

مقایسه‌ی محتوای اسید چرب آزولا (*Azolla filiculoides*) همزمان با تغییرات فصلی در تالاب انزلی

گل‌نوش وارسته مؤخر^{۱*}

هومن رجبی اسلامی^۱

مهدی شمسایی مهرگان^۱

فرشته نعمت‌اللهی^۲

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۹/۳۰

تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۰۲/۰۵

چکیده

تحقیق حاضر به مطالعه میزان پروتئین، رطوبت و خاکستر آزولا (*Azolla filiculoides*) در اشکال سبز و قرمز به ترتیب به عنوان شاخص‌های رشد در فصل‌های تابستان و زمستان پرداخت. همچنین محتوی چربی و ترکیب اسیدهای چرب آزولا به عنوان یکی از اجزای مهم برای تصمیم‌گیری در رابطه با ارزش غذایی در هر یک از اشکال سبز و قرمز مقایسه گردید. نمونه‌برداری از آزولای قرمز و سبز با جمع‌آوری ۲۰ کیلوگرم آزولای تازه از منطقه پیربازار تالاب انزلی به ترتیب در آبان ۱۳۹۰ و مرداد ۱۳۹۱ انجام شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه توسط دستگاه فریز درایر خشک شده و میزان رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر هر نمونه تعیین گردید. ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌ها نیز بر اساس روش فولک و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی پس از استری نمودن چربی مشخص گردید. نتایج این پژوهش نشان داد که آزولای سبز و قرمز به ترتیب دارای $۳۸/۸۵ \pm ۶/۷۱$ و $۵۲/۴۲ \pm ۸/۹۵$ درصد اسیدهای چرب اشباع (SFAs)

۱. گروه شیلات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

۲. گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شرق (نویسنده مسئول)؛ g.varasteh@srbiau.ac.ir

می‌باشند، در حالی که میزان اسیدهای چرب با یک پیوند غیراشباع (MUFA) در آزولای سبز و قرمز به ترتیب برابر $13/79 \pm 1/25$ و $36/21 \pm 8/43$ درصد از مجموع اسیدهای چرب هر یک از نمونه‌ها به دست آمد. همچنین درصد اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع (PUFA) در آزولا سبز برابر $19/87 \pm 6/72$ درصد بود، در حالی که این میزان در آزولای قرمز برابر با $11/33 \pm 2/61$ درصد تعیین شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که ترکیب اسیدهای چرب همراه با میزان مناسب پروتئین ($18/02 \pm 2/11$ و $7/87 \pm 1/84$ گرم بر صد گرم وزن خشک) آزولا به شکلی است که می‌توان از آن به عنوان جایگزین مناسبی برای تغذیه، دام، طیور، آبزیان و حتی انسان استفاده نمود، هرچند آزولای سبز در مقایسه با آزولای قرمز دارای ارزش غذایی بالاتری بود.

واژه‌های کلیدی: *A. filiculoides*، اسید چرب، تالاب انزلی.

مقدمه

با اثرات جانبی دیگری همچون افزایش هزینه واردات غذا نیز می‌باشند که در مواردی تا ۲۵ درصد از قیمت تمام شده یک کالا را به خود اختصاص می‌دهند (Benson et al., 2008). چنین شرایطی در مجموع نشان می‌دهد که استفاده از منابع جایگزین برای تغذیه انسان و دام تا چه اندازه حائز اهمیت خواهد بود. استفاده از گیاهان آبزی به دلیل حجم بالای تولید، قیمت پایین، کاربرد محدود و مشکلات زیست محیطی ناشی از رشد بیش از اندازه آنها به عنوان یک منبع غذایی سالم در سال‌های اخیر افزایش یافته است (Gong and jiang, 2011). این گیاهان از فواید مختلفی نظیر جذب بالای دی‌اکسید کربن، امکان برداشت طی دوره‌های زمانی کوتاه، عدم وجود ساختارهای پسمین همراه با رشد سریع برخوردار می‌باشند (Calvin, 2008؛ Kather and Kownatzki, 2009).

بحران غذایی در سال‌های اخیر موجب افزایش توجه بشر به استفاده از منابع جایگزین برای تأمین نیاز رو به افزایش مواد غذایی گردیده است، به طوری که میزان نیاز به مواد غذایی طبق پیش‌بینی‌ها تا سال ۲۰۳۰ در حدود ۶۰ درصد افزایش می‌یابد (Benson et al., 2008). تغییرات جوی، افزایش جمعیت، خشکسالی، گسترش بیابان‌ها و برخی قوانین نادرست اقتصادی را می‌توان از مهمترین عوامل بروز چنین بحرانی دانست که در کنار الگوهای نادرست مصرفی در جوامع بشری باعث گسترش فقر غذایی گردیده‌اند (Gong and jiang, 2011). میزان ذخیره جهانی غلات ظرف ۴۰ سال گذشته به پایین‌ترین سطح خود رسیده و قیمت برنج و گندم در بازار جهانی دو برابر شده است. کشورهای در حال توسعه علاوه بر این شاهد رویارویی

در آبگیرهای شمالی طی سال‌های اخیر پیش‌نهادهای شده است که هر یک با مشکلات و محدودیت‌هایی همراه هستند (احمدنیا و رضایی، ۱۳۸۷). جمع‌آوری مکانیکی برای نمونه در مقطعی به منظور کنترل گسترش آزولا استفاده گردیده که البته دفع ضایعات جمع‌آوری شده در این شرایط خود می‌تواند به عنوان مشکل جدیدی بروز نماید (احمدنیا و رضایی، ۱۳۸۷).

تحقیق حاضر بر این اساس به مطالعه میزان چربی، پروتئین، رطوبت و خاکستر آزولا در اشکال سبز و قرمز به ترتیب به عنوان شاخص رشد در فصول تابستان (عدم محدودیت نوری و شرایط مناسب رشد) و پاییز (محدودیت نوری و شرایط نامناسب رشد) پرداخت. همچنین ترکیب اسیدهای چرب آزولا به عنوان یکی از اجزای مهم برای تصمیم‌گیری در رابطه با ارزش غذایی در هر یک از اشکال سبز و قرمز مقایسه گردید.

مواد و روش‌ها جمع‌آوری نمونه

نمونه‌برداری از آزولا در این تحقیق طی دو مرحله در فصول پاییز و زمستان صورت پذیرفت. اولین مرحله نمونه‌برداری در آبان ۱۳۹۰ با جمع‌آوری میزان ۲۰ کیلوگرم آزولای قرمز رنگ از منطقه پیربازار در تالاب انزلی (37° 24' 56" N; 49° 28' 10" E) انجام گرفت. دومین نمونه‌برداری نیز در مرداد ۱۳۹۱ برای جمع‌آوری آزولای سبز از محل نمونه‌برداری اول انجام پذیرفت. لازم به ذکر است که محل نمونه‌برداری در این تحقیق به شکل تصادفی ساده تعیین گردیده و هیچ انتخابی در انتخاب محل نمونه‌برداری

انبوه بدون نیاز به عملیات کاشت و شرایط ویژه نگهداری، امکان استفاده مستقیم از این گیاهان آبی را در بسیاری از فعالیت‌های اقتصادی نظیر تولید غذای دام و طیور، استخراج ترکیبات تجاری، تولید سوخت زیستی و تغذیه انسانی فراهم آورده است (Calvin, 2008; Ceylan et al., 2012).

آزولا با نام علمی *A. filiculoides* از جمله سرخس‌های شناور آبی است که در آب‌های راکد، تالاب‌ها و شالیزارهای نواحی معتدل و گرمسیری یافت می‌شود (Anju Arora et al., 2006; Bornette and Puijalon, 2010). این گیاه آبی با ریشه‌های نازک خود به راحتی روی سطح آب گسترش یافته و منابع آبی را همچون سنگ‌فرشی می‌پوشاند (Reddy and Debusk, 1985; Hill, 1998; Sood et al., 2011). شرایط مختلف محیطی می‌تواند به تغییرات ظاهری و ایجاد رنگ‌های متفاوت از سبز پسته‌ای در شرایط بهینه رشد در فصل تابستان تا قرمز مایل به قهوه‌ای با حرکت به سمت انتهای زمان مناسب رشد در آزولا منجر شود (Wagner, 1997; Sood et al., 2011).

زیستگاه اولیه *A. filiculoides* در کالیفرنیا آمریکا بوده که طی دهه ۶۰ با قابلیت تثبیت طبیعی ازت در شالیزارهای استان گیلان به ایران وارد شد. فقدان دشمن طبیعی و عدم مطالعات مناسب برای معرفی گونه‌های غیربومی موجب اشغال سطح وسیعی از آبگیرهای شمال کشور توسط آزولا گردید، در حالی که اعمال تصمیمات صحیح مدیریتی می‌توانست این سرخس آبی را از یک تهدید به فرصتی مناسب تبدیل نماید (Hashemloian, 2005; Khosravi, 2008). راهکارهای مختلفی برای مقابله با معضل رو به گسترش آزولا

درجه سانتی‌گراد، اتصال به مدت ۱ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد، توسعه به مدت ۲ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و یک مرحله توسعه نهایی برای ۱۰ دقیقه انجام شد.

محصولات بدست آمده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز جهت توالی‌یابی از طریق شرکت سیناژن به شرکت Source Bioscience (UK) فرستاده شده و بر اساس روش Sanger توالی‌یابی گردیدند. توالی حاصله با استفاده از نرم افزار Blast در بانک ژن با دیگر توالی‌های موجود در این پایگاه اطلاعاتی مقایسه و درختچه فیلوژنی به روش neighbor-joining توسط نرم افزار CLUSTAL در برنامه MEGA 5 ترسیم شد.

آنالیز ترکیب شیمیایی

میزان رطوبت هر یک از نمونه‌های سبزی و قرمز با خشک نمودن یک گرم نمونه در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲۴ ساعت تعیین گردید (AOAC, 2001). مقدار خاکستر نیز با قرار گیری یک گرم آزولای خشک برای ۴ ساعت در کوره الکتریکی با دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد مشخص شد (AOAC, 2001). همچنین پروتئین نمونه بر اساس روش کجلدال با اندازه‌گیری ازت موجود در نمونه آزولا و با فرض وجود تمام ازت درون نمونه به شکل پروتئینی به وسیله ضرایب تبدیل ازت به پروتئین تعیین شد (Benton, 1991). نیتروژن در این روش با کمک اسید سولفوریک و کاتالیزور به سولفات آمونیوم تبدیل و مقدار آن با تیتراسیون توسط یک اسید مشخص گردید. میزان رطوبت به صورت گرم بر ۱۰۰ گرم

صورت نگرفت. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری توسط توری دستی همراه با مقداری آب تالاب درون سطل پلاستیکی ریخته شده و بلافاصله به مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات انتقال یافتند.

آزولای جمع‌آوری شده در هر مرحله نمونه‌برداری توسط آب لوله‌کشی به خوبی شسته شد تا ضایعات باقیمانده در هنگام نمونه‌برداری خارج گردند. نمونه‌ها سپس در دمای ۵۰- درجه سانتی‌گراد با فشار اتمسفری ۰/۰۴ میلی‌بار برای مدت ۴۸ ساعت خشک گردید. تمام نمونه‌ها پس از خشک شدن تا زمان شروع استخراج چربی داخل کیسه‌های پلاستیکی زیپ‌دار در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

شناسایی ملکولی

شناسایی اولیه نمونه مورد نظر بر اساس ژن rbcL صورت گرفت. استخراج DNA آزولا بر اساس روش پیشنهادی Sharma و همکاران (۲۰۰۸) انجام پذیرفت. تمام DNA بدست آمده جهت تکثیر بخشی از ژن rbcL به همراه دو پرایمر عمومی استفاده شد. مخلوط ۲۵ میکرولیتری واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) شامل ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم، ۰/۴ میلی‌مولار از هر ۲۵ dNTPs، پیکنومول از هر پرایمر، ۱۰۰ نانوگرم DNA، ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و ۲/۵ میکرولیتر از 10X PCR buffer تهیه شد. واکنش PCR به کمک دستگاه ترموسایکلر با واسرشت‌سازی اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ سیکل شامل واسرشت‌سازی برای ۱ دقیقه در دمای ۹۴

متانولی و ۰/۱ گرم سولفات سدیم خشک و بدون رطوبت داخل یک بطری ۲۰ میلی‌لیتری ریخته شد. هیدروکسید پتاسیم متانولی نیز با انحلال ۱/۱۲ گرم هیدروکسید پتاسیم در ۱۰ میلی‌لیتر متانول تهیه گردید. محلول حاصله به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق ورتکس و برای ۳ دقیقه توسط سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به دو فاز مجزا تفکیک شد. فاز فوقانی در ادامه با دقت جداسازی و داخل لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شد. لوله‌های اپندورف برای محافظت از نور درون فویل‌های آلومینیومی پیچیده شدند (Wang et al., 2006).

شناسایی اسیدهای چرب بر اساس روش کروماتوگرافی گازی انجام گرفت. محلول اسید چرب متیل استری شده (FAME) برای این منظور داخل دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل GC 6890 series مجهز به آشکار ساز حرارتی (FID) و ستون BPX 70 (120m×250μm×0.20μm) تزریق گردید. دمای اولیه کوره دستگاه برابر ۱۹۸ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد که با نرخ ۵ درجه در دقیقه به ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد رسید. دمای شناساگر و آشکارگر به ترتیب برابر ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. گاز نیتروژن با جریان ۰/۶ میلی‌لیتر در هر دقیقه نیز به عنوان فاز متحرک استفاده گردید. اسیدهای چرب با مقایسه زمان بازداری و الگوی جداسازی هر یک از ترکیبات با نمونه‌های استاندارد شناسایی گردیدند.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج در این آزمایش به صورت میانگین ± خطای استاندارد از سه تکرار برای

وزن تر ارائه شد، در حالی که مقدار سایر متغیرها به صورت گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک مشخص گردیدند.

استخراج چربی

استخراج چربی طبق روش فولک (Folch et al., 1957) با آسیاب نمودن یک گرم آزولای سبز و قرمز خشک همراه با مقداری ازت مایع در هاون سنگی انجام گرفت. سپس ۱۶ میلی‌لیتر کلروفرم به این مخلوط اضافه و برای مدت یک ساعت توسط همزن برقی به خوبی مخلوط شد. میزان ۸ میلی‌لیتر متانول در ادامه به عنوان حلال دوم با مخلوط فوق ترکیب و پس از همگن‌سازی همراه با ۶ میلی‌لیتر آب به فائل جداکننده منتقل شد. فائل برای مدت ۱۲ ساعت به صورت ساکن باقی ماند تا مخلوط حاصله به دو فاز جداگانه تقسیم گردد.

فاز پایینی شامل فاز کلروفرمی با کمک سمپلر جدا و در لوله دیگری ریخته شد. مقدار ۲۰ میلی‌لیتر کلروفرم به لایه فوقانی اضافه و فائل برای جداسازی فازها مجدداً بدون حرکت باقی ماند. لایه زیرین در ادامه توسط سمپلر 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 به متانول با نسبت ۲ به ۱ مخلوط و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (Iverson et al., 2001).

شناسایی اسیدهای چرب

میزان ۱۰ میلی‌گرم از چربی به دست آمده از هر دو شکل سبز و قرمز آزولا با ۲ میلی‌لیتر ان-هگزان، ۰/۲ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم

داد که نمونه جمع‌آوری شده از تالاب انزلی متعلق به گونه *A. filiculoides* می‌باشد.

تغییر میزان ترکیب تقریبی آزولا

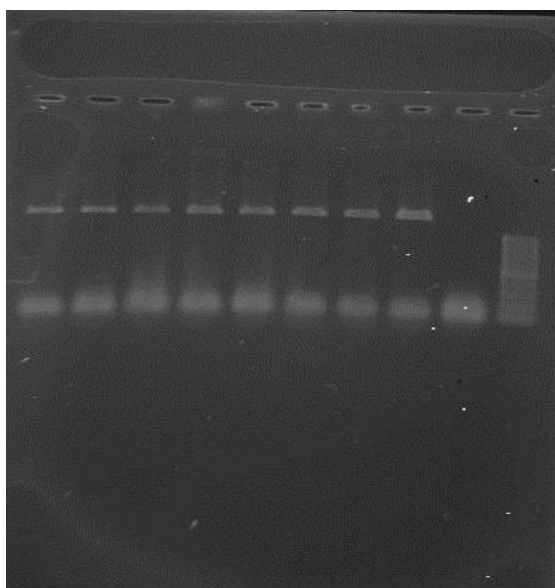
نتایج نشان داد که رطوبت بخش قابل توجهی از آزولا را تشکیل می‌دهد، هر چند تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) در میزان آنها بین دو شکل سبز (۹۴/۶ گرم در ۱۰۰ گرم وزن مرطوب) و قرمز (۹۳ گرم در صد گرم وزن مرطوب) وجود نداشت (جدول ۱). یافته‌های مشابهی در رابطه با میزان خاکستر به دست آمد، به این صورت که تفاوت معنی‌داری بین میزان خاکستر در هر دو شکل آزولا سبز و قرمز دیده نمی‌شود ($P > 0.05$). این در حالی است که میزان پروتئین در آزولای سبز به شکل معنی‌داری بیش از آزولای قرمز بود ($P < 0.05$). همچنین میزان چربی اگر چه از ۱۲/۶ گرم در صد گرم وزن خشک در آزولای قرمز به ۱۴/۲ گرم در صد گرم وزن خشک در آزولای سبز افزایش یافت، تفاوت معنی‌داری میان دو نمونه سبز و قرمز ثبت نگردید ($P > 0.05$).

هر متغیر شامل رطوبت، خاکستر، پروتئین، چربی و ترکیب اسیدهای چرب ارائه گردید. ترکیب تقریبی و همچنین محتوای چربی هر یک از انواع آزولا با کمک آنالیز واریانس یک طرفه (one way-ANOVA) مقایسه و تفاوت معنی‌داری بین هر یک از میانگین‌ها در نمونه‌های آزولای سبز و قرمز با کمک آزمون t-test تعیین شد. سطح معنی‌داری در این تحقیق برابر ۵ درصد در نظر گرفته شد.

نتایج

شناسایی ملکولی

نتیجه واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای توالی یابی بخشی از ژن rbcL در شکل ۱ نشان داده شده است. محصول PCR توالی‌یابی شده و توالی بدست آمده در بانک جهانی ژن NCBI با شماره بازیابی اختصاصی JX993044 ثبت شد. ترسیم درختچه‌های فیلوژنتیکی بر اساس نتایج حاصل از توالی‌یابی محصولات PCR و اطلاعات بدست آمده از بانک جهانی ژن با استفاده از نرم‌افزار MEGA 5 نشان



شکل ۱. تصویر الکتروفورز محصولات PCR برای توالی‌یابی ژن rbcL سرخس آبی آزولا

جدول ۱. مقایسه میزان رطوبت، خاکستر، پروتئین و چربی آزولا (*A. filiculoides*) سبز و قرمز

چربی (گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک)	پروتئین (گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک)	خاکستر (گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک)	رطوبت (گرم در ۱۰۰ گرم وزن مرطوب)	
۱/۷۹±۱۲/۶	۱۸/۰۲±۲/۱۱	۲/۹±۰/۶	۹۴/۶±۸/۲	آزولا سبز
۱۴/۲±۱/۹۳	۷/۸۷±۱/۸۴	۲/۳±۰/۵	۹۳/۰±۹/۱	آزولا قرمز

درصد) به شکل معنی‌داری بیشتر از آزولای قرمز (۳۶/۲۱±۸/۴۳ درصد) بود. اختلاف معنی‌داری نیز در میزان اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند غیراشباع (PUFAs) حاصل شد، به شکلی که میزان آن از ۱۱/۳۳±۲/۶۱ درصد در آزولای قرمز به ۱۹/۸۷±۶/۷۲ درصد در آزولای سبز رسید. بیشترین مقدار اسیدهای چرب در هر دو نوع آزولای سبز و قرمز مربوط به اسیدهای چرب اشباع بود، که درصد این اسیدهای چرب در آزولا قرمز بیش از آزولا سبز بود.

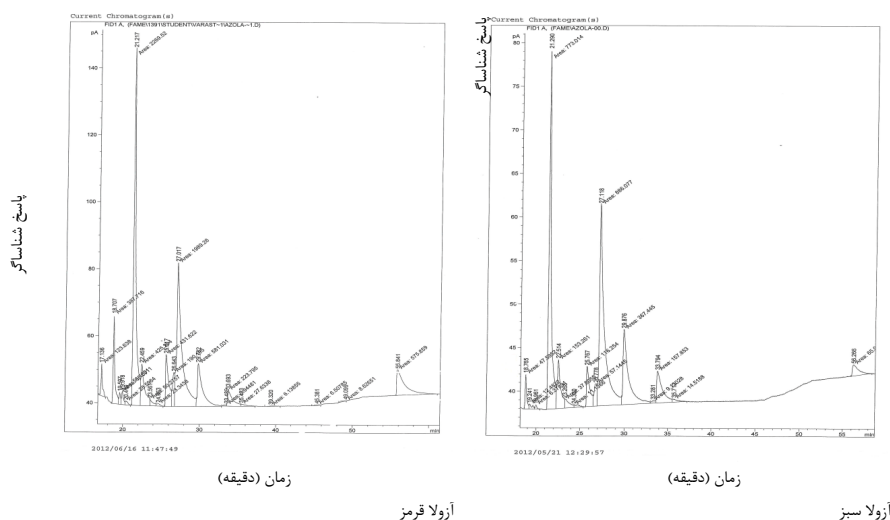
نوسانات محتوی اسیدهای چرب آزولا
نتایج حاصل از شناسایی اسیدهای چرب هر یک از اشکال سبز و قرمز آزولا (*A. filiculoides*) در جدول ۲ ارائه شده است. این تحقیق نشان داد که اسیدهای چرب اشباع (SFAs) 38/85±6/71 درصد از ترکیب اسیدهای چرب را در آزولای سبز تشکیل می‌دهند، در حالی که این میزان در آزولای قرمز با ۵۲/۴۲±۸/۹۵ درصد به شکل معنی‌داری افزایش یافت. همچنین اسیدهای چرب غیر اشباع با یک پیوند غیراشباع (MUFAs) در آزولای سبز ۴۱/۲۵±۱۳/۶۹

جدول ۲. مقایسه میزان اسیدهای چرب (درصد) در آزولای (*A. filiculoides*) سبز و قرمز طی دو فصل بهار و پاییز.

نوع اسید چرب	آزولا سبز (درصد)	آزولا قرمز (درصد)
Lauric acid (C12:0)	n.d.	1.65±0.18
Myristic acid (C14:0)	1.75±0.26	5.19±1.60
Pentadecylic acid (C15:0)	0.23±0.03	0.87±0.29
Palmitic acid (C16:0)	28.47±4.65	30.36±5.18
Margaric acid (C17:0)	1.38±0.19	0.67±0.14
Stearic acid (C18:0)	4.28±0.55	5.77±2.03
Arachidic acid (C20:0)	0.34±0.07	0.12±0.02
Behenic acid (C22:0)	n.d.	0.09±0.01
Lignoceric acid (C24:0)	2.40±0.19	7.73±2.11
Myristoleic Acid (C14:1)	0.46±0.06	0.68±0.05
Pentadecylic c Acid (C15:1)	n.d.	0.38±0.17
cis-10Heptadecenoic Acid (C17:1)	0.41±0.13	0.31±0.04
Palmitoleic Acid (C16:1)	5.64±0.91	5.69±1.82
trans-Oleic acid (C18:1t)	2.10±0.17	2.54±0.43
cis-Oleic acid (C-C18:1c)	32.64±7.40	26.61±7.19
Linoleic acid (C18:2c)	13.53±4.41	7.67±1.25
α-Linolenic acid (C18:3α)	5.81±0.92	2.99±0.61
cis-11-Eicosadienoic Acid (C20:1)	0.53±0.11	0.37±0.05
cis-11,14-Eicosadienoic Acid (C20:2)	n.d.	0.08±0.01
Erucic Acid (C22:1)	n.d.	0.12±0.03
SFAs	38.85±6.71	52.42±8.95
MUFAs	41.25±13.69	36.21±8.43
PUFAs	19.87±6.72	11.33±2.61
PUFAs/SFAs	1.95	4.62
n3/n6	0.42	0.38

اسیدهای چرب، Margaric Acid (C17:0)، Linoleic Acid و Oleic Acid (C18:1c) در آزولای سبزی به صورت معنی داری بیش از آزولای قرمز بود ($P < 0.05$)، Myristic Acid (C14:0)، در حالی که میزان، Pentadecylic Acid (C15:0)، Stearic Acid در Lignoceric Acid (C24:0) و ((C18:0) آزولای قرمز به شکل معنی‌داری بیش از آزولای سبزی بود ($P < 0.05$).

بررسی نتایج حاصل از کروماتوگرافی نشان داد که تنوع اسیدهای چرب در آزولای قرمز (با ۲۰ نوع اسید چرب) بیش از آزولای سبزی (با ۱۵ نوع اسید چرب) است. (، (C15:1) Acid (Eicosadienoic Acid (C20:2 ، (Behenic acid Lauric) و (Erucic Acid (C22:1) (C22:0) و acid (C12:0) از اسیدهای چربی بودند که در آزولای قرمز وجود داشت، در حالی که آزولای سبزی فاقد آنها بود. همچنین مقدار



شکل ۲. بررسی طیف‌های جرمی حاصل از طیف‌سنجی آزولای سبزی و قرمز و مقایسه آنها با طیف‌های استاندارد.

دو شکل سبزی ($11/02 \pm 1/1$) گرم بر صد گرم وزن خشک) و قرمز ($11/84 \pm 1/87$) گرم بر صد گرم وزن خشک) دارای مقادیر قابل توجهی پروتئین است که به خوبی می‌تواند به عنوان یک منبع جایگزین در صنایع دامپروری، مرغداری و آبزی‌پروری به کار رود (Kitoh et al., 1993؛ Leterme et al., 2009). همچنین پرورش آزولا در کشورهای نظیر ویتنام و چین برای مصارف انسانی بسیار متداول بوده و نشان می‌دهد که این گیاه آبی در صورت فرآوری مناسب و با توجه به افزایش قیمت سایر محصولات گیاهی در ایران قابلیت

بحث

تامین پروتئین در بسیاری از کشورهای در حال توسعه به عنوان یکی از محدودیت‌های بزرگ در مسیر پیشرفت و ایجاد توسعه پایدار محسوب می‌گردد (FAO, 2003؛ Leterme et al., 2009). آبیان همراه با غلات در این بین از اصلی‌ترین منابع پروتئینی در دنیا هستند که البته استفاده از آنها به دلیل محدودیت ذخایر طبیعی و زمین‌های مساعد کشت همراه با مشکلاتی همراه بوده است (Vardanyan, 2009). نتایج تحقیق حاضر در تایید یافته‌های قبلی نشان می‌دهد که *A. filiculoides* به هر

استفاده به یک منبع ارزان پروتئینی را دارد. البته توانایی بالای آزولا در جذب عناصر سنگین باعث محدودیت‌هایی در زمینه استفاده از آن شده که باید در هنگام تامین منبع آبی مورد توجه قرار گیرد (Ganji et al., 2005).

آزولا بعلاوه دارای درصد مناسبی خاکستر ($2/9 \pm 0/6$ گرم بر صد گرم وزن خشک در آزولای سبز و $2/3 \pm 0/5$ گرم بر صد گرم وزن خشک در آزولای قرمز) بود که 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 (Ganji et al., 2005). بر این اساس می‌توان از آزولا به صورت مستقیم برای غنی سازی خاک‌های نابارور و یا پس از فرآوری مناسب به عنوان مکمل طبیعی برای تامین نیازهای معدنی دام، طیور و آبزیان استفاده نمود (Hussner, 2010).

محتوای چربی هر ماده غذایی از دیگر عواملی است که باید در کنار میزان پروتئین و خاکستر برای تصمیم‌گیری در رابطه با ارزش غذایی مورد توجه قرار گیرد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که محتوای چربی *A. filiculoides* بیش از برخی گونه‌های متعلق به این جنس نظیر *A. africana* با $4/6$ درصد چربی می‌باشد (2001 Fasakin and Balogun)، هر چند که درصد بالایی از چربی‌ها در هر دو شکل سبز و قرمز به اسیدهای چرب اشباع تعلق دارد. 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، حفظ یکپارچگی دیواره سلولی، محافظت از سلول‌ها در برابر حملات ویروسی نظیر ایدز و استفاده بهتر از اسیدهای چرب مفید امگا-۳ همراه باشد (Cetin and Koletzko, 2008). بعلاوه اسید پالمیتیک با $27/47 \pm 4/65$ درصد در آزولای سبز و $30/36 \pm 5/18$ درصد در آزولای قرمز دارای غالبیت بیشتری در میان اسیدهای چرب اشباع بود. 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 (Reynoso et al., Beare-Rogers et al., 2001). بنابراین می‌توان گفت که مصرف آزولا در جیره غذایی می‌تواند در تنظیم پیغام‌های طبیعی سرکوب اشتها و تنظیم وزن بدن تأثیر داشته باشد.

تامین اسیدهای چرب غیراشباع از طریق ترکیبات غذایی همچون آزولا به دلیل فقدان قابلیت فیزیولوژیک برای سنتز آنها در جیره غذایی روزانه اغلب حیوانات و انسان‌ها ضرورت دارد (Przybylski, 2011). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که هر دو شکل آزولای سبز و قرمز دارای مقادیر مناسبی از اسیدهای چرب با یک پیوند غیراشباع به عنوان عاملی برای تحریک رشد و مقابله با بیماری‌های پوستی می‌باشند (Gunstone, 2002؛ Astorg et al., 2004). اسید اولئیک در هر دو شکل سبز و قرمز *A. filiculoides* دارای بیشترین غالبیت در بین اسیدهای چرب یک غیراشباع بود که البته میزان آن در آزولای سبز به شکل معنی‌داری بیش از آزولای قرمز بود ($P < 0.05$). این در

چرب امگا-۳ در آزولا به مراتب بیشتر از میزان آن در ذرت (Abidi, 2001)، زیتون (Blas and del Valle González, 1996) و آفتابگردان (Miller et al., 1987) است. سرخس آبی *A. filiculoides* علیرغم وجود مقادیر کمتر اسیدهای چرب امگا-۶ نسبت به سایر گیاهان روغنی، حاوی میزان قابل توجهی اسید لینولئیک می‌باشد که همراه با اسید آلفا-لینولئیک از مهمترین اسیدهای چرب ضروری مورد نیاز انسان می‌باشند (Gunstone, Beare-Rogers et al., 2001). همچنین حضور سایر اسیدهای چرب ضروری نظیر اسید پالمیتولئیک نشان می‌دهد که مصرف آزولا در جیره غذایی دام، طیور، آبزیان و حتی انسان می‌تواند نقش موثری در تامین اسیدهای چرب مورد نیاز برای رشد ایفا نماید (Gunstone, 2002).

چگونگی تامین خوراک یکی از مهمترین مسائل دامداری‌ها است، به طوری که بخش زیادی از منابع آب و خاک به کشت علفه برای دامداری‌ها اختصاص یافته است (Becker, 2004). حدود ۲۷ درصد از کل اراضی قابل کشت ایران برابر آمار منتشره سازمان جهاد کشاورزی (۱۳۸۱)، به کشت علفه اختصاص دارد و این امر مشکل تامین اقلام ضروری مانند گندم و برنج را تشدید نموده است. بنابراین آزولا با توجه به نسب مناسب اسیدهای چرب و درصد قابل توجه پروتئین از یک سو و رشد سریع بدون نیاز به عملیات کاشت همراه با مشکلات زیست‌محیطی ناشی از رشد بیش از اندازه آن در آبگیرهای شمال کشور از سوی دیگر می‌تواند به عنوان یک منبع مناسب جایگزین برای تامین نیازهای پروتئینی و چربی در

حالی است که غالبیت اسیدهای چرب با یک پیوند غیراشباع در سایر گیاهان آبی نظیر *Fucus spiralis*, *Cystoseira abies-marina*, *Chaetomorpha pachynema*, *Codium elisabethae*, *Porphyra sp.*, *Pterocladia capillacea*, *Sphaerococcus coronopifolius* و *Osmundea pinnatifida* نیز با اولئیک اسید می‌باشد (Patarra et al., 2012). تحقیقات نشان می‌دهد که مقادیر بالای اسیدهای چرب با یک پیوند غیراشباع به ویژه اسید اولئیک (۱۸:۱) با کاهش کلسترول کل (۱۰ درصد) و کلسترول لیپوپروتئینی با چگالی پایین در تقلیل خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر قلب (CHD) مفید هستند.

همچنین توجه به محتوای اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع (PUFA) به ویژه اسیدهای چرب n-3 و n-6 ترکیبات غذایی به دلیل کارکردهای مهم آنها در فعالیتهای زیستی طی سال‌های اخیر افزایش یافته است (Xiao, 2010). این اسیدهای چرب در انواع میوه‌های تازه، دانه‌های روغنی و ماهیان یافت شده و با کاهش چسبندگی پلاکت‌ها مانع انسداد عروق و در نهایت سکته قلبی می‌گردند (Astorg et al., 2004). اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع همچنین در ترمیم بافت‌های مجروح، سلامتی پوست و فرآیند رشد نقش اساسی دارند (Gunstone, 2002). پژوهش حاضر نشان داد که *A. filiculoides* منبع مناسبی از اسیدهای چرب با چند پیوند غیراشباع است، به طوری که محتوای این نوع اسیدهای چرب در هر دو شکل آزولای سبز و قرمز بیش از زیتون (Blas and del Valle González, 1996) و نارگیل (Nouredini et al., 1992) می‌باشد. همچنین میزان اسیدهای

جیره‌های غذایی دام، طیور و آبزیان استفاده گردد (Becker, 2004؛ Fiogbe et al., 2004). همچنین حضور اسیدهای چرب ضروری در آزولا نشان می‌دهد که می‌توان از آن در صورت فرآوری مناسب حتی در تغذیه انسانی بهره برد. با این وجود تحقیقات بیشتر به ویژه در زمینه ضریب تبدیل غذایی گونه *A. filiculoides* و مقدار قابل توصیه آن در جیره غذایی گونه‌های مختلف پرورشی ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

- احمدنیا، ح. و رضایی، غ. (۱۳۸۷). معرفی گیاه آزولا و کنترل آن به عنوان یک گیاه مهاجم، اولین همایش منطقه‌ای اکوسیستم‌های آبی داخلی ایران. اولین همایش منطقه‌ای اکوسیستم‌های آبی داخلی ایران، بوشهر.
- Abidi, S.L. (2001). Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. 935(1): 893-935.
- AOAC (2001a). Official method 930.04. Moisture in Plants, 18th edn, AOAC, Arlington, Virginia USA.
- AOAC (2001b). Official method 930.05. Ash of Plants, 18th edn, AOAC, Arlington, Virginia USA.
- Arora, A., Saxena, S. and Kumar Sharma, D. (2006).. Tolerance and phytoaccumulation of Chromium by three Azolla species. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 22(1): 97-100.
- Astorg, P., Arnault, N., Czernichow, S., Noisette, N., Galan, P. and Hercberg, S. (2004). Dietary intakes and food sources of n-6 and n-3 PUFA in French adult men and women. Lipids. 39(1): 527-535.
- Beare-Rogers, J., Dieffenbacher, A., Holm, J.V. (2001). . Lexicon of lipid nutrition (IUPAC Technical Report). Pure and Applied Chemistry. 73 (4): 685-744.
- Becker, W. (2004) Microalgae in human and animal nutrition. Pp. 1545-.in: A. Richmond (ed). Microalgal culture Blackwell-Oxford. UK.
- Blas, O. and del Valle González, A. (1996). Determination of sterols by capillary column gas chromatography. Differentiation among different types of olive oil: Virgin, refined, and solvent-extracted. Journal of the American Oil Chemists' Society. 73(12): 1685-1689.
- Benton, J.J. (1991). Kjeldahl Method for Nitrogen Determination. GA: Micro-Macro Publishing. 123(2): 112-119.
- Benson, T., Pender, J., Robles, M. and Braun, J. (2008). Global Food Crises Monitoring and Assessing Impact to Inform Policy Responses. Food Policy Report. International Food Policy Research Institute. 83(2): 102-110.
- Bornette, G., Puijalon, S. (2010). Response of aquatic plants to abiotic factors.. Aquatic Sciences. 73(1): 1-14.
- Calvin, M. (2008). Renewable fuels and materials Oil from plants. Biomedical and Life Sciences. 9(1): 189-210.
- Cetin, I. and Koletzko, B. (2008). . Long-chain omega-3 fatty acid supply in pregnancy and lactation. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 11(1): 297-302.
- Ceylan, H., Sunghwan, K. and Gopalakrishnan, K. (2012). Sustainable Utilization of Bio-fuel Co-Product in Roadbed Stabilization. Engineering. 10(1): 117-129.
- FAO (2003). Food energy-methods of analysis and conversion factors. Pp. 77. In: report of a technical workshop FAO food and nutrition.
- Fasakin, E.A. and Balogun, A.M. (2001). Nutritional and anti-nutritional analyses of Azolla africana Desv. and Spirodela polyrrhiza L. Schleiden as feedstuffs for fish production. 14th Annual Conference of the Fisheries Society of Nigeria (FISON), 19-23.
- Feofilova, E., Sergeeva, L. and Lvashechkin, A. A. (2004). Biodiesel-fuel Content, production, producers, contemporary biotechnology. Biomedical and Life Sciences. 46(1): 369-378.
- Fiogbe, E.D., Micha, J.C. and 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.
- Folch, J., Lees, M. and Stanley, G.H.S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. The Journal of Biological Chemistry. 226(1): 497-509.
- Ganji, T., Khosravi, M., Rakhshae, R. (2005). Biosorption of Pb, Cd, Cu and Zn from the wastewater by treated Azolla filiculoides with H2O2/MgCl2. International Journal of Environmental Science and Technology. 120(1): 265-271.
- Gong, Y. and Jiang, M. (2011). Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel. Biotechnology Letters. 33(7): 1269-1284.
- Gunstone, F.D. (2002). Vegetable Oils in Food Technology. Pp. 1225-. In: Blackwell Publishing, Oxford. U.K.
- Hashemloian, B.D. (2008). exotic Azolla in northern Iran. Biotechnology. 8(1): 187-190.
- Hill, M.P. (1998). Life history and laboratory host range of Stenopelmus rufinasus, a natural enemy for Azolla filiculoides in South Africa. BioControl. 43(1): 215-224.
- Hussner, A. (2010). NOBANIS - Invasive Alien Species Fact Sheet - Azolla filiculoides. Online Database of the North European and Baltic Network on Invasive Alien Species. NOBIA www.nobanis.org, date of access 15 April 2012.

- 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(11): 1283-1287.
- Kather, A. and Kownatzki, S. (2009). *Engineering*. 8(1): 330-333.
- Kitoh, S., Shiomi, N. and Uheda, E. (1993). The growth and nitrogen fixation of *Azolla filiculoides* Lam. in polluted water. *Aquatic Botany*. 46(1): 129-139.
- Khosravi, M. (2005). Biosorption of Pb, Cd, Cu and Zn from the wastewater by treated *Azolla filiculoides* with H₂O₂/MgCl₂. *International Journal of Environmental Science and Technology* 123(1): 265-271.
- 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(1): 135-148.
- Miller, J.F., Zimmerman, D.C. and Vick, B.A. (1987). Genetic control of high oleic acid content in sunflower oil. *Crop Science*. 27(2): 923-926.
- Nouredini, H., Teoh, B.C. and Davis Clements, L. (1992). *Densities of Vegetable Oils and Fatty Acids*. Chemical and Biomolecular Engineering Research and Publications. 12(1): 20-26.
- Patarra, R.F., Leite J, Pereira, R., Baptista, J. and Neto, A.I. (2012). Fatty acid composition of selected macrophytes. *Natural Product Research*. 10(1): 1-5
- Przybylski, R. (2011) *Canola/Rapeseed Oil*, in *Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses*. Pp. 1232-.Wiley-Blackwell, Oxford. UK.
- Reddy, K.R. and Debusk, W.F. (1985). Growth characteristics of aquatic macrophytes cultured in nutrient-enriched water: II. *Azolla*, Duckweed, and *Salvinia*. *Economic Botany*. 39(2): 200-208.
- Reynoso, R., Salgado L. and Calderón V. (2003). High levels of palmitic acid lead to insulin resistance due to changes in the level of phosphorylation of the insulin receptor and insulin receptor substrate-1. *Molecular and Cellular Biochemistry*. 246(1): 155-162.
- Sood, A. Uniyal, P. L., Prasanna, R. and Ahluwalia A.S. (2011). Phytoremediation Potential of Aquatic Macrophyte, *Azolla*. *The Human Environment*. 41(2): 2-10.
- Sharma, M., Schmid, M., Rothballer, M. and Hause, G. (2008). Detection and identification of bacteria intimately associated with fungi of the order Sebaciniales. *Cellular Microbiology*. 10(11): 2235-2246.
- Vardanyan, L. (2009). Role of renewable energy sources in developing the energy sector of the Republic of Armenia. *Applied Solar Energy*. 45(1): 303-306.
- Wagner, G.M. (1997). *Azolla: A Review of Its Biology and Utilization*. *The Botanical*. 63(1): 1-26.
- Wang, W., Vignani, M., Scali, M. and Cresti, M. (2006). A universal and rapid protocol for protein extraction from plant tissues for proteomics analysis. *Electrophoresis*. 27(2): 2782-2786.
- Xiao, W., Wanying, Y., Jun, Z. and Curtis, M. (2010). Biogas and CH₄ productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source. *Bioresource Technology*. 101(11): 4042-4047.