

## مقایسه ترکیبات و ارزش غذایی آزولا (*Azolla filiculoides*) وحشی و پرورشی

هومن رجبی اسلامی\*<sup>۱</sup>، گل‌نوش وارسته مؤخر<sup>۱</sup>، رضا عصاره<sup>۲</sup>، محمدرضا خوانساری<sup>۳</sup>

۱- گروه شیلات، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۴۵۱۵/۷۷۵

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۴ بهمن ۱۳۹۳

تاریخ پذیرش: ۱۲ خرداد ۱۳۹۴

### چکیده

تحقیق حاضر به بررسی میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر آزولای (*Azolla filiculoides*) وحشی و پرورشی به منظور کاربرد تغذیه‌ای آن برای انسان و دام پرداخت. همچنین ترکیب اسیدهای چرب آزولا به عنوان یکی از اجزای مهم برای تصمیم‌گیری در رابطه با ارزش غذایی در هر یک از اشکال وحشی و پرورشی مقایسه گردید. نمونه‌های آزولا برای این منظور از منطقه پیر بازار تالاب انزلی جمع‌آوری و برای بررسی روند رشد و تکثیر در آکواریوم‌های حاوی محیط کشت مناسب پرورش داده شدند. استخراج روغن از هر دو نوع آزولا با روش فولچ (Folch) انجام گرفت. شناسایی ترکیب اسیدهای چرب آزولا پس از انجام فرآیند متیله کردن با استفاده از دستگاه طیف‌سنج گازی انجام گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان درصد اسیدهای چرب اشباع (SFAs)، اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه (MUFAs) و اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه (PUFAs) بین آزولای وحشی و پرورشی وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). با این وجود مقدار اسیدپالمیتیک، اسید مارگاریک، اسید سیس-اولئیک، اسید لینولئیک و اسید آلفا-لینولئیک در آزولای وحشی به شکل معنی‌داری بیشتر از آزولای پرورشی بود ( $P < 0.05$ ). در مقابل میزان اسید لیگنوسریک در آزولای پرورشی به شکل معنی‌داری بالاتر از آزولای وحشی بود ( $P < 0.05$ ). با توجه به سطح مناسب چربی در هر دو نوع آزولا می‌توان از آن در مصارف تغذیه‌ای دام، طیور و حتی انسان استفاده نمود، هر چند که آزولای وحشی از سطح مناسب‌تری از چربی برخوردار بود. بعلاوه سرعت بالای تکثیر و زمان کوتاه دو برابر شدن آزولا در شرایط آزمایشگاهی این امکان را فراهم می‌آورد که بتوان مقادیر مناسبی روغن از این سرخس آبرزی تهیه نمود.

**کلمات کلیدی:** *Azolla filiculoides*، تکثیر، اسیدهای چرب، ارزش غذایی، تالاب انزلی، ایران.

## مقدمه

روند افزایش جمعیت و محدودیت منابع پایه (آب و خاک) در دهه‌های میانی قرن بیستم باعث گردیده که حل مشکلات تغذیه‌ای به طور جدی در دستور کار پژوهشگران و مدیران قرار گیرد. سازمان خواروبار و کشاورزی (FAO) در گزارشی اعلام کرد که برای تامین غذای جمعیت ۹ میلیارد نفری جهان در سال ۲۰۵۰ باید دو برابر میزان کنونی غذا تولید نمود که البته برای دستیابی به این هدف لازم است موانعی نظیر محدودیت زمین‌های کشاورزی، کمبود آب، قیمت بالای انرژی، کاهش سرمایه‌گذاری در تحقیقات کشاورزی و افزایش ضایعات غذایی در نظر گرفته شود. سازمان خواروبار و کشاورزی تولید مواد غذایی در قرن حاضر را با توجه به چشم انداز امنیت غذایی با مشکلاتی پیش‌بینی نموده است (FAO, 2014). رقابت برای زمین‌های کشاورزی و منابع آب، قیمت بالای انرژی و تغییرات اقلیمی نشان می‌دهد که باید غذای بیشتری با منابع کمتر برای مردم جهان تولید شود (Benson et al., 2008).

افزایش ضریب امنیت غذایی با حفظ منابع طبیعی، استفاده بهینه از غذای موجود و معرفی منابع تغذیه‌ای جدید امکان‌پذیر می‌باشد (FAO, 2014). استفاده از گیاهان آبرزی به دلیل عملکرد بالا، هزینه تولید پایین، کاربرد محدود و مشکلات زیست محیطی ناشی از رشد بیش از اندازه آنها به عنوان منبع غذایی سالم در سال‌های اخیر افزایش یافته است (Wagner, 1997; Gong and Jiang, 2011). گیاهان آبرزی شناور با توانایی جذب بالای دی‌اکسید کربن و عدم وجود بافت‌های آوندی محکم همراه با رشد سریع از قابلیت برداشت در دوره‌های زمانی کوتاه برخوردار می‌باشند

(Bornette and Puijalón, 2010). تولید انبوه بدون نیاز به عملیات کاشت، امکان استفاده مستقیم از این گیاهان در بسیاری از فعالیت‌های اقتصادی نظیر تولید غذای دام و طیور، سوخت زیستی، استخراج ترکیبات تجاری و حتی تغذیه انسانی را فراهم آورده است (Hansen and Burr, 1946; Calvin, 2008; Ceylan ) (et al., 2012).

آزولا از جمله گونه‌های متعلق به خانواده Azollaceae با ساقه‌های ریزومی منشعب، برگ‌های کوچک و ریشه معلق به طول ۲ تا ۵ سانتی‌متر است که دارای گونه‌ها و زیرگونه‌های متفاوتی بوده و از سازگاری و سرعت تکثیر بالایی برخوردار می‌باشد. این گیاه قادر است تمام سطح آب را در زمان کوتاهی پس از استقرار به نحوی اشغال نماید که نور خورشید قادر به نفوذ به اعماق نباشد. عدم نفوذ نور به لایه‌های زیرین آب در این شرایط موجب توقف و یا کاهش رشد گیاهان غوطه‌ور و تغییر در زیست‌بوم آبگیر می‌گردد (Wagner, 1997; Hill, 1998; Arora et al., 2006).

خاستگاه اولیه سرخس آبی آزولا کالیفرنیا بوده که در سال ۱۳۶۶ خورشیدی با هدف تثبیت طبیعی ازت در شالیزارهای استان گیلان از کشور فیلیپین به ایران وارد شد. فقدان عامل کنترل طبیعی و عدم مطالعات بوم‌شناسی مناسب باعث گردید تا سطح وسیعی از آبگیرهای طبیعی و شالیزارهای شمال در زمانی کوتاه به وسیله این گیاه اشغال گردد (Hashemloian, 2008; Khosravi, 2005). راهکارهای مختلفی تا کنون برای مقابله با مشکلات ناشی از ورود این گیاه به آبگیرهای شمال ایران ارائه گردیده که نتیجه قابل توجهی نداشته است. برای مثال، استفاده از روش‌های مکانیکی جلوگیری از گسترش این گیاه در برخی مناطق به دلیل

دفع ضایعات باعث بروز مشکلات جدیدی شده است (Khosravi, 2005).

تالاب انزلی یکی از زیستگاه‌های منحصر به فردی است که ارزش‌های بسیاری از لحاظ تنوع گونه‌ای جانوری و گیاهی دارد. هجوم آزولا طی سال‌های اخیر باعث بروز مشکلات متعددی در تالاب انزلی و سایر منابع آبی حفاظت شده استان‌های شمالی ایران شده که ادامه این روند همراه با دیگر فشارهای بوم‌شناختی منجر به نابودی کامل آنها خواهد گردید (Hashemloian, 2008). جمع‌آوری آزولا از سطح شالیزارها، تالاب‌ها و دیگر منابع آبی به عنوان منبع غذایی برای انسان و دام یا تولید کود زیستی مورد توجه می‌باشد (Khosravi, 2005; Hashemloian, 2008; Leterme *et al.*, 2009). هدف از این تحقیق بررسی میزان چربی، پروتئین، رطوبت و خاکستر گیاه آزولا به منظور تعیین کاربرد تغذیه‌ای آن برای انسان و دام می‌باشد. همچنین ترکیب اسیدهای چرب آزولا به عنوان یکی از اجزای مهم برای تصمیم‌گیری در رابطه با ارزش غذایی در هر یک از اشکال وحشی و پرورشی مقایسه گردید.

## مواد و روش‌ها

### نمونه‌برداری

مقدار ۲۰ کیلوگرم آزولای سبز رنگ به منظور بررسی درصد پروتئین، میزان چربی و همچنین اسیدهای چرب ضروری در پاییز ۱۳۹۰ از منطقه پیربازار تالاب انزلی جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری توسط توری دستی همراه با آب تالاب درون سطلی ریخته شده و به مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران انتقال یافت. نمونه‌ها در آزمایشگاه توسط آب شرب به

خوبی شسته شدند تا ضایعات باقی‌مانده در هنگام نمونه‌برداری از آنها جدا گردد. مقداری از نمونه‌ها در ادامه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲ ساعت قرار گرفت تا به طور کامل خشک گردد. نمونه‌ها پس از خشک شدن تا زمان شروع استخراج چربی داخل کیسه‌های پلاستیکی در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

### کشت مصنوعی آزولا در آزمایشگاه

جهت کشت آزولای سبز و بررسی شرایط بهینه رشد از سه آکواریوم با اندازه ۹۰×۶۰×۴۰ سانتی‌متر استفاده شد. میزان ۳۰ سانتی‌متر خاک سیاه رنگ و مغذی تالاب انزلی پس از برداشت جهت تامین نیازهای تغذیه‌ای و ایجاد شرایط مشابه با تالاب انزلی در کف آکواریوم‌ها ریخته شد. نمونه‌های خاک ابتدا به خوبی با آب شهری شستشو داده شده تا مواد اضافی و سایر باقیمانده‌ها از آن حذف گردند. سپس محیط کشت مناسب جهت رشد آزولا شامل انواع بزرگ مغذی‌ها و ریزمغذی‌ها (جدول ۱) پس از سترون‌سازی به میزان ۲۰ لیتر درون آکواریوم‌ها ریخته شد. تلقیح آزولا به هر آکواریوم با افزودن ۵ گرم وزن تر نمونه جمع‌آوری شده از تالاب انزلی به هر آکواریوم انجام گرفت. سطح آکواریوم به منظور کاهش تبخیر محیط کشت با سلفون شفاف پوشانده شد. دمای آب معادل ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری در تمام آکواریوم‌ها برابر ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تنظیم گردید. نور مورد نیاز توسط لامپ‌های فلورسنت با شدت ۱۰۰ میلی‌مول بر متر مربع بر ثانیه فراهم شد (Pereira and Carrapico, 2009). نمونه‌های آزولا برای ۲۱ روز در این شرایط نگهداری شده و در انتهای این دوره

### استخراج چربی

استخراج چربی در این تحقیق طبق روش Folch انجام گرفت (Iverson *et al.*, 2001). یک گرم آزولای خشک در هاون سنگی ریخته شد و همراه با مقداری ازت مایع آسیاب گردید. سپس ۱۶ میلی لیتر کلروفرم به این مخلوط اضافه و برای مدت یک ساعت توسط همزن برقی به خوبی مخلوط شد. میزان ۸ میلی لیتر متانول به عنوان حلال دوم با مخلوط فوق ترکیب و پس از همگن سازی همراه با ۶ میلی لیتر آب به فانل جداکننده منتقل شد. فانل برای ۱۲ ساعت ساکن باقی ماند تا مخلوط به دست آمده به دو فاز جداگانه تقسیم گردید.

فاز پایینی شامل فاز کلروفرمی با نمونه گیر جدا و در لوله جداگانه ای ریخته شد. مقدار ۲۰ میلی لیتر کلروفرم به لایه فوقانی اضافه و فانل برای جداسازی فازها بدون حرکت باقی ماند. لایه زیرین در ادامه توسط نمونه گیر جدا و به فاز زیرین مرحله قبل اضافه گردید. محلول برای تعیین چربی کل توسط روتاری خشک و میزان چربی کل محاسبه گردید. چربی به دست آمده برای نگهداری پس از توزین در حلال کلروفرم با متانول به نسبت ۲ به ۱ مخلوط و در دمای ۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت (Iverson *et al.*, 2001).

### شناسایی اسیدهای چرب

میزان ۱۰ میلی گرم از چربی به دست آمده با ۲ میلی لیتر ان-هگزان و ۰/۲ میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی مخلوط و به همراه ۰/۱ گرم سولفات سدیم خشک و بدون رطوبت داخل یک بطری ۲۰ میلی لیتری ریخته شد. هیدروکسید پتاسیم متانولی نیز با انحلال ۱/۱۲ گرم هیدروکسید پتاسیم در ۱۰ میلی لیتر متانول تهیه

متغیرهای مطالعاتی شامل ترکیب تقریبی همراه با میزان اسیدهای چرب بین آزولای وحشی و پرورشی مورد مقایسه قرار گرفت.

جدول ۱: عناصر پر مصرف و کم مصرف مورد نیاز جهت کشت آزولا (Pereira and Carrapico, 2009)

غلظت مورد نیاز (مول بر لیتر)	نوع ماده	
۰/۱	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	عناصر پر مصرف
۰/۳۸	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	
۰/۱	NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	
۰/۰۸	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
۰/۷۸	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	عناصر کم مصرف
۴/۵۸	MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	
۰/۱۹	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	
۰/۰۴	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	
۰/۰۴	COCL <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	
۸/۶	FeC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> O <sub>7</sub>	منبع آهن

### تجزیه ترکیبات تقریبی

مقدار رطوبت با قرار دادن ۱ گرم آزولا به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد تعیین گردید. خاکستر نمونه نیز با قرار دادن ۱ گرم آزولای خشک برای ۴ ساعت در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد مشخص شد (AOAC, 1990). پروتئین نمونه به روش کجلدال (Kjeldahl Method) بر مبنای اندازه گیری نیتروژن موجود در نمونه صورت گرفت. ازت درون نمونه به شکل پروتئین و از طریق کاربرد ضرایب تبدیل تعیین گردید (Leterme *et al.*, 2009). نیتروژن در این روش با کمک اسید سولفوریک و کاتالیزور به سولفات آمونیوم تبدیل و مقدار آن با تیتراسیون توسط یک اسید اندازه گیری شد.

## نتایج

نتایج نشان داد که رطوبت بخش اعظمی از آزولا را تشکیل داده هر چند تفاوت معنی داری ( $P > 0/05$ ) در میزان آنها بین دو شکل وحشی ( $94/62 \pm 7/58$  گرم در  $100$  گرم وزن مرطوب) و پرورشی ( $93/08 \pm 11/13$  گرم در یک صد گرم وزن مرطوب) آزولا وجود نداشت (جدول ۲). یافته‌های مشابهی در رابطه با میزان خاکستر و پروتئین به دست آمد، به طوری که تفاوت معنی داری بین میزان خاکستر و پروتئین در هر دو شکل آزولا وحشی و پرورشی دیده نشد ( $P > 0/05$ ). همچنین میزان چربی اگر چه از  $14/20 \pm 3/75$  گرم در یک صد گرم وزن خشک در آزولای وحشی به  $12/61 \pm 2/49$  گرم در یک صد گرم وزن خشک در آزولای پرورشی کاهش یافت، تفاوت معنی داری بین آزولای وحشی و پرورشی ثبت نگردید ( $P > 0/05$ ).

جدول ۲: مقایسه میزان رطوبت، خاکستر و پروتئین آزولا (*Azolla filiculoides*) وحشی و پرورشی ( $n = 4$ )

	درصد رطوبت	درصد چربی	درصد پروتئین	درصد خاکستر
آزولا وحشی	$94/62 \pm 7/58$	$14/20 \pm 3/75$	$18/02 \pm 2/11$	$2/94 \pm 0/60$
آزولا پرورشی	$93/08 \pm 11/13$	$12/61 \pm 2/49$	$7/87 \pm 1/95$	$2/3 \pm 0/51$

## تجزیه اسیدهای چرب آزولا

نتایج حاصل از شناسایی اسیدهای چرب آزولا وحشی و پرورشی در جدول ۳ ارائه شده است. این یافته‌ها نشان داد که آزولای وحشی دارای  $38/85 \pm 8/21$  درصد اسیدهای چرب اشباع (SFAs)،  $41/25 \pm 12/07$  درصد اسیدهای چرب غیراشباع با یک

گردید. محلول به دست آمده برای ۲ دقیقه در دمای اتاق ورتکس شده و برای ۳ دقیقه توسط سانتریفیوژ با سرعت  $1000$  دور در دقیقه به دو فاز مجزا تفکیک شد. فاز فوقانی در ادامه با دقت جداسازی و داخل لوله‌های اپندورف  $1/5$  میلی لیتری ریخته شد. لوله‌های اپندورف برای محافظت از تشعشعات نوری دورن فویل‌های آلومینیومی پیچیده شدند (Paoletti et al., 1987).

شناسایی اسیدهای چرب بر اساس روش کروماتوگرافی گازی انجام گرفت. محلول اسید چرب متیل استری شده برای این منظور به دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل GC 6890 series مجهز به آشکار ساز حرارتی (FID) و ستون BPX 70 ( $120m \times 250\mu m \times 0.20\mu m$ ) تزریق گردید. اسیدهای چرب با مقایسه زمان بازداری و الگوی جداسازی هر یک از ترکیبات با نمونه‌های استاندارد شناسای گردیدند. دمای اولیه کوره برابر  $198$  درجه سانتی گراد تنظیم شد که با نرخ  $5$  درجه در دقیقه به  $220$  درجه سانتی گراد رسید. دمای شناساگر و آشکارگر به ترتیب برابر  $250$  و  $280$  درجه سانتی گراد تنظیم گردید. گاز نیتروژن نیز با جریان  $0/6$  میلی لیتر در هر دقیقه به عنوان فاز متحرک مورد استفاده قرار گرفت (Pessoa et al., 2015).

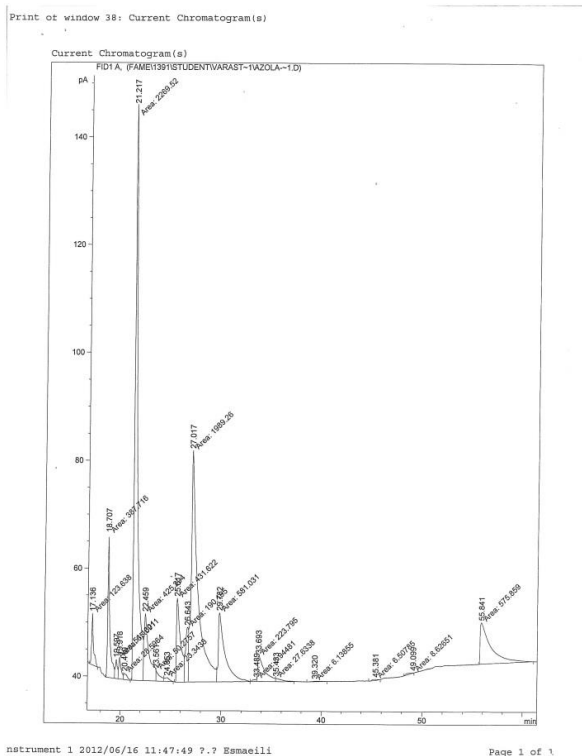
## تجزیه و تحلیل آماری

تمام متغیرهای مطالعاتی در این پژوهش شامل میزان رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر به صورت میانگین از چهار تکرار اندازه گیری به دست آمدند. مقایسه بین میزان متغیرها در ابتدا و انتهای آزمایش با کمک آزمون t-test صورت پذیرفت. سطح معنی داری به صورت  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

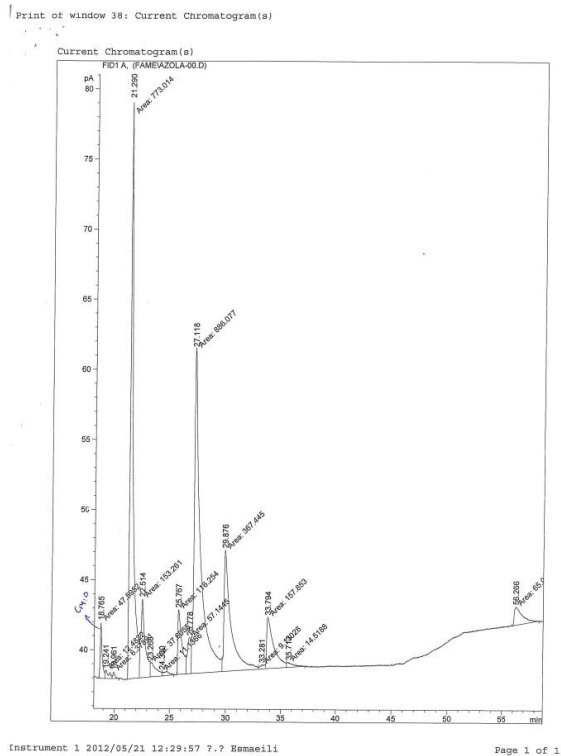
داد که مقدار اسید پالمیتیک (C16:0)، اسید سیس-اولئیک (C18:1) و اسید آلفا-لینولنیک (C18:3α) در آزولای پرورشی به ترتیب برابر ۲۲/۳۶±۴/۳۱، ۲۶/۶۱±۳/۷۱ و ۲/۹۹±۰/۵۲ درصد بود (شکل ۱). مقدار این اسیدها در آزولای وحشی به ترتیب برابر ۵/۸۱±۱/۰۷ و ۳۲/۶۴±۵/۲۲، ۲۸/۴۷±۴/۶۵ بود. مقدار اسید پالمیتیک، اسید مارگاریک، اسید اولئیک، اسید لینولنیک در آزولای وحشی به شکل معنی داری بیشتر از آزولای پرورشی بود (P<۰/۰۵)، در حالی که میزان اسید لیگنوسربیک در آزولای پرورشی به شکل معنی داری بالاتر از آزولای وحشی ثبت گردید (P<۰/۰۵). تفاوت معنی داری در میزان سایر اسیدهای چرب بین دو نمونه وحشی و پرورشی به دست نیامد (P>۰/۰۵).

پیوند دو گانه (MUFAs) و ۱۹/۸۷±۲/۵۱ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دو گانه (PUFAs) است. آزولای پرورشی نیز دارای ۵۲/۴۲±۹/۲۷ درصد اسیدهای چرب اشباع (SFAs)، ۳۶/۲۱±۵/۴۵ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دو گانه (MUFAs) و ۱۱/۳۳±۳/۱۸ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دو گانه (PUFAs) بوده و اختلاف معنی داری بین دو گونه وحشی و پرورشی وجود نداشت (شکل ۱).

بیشترین مقدار اسیدهای چرب در آزولای وحشی به اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند دو گانه اختصاص داشت، در حالی که بیشترین مقدار اسیدهای چرب در آزولای پرورشی به اسیدهای چرب اشباع تعلق داشت. بررسی نتایج حاصل از طیف سنجی نشان



پرورشی



وحشی

شکل ۱: کروماتوگرام آزولا وحشی و پرورشی

جدول ۳: مقایسه میزان اسیدهای چرب (درصد) در آزولا (*Azolla filiculoides*) وحشی و پرورشی ( $n = 4$ )

آزولا پرورشی	آزولا وحشی		نوع اسید چرب
—	—	(C12:0)	Lauric acid
۲/۱۹±۰/۱۳	۱/۷۵±۰/۰۷	(C14:0)	Myristic acid
۰/۳۷±۰/۰۶	۰/۲۳±۰/۰۳	(C15:0)	Pentadecylic acid
۲۲/۳۶±۴/۳۱	۲۸/۴۷±۴/۶۵*	(C16:0)	Palmitic acid
۰/۶۷±۰/۱۰	۱/۳۸±۰/۱۲*	(C17:0)	Margaric acid
۵/۷۷±۰/۶۸	۴/۲۸±۰/۲۲	(C18:0)	Stearic acid
۰/۱۲±۰/۰۱	۰/۳۴±۰/۰۲	(C20:0)	Arachidic acid
۰/۰۹±۰/۰۱	—	(C22:0)	Behenic acid
۷/۷۰±۱/۲۵*	۲/۴۵±۰/۳۷	(C24:0)	Lignoceric acid
۰/۶۸±۰/۱۳	۰/۴۶±۰/۰۵	(C14:1)	Myristoleic Acid
۰/۳۸±۰/۰۶	—	(C15:1)	Pentadecylic c Acid
۵/۶۹±۰/۰۷	۵/۶۴±۰/۴۲	(C16:1)	Palmitoleic Acid
۰/۳۱±۰/۰۸	۰/۴۱±۰/۰۸	(C17:1)	cis-10Heptadecenoic Acid
۲/۵۴±۰/۱۲	۲/۱۵±۰/۲۴	(C18:1t)	trans-Oleic acid
۲۶/۶۱±۳/۷۱	۳۲/۶۴±۵/۲۲*	(C18:1c)	cis-Oleic acid
۷/۷۷±۱/۱۳	۱۳/۵۳±۲/۴۷*	(C18:2c)	Linoleic acid
۲/۹۹±۰/۵۲	۵/۸۱±۱/۰۷*	(C18:3α)	α-Linolenic acid
۰/۳۷±۰/۰۶	۰/۵۳±۰/۰۲	(C20:1)	cis-11-Eicosadienoic Acid
۰/۰۸±۰/۰۱	—	(C20:2)	cis-11,14-Eicosadienoic Acid
۰/۱۲±۰/۰۳	—	(C22:1)	Erucic Acid
۵۲/۴۲±۹/۲۷	۳۸/۸۵±۸/۲۱		SFAs
۳۶/۲۱±۵/۴۵	۴۱/۲۵±۱۲/۰۷		MUFAs
۱۱/۳۳±۳/۱۸	۱۹/۸۷±۲/۵۱		PUFAs
۴/۶۲	۱/۹۵		PUFAs/SFAs
۰/۳۸	۰/۴۲		n3/n6

مرطوب نیز در انتهای این دوره معادل  $۱۷/۱۰±۲/۳۵$  گرم بود. زمان دو برابر شدن آزولا بر این اساس و با در نظر گرفتن زی توده اولیه هر آکواریوم در شرایط آزمایشی برابر  $۳/۴$  روز به دست آمد. علاوه بر این رنگ آزولا در شرایط آزمایشگاهی ثابت مانده و به صورت سبز روشن مشاهده گردید.

**بررسی رشد آزولا در شرایط آزمایشگاهی**  
بررسی روند رشد آزولا در مدت ۲۱ روز آزمایش در تیمارهای مطالعاتی نشان داد که آزولا قابلیت رشد سریع و آسان را در شرایط آزمایشگاهی دارد. این گیاه درون آکواریومها به سرعت منشعب شده و با تقسیم اسپورکاپهای زایا اقدام به تکثیر نمود. میزان زی توده

## بحث

تامین پروتئین در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به عنوان یکی از محدودیت‌های بزرگ در مسیر پیشرفت و توسعه پایدار محسوب می‌گردد ( Kitoh *et al.*, 1993; Leterme *et al.*, 2009). آبرزیان همراه با غلات از اصلی‌ترین منابع پروتئینی هستند که البته استفاده از آنها به دلیل محدودیت ذخایر طبیعی و زمین‌های مساعد کشت همواره با مشکلاتی همراه بوده است. نتایج تحقیق حاضر در تایید یافته‌های قبلی نشان داد که *A. filiculoides* دارای مقدار مناسبی پروتئین (۱۸/۰۲±۲/۱۱ گرم در یک صد گرم وزن خشک) است که به خوبی می‌تواند به عنوان یک منبع جایگزین در صنایع دام‌پروری، مرغ‌داری و آبرزی پروری به کار رود ( Reddy and DeBusk, 1985; Astorg *et al.*, 2004; Leterme *et al.*, 2009).

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که محتوای چربی *A. filiculoides* بیش از برخی گونه‌های متعلق به این جنس نظیر *A. Africana* با ۴/۶ درصد چربی است (Fiogbe *et al.*, 2004)، هرچند که درصد بالایی از چربی آن به اسیدهای چرب اشباع تعلق داشت. البته تحقیقات نشان می‌دهد که مصرف اسیدهای چرب اشباع به میزان ۲۶ درصد از کل چربی مورد نیاز بدن می‌تواند با فوایدی از جمله تولید انرژی مورد نیاز، ساخت هورمون‌های ضروری، جذب بهتر کلسیم برای جلوگیری از پوکی استخوان، یکپارچگی دیواره سلولی، محافظت از سلول‌ها در برابر حملات ویروسی و استفاده بهتر از اسیدهای چرب مفید امگا-۳ همراه باشد ( Watkins and Saifert, 1996; Cetin and Koletzko, 2008). بعلاوه اسید پالمیتیک دارای غالبیت بیشتری در میان اسیدهای چرب اشباع بود

(۲۸/۴۷±۴/۶۵ درصد در آزولای وحشی و ۲۲/۳۶±۴/۳۱ درصد در آزولای پرورشی). تحقیقات نشان می‌دهد که مصرف اسید پالمیتیک در یک جیره غذایی حاوی ۲۰ درصد چربی و ۸۰ درصد کربوهیدرات بر بخشی از سیستم عصبی اثر می‌گذارد که در ترشح انسولین نقش دارند ( Beare-Rogers *et al.*, 2001; Gunstone, 2002). به عبارت دیگر مصرف آزولا در جیره غذایی می‌تواند در تنظیم پیغام‌های طبیعی سرکوب اشتها و تنظیم وزن بدن تاثیر داشته باشد.

تامین اسیدهای چرب غیراشباع به دلیل فقدان قابلیت فیزیولوژیک برای سنتز آنها در جیره غذایی روزانه اغلب حیوانات و انسان‌ها ضرورت دارد (Przbylski *et al.*, 2002). نتایج این پژوهش نشان داد که آزولا دارای مقادیر مناسبی از اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه به عنوان عاملی برای تحریک رشد و مقابله با بیماری‌های پوستی است (Gunstone, 2002; Astorg *et al.*, 2004). اسید اولئیک در آزولا دارای بیشترین غالبیت در بین اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه بود. این در حالی است که غالبیت اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه در سایر گیاهان آبرزی نظیر *Fucus abies-marina spiralis*، *Cystoseira Codium pachynema*، *Chaetomorpha Pterocladia* sp. *elisabethae*، *Sphaerococcus coronopifolius*، *capillacea* و *Osmundea pinnatifida* نیز با اسید اولئیک می‌باشد (Paoletti *et al.*, 1987). تحقیقات نشان می‌دهد که مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع با یک پیوند دوگانه به ویژه اسید اولئیک (18:1) با کاهش کلسترول

وحشی و پرورشی در این پژوهش با برخی گیاهان نظیر ذرت، زیتون، کانولا، نارگیل، سویا و گل آفتابگردان نشان داد که هر دو نوع آزولای وحشی و پرورشی دارای درصد بالاتری از اسید پالمیتیک نسبت به سایر گیاهان ذکر شده می باشد (جدول ۴). این سرخس آیزی با توجه به تنوع بالای اسیدهای چرب، منبع مناسبی برای تغذیه و استخراج برخی اسیدهای چرب است که می توان از آنها به عنوان افزودنی غذایی استفاده کرد.

کل (۱۰ درصد) و کلسترول لیوپروتئینی با چگالی پایین در تقلیل خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر قلب (CHD) مفید هستند. اسید لینولئیک و اسید آلفا-لینولنیک به ترتیب  $۱۳/۵۳ \pm ۲/۴۷$  و  $۵/۸۱ \pm ۱/۰۷$  درصد از وزن خشک آزولای وحشی و  $۷/۷۷ \pm ۱/۱۳$  و  $۲/۹۹ \pm ۰/۵۲$  درصد از آزولای پرورشی را تشکیل دادند (جدول ۳) که این دو از عوامل اثرگذار بر رشد محسوب می شوند.

مقایسه میزان اسیدهای چرب ضروری آزولا

جدول ۴: مقایسه برخی اسیدهای چرب آزولا وحشی و پرورشی با برخی گیاهان

	C16:0	C18:0	C18:1c	C18:2c	C18:3α	
Yalsin and Toker, 2012	۹	۳	۶	۲۷	۲۰	نارگیل
Yalsin and Toker, 2012	۱۱	۲	۷۶	۸	۱	زیتون
Yalsin and Toker, 2012	۴	۲	۵۹	۲۱	۱۰	کانولا
Yalsin and Toker, 2012	۱۱	۲	۲۵	۶۱	۱	ذرت
Yalsin and Toker, 2012	۱۱	۴	۲۴	۵۴	۷	سویا
Yalsin and Toker, 2012	۷	۳	۲۱	۶۹	۱	گل آفتابگردان
پژوهش حاضر	۲۸/۴۷	۴/۲۸	۳۲/۶۴	۱۳/۵۳	۵/۸۱	آزولا وحشی
پژوهش حاضر	۲۲/۳۶	۵/۷۷	۲۶/۶۱	۷/۷۷	۲/۹۹	آزولا پرورشی

آزمایشگاهی این پژوهش نشان داد که زمان دو برابر شدن آزولا در مقایسه با سایر گیاهان خشکی زی بسیار کوتاه (۳/۴ روز) بوده که همین شرایط می تواند به عنوان یک قابلیت مناسب برای استفاده از آزولا در زمینه تامین پروتئین و یا چربی مورد نیاز جوامع باشد. علاوه بر این قابلیت رشد این گیاه آیزی در شرایط آزمایشگاهی و عدم نیاز به خاک همراه با قیمت پایین مواد اولیه مورد نیاز برای تهیه محیط کشت این امکان را فراهم می آورد که آزولا را در شرایط بسته و به دور از آلاینده های محیطی در حجم بالا تولید نمود. آزولا

پرورش آزولا در کشورهای نظیر ویتنام و چین برای مصارف انسانی بسیار متداول بوده که این مطلب نشان می دهد که این گیاه آیزی در صورت فرآوری مناسب و با توجه به افزایش قیمت سایر محصولات گیاهی در ایران از قابلیت مناسبی برای استفاده به عنوان یک منبع ارزان پروتئینی برخوردار باشد. البته توانایی آزولا در جذب عناصر سنگین باعث محدودیت هایی در زمینه استفاده از آن شده که باید در هنگام تامین منبع آبی مورد توجه قرار گیرد (Kitoh et al., 1993; Leterme et al., 2009). پرورش آزولا در شرایط

چنین اختلافی را می‌توان به شرایط بوم‌شناختی متغیر و نامتعادل تالاب انزلی از یک سو و تامین مواد غذایی مناسب برای رشد آزولا در شرایط آزمایشگاهی از سوی دیگر نسبت داد که بیانگر قابلیت بالای این گیاه برای تولید انبوه و استفاده از آن در مصارف مختلف تغذیه‌ای و دارویی است.

تلاش برای افزایش امنیت غذایی انسان‌ها باعث شده تا بخش زیادی از منابع آب و خاک به کشت علوفه برای دام‌ها اختصاص یابد (Becker, 2004). حدود ۲۷ درصد از کل اراضی قابل کشت در ایران به کشت علوفه اختصاص داشته و این امر تامین اقلام مهم مانند گندم و برنج را تشدید نموده است (FAO, 2014). علوفه موجود با افزایش جمعیت دامی قادر به تامین نیازهای غذایی دام‌ها نخواهد بود. رشد سریع آزولا و قابلیت آن در تثبیت ازت باعث جلب توجه بسیاری از محققان به این گیاه برای استفاده از آن به عنوان کود زیستی، منبع نیتروژن و پتاسیم، غذای دام و طیور، عامل کنترل علف‌های هرز آبرزی، جذب عناصر سنگین و بهبود کیفیت آب گردیده است (Hill, 1998; Sood et al., 2011). مقدار مناسب چربی آزولا همراه با رشد سریع، امکان تولید انبوه این گیاه بدون نیاز به عملیات کاشت و امکان نگهداری آن با روش‌های ساده بر اساس یافته‌های این پژوهش نشان داد که می‌توان آزولا را با برنامه‌ریزی صحیح از یک تهدید به فرصتی مناسب تبدیل نمود.

### سپاسگزاری

نویسندگان زحمات کارشناسان مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات به دلیل کمک‌های بی‌شائبه آنها

را می‌توان حتی در انواع سوپ، سالاد، سرخ‌کردنی‌ها، پیراشکی و بیسکویت مصرف نمود (Baars and Caffery, 2008).

آزولا همچنین دارای درصد مناسبی خاکستر ( $2/94 \pm 0/60$  گرم در یک صد گرم وزن خشک) بود. درصد بالایی خاکستر به توانایی آزولا در ذخیره‌سازی فسفر و پتاسیم همراه با مقادیر بالای آهن (۱۰۰۰ تا ۸۶۰۰ قسمت در میلیون)، مس (۳ تا ۲۱۰ قسمت در میلیون وزن خشک) و منگنز (۱۲۰ تا ۲۷۰۰ قسمت در میلیون وزن خشک) بر می‌گردد و بر این اساس می‌توان از آزولا به صورت مستقیم برای غنی‌سازی خاک‌های نابارور و یا پس از فرآوری مناسب به عنوان یک مکمل طبیعی برای تامین نیازهای معدنی دام، طیور و آبزیان استفاده نمود (Leterme et al., 2009; Hussner, 2010).

مصرف مستقیم آزولا توسط ماهیان در اغلب موارد موجب افزایش وزن آنها می‌شود و در پاره‌ای مواقع پس‌مانده آزولا پس از پوسیده شدن باعث غنی‌تر شدن محیط آبی می‌گردد. آزولا غذای مورد علاقه ماهی‌آمور بوده و در پرورش جوجه نیز مصرف می‌شود. برآوردها نشان می‌دهد که مصرف ۳۰۰-۱۰۰ گرم آزولا در روز می‌تواند جایگزین ۲۰ درصد غذای تجاری جوجه‌ها شود. آزولا جهت تغذیه گاو نیز استفاده شده به نحوی امکان استفاده آن به صورت تر یا خشک به عنوان غذای مکمل در جیره این حیوان وجود دارد (Hussner, 2010).

مدت زمان دو برابر شدن زی‌توده آزولا در سطح آب در شرایط طبیعی ۷ تا ۱۰ روز می‌باشد (Baars and Caffery, 2008) در حالی که این مدت در شرایط آزمایشگاهی پژوهش حاضر به ۳/۴ روز رسید. وجود

12. FAO, 2014. Food and Agriculture Organization of United Nations. FAO's Strategy for Improving Food Safety Globally. Twenty-fourth Session. Rome, 9 P.
13. Fiogbe, E.D., Micha, J.C., Van Hove, C., 2004. Use of a natural aquatic fern, *Azolla microphylla*, as a main component in food for the omnivorous-phytoplanktonophagous tilapia, *Oreochromis niloticus* L. Journal of Applied Ichthyology, 20(6), 517-520.
14. Gong, Y., Jiang, M., 2011. Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel. Biotechnology Letters, 33, 1269-1284.
15. Gunstone, F.D., 2002. Vegetable Oils in Food Technology. Blackwell Publishing, Oxford, U.K, 8, 34- 53.
16. Hansen, A.E., Burr, G.O., 1946. Essential fatty acids and human nutrition. Essential fatty acids and human nutrition, 31, 855-857.
17. Hashemloian, B.D., 2008. Alien and exotic *Azolla* in northern Iran. Biotechnology, 8, 187-190.
18. Hill, M.P., 1998. Life history and laboratory host range of *Stenopelmus rufinusus*, a natural enemy for *Azolla filiculoides* in South Africa. BioControl, 43, 215-224.
19. Hussner, A., 2010. NOBANIS - Invasive Alien Species Fact Sheet - *Azolla filiculoides*. BioControl, 43, 227-229.
20. Iverson, S.J., Lang, S.L., Cooper, M.H., 2001. Comparison of the bligh and dyer and folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue. Lipids, 36, 1283-1287.
21. Khosravi, M., 2005. Biosorption of Pb, Cd, Cu and Zn from the wastewater by treated *Azolla filiculoides* with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/MgCl<sub>2</sub>. International Journal of Environmental Science & Technology, 1, 265-271.
22. Kitoh, S., Shiomi, N., Uheda, E., 1993. The growth and nitrogen fixation of *Azolla filiculoides* Lam. in polluted water. Aquatic botany, 46, 129-139.
23. Leterme, P., Londono, A.M., Munoz, J.E., Suarez, J., 2009. Nutritional value of aquatic ferns (*Azolla filiculoides* and *Salvinia molesta* Mitchell) in pigs. Animal Feed Science and Technology, 149, 135-148.
24. Paoletti, C., Bocci, F., Lercker, G., Capella, P., Materassi, R., 1987. Phytochemistry, 26, 1045-1047.
25. Pereira A.L., Carrapiço F., 2009. Culture of *Azolla filiculoides* in artificial conditions, Plant Biosystems, 1, 37-41.
26. Pessoa, A.S., Podestá, R., Block, J.M., Franceschi, E., Dariva, C., Lanza M., 2015.

قدردانی می‌نمایند. همچنین از جناب آقای مهندس صمد درویشی به دلیل راهنمایی‌های ارزنده در زمان نمونه‌برداری و آقای دکتر سید پژمان حسینی به دلیل کمک‌های بی‌دریغ در زمان انجام آنالیزهای مربوطه به تفکیک اسیدهای چرب تشکر می‌شود.

## منابع

1. Arora, A., Saxena, S., Kumar Sharma, D., 2006. Tolerance and phytoaccumulation of Chromium by three *Azolla* species. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 22, 97-100.
2. Astorg, P., Arnault, N., Czernichow, S., Noisette, N., Galan, P., Hercberg, S., 2004. Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. Lipids, 39, 527-535.
3. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1990. Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists International. Washington DC, 1263 P.
4. Baars, J.R., Caffery, J., 2008. Water fern, *Azolla filiculoides* - Under biological control in Ireland. Invasive Species Ireland, 10, 123-128.
5. Beare-Rogers, J., Dieffenbacher, A., Holm, J.V., 2001. Lexicon of lipid nutrition (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry, 73, 685-744.
6. Benson, T., Pender, J., Robles, M., Braun, J., 2008. Global Food Crises Monitoring and Assessing Impact to Inform Policy Responses. Food Policy Report. International Food Policy Research Institute, Washington, DC, 23, 134-139.
7. Becker, E., 2004. Microalgae in human and animal nutrition. Biotechnology and Applied Phycology, 13, 243-254.
8. Bornette, G., Puijalón, S., 2010. Response of aquatic plants to abiotic factors a review. Aquatic Sciences, 73, 1-14.
9. Calvin, M., 2008. Renewable fuels and materials Oil from plants. Biomedical and Life Sciences, 9, 189-210.
10. Cetin, I., Koletzko, B., 2008. Long-chain omega-3 fatty acid supply in pregnancy and lactation. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 11, 297-302.
11. Ceylan, H., Sunghwan, K., Gopalakrishnan, K., 2012. Sustainable Utilization of Bio-fuel Co-Product in Roadbed Stabilization. Engineering, 10, 117-129.

30. Wagner, G.M., 1997. *Azolla*: A Review of Its Biology and Utilization. Department of Zoology and Marine Biology, 63, 1-26.
31. Watkins, B.A., Saifert, M.F., 1996. Importance of Vitamin E in Bone Formation and in Chondrocyte Function. Food Lipids and Bone Health. American Oil Chemists Society, 10, 20-45.
32. Yalsin, H., Toker, O.S., 2012. Effect of oil type and fatty acid composition on dynamic and steady shear rheology of vegetable oils. Journal of oleo science, 22, 181-187.
- Extraction of pequi (*Caryocar coriaceum*) pulp oil using subcritical propane: Determination of process yield and fatty acid profile. The Journal of Supercritical Fluids, 101, 95-103.
27. Przbyski, R., Gunstone, F.D., 2002. Vegetable Oils in Food Technology, Oxford, 10, 98-127.
28. Reddy, K.R., DeBusk, W.F., 1985. Growth characteristics of aquatic acrophytes cultured in nutrient-enriched water *Azolla*, Duckweed, and *Salvinia*. Economic Botany, 39, 200-208.
29. Sood, A., Uniyal, P.L., Prasanna, R., Ahluwalia, A.S., 2011. Phytoremediation Potential of Aquatic Macrophyte, *Azolla*. The Human Environment, 41, 2-10.