غرب ایران در سطح 20 استان کشور گسترش یافته که با توجه به سرشت گونه‌های آن در دشتهای، دامنه‌ها و ارتفاعات جوامع خاص خود را تشکیل داده‌اند. بر اساس آمار اداره کل منابع طبیعی 80 درصد وسعت 750 هزار هکتاری جنگلهای استان کهگیلویه و بویراحمد را درختان بلوط تشکیل می‌دهند(2). مقدار تولید میوه بلوط در سالهای بذر دهی در این مناطق حدود 260 هزار تن است که به ازای هر کیلوگرم 200 ریال در حدود 50 میلیارد ریال برآورد می‌گردد(3). ناحیه رویشی ارسباران در نواحی شمالی آذربایجان شرقی و در محدوده حوزه آبریز رودخانه ارس قرار دارد. وسعت

جنگلهای این ناحیه در حدود 164000 هکتار برآورد گردیده است. وجود وضعیت اقلیمی خاص و برخورداری از آب و هوای مرطوب و مه آلود سبب شده تا جنگلهای نیمه انبوهی در این منطقه شکل گیرد. با توجه به تنوع بیولوژیکی موجود، این ناحیه جزء ذخایر ژنتیک جهانی به ثبت رسیده است و بالغ بر 100 گونه چوبی را شامل می‌شود که یکی از مهمترین آنها درختان بلوط است(4).

نواحی شمالی سلسله جبال البرز از جنگلهای تالش تا جنگلهای نهارخوران گرگان با توجه به شرایط اقلیمی و ارتفاع از سطح دریا رویشگاه چندین گونه از درختان بلوط می‌باشد(5).

مهمترین ترکیبات ساختاری در عصاره میوه بلوط اسید گالیک و اسید تانیک یا تانن است. از نظر شیمیائی تانن‌ها ترکیبات بسیار پیچیده‌ای بوده و غیر قابل تبلور می‌باشند تشکیل تاننها معمولاً از پلیمریزه شدن پلی فنلهای ساده حاصل می‌گردد. همچنین تاننها در اثر هیدرولیز، تولید فنلهای ساده پلی هیدریک نظیر پیروگالول، کاتشول و یا اسید الاژیک می‌نمایند(6و7).

بطور کلی تاننها به دو گروه قابل هیدرولیز¹ مانند اسید گالیک و یا اسید هنگزا هیدروکسی دی‌فنیک² و تانن غیر قابل هیدرولیز یا تانن کندانسه³ که به آن پروآنتوسیانیدین⁴ نیز گفته

¹ - hydrolyzable tannins

² - hexahydroxy diphenic acid

³ - condensed tannins

⁴ - proanthocyanidin oligomer

کلیه نمونه‌های جمع‌آوری شده با هم مخلوط و برای خشک کردن در سایه به آزمایشگاه منتقل گردیدند. برای جلوگیری از تعرق و کپک زدگی احتمالی، نمونه‌ها در داخل کیسه توری جمع‌آوری و پس از خشک کردن به مدت یک ساعت در دمای 105 درجه سانتیگراد قرار داده شده، سپس اختلاف وزن اولیه و ثانویه نمونه‌ها تعیین شد. نمونه‌های خشک شده بصورت نیم کوب مورد آزمایش قرار گرفت. از هر سری نمونه‌برداری در پنج مرحله عصاره‌گیری و به روش‌های خیساندن، جوشاندن، پرکولاسیون و سوکسله استخراج گردید.

جدول 1- مناطق نمونه برداری از جنگلهای بلوط و شناسائی گونه‌ها

نام گونه و زیر گونه <i>Quercus</i>	محل نمونه برداری
<i>Q. brantii sub Brantii</i> (Browicz)	منطقه آسار در شمال شرق لرستان
<i>Q. infectoria sub boisseri</i> (Schwarz)	منطقه جوانرود در شمال غربی کرمانشاه
<i>Q. brantii sub belangri</i> (Zohary)	منطقه سورین در نواحی اطراف بانه
<i>Q. magnosquamata</i> (Djavanshir)	منطقه عباس آباد در نواحی مریوان
<i>Q. libanii</i> (Oliv)	منطقه بانه بطرف سردشت
<i>Q. Infectoria sub latifolia</i> (Schwarz)	منطقه بانه بطرف مریوان
<i>Q. kamarovii</i> (Camus)	منطقه کلیبر بطرف خداآفرین
<i>Q. macrantera</i> (Fisch&Meyer)	منطقه کلیبر، جنگلهای مکینی
<i>Q. longipes</i> (Steven)	منطقه بویلاپوش در نواحی جنوبی خوی
<i>Q. castanifolia</i> (Menitsky)	منطقه جنگلی نهار خوران اطراف گرگان
<i>Q. castanifolia</i> (Menitsky)	منطقه جنگلهای تالش

مراحل استخراج به روش‌های مختلف:

روش اول خیساندن:

در این روش 10 گرم میوه بلوط نیم کوب شده را پس از توزین در داخل ارلن 250 میلی‌لیتر که حاوی 100 میلی‌لیتر آب مقطر بود، ریخته، مدت 24 ساعت در دمای محیط آزمایشگاه قرار داده شد. آنگاه نمونه‌ها را بر روی بن ماری به مدت 2 ساعت گرم کرده و عمل صاف کردن روی آن انجام گردید. تفاله مانده روی فیلتر کاغذی را مجدداً با 100 میلی‌لیتر آب مقطر به مدت 24 ساعت تماس داده و مراحل صاف کردن و

می‌شود تقسیم می‌شوند. (علت این نام گذاری به دلیل بکار بردن پروآنتوسیانیدین برای شکستن پیوندهای کربن-کربن توسط اسید گرم می‌باشد) (8).

اسید گالیک به دو روش بیو سنتتیک تولید می‌گردد یک روش از مجموع واکنشهای اسید شی‌کیمیک در گیاهان عالی و در روش دوم به کمک بتا اکسیداسیون انواع ترکیبات پروپانوئید مانند فنیل آلانین به کمک یک سری واکنشهای زنجیره‌ای تبدیل به اسید گالیک می‌گردد (9 و 10).

در بیوسنتز اسید تانیک، کاتشین¹ که یک مشتق سه هیدروکسی فلاون است و آن را یکی از مواد اولیه تانن‌های کندانسه می‌دانند در اثر ترکیبات استات و اسید شی‌کیمیک² (فنیل پروپانوئید) تولید می‌گردد این طریقه بیوسنتزی در مورد تمام مواد فلاونوئیدی محقق است. به نظر می‌رسد که تجمع پلی فنل ساده کاتشین، اپی کاتشین³ فلاوان⁴ و پروسیانیدین⁵ در تشکیل تانن کندانسه مؤثر می‌باشد (11). هدف از این مطالعه در مرحله اول شناسائی گونه‌های مختلف بلوط ایران که از نظر تعداد و پراکنش سطح وسیعی از جنگلهای کشور را پوشش می‌دهند و در مرحله دوم تعیین مقدار تانن موجود در گونه‌های انتخاب شده می‌باشد. همچنین در مرحله سوم، هدف مقایسه چهار روش معمول استخراج تانن از گونه‌های گیاهی است تا مشخص گردد کدام روش قادر است میزان تانن بیشتری را از گونه مورد نظر استخراج نماید. در نهایت پس از تعیین مقدار درصد تانن در هر یک از گونه‌های تحت مطالعه، می‌توان با توجه به وسعت پراکنش گونه مورد نظر، میزان تانن قابل استخراج در سال را ارزیابی نمود.

روش کار:

شیوه انتخاب و شناسائی گونه‌های بلوط، بر اساس مطالعات میدانی چندین ماهه و به کمک الگوهای ترسیم شده قبلی مناطق یازده‌گانه جنگلی انتخاب و طی سفری به 12 استان کشور به مدت سه ماه و نیم در تابستان و پاییز 1379 کلیه نمونه‌های لازم جمع‌آوری گردید. نمونه‌های گیاهی و مناطق جمع‌آوری نمونه‌ها در جدول 1 آورده شده است (5).

پس از شناسائی هرگونه در یک منطقه، نمونه‌برداری مستقیم از میوه درختان مشابه در وسعت 5 کیلومتر مربع انجام گردید.

¹ - catechin

² - checkimic acid

³ - epicatechin

⁴ - flavan

⁵ - procyanidin

در لوله دستگاه، الکل خود به خود به بالون اولیه برگشت کرده و مجدداً در معرض جوشیدن قرار خواهد گرفت. مراحل جوشاندن در دو مرحله 4 ساعته و به فاصله زمانی 24 ساعت انجام می‌گردد (15).

الکل حاوی عصاره از طریق دستگاه تقطیر در فشار کم⁴ که در حرارت 45 درجه سانتیگراد با سرعت 60 دور در دقیقه مورد استفاده قرار گرفته جداسازی می‌گردد و در این حالت عصاره استخراج شده بصورت لایه ای در ته ظروف رسوب می‌نماید.

این رسوب با 100 میلی‌لیتر آب مقطر شستشو شده و برای حل شدن کامل بهتر است از بن‌ماری استفاده گردد سپس نمونه‌ها با فیلتر صاف و به حجم نهائی 100 میلی‌لیتر رسانده شود (16).

جهت اندازه‌گیری درصد تانن میوه گونه‌های مختلف بلوط روشهای مختلفی از جمله روشهای رسوب هموگلوبین خون، کلریمتری و روش لوئین شال مورد بررسی قرار گرفت، با توجه به امکانات موجود دقت آزمایش، روش لوئین شال انتخاب گردید (17).

برای تعیین مقدار تانن از خاصیت احیا کنندگی آن (تانن) استفاده می‌شود که به وسیله پرمنگنات با نرمالیتیه معلوم تیتراسیون می‌شود. برای تعیین نقطه انتهائی از معرف اندیگو کارمن⁵ استفاده می‌شود (11).

اندازه‌گیری کل مواد قابل احیا توسط پرمنگنات پتاسیم⁶:

ابتدا 25 میلی‌لیتر معرف اندیگو کارمن را در یک ارلن مایر 250 میلی‌لیتری ریخته و 10 میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده، سپس در حین تکان دادن از بورت قطره قطره پرمنگنات یک دهم نرمال به آن افزودیم تا زمانیکه محلول از رنگ آبی به رنگ زرد تغییر نماید پرمنگنات مصرفی به عنوان عدد شاهد ثبت گردید.

همین مراحل عیناً با 10 میلی‌لیتر نمونه تکرار و حجم مصرفی پرمنگنات ثبت شد.

اندازه‌گیری کل مواد قابل احیا توسط پرمنگنات غیر از تانن:

10 میلی‌لیتر آب مقطر، و 5 میلی‌لیتر ژلاتین⁷ 3٪، 5 میلی‌لیتر نمک اشباع در اسید سولفوریک¹ 5٪، 2 گرم خاک

شستشوی فیلتر را تکرار و حجم نهائی به 250 میلی‌لیتر رسانده شد (12).

جوشاندن:

50 گرم میوه بلوط نیم کوب شده را با ترازوی حساس توزین نموده و داخل ارلن 500 میلی‌لیتری که 250 حاوی میلی‌لیتر آب مقطر بود، ریخته و روی بن‌ماری در دو مرحله به فاصله زمانی 24 ساعت و در هر مرحله به مدت 4 ساعت جوشانده شود پس از خنک شدن به وسیله کاغذ صافی¹ و به کمک پمپ مکنده² صاف گردید. حجم نهائی نمونه صاف شده به 500 میلی‌لیتر رسانده شد (13).

پرکولاسیون:

در این روش ابتدا به کمک یک کیف دکانتور یک دستگاه پرکولاتور ساخته در مرحله اول شیر دکانتور را خارج کرده و دو طرف آن را کاملاً مسدود نموده، سپس انتهای دکانتور را با یک لایه پنبه پر کرده و روی آن یک لایه شن شسته شده ریخته شد بر روی لایه شن 10 گرم پودر میوه بلوط را ریخته و روی آن را یک ورق کاغذ صافی قرار داده و به آرامی الکل اتیلیک اضافی شد بطوریکه پودر در زیر الکل قرار گیرد. سرعت خروج الکل از زیر دستگاه پرکولاتور حدود 5 میلی‌لیتر در دقیقه تنظیم گردید. عصاره الکلی خروجی در یک ارلن 250 میلی‌لیتری در پوش‌دار جمع‌آوری و حجم نهائی آنرا در خاتمه عمل پرکولاسیون که در حدود 48 ساعت به طول انجامید به 250 میلی‌لیتر رساندیم (14).

سوکسله:

در این روش ابتدا ده گرم میوه بلوط نیم کوب شده را داخل فیلتری از جنس فایبرگلاس³ ریخته و در داخل دستگاه سوکسله قرار داده، سپس 300 میلی‌لیتر الکل اتیلیک 96٪ در بالون دستگاه ریخته و روی اجاق به نقطه جوش رسانده شد. بخارات الکل در بالای دستگاه در قسمت مبرد که به جریان آب سرد متصل است به حالت میعان رسیده و قطره قطره بر روی بسته نمونه ریزش می‌نماید پس از این که حجم الکل در مخزن طبقه فوقانی به 250 میلی‌لیتر رسید، به علت پیدایش فشار منفی

⁴ - Rotavapor- Bughi- France

⁵ - Infigo catmine- C₁₆H₈Na₂O₈S₂

⁶ - 1/33 گرم پرمنگنات پتاسیم دریک لیتر آب مقطر که با اسید اگزالیک 0/1 نرمال تیترا شده است، KMnO₄

⁷ - 3 گرم ژلاتین در 100 میلی‌لیتر آب مقطر در دمای 20 درجه سانتیگراد.

شماره 011. 3000 متعلق به کارخانه Black Ribbon W.Germany

² - J/B Industries Inc DV-42 متعلق به کارخانه

³ - General Metal Inc. شماره 941 ساخت کارخانه

چینی را در یک ارلن مایر 250 میلی لیتر مخلوط کرده و پس از چند دقیقه صاف می‌نمائیم. سپس 10 میلی لیتر از مخلوط صاف شده برداشته با 25 میلی لیتر اندیگوکارمن² در یک ارلن 250 میلی لیتری ریخته به کمک پرمنگنات پتاسیم تیترا می‌نمائیم.

⁸ - 5 میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به حجم 100 میلی لیتر رسانده شود سپس 5 میلی لیتر از این محلول را با 100 میلی لیتر آب مقطر رقیق کرده و تا حالت اشباع به آن نمک طعام اضافه نماید.

⁹ - Indigo Carmine 6 گرم معرف، 50 میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به حجم یک لیتر رسانده شود.

Quercus	(V1-V0)	$\frac{100}{D}$	درصد تانن *
Q.brantii sub belangri	28/78±0/44	$\frac{100}{96/3}$	10/1-9/8
Q.brantii sub brantii	15/04±0/59	$\frac{100}{97/9}$	5/3-4/9
Q.infectoria sub boisseri	15/15±1/13	$\frac{100}{96/4}$	5/6-4/8
Q.infectoria sub latifolia	21/98±1/17	$\frac{100}{97/1}$	7/93-7/12
Q.brantii sub belangri	27/8±1/34	$\frac{100}{96/3}$	10/1-9/1
Q.infectoria sub boisseri	12/18±0/86	$\frac{100}{96/4}$	4/5-3/9
Q.magnosquamata	15/68±0/51	$\frac{100}{96}$	5/6-5/2
Q.libanii	16/68±1/34	$\frac{100}{98/1}$	6/1-5/2
Q.libanii	14/04±1/25	$\frac{100}{99/1}$	5/2-4/3
Q.longipes	5/56±0/34	$\frac{100}{97/3}$	2-1/75
Q.castanifolia	7/06±0/68	$\frac{100}{98/6}$	2/6-2/2
Q.macrantera	8/68±0/15	$\frac{100}{98/6}$	3-2/8
Q.macrantera	9/68±0/59	$\frac{100}{98/6}$	3/5-3
Q.castanifolia	5/82±0/68	$\frac{100}{97/3}$	2/2-1/75
Q.castanifolia	10/98±0/41	$\frac{100}{97/3}$	3/9-3/6
Q.macrantera	10/42±1/3	$\frac{100}{98/6}$	3/9-3/1
Q.castanifolia	10/82±0/04	$\frac{100}{97/3}$	3/7-3/6
Q.kamarovii	19/32±0/33	$\frac{100}{96/5}$	6/8-6/5

$$* \left(\frac{P}{100C} = 0/00133 \right), \left(\frac{25C}{10} = 25 \right), \left(\frac{10C}{M} = 10 \right)$$

$V_1 - V_0 =$ اختلاف حجم مصرفی پرمنگنات برای نمونه اصلی و شاهد.

$P =$ مقدار وزنی پرمنگنات برحسب میلی گرم در میلی لیتر آب مقطر
 $M_0 =$ مقدار وزنی نمونه مورد استفاده در عصاره گیری برحسب گرم
 $D =$ مقدار ماده خشک نمونه

برای تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون t و میانگین ها با حدود اطمینان 95 درصد محاسبه گردید.

بهار 82، دوره ششم، شماره اول

کلیه مراحل فوق را برای 10 میلی لیتر نمونه عصاره گیری شده تکرار می نمایم و پرمنگنات مصرفی ثبت می گردد. حال به کمک فرمول زیر میزان کل مواد قابل احیا و کل مواد قابل احیا به غیر از تانن را محاسبه، چنانچه نتایج بدست آمده را از هم کم کنیم کل تانن موجود در نمونه بدست خواهد آمد (جدول شماره 2) (18).

کل مواد قابل احیا غیر از تانن منهای کل مواد قابل احیا توسط پرمنگنات مساوی درصد تانن خالص می باشد.

$$\left(v_1 - v_0 \right) \times \frac{P}{1000} \times \frac{250}{10} \times \frac{100}{M_0} \times \frac{100}{D}$$

جدول 3- مقایسه دو روش عصاره گیری از نظر تعیین مقدار تانن کل

نام گونه و زیر گونه Quercus	روش چهارم (الکل اتیلیک)			روش اول (آب مقطر)		
	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)
<i>Q.brantii sub brantii</i>	5/95	0/41	5/54	8/5	0/578	7/92
<i>Q.infectoria sub boisseri</i>	3/91	0/37	3/54	5/58	0/536	5/04
<i>Q.brantii sub belangri</i>	6/79	0/41	6/38	10/3	0/591	9/7
<i>Q.magnosquamata</i>	4/1	0/42	3/68	5/85	0/595	5/25
<i>Q.libanii</i>	4/58	0/51	4/1	6/55	0/725	5/82
<i>Q.infectoria sub latifolia</i>	4/79	0/81	3/98	6/85	1/157	5/69
<i>Q.kamarovii</i>	3/84	0/57	3/27	5/48	0/813	4/67
<i>Q.macrantera</i>	2/24	0/38	1/86	3/74	0/545	3/2
<i>Q.longipes</i>	2/87	0/28	2/59	4/1	0/409	3/69
<i>Q.castanifolia</i>	2/59	0/56	2/03	4/29	0/796	3/5
<i>Q.castanifolia</i>	2/73	0/53	2/2	4/35	0/752	3/6

(1) کل مواد قابل احیاء توسط پرمنگنات پتاسیم، (2) کل مواد قابل احیاء توسط پرمنگنات پتاسیم به جز تانن، (3) مقدار تانن کل بر حسب درصد

کلیه نمونه‌ها با روش انتخابی عصاره‌گیری شده و سپس به کمک روش لوئین شال مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول شماره 3) با بررسی نتایج مشخص می‌گردد از بین گونه‌های تحت بررسی گونه *Quercus brantii belangri* با 9/7 درصد بیشترین و گونه *Quercus macrantera* با 3/2 درصد کمترین میزان تانن را داراست. با توجه به مقدار درصد تانن در گونه‌های مختلف مشخص می‌گردد هرچه از مناطق جنوبی‌تر به سمت ارتفاعات پیش روی نمائیم با توجه به افزایش میانگین بارندگی سالانه مخصوصاً در محورهای منطقه ارسباران نواحی شمالی آذربایجان شرقی، جنگلهای تالش و نهار خوران در حاشیه شمالی سلسله جبال البرز از میزان درصد تانن در نمونه‌ها کاسته می‌گردد.

نتایج آزمایشات در جدول شماره 3 نشان می‌دهد که روش عصاره آبی مقدار ماده مؤثره بیشتری نسبت به روش عصاره الکی استخراج می‌نماید و این مسئله روی کلیه نتایج قابل بررسی است.

با توجه به نتایج بدست آمده در جدول شماره 4 که فاکتورهای آماری معمول در روشهای اندازه گیری را ارزیابی می‌نماید هر نمونه در 5 مرحله مختلف جمع‌آوری و بصورت جداگانه اندازه‌گیری شد و در نهایت میانگین درصد تانن یک گونه از مناطق مختلف محاسبه گردید.

بحث و نتیجه‌گیری:

در بررسی کنونی چهار روش مختلف عصاره‌گیری از میوه درختان بلوط مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روشها از دو ماده الکل اتیلیک و آب مقطر به عنوان استخراج کننده استفاده شد. تحقیقات گذشته حلال الکل اتیلیک را به عنوان یک ماده جداً کننده مطلوب معرفی می‌نماید. اما برای جداسازی تانن از میوه درختان بلوط استفاده از حلالهای آبی نتایج بهتری را نشان می‌دهد. در این مطالعه همچنانکه نتایج جدول شماره 4 نشان

همچنین ضریب تغییرات¹ که در آزمون صحت و دقت² باید همواره کوچکتر از 0.05 باشد، برای کلیه نمونه‌ها ارزیابی گردیده است (19).

یافته‌ها:

در آزمایشات انجام شده برای عصاره‌گیری، از پودر میوه درختان بلوط و بلوط نیم‌کوب شده استفاده گردید. نتایج نشان داد که شکل و ساختار نمونه تأثیری درمیزان غلظت تانن قابل اندازه‌گیری ندارد.

جدول 4- بررسی نتایج آماری اندازه‌گیری تانن در گونه‌های مخلوط بلوط ایران (5).

نام گونه و زیر گونه Quercus	N (1)	\bar{X} (2)	SE (3)
<i>Q.brantii sub brantii</i>	5	15/5	0/28
<i>Q.infectoria sub boisseri</i>	5	15/1	0/53
<i>Q.brantii sub belangri</i>	5	27/8	0/63
<i>Q.magnosquamata</i>	5	15/7	0/24
<i>Q. libanii</i>	5	16/7	0/63
<i>Q. infectoria sub latifolia</i>	5	21/9	0/55
<i>Q. kamarovii</i>	5	19/3	0/15
<i>Q. macrantera</i>	5	8/7	0/07
<i>Q. longipes</i>	5	5/6	0/16
<i>Q. Castanifolia</i>	5	10/9	0/19

(1) N تعداد نمونه، (2) \bar{X} میانگین، (3) SE خطای معیار معدل

¹ - coefficient of variation

² - accuracy and precession

است. لذا با توجه به مجموعه محدودیتها، روش خیساندن به عنوان بهترین روش عصاره گیری تانن از میوه بلوط انتخاب گردید.

با توجه به گونه *Quercus brantii sub belongri* دارای بیشترین مقدار تانن قابل استخراج می باشد و در مناطق مختلف استانهای لرستان، کرمانشاه و قسمت‌های جنوبی استان آذربایجان غربی رویش می نماید، به نظر می رسد استخراج تانن از میوه درختان بلوط این مناطق از نظر اقتصادی قابل توجیه بوده و با توجه به نیاز مبرم صنایع مختلف نظیر داروسازی، جوهر سازی، چرم سازی حفاری چاههای نفت و صنایع تولید چسب و روکش چوب و غیره تولید این محصول در داخل کشور ضمن ایجاد اشتغال در مناطق محروم، کشور را از واردات این ماده بی نیاز کند همچنین انگیزه لازم جهت حفظ و حراست جنگلهای بلوط منطقه توسط اهالی بهتر تحقق یابد.

با توجه به نتایج بدست آمده و شناسائی گونه مناسب در تحقیقات بعدی لازم است پراکنش این گونه در سطح مناطق مختلف، تعداد درختان مثمر و میزان باردهی سالیانه آن مشخص شده تا امکان ارزیابی اقتصادی روش فوق قابل بررسی گردد (20).

- 9- Monthly EL. Methods for Quantitative determinations of polyflavonoid Tannin characteristics, Dialog 1999; No 04119402.
- 10- Hagerman AE, Butler LG. Protein Precipitation methods for the quantitative determination of tannin. J Agric Food Chem 1978; 26: 809-12.
- 11- Trease EV. Pharmacognosy, 14th ed, WB.Saunders 1966; 224-32.
- 12- پورشفیغزنگنه، هوشنگ. گالهای قابل بهره برداری بلوط، پایان نامه فوق لیسانس دانشکده منابع طبیعی کرج، 1372، شماره 1294، صفحات 83 تا 90.
- 13- متوسلیان، محمود. اندازه گیری مواد موجود در مغز دانه بلوط *Infectoria* و بررسی ارزش غذایی و دارویی آن، پایان نامه دکتری داروسازی، علوم پزشکی تهران. 1359، صفحات 6 تا 15.
- 14- میرزا، مهدی. و سفیدکن فاطمه. اسانسهای طبیعی- استخراج- شناسائی کمی و کیفی و کاربرد، انتشارات جهاد دانشگاهی. 1375، صفحات 14 تا 20.
- 15- Robber JE. Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. Williams and Wilkins, 1996; 224-32.
- 16- صمصام شریعت، هادی. عصاره گیری و استخراج مواد مؤثره و گیاهان دارویی، انتشارات مانی، 1371، صفحات 5-79.
- 17- Tyler VE. Pharmacognosy, 9th ed, Lea and Febiger 1988; 247-51.

می دهد استفاده از حلالهای آبی میزان استخراج تانن از میوه بلوط 15 تا 25 درصد بیشتر از روشهای عصاره گیری الکلی می باشد. با توجه به اینکه روش عصاره گیری الکلی به کمک دستگاه تقطیر در فشار کم، کل الکل موجود در نمونه تبخیر می گردد، عصاره بر دیواره ظرف رسوب می کند و در مرحله بعد مجدداً برای تعیین مقدار درصد تانن رسوب تشکیل شده در آب حل شده و درصد تانن اندازه گیری شده در آن از روش اول کمتر نشان می دهد. با این حال در روشهایی که از آب مقطر به عنوان حلال استفاده می گردد نمونه های عصاره گیری شده پس از 72 ساعت

کدر شده و بر سطح آن قارچ رشد می نماید و برای جلوگیری از این امر نمونه ها باید بلافاصله به یخچال منتقل گردد، و به کمک اتیل استات سطح نمونه ها از تماس با هوا محافظت شود (13). در بررسی های انجام شده در انتخاب روش مناسب جهت عصاره گیری از میوه درختان بلوط مشخص گردید، که در روش جوشاندن به علت انحلال نشاسته داخل هسته میوه، جدا سازی عصاره بسیار مشکل و وقت گیر و ازدقت لازم برخوردار نخواهد بود. از مشکلات عمده روش پرکولاسیون نیز طولانی بودن زمان آزمایش می باشد که به علت سرعت کم عبور حلال از روی نمونه برای رسیدن به حجم 250 میلی لیتر چندین ساعت وقت لازم

منابع:

- 1- فتاحی، محمد. طرح بررسی روشهای کاشت مستقیم بذر بلوط در غرب ایران، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی باخران، 1368، صفحات 75 - 79.
- 2- فتاحی، محمد، بررسی جنگلهای بلوط زاگرس، چاپ پیک ایران، 1373، صفحات 6 - 14.
- 3- نشریه وزارت کشاورزی و عمران روستائی، استفاده از میوه بلوط مجله زیتون، شماره 22، اسفند ماه، 1361، صفحات 21 تا 24.
- 4- مصدق، احمد. جنگل شناسی، مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران. 1375.
- 5- جوانشیر، کریم. اطلس گیاهان چوبی ایران، انجمن ملی حفاظت منابع طبیعی و محیط انسانی، 1355، صفحات 37 تا 50.
- 6- Markham KR, Techniques in Flavonoid Identification, NewYork: Academic Press Inc 1982; 185-7.
- 7- آئینه چی، یعقوب، مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران، انتشارات دانشگاه تهران، 1365، صفحات 203 تا 212.
- 8- Makkar HPS, Singh B. Distribution of condensed tannins is various fibre-fraction in young and mature leaves of some oak species. Anim Feed Sci Tech. 1991, 32: 253-60.

20- سالنامه آمار بازرگانی خارجی جمهوری اسلامی، مؤسسه انتشارات سوره وزارت صنایع، 1377.

18- مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، استاندارد اندازه‌گیری درصد تانن در برگ چای، 1370.

19- شهر آشوب، مرتضی، میکائیلی، فتاح، مفاهیم و روشهای آماری. جلد اول، انتشارات مرکز نشر دانشگاهی، 1368، صفحات 42 تا 46.

-
- ¹ - دکترای ویروس شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
- 2- گواهی عالی بهداشت، اداره کل پیشگیری و مبارزه با بیماریها