Archive of SID

دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۱، شماره ۴، صفحه ۶۹۷-۶۸۸ (۱۳۹۴)

بررسی تانن و اسید چرب میوه بلندمازو (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey.) در جنگل‌های النگدره استان گلستان

ژیلا اصغری[1*]، حمیدرضا صادقی‌پور[2]، سید خلیل هاشمی دوست[3] و محسن مظاهری تهرانی[4]

۱*- نویسنده مسئول، استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران، پست الکترونیک: asghari_jila@yahoo.com

۲- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

۳- فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد فیتوشیمی، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

۴- مربی، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: آذر ۱۳۹۲ تاریخ اصلاح نهایی: فروردین ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۳

چکیده

میوه بلوط یکی از انواع مغزهای خوراکی بوده که استفاده از آن در تغذیه انسان قدمتی طولانی دارد. در این پژوهش، ترکیب و مقدار اسید چرب و تانن موجود در میوه بلندمازو (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey.) در جنگل النگدره استان گلستان بررسی شد. استخراج روغن موجود در میوه از طریق دستگاه سوکسله و با استفاده از حلال هگزان انجام گردید. اسیدهای چرب قبل از تزریق به دستگاه کروماتوگرافی گازی، برای بررسی کمّی و کیفی به متیل‌استر تبدیل شدند. نتایج حکایت از حضور اسیدهای چرب اشباع شامل اسید پالمتیک (C16:0)، اسید مارگاریک (C17:0)، اسید استئاریک (C18:0) و اسیدهای چرب غیراشباع شامل اسید اولئیک (C18:1)، اسید لینولئیک (C18:2)، اسید لینولنیک (C18:3) و اسید گادولئیک (C20:1) داشت. بازده خالص استخراج برای روغن ۷/۴۹٪ بدست آمد که ۸۱/۱۳٪ آن را اسیدهای چرب غیراشباع و ۱۸/۸۷٪ آن را اسیدهای چرب اشباع تشکیل می‌دادند. سه اسید چرب عمده شناسایی شده به‌ترتیب شامل لینولئیک اسید به میزان ۴۹/۵۷ (میلی‌گرم اسید چرب بر گرم روغن)، اولئیک اسید به میزان ۳۴/۷۴ (میلی‌گرم اسید چرب بر گرم روغن) و پالمتیک اسید به میزان ۲۰/۵۸ (میلی‌گرم اسید چرب بر گرم روغن) بود. استخراج تانن نیز با حلال آب انجام شد. میزان کل تانن موجود در میوه با استفاده از نمودار استاندارد برحسب گالیک اسید و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که مقدار کل تانن در میوه این گونه ۱۷۸/۱۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در ۲ گرم ماده خشک و میزان روغن آن ۱/۴۹ گرم در ۲۰ گرم ماده خشک بود.

واژه‌های کلیدی: بلندمازو (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey.)، میوه بلوط، اسید چرب، تانن، لینولئیک اسید، اولئیک اسید.

مقدمه

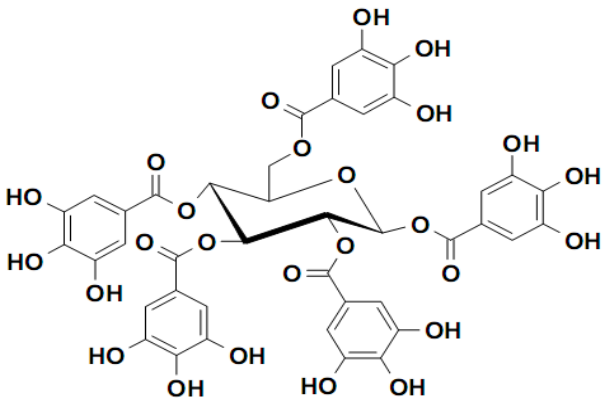
در سال‌های اخیر به‌دلیل اثرات نامطلوب داروهای شیمیایی، توجه زیادی به استفاده از گیاهان دارویی در سراسر جهان شده‌است. بنابراین ضروری است که در مبحث استفاده از گیاهان و فرآورده‌های آنها، پژوهش‌های نوین و کاملی انجام شود. گیاهان حاوی ترکیب‌های ثانویه وسیعی هستند که اغلب دارای فعالیت زیستی مهمی بوده و به‌طور وسیعی در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی مورد استفاده

www.SID.ir

Archive of SID

قرار می‌گیرند. اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ در غشاهای سلولی تمام بافت‌ها حضور دارند، که وسعت میزان حضور آنها در غشاهای بافتی به میزان دریافت آنها در رژیم غذایی وابسته است. غنی شدن غشاها از اسیدهای چرب ضروری می‌تواند فرایندهای پیام‌رسانی سلول، کارکرد پروتئین‌های غشایی و بیان ژن را تعدیل نماید. مصرف مقادیر توصیه شده اسیدهای چرب ضروری می‌تواند به افزایش عمومی سلامت کلی و احساس تندرستی کمک کند (Saffarzadeh *et al.*, 1999). در این میان از آنجا که ابزار آنزیمی مورد نیاز برای ساختن اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ در بدن انسان وجود ندارد، اینها باید از راه رژیم غذایی فراهم شوند که به آنها اسید چرب ضروری می‌گویند. البته بدن می‌تواند اسیدهای چرب امگا-۹ را سنتز کند.

تانن‌ها ترکیب‌های فنولیک با وزن مولکولی متفاوت (۳۰۰۰-۵۰۰ دالتون) و قابل حل در آب می‌باشند (Haslam, 1989). تانن‌ها براساس ساختار مولکولی به دو گروه تانن‌های متراکم (پروآنتوسیانیدینها) و تانن‌های قابل هیدرولیز طبقه‌بندی می‌شوند (Haslam, 1989؛ Okuda, 2005). تانن موجود در درختان بلوط بیشتر از نوع تانن قابل هیدرولیز است (Hagerman & Butler, 2002؛ Rakic *et al.*, 2007). تانن‌های قابل هیدرولیز مشتقاتی از اسید گالیک (۳، ۴ و ۵ تری‌هیدروکسی اسید بنزوییک) می‌باشند (Hagerman & Butler, 2002). بنابر این اساس تانن بر مبنای اسید گالیک محاسبه می‌شود. مولکول‌های اسید گالیک می‌توانند با اسید گالیک دیگر ترکیب شده و تشکیل تانن‌های قابل هیدرولیز پیچیده را دهند (Hagerman & Butler, 1991). تانن‌های قابل هیدرولیز را به‌طور کلی به دو گروه اصلی گالوتانن و الاجیتانن تقسیم‌بندی می‌کنند (Khanbabaee & van Ree, 2001). گالوتانن‌ها، به‌عنوان ساده‌ترین تانن‌های قابل هیدرولیز، استرهای ساده پلی‌گالویل گلوکز (شکل ۱) هستند. مهمترین گالوتانن، پنتاگالویل گلوکز یا PGG دارای پنج اتصال استری یکسان بوده که به گروه‌های هیدروکسیل آلیفاتیک، یک مولکول قند مرکزی متصل شده‌است. الاجیتانن‌ها شامل الاجیک اسید و گلوکز است. جفت شدن اکسیدی گروه‌های گالویل، گالوتانن‌ها را به الاجیتانن‌های مربوطه تبدیل می‌کند. الاجیتانن‌های ساده، استرهای هگزاهیدروکسی دی‌فنیک اسید (HHDP) هستند که در محلول آبی به‌طور خودبخود به الاجیک اسید لاکتونه می‌شود.



β-1,2,3,4,6-pentagalloyl-O-D-glucose

شکل ۱- ساختمان کلی پنتاگالویل گلوکز

www.SID.ir

Archive of SID

بلـوط‌هـا در جهـان دارای حـدود ۴۰۰ گونـه هسـتند (Johnson *et al.*, 2002) که بیشتر آنها درختان بلند جنگلی با پوستی ضخیم و چوبی و سخت و مقاوم هسـتند. درخـت بلوط عنصـر درختـی اصـلی جنگـل‌هـای زاگـرس اسـت (Sagheb Talebi *et al.*, 2014). اسـتان‌هـای زاگرسـی ازجمله کردستان، فارس، لرسـتان، کهگیلویـه و بویراحمـد، چهار محال و بختیاری و ایـلام دارای جنگـل هـای بلـوطی هستند که در نوع خود از بی‌نظیرتـرین جنگـل‌هـای جهـان می‌باشند. گونه بلنـدمازو (*Quercus castaneifolia*) یکـی دیگر از بلوط‌های بومی کشور است که گسـتره پـراکنش آن عمدتاً جنگل‌های هیرکانی به‌خصوص نواحی شرقی آن است (Panahi *et al.*, 2011a,b) و از مهمتـرین عناصـر درختـی سازنده جنگل‌های هیرکانی محسوب می‌شود.

در مورد تانن و اسید چرب میوه گونه‌های مختلف بلوط بررسی‌های زیادی در نقاط مختلف دنیا انجام شده‌است، امـا در داخل کشور مطالعات انجام شده محدود بوده و در مـورد میزان تانن و اسید چرب میوه بلنـدمازو در اسـتان گلسـتان پژوهشی انجام نشده‌است.

در یک پژوهش در مورد گونه مازودار (*Q. infectoria*) مشخص شد که میوه این گونه دارای ۸٪ چربی و ۱۰٪ تـانن است. ترکیـب اسـیدهای چـرب میـوه بـا اسـتفاده از روش کروماتوگرافی لایه نازک در مقایسه با استانداردهای موجود، حضور اسیدهای چرب اشباع میریسـتیک، پالمتیـک اسـید، اسـتئاریک اسـید، آراشـیدینیک اسـید و اسـیدهای چـرب غیراشباع اولئیک و لینولئیک را نشان می‌دهند که اسـیدهای چرب اشباع ۲۰٪ و اسیدهای چرب غیراشـباع ۸۰٪ چربـی کل دانه را تشکیل می‌دهد. بیشترین مقدار اسـید چـرب نیـز مربوط به اولئیک اسید (C18:1) با میزان ۵۹/۵٪ مـی باشـد (Alemzadeh *et al.*, 2000). در پژوهش دیگری در کشور الجزایر مقدار و انواع اسیدهای چرب موجود در میوه بلـوط همیشه سبز (*Q. ilex*) موجود در آن کشـور مـورد بررسـی قرار گرفت که میزان روغن اسـتخراج شـده ۹٪ بـود و سـه اسیدهای چرب غالب شامل اولئیک اسید (C18:1) با ۶۵٪، لینولئیـک اسـید (C18:2) بـا ۱۷/۶٪ و پالمتیـک اسـید (C16:0) با ۱۶/۵ بدست آمد. میزان اسید چرب غیراشباعی نیز ۸۳/۵٪ بود (Charef *et al.*, 2008). همچنـین در میـوه بلوط چوب پنبه (*Q. suber*) پس از عصاره‌گیری بـا حـلال آب–متانولی، میزان تـانن و مقـدار اسـید چـرب آن بعـد از استری کردن روغن با استفاده از کروماتوگرافی گازی (GC) تعیین شد (Tejerina *et al.*, 2011) که نتایج بدست آمده بـا سـایر گـزارش‌هـا مطابقـت داشـت. گروهـی از تـانن‌هـا (گالوتانن‌ها) دارای خواص دارویـی ازجملـه جلـوگیری از رشد پاتوژن‌ها و ضدخونریزی هستند و نشان داده شده‌است که گونه مازودار حاوی مقدار زیادی از این مـاده مـی‌باشـد (صـیامی و همکـاران، ۱۳۸۴). فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی عصاره‌های فنولی بدست آمده از میوه یک واریتـه بلنـدمازو (*Q. castaneifolia* var. *castaneifolia*) و وجود تـانن بـه میزان ۱۴٪ در پوست آن با بهره‌گیری از حـلال آب–متانـل (۱:۱) از دیگر پژوهش‌های انجام شده می‌باشد (جهانشـاهی و همکاران، ۱۳۸۹؛ قادری قهفرخی و همکاران، ۱۳۹۱).

با توجه به اهمیت تغذیه‌ای و صنعتی روغن‌ها و چربی‌ها، و با توجه به تحقیقات انجام شده در مورد میوه بلوط مناطق دیگر (Charef *et al.*, 2008) مبنی بر اینکه این میوه غنی از اسیدهای چرب غیراشباعی بوده و همچنین تانن موجـود در این میوه که علاوه‌بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی از اهمیت صنعتی نیز برخوردار مـی‌باشـد (Tejerina *et al.*, 2011) و کمبـود مطالعه در مورد میوه بلندمازو در جنگل‌های گلستان، اهداف این پژوهش (استخراج و اندازه گیری میزان اسیدهای چـرب ضروری میوه بلندمازو و اندازه‌گیری میزان تانن هیـدرولیزی میوه این گونه در جنگل‌هـای النگـدره در اسـتان گلسـتان) ضروری به‌نظر می‌رسید.

مواد و روشها

جمع‌آوری و آماده‌سازی گیاه

در ایـن تحقیـق میـوه درختـان بلنـدمازو (*Quercus castaneifolia*) در جنگل النگدره شـهر گرگـان در اواخـر آبـان مـاه سـال ۹۱ جمـع‌آوری شـد. جنگـل النگـدره در ۵ کیلومتری جنوب‌غربی شهرستان گرگـان قـرار دارد. ایـن

www.SID.ir

Archive of SID

جنگل با مساحت ۱۸۵ کیلومتر به‌عنوان یکی از شاخص ترین پارک های جنگلی کشور شناخته شده‌است. ازآنجا که میوه بلوط سرشار از تانن و اسید چرب است برای جلوگیری از اکسید شدن ترکیب های موجود و نیز جلوگیری از کپک زدن و فاسد شدن به‌دلیل رطوبت بالای منطقه، میوه‌های بلوط در محیط سرد و خشک یخچال نگهداری (دمای ۳ درجه سانتی‌گراد) شد. قبل از عصاره‌گیری، پوسته چوبی میوه‌ها جدا شده و با استفاده از آسیاب ذرات یکدست شد. آسیاب کردن نمونه‌ها سبب افزایش سطح تماس حلال با نمونه‌ها و نفوذ بهترحلال در ذرات شده و باعث هرچه بهتر انجام شدن فرایند استخراج می‌شود.

استخراج و اندازه‌گیری میزان روغن

نمونه‌ها به‌وسیله آسیاب خرد شده و بعد میزان ۲۰ گرم برای روغن‌گیری در دستگاه سوکسله با ۳۵۰ میلی‌لیتر حلال هگزان مورد استفاده قرارگرفت، فرایند استخراج به مدت ۲۴ ساعت و با سه مرتبه تکرار به‌طور کامل انجام شد.

پس از عصاره‌گیری کامل بالن حاوی محلول جمع‌آوری شده، حلال موجود با استفاده از دستگاه روتاری و گاز ازت خارج شد و بر این اساس مقدار ۱/۴۹ گرم از میوه بلوط روغن استخراج شد و بعد مقداری از روغن موجود استری شده و میزان درصد روغن محاسبه شد.

تهیه متیل‌استر روغن

از آن جایی‌که روغن ها نقطه‌جوش بالایی دارند نمونه خوبی برای آنالیز با کروماتوگرام گازی نیستند. اما گلیسرول استرها را می‌توان به روشهای شیمیایی به متیل‌استرهای اختصاصی هر اسید چرب که نقطه‌جوش پایینی دارند، تبدیل نمود. از نمونه روغن بدست آمده ۰/۰۵ گرم در ویال توزین شد و به آن ۵ میلی‌لیتر سود متانولی ۲٪ و ۲ میلی‌گرم استاندارد اسید چرب pentadecanoic ($C_5H_{30}O_2$) به‌عنوان استاندارد داخلی اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه درون یک بشر حاوی آب در حال جوش، حرارت داده شد. سپس ۲/۱۸ میلی لیتر بورتری‌فلورید متانولی به‌عنوان کاتالیزور به آن اضافه شد و عمل ریفلاکس برای مدت ۵ دقیقه دیگر ادامه یافت. در ادامه ۱/۵ میلی لیتر هگزان به نمونه اضافه و کمی تکان داده شد تا اسیدهای چرب مشتق‌سازی شده (متیل استر شده) در آن حل شوند. سپس برای رسوب دادن مولکول‌های گلیسرول ۱ میلی لیتر نمک اشباع سدیم‌کلرید (۳۰۰ گرم در لیتر) به محلول اضافه و مخلوط حاصل بشدت تکان داده شد. در پایان برای آبگیری از نمونه‌های اسید چرب ۱ میلی‌لیتر از فاز رویی جدا و به همراه ۰/۵ گرم سدیم‌سولفات (به‌عنوان ماده جاذب رطوبت) به‌وسیله سانتریفوژ با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه قرار داده شده، سپس فاز رویی به دستگاه GC تزریق شد (Metcalf & Shmitz, 1966).

بررسی متیل‌استر اسیدهای چرب با کروماتوگرافی گازی

به منظور آنالیز متیل استر اسیدهای چرب، از دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به ستون مویینه سیلیکایی BPX70، با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۲۲ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۲۵ میکرومتر و آشکارساز یونش شعله، ساخت شرکت UNICAM کشور انگلستان استفاده شد.

برنامه دمایی ستون که دستگاه بر مبنای آن متیل استر اسیدهای چرب را آنالیز نمود، بشرح زیر بود:

دمای شروع ۱۶۰ درجه سانتی گراد بود که ۵ دقیقه در این دما نگهداری شد و بعد با سرعت ۲۰ درجه سانتی گراد بر دقیقه به دمای ۱۸۰ درجه سانتی گراد رسید و ۱۰ دقیقه در این دما نگهداری شد. سپس با سرعت ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر دقیقه به دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد رسید و تا پایان در همین دما باقی ماند. زمان کل انجام کروماتوگرافی ۲۵ دقیقه بود. دمای تزریق ۲۵۰ درجه، دمای آشکارساز ۳۰۰ درجه سانتی گراد و سرعت جریان گاز حامل (هلیوم) ۴ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. همچنین تزریق به میزان ۰/۲ میکرولیتر و به روش split با نسبت ۱:۱۰ انجام شد (برای نمونه سه بار تزریق انجام شد).

متیل استرها با مقایسه زمان بازداری GC با مخلوط اسیدهای چرب استاندارد شناسایی و با استفاده از سطح زیر پیک‌ها در برابر سطح زیر پیک استاندارد داخلی اندازه‌گیری شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

استخراج و اندازه‌گیری تانن

برای استخراج تانن، مقدار ۲ گرم از نمونه پودر شده با ۶۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط گردید و برای ۱۰ ساعت روی شیکر قرار داده شد و بعد با کاغذ صافی صاف شد. اندازه‌گیری محتوای تانن کل عصاره با استفاده از اسپکتروفتومتری محاسبه شد (Krishnaiah *et al.*, 2009). محلول های کلرید آهن ($FeCl_3$) ۰/۱ مولار (۲/۷۰ گرم از کلرید آهن در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر)، محلول فروسیانید پتاسیم ($K_4Fe(CN)_6.3H_20$) ۰/۰۰۸ مولار (۰/۳۳۷ گرم از این ماده در ۴۰ میلی لیتر آب مقطر)، اسید کلریدریک (HCl) ۰/۱ مولار (محلول ۰/۸۵۹ میلی لیتر از اسید کلرید در ۲۰ میلی لیتر آب مقطر) و محلول گالیک اسید با غلظت ۱ میلی گرم در میلی لیتر (مقدار ۲ میلی گرم در ۲ میلی لیتر آب مقطر) برای اندازه‌گیری مورد استفاده قرار گرفت.

روش اندازه‌گیری مقدار تانن کل عصاره گیاهی

تهیه منحنی استاندارد گالیک اسید

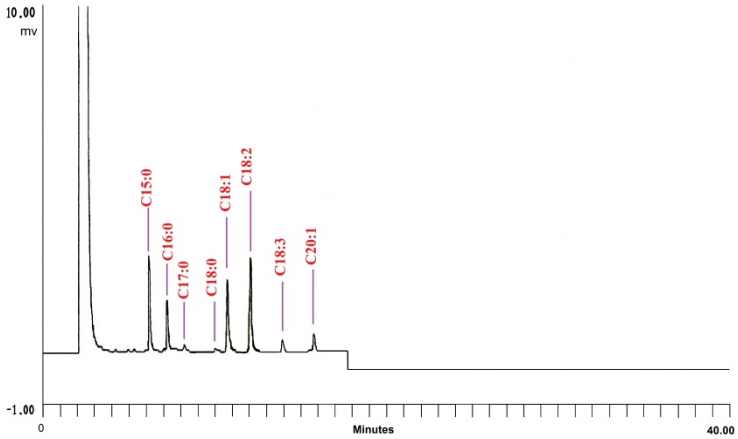
برای رسم منحنی استاندارد گالیک اسید، محلول پایه‌ای از این ماده با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه گردید. سپس در لوله‌های آزمایش مقادیر ۰، ۱۰، ۲۰، ... و ۱۰۰ میکرولیتر از این محلول ریخته و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد. به این ترتیب لوله‌ها حاوی ۰، ۱۰، ۲۰، ... و ۱۰۰ میکروگرم گالیک اسید بودند. سپس به هر یک از لوله‌ها مقدار ۲ میلی لیتر از کل مخلوط فروسیانید پتاسیم ۳ آبه ۰/۰۰۸ مولار، اسید کلرید ۰/۱ مولار و کلرید آهن (III) ۰/۱ مولار اضافه گردید. جذب محلول ها در ۳۹۵ نانومتر نسبت به شاهد اندازه‌گیری شد. از لوله آزمایش فاقد گالیک اسید به‌عنوان شاهد استفاده شد. منحنی استاندارد براساس مقادیر مختلف گالیک اسید و مقادیر جذب با ضریب خطی ۰/۹۹۲۳ بدست آمد.

مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره آبی تهیه شده مورد نظر، رقیق شده با آب در لوله‌های آزمایش ریخته شد. سپس مقدار ۲ میلی لیتر از کل مخلوط فروسیانید پتاسیم ۳ آبه ۰/۰۰۸ مولار، اسید کلرید ۰/۱ مولار و کلرید آهن (III) ۰/۱ مولار به آن اضافه گردید؛ مقدار جذب نمونه نیز نسبت به شاهد در ۳۹۵ نانومتر با سه بار تکرار خوانده شد. با قرار دادن مقدار جذب نمونه در معادله مربوط به منحنی استاندارد، مقدار تانن کل موجود در عصاره محاسبه شد. در نهایت، داده‌ها براساس معادل میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه بیان گردید.

نتایج

تعیین مقدار و نوع اسیدهای چرب بلوط

شکل ۲ طیف کروماتوگرام ترکیب اسیدهای چرب در میوه را نشان می‌دهد. مقدار ۷/۴۹٪ روغن از میوه بلندمازو استخراج شد.



شکل ۲- طیف کروماتوگرام اسیدهای چرب موجود در میوه بلندمازو

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به طیف کروماتوگرام حاصل از روغن، ۷ اسید چرب عمده در میوه شناسایی شد که مطابق جدول ۱ برحسب میلی‌گرم اسید چرب بر گرم روغن نمایش داده شده‌اند. مقدار اسیدهای چرب با استفاده از معادله ۱ محاسبه می‌گردد.

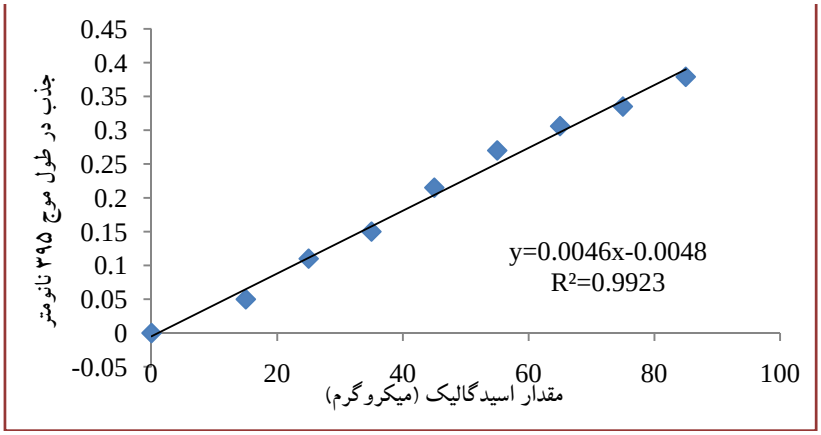
معادله ۱

$$\text{مقدار اسید چرب در روغن} = \frac{\text{سطح زیر پیک اسید چرب} \times \frac{2}{\text{مساحت پیک استاندارد داخلی}}}{\text{وزن روغن}}$$

جدول ۱- ترکیب اسیدهای چرب میوه بلندمازو در جنگل النگدره استان گلستان

نام متداول اسید	اسید چرب	زمان بازداری (دقیقه)	مقدار اسید چرب
پالمتیک	C16:0	۶/۹۲۵	۲۰/۵۸±۰/۳۶
مارگاریک	C17:0	۷/۸۵۰	۱/۵۳±۱/۳۲
استئاریک	C18:0	۹/۵۶۷	۱/۷۸±۰/۵۸
اولئیک	C18:1	۱۰/۲۲۵	۳۷/۷۴±۱/۲۵
لینولئیک	C18:2	۱۱/۴۶۷	۴۹/۵۷±۰/۴۸
لینولنیک	C18:3	۱۳/۲۰۸	۶/۵۴±۰/۷۵
گادولئیک	C20:1	۱۵/۱۶۷	۸/۸۸±۰/۶۷
SFA (اسید چرب اشباع)			۲۳/۸۹±۳/۲۶
USFA (اسید چرب غیر اشباع)			۱۰۲/۷۳±۳/۱۵
Total (کل اسید چرب)			۱۲۶/۶۲±۵/۴۱

مقادیر به‌صورت میانگین (انحراف معیار) از سه بار تکرار بیان شده‌اند.



شکل ۳- منحنی استاندارد گالیک اسید

www.SID.ir

Archive of SID

براساس نتایج حاصل از آنالیز اسیدهای چرب توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC)، اسید لینولئیک (C18:2) در مقایسه با کل اسیدهای چرب بیشترین سهم را دارد و بعد از آن به‌ترتیب اسید اولئیک (C18:1)، اسید پالمیتیک (C16:0) و اسید گادولئیک (C20:1) عمده‌ترین اسیدهای چرب شناخته شده در روغن بودند.

تعیین مقدار تانن

میزان تانن از روی میزان جذب نمونه نسبت به شاهد در طول موج ۳۹۵ نانومتر و با استفاده از معادله حاصل شده از منحنی استاندارد با سه بار تکرار آزمایش، مقدار میانگین ۱۷۸/۱۳ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در ۲ گرم ماده خشک (۸/۹۱٪) بدست آمد.

منحنی استاندارد آن در شکل ۳ نشان داده شده‌است.

در معادله بدست آمده از منحنی استاندارد به جای y مقادیر جذب خوانده شده قرار داده شد و مقدار x برحسب واحد میکروگرم (µgr) محاسبه شد. از تقسیم حجم مورد استفاده (v) به حجم کل نمونه (V)، وزن خشک ماده (grdw) بدست آمد (ستون ۶، جدول ۲)، که از تقسیم مقادیر x محاسبه شده برحسب میلی‌گرم بر وزن خشک ماده مقدار مجهول اسید گالیک (برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) محاسبه گردید.

جدول ۲- مقادیر بدست آمده تانن (معادل میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک گیاه) در میوه بلندمازو

نمونه	جذب 395 nm	X (µg)	V sample (µl)	v use (µl)	grdw	X (mg)	mg/grdw	میانگین
۱	/۲۹۶	/۳۹۱۳	۶۰۰۰۰	۲۰	۰۰۰۳۳۳	۰۶۵۳۹	/۱۷۳۹	
	۰	۶۵			۰/	۰/	۱۹۶	
۲	/۲۳۵	/۱۳۰۴	۶۰۰۰۰	۲۰	۰۰۰۳۳۳	۰۵۲۱۳	/۳۹۱۳	
	۰	۵۲			۰/	۰/	۱۵۶	
۳	/۲۷۴	/۶۰۸۶	۶۰۰۰۰	۲۰	۰۰۰۳۳۳	۰۶۰۶۰	/۸۲۶۰	/۱۴±۱۷۸/۱۳
	۰	۶۰			۰/	۰/	۱۸۱	۲۰

بحث

مهمترین ویژگی روغن این میوه وجود مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیراشباع نظیر اولئیک (C18:1) و لینولئیک اسید (C18:2) است. مقادیر زیاد اسید چرب ضروری چند اشباعی امگا-۶ (C18:2n6) و وجود اسید چرب ضروری امگا-۳ (C18:3n3) است که این روغن را می‌تواند در زمره روغن‌های گیاهی با ارزش غذایی بالا قرار دهد. لینولئیک اسید، اسید چرب ضروری بدن انسان بوده و جزء خانواده اسیدهای چرب امگا-۶ می‌باشد و وجود آن در رژیم غذایی از نظر نقش عملکرد آن برای بافت‌ها و حفظ و نگهداری بدن ضروریست.

نتایج حاضر در مقایسه با پژوهش‌های مشابه Tejerina و همکاران (۲۰۱۱)، Charef و همکاران (۲۰۰۸) و Alemzadeh و همکاران (۲۰۰۰) نشان می‌دهد که اولئیک اسید، لینولئیک اسید و پالمتیک اسید به‌ترتیب سه اسید چرب عمده و غالب در میوه بلوط‌ها هستند. همچنین میزان روغن استخراج شده تقریباً نزدیک به مقادیر گزارش شده توسط Charef و همکاران

www.SID.ir

Archive of SID

(۲۰۰۸) و Alemzadeh و همکاران (۲۰۰۰) بود. میزان تانن در تحقیقات انجام شده توسط Rakic و همکاران (۲۰۰۷) در مورد گونه *Q. robur* نشان داد که این میوه حاوی ۹/۰۶٪ تانن است. مقدار تانن در گونه‌های *Q. serrata* و *Q. mongolica* به‌ترتیب ۷/۳٪ و ۱۱/۷٪ و در black oaks ۵/۷٪ گزارش شده‌است (Shimada, 2001). در پژوهش دیگری در مورد میوه مازودار در جنگل های استان کردستان، میزان تانن استخراج شده از این گونه ۱۰٪ بدست آمد (Alemzadeh *et al.*, 2000). در پژوهشی دیگر در مورد تانن میوه گونه *Q. rotundifolia* انجام شد، پس از استخراج با حلال آب، متانول با نسبت ۲۰:۸۰ به روش خیس کردن برای مدت ۲۴ ساعت، مقدار تانن با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و استفاده از استاندارد گالیک اسید ۱۱/۲۶٪ گزارش شد. نتایج گزارش شده، مقادیر متفاوتی از تانن را نشان می‌دهند که دلیل آن مختلف بودن واریته‌هاست (Tejerina *et al.*, 2011). میزان تانن (۸/۹۱٪) در گونه بلندمازو در مقایسه با سایر گزارش‌ها نشان می‌دهد که این گونه حاوی مقادیر زیادی تانن است. بیشتر تانن موجود در بلوط از نوع تانن هیدرولیزی است (بیش از ۹۰٪)، که همسو با نتایج سایر پژوهش‌های انجام شده در این زمینه است (Rakic *et al.*, 2007؛ Tejerina *et al.*, 2011؛ Hagerman & Butler, 1991).

در نهایت پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های مشابهی در مورد این گونه در سایر مناطق جنگل‌های هیرکانی و همچنین جنگل‌های ارسباران انجام شود تا نتایج جامع‌تر و کامل‌تر شوند.

سپاسگزاری

از دست‌اندرکاران محترم دانشگاه گلستان به دلیل حمایت‌های مالی سپاسگزاری می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- جهانشاهی، ش.، طبرسا، ت.، اصغری، ژ. و رسالتی، ح.، ۱۳۸۹. بررسی میزان اسید تانیک موجود در پوست بلوط بلندمازو (*Quercus castanifolia*). صنایع چوب و کاغذ ایران، ۱(۱): ۳۵-۲۷.
- صیامی، ع.، حیدری، ر.، پاکباز، ر. و آقازاده، م.، ۱۳۸۴. اندازه‌گیری تانن در چهار ژنوتیپ بلوط (*Quercus infectoria* Oliv.) و مصرف پودر گال آن در درمان زخم تجربی. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۱(۴): ۴۴۱-۴۳۳.
- قادری قهفرخی، م.، صادقی ماهونک، ع.، اعلمی، م.، عزیزی، م. و قربانی، م.، ۱۳۹۱. تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌های فنولی میوه یک واریته بلوط ایرانی (*Q. castaneifolia* var. *castaneifolia*). علوم و صنایع غذایی، ۹(۳۵): ۵۶-۴۵.
- Alemzadeh, I., Vossoughi, M. and Maghsoodi, V., 2000. An investigation of chemical and physical properties of Kordestan (Iran) acorn. Journal of Agricultural Science and Technology, 2(3): 225-228.
- Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M. and Stocker, P., 2008. Determination of the fatty acid composition of acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* seeds growing in Algeria. Journal of Oil and Fat Industries, 85(10): 921-924.
- Hageraman, A.E. and Butler, L.G., 1991. Tannins and lignins: 355-388. In: Rosenthal, G.A. and Berenbaum, M.R., (Eds.). Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites (Vol. 1: The chemical participants). Academic Press, 468p.
- Haslam, E., 1989. Plant Polyphenols. Cambridg University Press, 230p.
- Johnson, P.S., Shiflev, S.R. and Rogers, R., 2002. The Ecology and Silviculture of Oaks. CABI Publishing, Wallingford, Oxon, UK, 544p.
- Khanbabaee, K. and van Ree, T., 2001. Tannins: classification and definition. Natural Product Reports, 18(6): 641-649.
- Krishnaiah, D., Devi, T., Bono, A. and Sarbatly, R., 2009. Studies on Phytochemical constituents of six Malaysian medicinal plants. Journal of Medicinal Plants Research, 3(2): 67-72.
- Metcalf, L.D. and Shmitz, A.A., 1966. Rapid preparation of methyl esters from lipid for gas chromatography analysis. Analytical Chemistry, 38(3): 514-515.
- Okuda, T., 2005. Systematics and health effects of chemically distinct in medicinal plants. Phytochemistry, 66(17): 2012-2031.
- Panahi, P., Jamzad, Z., Pourmajidian, M.R., Fallah, A. and Pourhashemi, M., 2011a. A revision of chestnut-leaved oak (*Quercus castaneifolia* C. A. Mev.

www.SID.ir

Archive of SID

(*Quercus branti*), *Pistacia atlantica* and *Pistacia Khinjuk* seed as non-conventional feedstuff. Acta Agraria Kaposvariensis, 3(3): 59-69.
- Sagheb Talebi, Kh., Saiedi, T. and Pourhashemi, M., 2014. Forests of Iran: a treasure from the past a hope for future. Springer Publication, 152p.
- Shimada, T., 2001. Nutrient compositions of acorns and horse chestnuts in relation to seed-hoarding. Ecological Research, 16(4): 803-808.
- Tejerina, D., Garcia-torres, S., Cabeza de Vaca, M., Vazquez, F.M. and Cava, R., 2011. Acorns (*Quercus rotundifolia* Lam.) and grass as natural sources of antioxidants and Fatty acids in the "montanera" feeding of Iberian pig: Intra-and inter-annual variations. Food Chemistry, 124(3): 997-1004.

Fagaceae) in Hyrcanian forests of Iran. Caspian Journal of Environmental Sciences, 9(2): 145-158.
- Panahi, P., Jamzad, Z., Pourmajidian, M. R., Fallah, A. and Pourhashemi, M., 2011b. Importance of micromorphological characteristics of foliar and pollen grains for delimitation of oak species in Iran. Iranian Journal of Forest and Poplar research. 19(1): 163-179.
- Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., Povrenovic, D. and Siler-Marinkovic, S., 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry, 104(2): 830-834.
- Saffarzadeh, A., Vincze, L. and Csap, J., 1999. Determination of the chemical composition of acorn

www.SID.ir

Archive of SID

Study of the tannin and fatty acid composition of acorn of chestnut- leaved oak (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey.) in Golestan province

J. Asghari[1*], H.R. Sadeghipour[2], S.Kh. Hashemi Dost[3] and M. Mazaheri Tehrani[3]

1*- Corresponding author, Department of Chemistry, Science Faculty, Golestan University, Gorgan, Iran
E-mail: asghari_jila@yahoo.com
2- Department of Plant Physiology, Science Faculty, Golestan University, Gorgan, Iran
3- Department of Chemistry, Science Faculty, Golestan University, Gorgan, Iran

Received: November 2013 Revised: April 2014 Accepted: April 2014

Abstract

Oak acorn is an edible nut with a long history in human nutrition. In this study, the kernel fatty acid composition and tannin contents of chestnut leaved oak (*Quercus castaneifolia* C.A. Mey.) was investigated in Alangdarreh forest in Golestan province. Oil extraction from kernel was carried out by Soxhelt apparatus using n-hexane as solvent. Fatty acids were methyl esterified before quantitative and qualitative gas chromatography analysis. The results revealed the presence of saturated fatty acids including palmitic acid (C16:0), margaric acid (C17:0), stearic acid (C18:0) and unsaturated fatty acids such as oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2), linolenic acid (C18:3) and gadoleic acid (C20:1). The net yield of extraction for oil was 7.49%, constituting 81.13% unsaturated and 18.87% saturated fatty acids. The three major identified fatty acids and their respective relative amounts were linoleic acid (49.57 $mg.g^{-1}$ oil), oleic acid (34.74 $mg.g^{-1}$ oil) and palmitic acid (20.58 $mg.g^{-1}$ oil). Tannin extraction was carried out by water as solvent. The total tannin content of acorn was determined using gallic acid as standard spectrophotometrically. Results showed that the total tannin content of acorn was equivalent to about 178.13 mg galic $acid.g^{-1}$ dry weight and the total oil content of acorn was 1.49 mg. 20 g^{-1} dry weights.

Keywords: Chestnut- leaved oak (*Quercus castaneifolia* C. A. Mey.), acorn, fatty acid, tannin, linoleic acid, oleic acid.

www.SID.ir