



اثر فرآوری بلوط به روش خیساندن قلیایی - تخمیر بر آنالیز بیوشیمیایی و قابلیت هضم برون‌تنی آن در کپور معمولی

حجت اله علمداری^{۱*}، مهدیه نارویی^۱

^۱گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، خوزستان، ایران.

نوع مقاله:	چکیده
پژوهشی اصیل	تأثیر از ترکیبات ضد تغذیه‌ای موجود در میوه بلوط است. هدف تحقیق، کاهش میزان تانن بلوط از طریق فرآیند خیساندن قلیایی - تخمیر و بررسی اثر این فرآیند بر قابلیت هضم بلوط در شرایط برون‌تنی بود. بلوط در محلول سود ۰/۱ مولار به مدت ۸ ساعت خیسانده شد. سپس شستشوی بلوط و خیساندن در آب مقطر به مدت ۱۶ ساعت انجام شد. متعاقباً تخمیر به مدت ۲۴ ساعت در ۶ تیمار حاوی ۰/۵، ۱/۵، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر نانوائی به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط انجام گردید. تیمار شاهد خیسانده و تخمیر نشد. عصاره آنزیمی از روده کپور معمولی به وزن ۹۵/۶ گرم استخراج شد. به‌طور معنی‌دار پروتئین خام در تیمارهای مختلف بجز تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به میزان ۵/۸ تا ۱۸۶/۵ درصد بیشتر از شاهد گردید اما در همه تیمارها خاکستر (۸/۴ تا ۴۸/۲ درصد)، کل ترکیبات فنولی (۵۶/۸ تا ۶۸/۴ درصد)، ترکیبات فنولی غیر تاننی (۵۷/۴ تا ۷۳/۸ درصد) و تانن‌های متراکم (۸۷ تا ۹۵/۶ درصد) کمتر از شاهد شد ($p < 0.05$). قابلیت هضم کربوهیدرات در تیمارهای مختلف به میزان ۳۳/۷ تا ۶۰/۷ درصد کمتر از شاهد و قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ترتیب به میزان ۵۲/۸، ۱۰۳/۸ و ۱۴۵/۳ درصد بیشتر از شاهد گردید. به دلیل اهمیت ارتقاء کمیت و کیفیت پروتئین در مواد اولیه غذایی و کاهش میزان ترکیبات فنولی ضد تغذیه‌ای، تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط جهت عمل‌آوری بلوط به روش خیساندن قلیایی - تخمیر توصیه می‌شود.
نویسنده مسئول مکاتبه:	واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنولی، خوراک ماهی، محلول سود، مخمر نانوائی
حجت اله علمداری، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه صنعتی خاتم الانبیاء بهبهان، بهبهان، خوزستان، ایران..	
ایمیل: alamdari671@yahoo.com	

۱ | مقدمه

برون‌تنی (In vitro) برای ارزیابی سریع کیفیت و قابلیت هضم مواد اولیه غذایی افزایش یافته است (Wang et al., 2021).

جنگل‌های زاگرس با ۶ میلیون هکتار مساحت، ۴۰ درصد از جنگل‌های ایران را تشکیل می‌دهند. حدود ۷۰ درصد از تیپ گونه‌های جنگلی زاگرس شامل گونه‌های مختلف بلوط می‌باشند (Shahbazi and Shafaghathi, 2020). از میوه بلوط به دلیل ارزانی و در دسترس بودن به‌عنوان خوراک دام استفاده می‌شود. این میوه در کنار داشتن ترکیبات مغذی، غنی از تانن می‌باشد که اثرات ضد تغذیه‌ای آن در جانوران به اثبات رسیده است (Talebian Nik and Alamdari, 2020). فرآیند خیساندن، اقتصادی‌ترین فناوری جهت سم‌زدایی از مواد غذایی است (Ramli et al., 2021).

بهبود بازدهی خوراک، موضوعی مهم در سیستم‌های آبی-پروری متراکم برای به حداکثر رساندن تولید است. دسترسی همزمان به بازدهی بالاتر خوراک و قیمت پایین‌تر آن، چالشی بزرگ برای متخصصان علم تغذیه می‌باشد (Narui and Alamdari, 2022). صنعت ساخت خوراک نیازمند روش‌های موثر برای غربال‌گری مواد اولیه غذایی است تا بتوان از آن‌ها بجای سایر موادی که در معرض نوسان قیمت و قابلیت دسترسی هستند، استفاده نمود. بررسی قابلیت هضم مواد مغذی در شرایط درون‌تنی (In vivo)، روشی پذیرفته شده برای ارزیابی خوراک‌ها می‌باشد اما این روش معمولاً نیاز به نیروی کار داشته، وقت‌گیر و پرهزینه بوده و ممکن است در مقیاس صنعتی مناسب نباشد. بر این اساس، علاقه محققان به استفاده از روش‌های

فیزیولوژیکی توانایی تحمل گنجاندن مقادیر بیشتری از فرآورده‌های گیاهی در جیره غذایی را دارد (Anwar et al., 2020)، به عنوان گونه مناسب جهت استخراج عصاره آنزیمی برای مطالعه هضم برون تنی در نظر گرفته شد.

۲ | مواد و روش‌ها

مراحل فرآوری و تیمار بندی بلوط به‌طور خلاصه در شکل ۱ نشان داده شده است. میوه رسیده بلوط از جنگل‌های اطراف روستای آب کاسه در شهرستان کهگیلویه جمع‌آوری شد و پس از حذف دستی پوسته خارجی، در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک گردید. پوسته داخلی بلوط به روش دستی جداسازی شد. میوه بلوط در محلول سود ۰/۱ مولار به مدت ۸ ساعت خیسانده شد. سپس شستشوی بلوط و خیساندن در آب مقطر به مدت ۱۶ ساعت و با تعویض آب مقطر هر ۸ ساعت یکبار انجام گردید. خیساندن با نسبت وزنی-حجمی ۱ به ۵ در ۵۰ درجه سانتی‌گراد (Ghaderi-Ghahfarrokhi et al., 2017) انجام شد. این بلوط‌ها ابتدا بوسیله چرخ گوشت خرد شدند و سپس تحت تخمیر قرار گرفتند. فرآیند تخمیر در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت (Khattab and Arntfield, 2009) و با ۰/۵، ۱/۵، ۳، ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر نانوائی به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط (قبل از خیساندن) در قالب ۶ تیمار انجام گردید. برای این کار مخمر نانوائی فعال خشک به مقدار مشخص ذکر شده، در ۵۰ میلی لیتر آب معمولی ولرم حل شد و سپس به بلوط‌های چرخ شده افزوده گردید. بلوط‌های تخمیر شده به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند تا مخمر غیر فعال گردد (Khattab and Arntfield, 2009). ادامه خشک شدن در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در آون انجام شد. تیمار شاهد خیسانده و تخمیر نشد اما در سایر تیمارها، اثر تجمع‌ی خیساندن در محلول سود و آب مقطر و سپس تخمیر بر شاخص‌های مورد نظر بررسی گردید. در پایان، تیمارهای مختلف بلوط آسیاب شده و با الک ۲۵۰ میکرون غربال گردیدند تا آرد بلوط فرآوری شده به دست آید.

2021) و به عنوان موثرترین پروتکل برای حذف تانن‌های متراکم و ترکیبات فنولی محلول در آب از طریق ورود این مواد به محیط و دور ریختن آن‌ها می‌باشد (Godrich et al., 2023). اثر مثبت خیساندن میوه بلوط در محلول سود (Ghaderi-ghahfarrokhi et al., 2017) و آب معمولی (Nadri and Alamdari, 2022) بر کاهش میزان ترکیبات فنولی در آن به اثبات رسیده است. از آنجایی که هیچ روش عمل‌آوری واحدی سبب حذف یا کاهش همه انواع عوامل ضد تغذیه‌ای نمی‌شود، تولید خوراک‌های بر پایه بذر گیاهان به کمک ترکیبی از روش‌های عمل‌آوری مختلف و متعاقب پیشنهاد شده است (Nikmaram et al., 2017).

از طریق روش تخمیر می‌توان از ظرفیت میکرواورگانیزم‌های مختلف در تجزیه مواد ضد مغذی برای عمل‌آوری زیستی غذاهای گیاهی استفاده نمود. در این فرآیند میکرواورگانیزم‌ها با بیوسنتز اسیدهای آمینه ضروری، اسیدهای چرب و ویتامین‌ها سبب بهبود محتوای مغذی در مواد اولیه غذایی می‌شوند (Ghosh, 2017). از مخمر نانوائی (*Saccharomyces cerevisiae*) به دلیل توانایی ترشح آنزیم‌های خارج سلولی، غیر بیماری‌زا بودن و قیمت پایین به‌طور گسترده در تخمیر سنتی استفاده شده است (Hawashi et al., 2019). تحقیقات نشان داده است که تانن موجود در بلوط، اثر منفی بر تخمیر دارد (Narui and Alamdari, 2022). بر این اساس، ابتدا به روش خیساندن تا حدی از تانن موجود در بلوط کاسته شد و سپس میوه بلوط تحت فرآیند تخمیر قرار گرفت.

صرف نظر از تحقیقات زیادی که در مورد اثرات مفید فرآیند خیساندن بر بهبود ارزش غذایی دانه‌های مختلف گیاهی انجام شده (Thepthanee et al., 2024)، تاکنون اثر خیساندن میوه بلوط (*Quercus brantii*) در محلول سود و سپس تخمیر آن توسط مخمر نانوائی (*Saccharomyces cerevisiae*) بر آنالیز بیوشیمیایی، میزان ترکیبات فنولی و قابلیت هضم آن در شرایط برون تنی در ماهیان، مورد مطالعه قرار نگرفته است. کپور معمولی (*Cyprinus carpio*) یکی از مهمترین گونه‌های ماهیان پرورشی در سطح جهان است. از آنجایی که این ماهی همه‌چیزخوار است و از لحاظ

میوه بلوط ← حذف پوسته خارجی ← خشک کردن ← حذف پوسته داخلی ← خیساندن در محلول سود ← شستشو و خیساندن در آب مقطر ← خرد کردن با چرخ گوشت ← تخمیر با مخمر نانوائی در شش دوز مختلف ← خشک کردن ← آسیاب کردن ← الک کردن ← آرد بلوط فرآوری شده

شکل ۱- خلاصه مراحل فرآوری و تیماربندی بلوط آنالیز بیوشیمیایی

دوره نوری به صورت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و میانگین دمای آب برابر با ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. یک عدد ماهی از هر مخزن به طور تصادفی برای استخراج آنزیم صید شد. وزن و طول ماهیان به ترتیب برابر با $2/2 \pm 95/6$ گرم و $0/9 \pm 19/5$ سانتی‌متر (انحراف استاندارد $\pm$ میانگین) بود. کل روده هر ماهی به صورت جداگانه از بدن خارج و در ظرف از قبل سرد شده، قرار داده شد. حذف خون و سایر مواد زائد از طریق شستشو با آب مقطر و سپس با محلول بافر فسفات-نمکی (۰/۱ مولار با pH برابر با ۸/۱۵ و حاوی ۰/۹ درصد کلرید سدیم) انجام شد. روده‌های تمیز شده با قیچی تکه تکه گردید. با استفاده از محلول بافر، هموژنات ۱۰ درصد بوسیله هاون چینی و به روش دستی به مدت ۱۰ دقیقه تهیه شد. هموژنات در ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مایع رویی جمع‌آوری و به حجم‌های کوچک تقسیم گردید و تا زمان آزمایش هضم برون تنی، در ۲۴- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Khan and Ghosh, 2013).

قابلیت هضم کربوهیدرات و پروتئین

ابتدا مخلوط واکنش حاوی ۲۰۰ میلی‌گرم از هر نمونه آرد بلوط، ۴۰ میلی‌لیتر بافر فسفات-نمکی ۰/۱ مولار و ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی در دمای اتاق (۲۸ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی روی شیکر در ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۲ ساعت انکوباته گردید. جهت تعیین قابلیت هضم کربوهیدرات قبل از آزمایش هضم، ۱/۵ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش به عنوان شاهد برداشته شد. محلولی از ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط واکنش و ۱/۵ میلی‌لیتر معرف دی‌نیترو-سالیسیلیک‌اسید در حمام آب جوش به مدت ۵ دقیقه قرارداده شد و سپس تا دمای اتاق خنک گردید. لوله آزمایش در ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. میزان جذب نور در ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری و سپس با منحنی استاندارد مالتوز مقایسه شد. قابلیت هضم کربوهیدرات در شرایط برون تنی برحسب میلی‌گرم مالتوز به ازای هر میلی‌گرم نمونه گزارش گردید (Kattakdad et al., 2018). برای تعیین قابلیت هضم پروتئین قبل از

پروتئین خام با اندازه‌گیری نیتروژن به روش کلدال و سپس حاصل ضرب آن در عدد ۶/۲۵ (Ozcan, 2006)، چربی خام با عصاره‌گیری از نمونه‌ها به کمک پترولیوم اتر به روش سوکسله و رطوبت با خشک کردن در آون در دمای ۱۰۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت (AOAC, 2000) تعیین شد. خاکستر آرد بلوط با قراردادن نمونه در کوره در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد در دو بازه زمانی ۳ ساعته و با وقفه-ای بین این دو زمان جهت کاهش دما به زیر ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد و ورود هوای تازه به کوره انجام گردید (Thiex et al., 2012). کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر تاننی و تانن‌های متراکم به روش فولین‌سیوکالتتو اندازه‌گیری شد (Makkar, 2003). برای این منظور، استخراج عصاره تاننی به وسیله استون آبی ۷۰ درصد و در حمام آبی اولتراسونیک به مدت ۲۰ دقیقه (دو مرتبه ۱۰ دقیقه ای با فاصله ۵ دقیقه از هم) انجام شد. مایع شفاف بالایی (سوپرناتانت) با انجام سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه و با شدت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به دست آمد. اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی و ترکیبات فنولی غیر تاننی در طول موج ۷۲۵ نانومتر و اندازه‌گیری تانن‌های متراکم در طول موج ۵۵۰ نانومتر انجام شد. جهت تعیین pH آرد بلوط، مقدار یک گرم آرد بلوط در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای اتاق حل گردید. پس از ۱۰ دقیقه، pH نمونه‌ها بوسیله pH متر رومیزی اندازه‌گیری شد (Chumwaengwapee et al., 2013).

استخراج آنزیم

تعداد ۱۵ قطعه بچه ماهی کپور معمولی (Cyprinus carpio) به وزن حدود ۹۵ گرم از یک مزرعه پرورش ماهی خصوصی تامین گردید و به مدت دو هفته در سه مخزن ۲۵۰ لیتری (۵ قطعه ماهی در هر مخزن) مرحله سازگاری با شرایط سالن پرورش انجام شد. در مدت سازگاری، ماهیان روزانه دو بار تا حد سیری در ساعات ۹ و ۱۴ با خوراک تجاری کپور (ساخت کارخانه خوراک شیلان و حاوی ۳۲ درصد پروتئین خام، ۷/۵ درصد چربی خام و ۱۰ درصد رطوبت) تغذیه شدند (Alamdari and Musavi, 2023).

با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد ($P < 0.05$).

۳ | نتایج

مطابق جدول ۱ به‌طور معنی‌دار پروتئین خام در تمام تیمارها بجز تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط، به‌میزان ۵/۸ تا ۱۸۶/۵ درصد بیشتر از شاهد گردید اما خاکستر در همه تیمارها به‌میزان ۸/۴ تا ۴۸/۲ درصد کمتر از شاهد شد ($P < 0.05$). افزایش سطح مخمر سبب افزایش میزان پروتئین خام و خاکستر شد به‌طوری‌که از میان تیمارهای تخمیری، بیشترین سطح پروتئین خام و خاکستر در تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط مشاهده گردید ($P < 0.05$). تفاوت معنی‌دار در میزان چربی خام بین تیمارهای مختلف ایجاد نشد ($P > 0.05$).

آزمایش هضم، ۱/۵ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش به‌عنوان شاهد برداشته شد. محلولی از ۱/۵ میلی‌لیتر مخلوط واکنش و ۱/۵ میلی‌لیتر معرف کادمیوم نین‌هیدرین به مدت ۵ دقیقه در ۸۴ درجه سانتی‌گراد و سپس فوری بر روی یخ قرار داده شد. پس از سانتریفوژ لوله آزمایش در $g \ 1400$ به مدت ۱۰ دقیقه، جذب نوری مایع رویی در ۵۰۷ نانومتر اندازه‌گیری و با منحنی استاندارد تیروزین مقایسه شد. قابلیت هضم پروتئین در شرایط برون تنی برحسب میکروگرم تیروزین به ازای هر میلی گرم نمونه گزارش گردید (Kattakdad et al., 2018).

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه محاسبات به کمک نرم‌افزارهای SPSS نگارش ۲۰ و اکسل نسخه ۲۰۱۳ انجام شد. کنترل نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، کنترل همگنی واریانس‌ها با آزمون لون، مقایسه متغیرهای مورد مطالعه با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین داده‌ها

جدول ۱- آنالیز بیوشیمیایی انواع آرد بلوط بر حسب درصد از ماده خشک (خطای استاندارد $\pm$ میانگین سه تکرار)

تیمار	پروتئین خام	چربی خام	خاکستر
۰/۵	$2/81 \pm 0.05^g$ (-۱۰/۰)	$6/06 \pm 0.49$	0.74 ± 0.04^d (-۴۸/۲)
۱/۵	$3/29 \pm 0.02^e$ (+۵/۸)	$6/61 \pm 0.36$	0.78 ± 0.03^d (-۴۵/۴)
۳	$3/49 \pm 0.03^d$ (+۱۲/۲)	$6/27 \pm 0.60$	0.84 ± 0.03^d (-۴۱/۳)
۵	$4/58 \pm 0.05^c$ (+۴۷/۳)	$7/23 \pm 0.23$	0.85 ± 0.05^d (-۴۰/۶)
۱۰	$6/94 \pm 0.08^b$ (+۱۲۳/۱)	$6/89 \pm 0.56$	$1/14 \pm 0.00^c$ (-۲۰/۳)
۱۵	$8/91 \pm 0.04^a$ (+۱۸۶/۵)	$6/30 \pm 0.07$	$1/31 \pm 0.03^b$ (-۸/۴)
شاهد	$3/11 \pm 0.02^f$	$5/17 \pm 0.08$	$1/43 \pm 0.04^a$

در هر ستون، حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < 0.05$). مقادیر داخل پرانتزها، بیانگر درصد تغییرات در مقایسه با شاهد است

به $7/18 \pm 0.02$ افزایش یافت اما پس از آن، فرآیند تخمیر سبب کاهش pH فرآورده تخمیر شده گردید به‌طوری‌که مقدار آن در تیمارهای مختلف از ۶/۴۸ تا ۵/۸۶ متغیر بود. در کل مقدار نهایی pH بلوط تخمیر شده در تیمارهای مختلف به‌میزان ۱/۹ تا ۱۲/۷ درصد بیشتر از شاهد گردید ($P < 0.05$).

بر اساس جدول ۲ در همه تیمارها به‌طور معنی‌دار کل ترکیبات فنولی به‌میزان ۵۶/۸ تا ۶۸/۴ درصد، ترکیبات فنولی غیر تاننی به‌میزان ۵۷/۴ تا ۷۳/۸ درصد و تانن‌های متراکم به‌میزان ۸۷ تا ۹۵/۶ درصد کمتر از شاهد شد ($P < 0.05$). pH بلوط پس از ۲۴ ساعت خیساندن (۸ ساعت در محلول سود و ۱۶ ساعت در آب مقطر) از $5/75 \pm 0.01$

جدول ۲- ترکیبات فنولی آرد بلوط بر حسب درصد از ماده خشک و pH آن (خطای استاندارد $\pm$ میانگین سه تکرار)

تیمار	کل ترکیبات فنولی	ترکیبات فنولی غیر تاننی	تانن های متراکم	pH آرد بلوط
۰/۵	۳/۳۸ $\pm$ ۰/۱۲ ^c (-۶۳/۶)	۰/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱ ^d (-۷۳/۸)	۰/۰۱ $\pm$ ۰/۰۰ ^b (-۹۵/۶)	۶/۴۸ $\pm$ ۰/۰۰ ^a (+۱۲/۷)
۱/۵	۲/۹۵ $\pm$ ۰/۰۶ ^c (-۶۸/۲)	۰/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱ ^d (-۷۳/۸)	۰/۰۱ $\pm$ ۰/۰۰ ^b (-۹۵/۶)	۶/۴۱ $\pm$ ۰/۰۱ ^b (+۱۱/۵)
۳	۳/۹۴ $\pm$ ۰/۱۶ ^b (-۵۷/۵)	۰/۱۸ $\pm$ ۰/۰۱ ^{cd} (-۷۰/۵)	۰/۰۳ $\pm$ ۰/۰۰ ^b (-۸۷/۰)	۶/۳۵ $\pm$ ۰/۰۰ ^c (+۱۰/۴)
۵	۲/۹۳ $\pm$ ۰/۰۶ ^c (-۶۸/۴)	۰/۲۲ $\pm$ ۰/۰۱ ^{bc} (-۶۳/۹)	۰/۰۳ $\pm$ ۰/۰۰ ^b (-۸۷/۰)	۶/۳۰ $\pm$ ۰/۰۱ ^d (+۹/۶)
۱۰	۳/۰۷ $\pm$ ۰/۲۴ ^c (-۶۶/۹)	۰/۱۹ $\pm$ ۰/۰۱ ^{cd} (-۶۸/۸)	۰/۰۱ $\pm$ ۰/۰۰ ^b (-۹۵/۶)	۶/۱۵ $\pm$ ۰/۰۱ ^e (+۷/۰)
۱۵	۴/۰۱ $\pm$ ۰/۱۶ ^b (-۵۶/۸)	۰/۲۶ $\pm$ ۰/۰۱ ^b (-۵۷/۴)	۰/۰۲ $\pm$ ۰/۰۰ ^b (-۹۱/۳)	۵/۸۶ $\pm$ ۰/۰۱ ^f (+۱/۹)
شاهد	۹/۲۸ $\pm$ ۰/۲۳ ^a	۰/۶۱ $\pm$ ۰/۰۳ ^a	۰/۲۳ $\pm$ ۰/۰ ^a	۵/۷۵ $\pm$ ۰/۰۱ ^g

در هر ستون، حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$). مقادیر داخل پرانتزها، بیانگر درصد تغییرات در مقایسه با شاهد است.

طبق جدول ۳ به‌طور معنی‌دار قابلیت هضم کربوهیدرات در تمام تیمارها به میزان ۳۳/۷ تا ۶۰/۷ درصد کمتر از شاهد گردید ($p < ۰/۰۵$). قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط به ترتیب به میزان ۵۲/۸، ۱۰۳/۸ و ۱۴۵/۳ درصد بیشتر

از شاهد شد اما در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱/۵ گرم مخمر کمتر از شاهد گردید ($p < ۰/۰۵$). قابلیت هضم پروتئین در تیمار حاوی ۳ گرم مخمر تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت ($p > ۰/۰۵$).

جدول ۳- قابلیت هضم کربوهیدرات و پروتئین انواع آرد بلوط (خطای استاندارد $\pm$ میانگین سه تکرار)

تیمار	قابلیت هضم کربوهیدرات (میکروگرم مالتوز به ازای هر میلی گرم نمونه)	قابلیت هضم پروتئین (میکروگرم تیروزین به ازای هر میلی گرم نمونه)
۰/۵	۷۰/۰۸ $\pm$ ۰/۵۶ ^b (-۳۵/۲)	۰/۴۴ $\pm$ ۰/۰۴ ^e (-۱۷/۰)
۱/۵	۴۲/۵۶ $\pm$ ۰/۸۰ ^e (-۶۰/۷)	۰/۳۳ $\pm$ ۰/۰۲ ^f (-۳۷/۷)
۳	۶۷/۱۶ $\pm$ ۰/۴۶ ^c (-۳۷/۹)	۰/۵۳ $\pm$ ۰/۰۳ ^d (۰/۰)
۵	۷۱/۷۱ $\pm$ ۱/۲۴ ^b (-۳۳/۷)	۰/۸۱ $\pm$ ۰/۰۳ ^c (+۵۲/۸)
۱۰	۵۸/۹۴ $\pm$ ۰/۶۵ ^d (-۴۵/۵)	۱/۰۸ $\pm$ ۰/۰۲ ^b (+۱۰۳/۸)
۱۵	۵۸/۵۴ $\pm$ ۰/۷۲ ^d (-۴۵/۹)	۱/۳۰ $\pm$ ۰/۰۱ ^a (+۱۴۵/۳)
شاهد	۱۰۸/۲۴ $\pm$ ۰/۷۲ ^a	۰/۵۳ $\pm$ ۰/۰۱ ^d

در هر ستون، حروف انگلیسی متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار است ($P < ۰/۰۵$). مقادیر داخل پرانتزها، بیانگر درصد تغییرات در مقایسه با شاهد است.

تحقیقات متعدد نشان داده که مخمر نانوائی سبب افزایش میزان پروتئین خام در ماده تحت تخمیر می‌گردد (Christ-Ribeiro et al., 2020; Terefe et al., 2021; Yafetto et al., 2022). افزایش میزان پروتئین خام بعد از تخمیر ممکن است در ارتباط با کاهش میزان کربن در ماده تخمیر شده، افزایش توده سلولی و تولید ترکیبات نیتروژنی غیر پروتئینی نظیر آمونیاک، آمین‌ها، اسیدهای آمینه و پپتیدها باشد زیرا همه این موارد سبب افزایش محتوای پروتئین خام می‌شوند (Onyango et al., 2013). میکروارگانیسم‌ها در حین تخمیر، کربوهیدرات‌ها را به‌عنوان یک منبع انرژی مصرف می‌کنند و دی اکسید کربن را به‌عنوان فرآورده‌ای جانبی تولید می‌نمایند. در نتیجه غلظت نیتروژن در فرآورده تخمیر شده افزایش می‌یابد و بنابراین سهم پروتئین در توده کل بیشتر می‌شود (Nasseri et al., 2011). تحقیقات نشان

۴ | بحث و نتیجه‌گیری

محققان معتقدند مخمر نانوائی قادر به تولید متابولیت‌های مختلفی نظیر آنزیم‌ها، الیگوساکاریدها، اسیدهای آمینه، پپتیدها، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها و سایر ترکیبات محلول می‌باشد (Dawood et al., 2020). در این تحقیق پروتئین خام در تمام تیمارها بجز تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط، بیشتر از شاهد گردید (جدول ۱). کمتر بودن میزان پروتئین خام در تیمار حاوی ۰/۵ گرم مخمر در مقایسه با شاهد با توجه به آبشویی (leaching) مواد مغذی محلول در زمان خیساندن (Xavier et al., 2012) و جمعیت کم مخمر جهت جبران کاهش بوجود آمده، قابل توجیه است. متعاقباً افزایش دوز مخمر سبب افزایش معنی‌دار میزان پروتئین خام گردید ($p < ۰/۰۵$).

سلول های مخمر نانوائی دارای ظرفیت جذب و در نتیجه حذف تانن هستند (Bindon et al., 2019).

در این پژوهش، قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۵، ۱۰ و ۱۵ گرم مخمر بیشتر از شاهد شد (جدول ۳). اثر مثبت خیساندن بذر سورگوم در محلول سود بر افزایش معنی‌دار قابلیت هضم پروتئین در شرایط برون‌تنی توسط سایر محققان (Chavan et al., 1979) به اثبات رسیده است. اگرچه مطالعات کمی در مورد اثر تانن بر آنزیم‌های روده‌ای ماهی انجام شده (Mandal and Ghosh, 2010) اما تحقیقات نشان داده است که تانن‌های موجود در لوبیا به شدت سبب ممانعت از فعالیت آنزیم‌های تریپسین و کیموتریپسین لوزالمعده می‌شوند (Carmona et al., 1991). بر این اساس افزایش قابلیت هضم پروتئین به دلیل کاهش ترکیبات فنولی در اثر خیساندن و تخمیر قابل درک است. خیساندن میوه بلوط در محلول سود و آب مقطر و استفاده از مخمر سبب کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات در تمام تیمارها و قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱/۵ گرم مخمر در مقایسه با شاهد شد (جدول ۳). در پژوهشی اثر خیساندن مواد اولیه گیاهی (کنجاله سویا، کیک روغنی آفتابگردان و کیک روغنی نارگیل) در آب معمولی بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی روهو (Labeo rohita) مورد بررسی قرار گرفت. خیساندن مواد گیاهی اگرچه سبب کاهش معنی‌دار محتوای تاننی در جیره غذایی شد اما موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، پروتئاز و لیپاز روده‌ای در ماهیان تغذیه شده با این جیره نگردید و آبشویی مواد مغذی محلول به‌عنوان عامل احتمالی این نتیجه معرفی شد (Xavier et al., 2012). در تحقیق حاضر، ممکن است کاهش قابلیت هضم کربوهیدرات در همه تیمارها به دلیل آبشویی برخی مواد مغذی محلول در مدت خیساندن قبل از تخمیر بوده باشد. از طرف دیگر مصرف کربوهیدرات‌ها به‌عنوان منبع انرژی در حین تخمیر به اثبات رسیده (Nasseri et al., 2011) و به نظر می‌رسد در چنین وضعیتی، باقیماندن کربوهیدرات‌های با قابلیت هضم کمتر در ماده تخمیر شده سبب کاهش برآورد قابلیت هضم کربوهیدرات بوده باشد. کاهش قابلیت هضم پروتئین در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱/۵ گرم مخمر ممکن است به‌دلیل آبشویی پروتئین‌ها طی مدت خیساندن و عدم جبران کمبود آن‌ها در اثر کمتر بودن جمعیت مخمر در این تیمارها بوده باشد. عامل دیگر موثر بر قابلیت هضم، می‌تواند

داده است که تخمیر سورگوم توسط مخمر نانوائی به‌مدت ۵ روز سبب افزایش معنی‌دار میزان چربی خام می‌گردد (Yafetto et al., 2022). در مطالعه حاضر تخمیر به مدت ۲۴ ساعت، سبب افزایش جزئی میزان چربی خام شد (جدول ۱) اما این افزایش نسبت به شاهد معنی‌دار نبود ($p < 0.05$). ممکن است کوتاه بودن نسبی مدت تخمیر عامل غیر معنی‌دار شدن این افزایش بوده باشد. خاکستر در همه تیمارها به‌طور معنی‌دار کمتر از شاهد گردید ($p < 0.05$). این مساله با توجه به آبشویی مواد معدنی در مرحله خیساندن (Xavier et al., 2012) و قبل از تخمیر قابل توجیه است زیرا در تیمارهای تخمیری، استفاده از سطوح بالاتر مخمر (۱۰ و ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط) اثر مثبت بر میزان مواد معدنی در فرآورده تخمیر شده داشت (جدول ۱). تحقیقات متعدد دیگر هم نشان داده است که مخمر نانوائی سبب افزایش میزان خاکستر می‌گردد (Christ-Ribeiro et al., 2020; Terefe et al., 2021; Yafetto et al., 2022). افزایش خاکستر ممکن است ناشی از تجمع ماده معدنی در اثر فعالیت‌های آنزیمی و متابولیکی در حین تخمیر باشد (Uvere et al., 2010).

در تحقیق حاضر مقدار کل ترکیبات فنولی، ترکیبات فنولی غیر تاننی و تانن‌های متراکم در همه تیمارها کمتر از شاهد بود (جدول ۲). عمل‌آوری دانه‌های گیاهی از طریق فرآیندهای خیساندن و تخمیر به منظور کاهش مواد ضد تغذیه‌ای، در تحقیقات متعدد مورد مطالعه قرار گرفته است. کاهش میزان ترکیبات فنولی در اثر خیساندن بذر سورگوم در محلول ۰/۵ مولار سود (Chavan et al., 1979)، خیساندن میوه بلوط ایرانی در آب مقطر و محلول‌های ۰/۱، ۰/۵ و ۱ مولار سود (Ghaderi-Ghahfarrokhi et al., 2017)، تخمیر توسط *Bacillus pumilus* و *Bacillus tequilensis* در کیک روغنی کتان (Banerjee and Ghosh, 2016) و تخمیر توسط مخمر نانوائی در میوه بلوط اروپایی (Amina et al., 2018) به اثبات رسیده است. کاهش ترکیبات فنولی را می‌توان به آبشویی و ورود آن‌ها به محیط خیساندن تحت تأثیر گرادیان غلظت، افزایش نفوذپذیری دانه در محیط قلیایی و افزایش انحلال تانن و سایر ترکیبات فنولی در محلول‌های قلیایی و همچنین حساس بودن ترکیبات فنولی به حرارت (Ghaderi-Ghahfarrokhi et al., 2017) نسبت داد. از طرف دیگر مشخص شده است که

- procedures for the determination of the apparent tannin content of common beans. Journal of the Science of Food and Agriculture, 56 (3): 291-301.
- Chavan, J. K., Kadam, S. S., Ghonsikar, C. P., Salunkhe, D. K. 1979. Removal of tannins and improvement of in vitro protein digestibility of sorghum seeds by soaking in alkali. Journal of Food Sciences, 44: 1319-1321.
- Christ-Ribeiro, A., Alves, J. B., Almeida de Souza-Soares, L., Badiale-Furlong, E. 2020. Fermented rice bran: an alternative ingredient in baking. Research, Society and Development 9(11): e45491110225.
- Chumwaengwapee, S., Soontornchai, S., Thongprajukeaw, K. 2013. Improving chemical composition, physicochemical properties, and in vitro carbohydrate digestibility of fish coconut meal. Journal of Science Asia, 39: 636-642.
- Dawood, M. A. O., Eweedah, N. M., Khalafalla, M. M., Khalid, A., Asely, A.E., Fadl, S. E., Amin, A. A., Paray, B. A., Ahmed H. A. 2020. *Saccharomyces cerevisiae* increases the acceptability of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to date palm seed meal. Aquaculture Reports, 17: 100314.
- Ghaderi-Ghahfarrokhi, M., Sadeghi-Mahoonak, A. R., Alami, M., Mousavi- Khanegah, A. 2017. Effect of processing treatments on polyphenol removal from kernel of two Iranian acorns varieties. International Food Research Journal, 24: 86-93.
- Ghosh, K. 2017. Solid state fermentation as a function to improve nutritive value of plant feed-stuffs: Prospect in aquafeed formulation. In: Paul, B.N., Adhikari, S., Mandal, R. N. (Eds.), Training Manual on "Application and Practices of Fish Feed in Aquaculture" (pp: 71-78). ICAR-Central Institute of Freshwater Aquaculture, RCC.
- Godrich, J., Rose, P., Muleya, M., Gould, J. 2023. The effect of popping, soaking, boiling and roasting processes on antinutritional factors in chickpeas and red kidney beans. International Journal of Food Science and Technology, 58: 279-289.
- Hawashi, M., Altway, A., Widjaja, T., Gunawan, S. 2019. Optimization of process conditions for tannin content reduction in cassava leaves during solid state fermentation using *Saccharomyces cerevisiae*. Heliyon, 5: e02298.
- Kattakdad, S., Jintasataporn, O., Worawattanamateekul, W., Chumkam, S. 2018. pH characterization of digestive enzyme and in vitro digestibility of red bee shrimp *Caridina cantonensis* (Decapoda: Atyidae). Journal of Aquaculture Research and Development, 9 (2): 1-6.
- تغییر در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بلوط در اثر خیساندن و تخمیر باشد کما اینکه تفاوت معنی‌دار در pH بلوط تخمیر شده در این پژوهش به اثبات رسید. در مجموع به دلیل اهمیت زیاد پروتئین به‌عنوان گرانتترین درشت-مغذی (ماکرونوترینت) در جیره غذایی، لزوم ارتقاء کمیت و کیفیت آن در مواد اولیه غذایی و کاهش میزان ترکیبات فنولی ضد تغذیه‌ای، تیمار حاوی ۱۵ گرم مخمر به ازای هر ۱۰۰ گرم بلوط به‌عنوان تیمار بهینه جهت فرآوری بلوط به روش خیساندن قلیایی - تخمیر توصیه می‌گردد.
- ۵ | تشکر و قدردانی**
- این پژوهش با حمایت مالی سازمان صنایع کوچک و شهرک‌های صنعتی ایران انجام شده است.
- ۶ | ملاحظات اخلاقی**
- موردی توسط نویسندگان گزارش نشده است.
- REFERENCES**
- Alamdari, H., Musavi, Kh. 2023. Effects of extruding wheat flour under different temperature and humidity conditions on its biochemical analysis, phenolic compounds and digestibility by common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Fisheries Science and Technology, 12: 277-286 (in Persian).
- Amina, M., Djamel, F., Djamel, H. 2018. Influence of fermentation and germination treatments on physicochemical and functional properties of acorn flour. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 24(4): 719-726.
- Anwar, A., Wan, A.H., Omar, S., El-Haroun, E., Davies, S.J. 2020. The potential of a solid-state fermentation supplement to augment white lupin (*Lupinus albus*) meal incorporation in diets for farmed common carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture Reports, 17: 1-10.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2000. Official Methods of Analysis 17th ed. Washington D.C., 2200 p.
- Banerjee, S., Ghosh, K. 2016. Bio-processing of linseed oil-cake through solid state fermentation by non-starch polysaccharide degrading fish gut bacteria. Fermentation Technology, 5 (1): 1-10.
- Bindon, K.A., Kassara, S., Solomon, M., Bartel, C., Smith, P. A., Barker, A. and Curtin, C. 2019. Commercial *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains significantly impact Shiraz tannin and polysaccharide composition with implications for wine colour and astringency. Biomolecules, 9: 466.
- Carmona, A., Seild D. S., Jaffe, W. G. 1991. Comparison of extraction methods and assay

- emphasis on the Zagros region. The 7th Scientific Research Conference on the Development and Promotion of Agricultural Sciences and Natural Resources of Iran, Tehran, Iran. (In Persian).
- Talebian Nik, S. S., Alamdari, H. 2020. Addition of Iranian oak fruit (*Quercus brantii*) to common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) diet and its effects on growth performance, carcass composition and resistance to salinity stress. Iranian Scientific Fisheries Journal, 29(2): 83-91 (in Persian).
- Terefe, Z. K., Omwamba, M. N., Nduko, J. M. 2021. Effect of solid state fermentation on proximate composition, antinutritional factors and in vitro protein digestibility of maize flour. Food Science and Nutrition, 9: 6343-6352.
- Thephanee, C., Li, H., Wei, H., Prakitchaiwattana, C., Siriamornpun, S. 2024. Effect of Soaking, Germination, and Roasting on Phenolic Composition, Antioxidant Activities, and Fatty Acid Profile of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Seeds. Horticulturae, 10, 387.
- Thiex, N., Novotny, L., Crawford, A. 2012. Determination of ash in animal feed: AOAC official method 942.05 revisited. Journal of AOAC international, 95 (5): 1392-1397.
- Uvere, P. O., Onyekwere, E. U., Ngoddy, P. O. 2010. Production of maize-bambara groundnut complementary foods fortified pre-fermentation with processed foods rich in calcium, iron, zinc and provitamin A. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(4): 566-573.
- Wang, R., Mohammadi, M., Mahboubi, A., Taherzadeh, M. J. 2021. In-vitro digestion models: a critical review for human and fish and a protocol for *in-vitro* digestion in fish. Bioengineered, 12(1): 3040-3064.
- Xavier, B., Sahu, N. P., Pal, A. K., Jain, K. K., Misra, S., Dalvi, R. S., Baruah, K. 2012. Water soaking and exogenous enzyme treatment of plant based diets: effect on growth performance, whole-body composition, and digestive enzyme activities of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton), fingerlings). Fish Physiology and Biochemistry, 38: 341-353.
- Yafetto, L., Nsiah-Asamoah, C. N. A., Birikorang, E., Odamtten, G., T. 2022. Biotechnological Application of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* for Protein Enrichment of Fermented Unmalted and Malted Sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). International Journal of Food Science, 2264993.
- Khan, A., Ghosh, K. 2013. Phytic acid-induced inhibition of digestive protease and α -amylase in three Indian major carps: An in vitro study. Journal of the world aquaculture society, 44 (6): 853-859.
- Khattab, R.Y., Arntfield, S.D. 2009. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments 2. Antinutritional factors. LWT - Food Science and Technology, 42: 1113-1118.
- Makkar, H.P.S. 2003. Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual. FAO/IAEA, 31 p.
- Mandal, S., Ghosh, K. 2010. Inhibitory effect of Pistia tannin on digestive enzymes of Indian major carps: an in vitro study. Fish Physiology and Biochemistry, 36: 1171-1180.
- Nadri, A., Alamdari, H. 2022. Effects of soaking oak acorn, *Quercus brantii* in water on the removal of phenolic compounds and its digestibility for common carp, *Cyprinus carpio*. Aquatic Animals Nutrition, 8(1): 57-66 (in Persian).
- Narui, M., Alamdari, H. 2022. The effect of feeding with soaked and fermented Iranian oak fruit (*Quercus brantii*) on the growth rate, food consumption and carcass composition of common carp (*Cyprinus carpio*). Iranian Scientific Fisheries Journal, 31(1): 47-56 (in Persian).
- Nasseri, A., Rasoul-Amini, S., Morowvat, M., Ghasemi, Y. 2011. Single cell protein: Production and process. American Journal of Food Technology, 6(2): 103-116.
- Nikmaram, N., Leong, S.Y., Koubaa, M., Zhu, Z., Barba, F.J., Greiner, R., Oey, I., Roohinejad, S. 2017. Effect of extrusion on the anti-nutritional factors of food products: An overview. Food Control, 79: 62-73.
- Onyango, C. A., Ochanda, S. O., Mwasaru, M. A., Ochieng, J. K., Mathooko, F. M., Kinyuru, J. N. 2013. Effects of malting and fermentation on anti-nutrient reduction and protein digestibility of red sorghum, white Sorghum and pearl millet. Journal of Food Research, 2(11): 41-49.
- Ozcan, T. 2006. Total protein and amino acid compositions in the acorns of Turkish *Quercus* L. taxa. Genetic Resources and Crop Evolution, 53: 419-429.
- Ramli, N.A.M., Chen, Y.H., Mohd Zin, Z., Abdullah, M.A.A., Rusli, N.D., Zaino, M.K. 2021. Effect of soaking time and fermentation on the nutrient and antinutrients composition of *Canavalia ensiformis* (Kacang Koro). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 756, 012033.
- Shahbazi, K., Shafaghathi, M. 2020. Challenges and solutions for forest development in Iran with

نحوه استناد به مقاله:

علمداری ح.، نارویی م. اثر فراوری بلوط به روش خیساندن قلیایی - تخمیر بر آنالیز بیوشیمیایی و قابلیت هضم برون تنی آن در کپور معمولی. نشریه پژوهش‌های ماهی‌شناسی کاربردی. ۱۴۰۳. ۱۲(۴): ۱-۱۲.

Alamdari H., Narui M. The effect of oak processing by alkaline soaking-fermentation method on its biochemical analysis and in-vitro digestibility in common carp. Journal of Applied Ichthyological Research, 2024, 12(4): 01-12.

The effect of oak processing by alkaline soaking-fermentation method on its biochemical analysis and in-vitro digestibility in common carp

Alamdari H ^{1*}, Narui M.¹

¹Department of Fishery, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Khuzestan, Iran

Type: Original Research Paper	Abstract Tannin is an anti-nutritional compound found in acorns. The aim of research was to reduce the amount of tannin in the acorn through alkaline soaking process followed by fermentation and to investigate its effect on acorn in-vitro digestibility. Acorns were soaked in a 0.1 M sodium hydroxide for 8 hours. Then, the acorns were washed and soaked in distilled water for 16 hours. Subsequently, fermentation was carried out for 24 hours in 6 treatments with 0.5, 1.5, 3, 5, 10 and 15 g of bakery yeast per 100 g of acorns. The control was not soaked and fermented. Enzyme extraction was performed from the intestines of common carp with an average weight of 95.6 g. Significantly, crude protein in different treatments except the treatment containing 0.5 g of yeast increased by 5.8 to 186.5% compared to the control, but in all treatments, ash (8.4 to 48.2%), total phenolic compounds (56.8 to 68.4%), non-tannin phenolic compounds (57.4 to 73.8%) and concentrated tannins (87 to 95.6%) decreased ($p<0.05$). Carbohydrate digestibility in different treatments were 33.7 to 60.7 % lower than the control and protein digestibility in treatments containing 5, 10, and 15 g of yeast were 52.8, 103.8, and 145.3 % higher than the control, respectively. Due to the importance of improving the quantity and quality of protein in raw materials and reducing the amount of anti-nutritional phenolic compounds, the treatment containing 15 g of bakery yeast per 100 g of acorns is recommended for processing acorns by alkaline soaking-fermentation method. Keywords: Bakery yeast, Fish feed, Phenolic compounds, Soda solution
Paper History: Received: 11-01-2025 Accepted: 18-03- 2025	
Corresponding author: Alamdari H. Department of Fishery, Faculty of Natural Resources, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Behbahan, Khuzestan, Iran. Email: alamdari671@yahoo.com	