



## استخراج و خالص سازی کلاژن از عروس دریایی کاتوستیلوس موزایک (*Catostylus mosaicus*) خلیج فارس

الهام حاجیانی (MSc)<sup>۱\*</sup>، شهریار عصفوری (PhD)<sup>۱\*\*</sup>

<sup>۱</sup> بخش مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی نفت، گاز و پتروشیمی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۹/۹/۱۲ - پذیرش مقاله: ۹۹/۱۱/۲۸)

### چکیده

زمینه: کلاژن پروتئین قسمت عمده بافت پیوندی است و کاربردهای زیادی در زمینه پزشکی و غیرپزشکی دارد. افزایش جمعیت جهان و نیاز به پروتئین موجب توجه ویژه به منابع خوراکی دریایی شده است. ازسوی دیگر، عروس دریایی به عنوان یک منبع تجدیدپذیر سرشار از کلاژن است. ازاین رو، استخراج کلاژن از عروس دریایی توجه‌های بسیاری از محققین را به خود جلب نموده است. هدف این مطالعه استخراج و خالص سازی کلاژن از عروس دریایی کاتوستیلوس موزایک (*Catostylus mosaicus*) می باشد.

مواد و روش‌ها: کلاژن محلول در اسید و پپسین از عروس دریایی کاتوستیلوس موزایک استخراج و با استفاده از کیسه دیالیز با MWCO ۱۰۰۰۰۰ خالص سازی شد. مقدار پروتئین، نوع کلاژن، دمای تقلیب و گروه‌های عاملی کلاژن استخراجی به ترتیب با استفاده از اسپکتروفتومتر، الکتروفورز، ویسکومتر و طیف‌سنجی تبدیل فوریه مادون قرمز ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد کلاژن استخراج شده محلول در پپسین از چتر و بازوی عروس دریایی شامل زنجیره‌های  $\alpha$  و  $\beta$  است و مقدار بازده استخراج کلاژن محلول در پپسین از چتر و بازوی عروس دریایی بر اساس وزن خشک به ترتیب ۱۴/۵۸ درصد و ۱۲/۸ درصد می باشد. همچنین، نتایج نشان داد که دمای تقلیب کلاژن استخراج شده از بازوی عروس دریایی حدود  $27/32^{\circ}\text{C}$  و چتر  $28/72^{\circ}\text{C}$  است. طیف‌های طیف‌سنجی مادون قرمز کلاژن محلول در پپسین از چتر و بازوی عروس دریایی تقریباً یکسان و شبیه سایر کلاژن‌های گونه‌های دیگر بودند. نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که این گونه عروس دریایی این امکان را دارد که به عنوان یک منبع دریایی تجدیدپذیر کلاژن به جای سایر منابع کلاژن مورد استفاده قرار بگیرد.

واژگان کلیدی: استخراج، خالص سازی، پروتئین، کلاژن، عروس دریایی

\*\* بوشهر، دانشگاه خلیج فارس، دانشکده مهندسی نفت، گاز و پتروشیمی

Email: osfour@pgu.ac.ir

\*ORCID: 0000-0001-7618-3219

\*\*ORCID: 0000-0002-4111-8318

## مقدمه

از آن در جراحی قلب و عروق، جراحی پلاستیک، ارتوپدی، ارولوژی، عصب‌شناسی، چشم‌پزشکی و همچنین مخلوط آن‌ها با سلول‌های فیروبلاست، عامل رشد، سیلیکون و گلیکوزآمینوگلیکان‌ها در ساخت جایگزین پوست مصنوعی برای درمان سوختگی کاربرد زیادی پیدا کرده است (۱۴). زیست‌سازگاری، غیرآنتی‌ژنی، غیرسمی بودن، زیست‌تخریب‌پذیری و سازگاری با پلیمرهای مصنوعی از جمله مزایای کلاژن برای استفاده در مصارف پزشکی می‌باشند که کاربرد آن را توسعه بخشیده است. از جمله معایب کلاژن می‌توان به هزینه زیاد خالص‌سازی، تنوع، خطر انتقال بیماری و آب‌دوستی اشاره نمود (۲).

یکی از منابع‌های اصلی کلاژن حیواناتی مانند خوک و گاو است. بازده استخراج کلاژن از گاو حدود ۳ تا ۷۵ درصد (۱۵) و بازده استخراج کلاژن از پوست خوک حدود ۱ تا ۳ درصد می‌باشد (۱۶). در طول دهه‌های گذشته، خطر ابتلا به بیماری جنون گاوی باعث ایجاد جایگزین برای کلاژن گاوی شده است. کلاژن را می‌توان از منابع حیوانی دیگر مانند مرغ، دم کانگورو، دم موش صحرائی، پای اردک و غیره به‌دست آورد. منابع ذکر شده ارزان و آسان به دست می‌آیند، اما پس از استفاده طولانی مدت باعث حساسیت‌زایی می‌شوند. یک روش جایگزین، بررسی استخراج کلاژن از منابع دریایی است. گزارش‌ها نشان داده که این منابع خطر انتقال بیماری را ندارند و همچنین یک ماده اولیه ارزان قیمت می‌باشند (۱۷ و ۱۸). مطالعات نشان داده که اثرات التهابی کلاژن استخراج شده از عروس دریایی از کلاژن به‌دست آمده از گاو کمتر است. کلاژن عروس دریایی می‌تواند با خیال راحت به‌عنوان یک منبع کلاژن مورد استفاده قرار بگیرد (۱۹ و ۲۰). همچنین، مطالعات نشان داده است که کلاژن عروس دریایی می‌تواند پاسخ ایمنی را بدون واکنش آلرژیک تحریک نماید (۲۱). برخی از گونه‌های عروس دریایی بیش از هزار سال است

کلاژن پروتئین غالب در بافت همبند است و به شکل‌های مختلف در بافت انواع موجودات چند سلولی یافت می‌شود. کلاژن‌ها ساختمان بافت همبند را مستحکم کرده و در شکل‌گیری، چسبندگی سلولی، تجمع و پیوستگی پلاکت‌ها دخالت دارند. الیاف کلاژن در شکل‌های مختلف متناسب با بافت‌های مختلف برای انجام وظیفه در کالبد بدن مرتب شده‌اند. یک ویژگی مهم فیزیکی کلاژن ساختار سه بعدی از الیاف کلاژن است (۱). کلاژن فراوان‌ترین پروتئین فیبری است که بیش از ۲۵ درصد جرم پروتئینی بدن انسان را شامل می‌شود (۲). کلاژن به‌طور گسترده‌ای در مهره‌داران و بی‌مهرگان، از کرم‌های دریایی اولیه تا پستانداران، یافت می‌شود که تا حدی در ترکیب آمینواسید با یکدیگر متفاوت می‌باشند (۳). تا سال ۲۰۱۷، ۲۹ نوع کلاژن متشکل از حداقل ۴۶ زنجیره پلی‌پپتید متمایز شناسایی شده‌اند (۴).

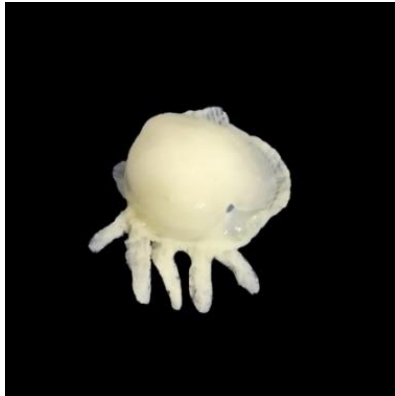
کلاژن به دلیل دارا بودن پروتئین زیاد و خاصیت عملکردی آن‌ها از قبیل ظرفیت جذب آب، تشکیل ژل و داشتن طیف گسترده‌ای از کاربردهای صنعتی یکی از مفیدترین مواد زیستی به حساب می‌آید (۵). تولید کلاژن در بدن با افزایش سن و رژیم نامناسب کاهش می‌یابد. به همین دلیل کلاژن در صنایع غذایی و صنعتی کاربردهای زیادی دارد (۶). کلاژن به دلیل استحکام مکانیکی بالا، زیست‌سازگاری کافی، آنتی ژن پایین و توانایی ذاتی اتصال عرضی و ویژگی‌های مکانیکی و جذب زیاد آب کاربردهای عمومی و زیست‌پزشکی متعددی دارد (۷). نانوالیاف کلاژن در مهندسی بافت پوست (۸)، بازسازی استخوان (۹)، اثربخشی در درد مفاصل و آرتروز (۱۰)، پوشش استنت (۱۱)، چاپ زیستی سه‌بعدی برای بازسازی اجزای قلب (۱۲)، به‌عنوان عاج دندان (۱۳) کاربرد دارد. همچنین استفاده

یک روش کلی برای جداسازی کلاژن از منابع دریایی شامل سه مرحله آماده‌سازی، استخراج و بازیابی است. در مورد عروس دریایی، آماده‌سازی نمونه شامل تمیز کردن، جداسازی و کاهش اندازه نمونه‌ها از بازوهای دهانی و چتر می‌باشد که به دنبال آن یک پیش تیمار (Pre-treatment) برای از بین بردن پروتئین‌ها، رنگدانه‌ها یا چربی‌های غیرکلاژنی صورت می‌گیرد. پیش تیمار اسیدی پیوندهای غیرکووالانسی بین و درون مولکولی را می‌شکافد، درحالی‌که پیش تیمار قلیایی رنگدانه‌ها و پروتئین‌های غیرکلاژنی را از بین می‌برد بدون اینکه باعث ایجاد تغییر در ساختار زنجیره‌های کلاژن شود. روش معمول برای از بین بردن پروتئین‌های غیرکلاژن استفاده از سدیم هیدروکسید است. در مرحله استخراج کلاژن، از آنجا که کلاژن به دلیل وجود پیوندهای قوی در ساختار ماریچ سه‌گانه در آب سرد حل نمی‌شود، یک تیمار شیمیایی ملایم با استفاده از اسیدهای رقیق شده یا بازها برای شکستن پیوندهای عرضی نیاز است. معمولاً در این مرحله از اسیدهای مانند سیتریک اسید، لاکتیک اسید، هیدروکلریک اسید و عمدتاً استیک اسید استفاده می‌شود. برای افزایش بازده استخراج، می‌توان از آنزیم‌های پروتئولیتیک مانند پپسین، تریپسین، پاپائین، پروتئاز قلیایی، بروملین، پانکراتین یا آلكالاز استفاده نمود که با تجزیه پپتیدها به فرایند انحلال کمک می‌کنند. در میان این آنزیم‌ها، پپسین متداول‌ترین آنزیم برای استخراج کلاژن است. علاوه بر این، درمان آنزیمی می‌تواند آنتی ژنی ناشی از تلپتیدها را کاهش دهد. آنتی ژنی مربوط به سلول‌ها و باقیمانده‌های سلولی را می‌توان با درمان سدیم هیدروکسید از بین برد. کلاژن استخراج شده با استفاده از محلول اسید به عنوان کلاژن محلول در اسید و کلاژن استخراج شده با استفاده از پپسین را کلاژن محلول در پپسین می‌نامند. در مرحله بازیافت، با افزودن کلرید سدیم به محلول، کلاژن رسوب داده شده و به وسیله سانتریفیوژ رسوب جمع‌آوری و سپس رسوب

که به عنوان غذا و دارو در چین مورد استفاده قرار می‌گیرند. همچنین، عروس دریایی گونه کاتوستیلوس موزاییک یکی از ده گونه‌ای است که به صورت سنتی به عنوان یک محصول غذایی استفاده می‌شود (۲۲). بنابر مطالعات گذشته، از عروس‌های دریایی برای درمان بیماری‌هایی مانند آرتروز، فشار خون بالا، برونشیت، کمردرد، زخم معده، آسم و سوختگی استفاده می‌شده است. امروزه می‌دانیم عروس دریایی سرشار از کلاژن است و می‌تواند به بهبود درمان این بیماری‌ها کمک کند (۲۳).

در حال حاضر عمدتاً از عروس دریایی به عنوان یک محصول غذایی که در بازارهای محلی توزیع می‌شود، استفاده می‌کنند. افزایش روزافزون عروس دریایی در سراسر جهان که پیامدهای اقتصادی و اجتماعی شدیدی را به همراه دارد استفاده بیش‌تر و جدید از این منبع طبیعی تجدیدپذیر را تشویق می‌کند. اساساً، عروس دریایی تازه از نظر وزنی تقریباً ۹۹-۹۵ درصد آب، ۱ تا ۲ درصد پروتئین و ۳-۲ درصد نمک دارد. پروتئین عروس دریایی تقریباً به‌طور کامل از کلاژن تشکیل شده است (۲۴). از جمله کاربردهای کلاژن استخراج شده از عروس دریایی که تاکنون گزارش شده می‌توان به بازسازی بافت پیراندانی (Periodontal) در دندان پزشکی (۲۵)، بهبود زخم (۲۶)، کشت و رشد سلول‌های بنیادی توانمند القایی (۲۷) و داربست‌هایی در بازسازی استخوان (۲۸) اشاره کرد. این گونه عروس دریایی از شاخه سنیداریا (Cnidaria)، رده فنجان‌زبان (Scyphozoa) و جنس کاتوستیلوس می‌باشد. معمولاً قطر چتر این گونه بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌متر رشد می‌کند. طول عمر این گونه عروس دریایی وابسته به مکان زیست آن می‌باشد و ممکن است تا بیشتر از ۱۰ ماه نیز زنده باشد. بر اساس زیستگاه این عروس دریایی، رنگ آن عمدتاً به رنگ سفید تا قهوه‌ای می‌باشد (۲۹).

بر اساس منابع دریایی انتخاب شده روش‌های مختلفی برای بدست آوردن کلاژن ارائه شده است. با این وجود،



شکل ۱) عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک

به منظور نمک زدایی نمونه‌های عروس دریایی جمع‌آوری شده، بازوهای عروس دریایی توسط پنس و قیچی جراحی از قسمت چتر مانند آن جدا کرده، آن‌ها را مطابق با شکل ۲ به تکه‌های ۱-۵/۰ سانتی متری برش داده و با آب مقطر شستشو و نمک زدایی شد (۳۲).



شکل ۲) نمونه‌های عروس دریایی

سپس، هر یک از نمونه‌ها با ترازوی با دقت  $\pm 0.0001$  گرم وزن شدند. به منظور جلوگیری از تخریب بافت کلاژنی همه مراحل استخراج کلاژن در یخچال در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  انجام گردید. برای حذف پروتئین‌های غیرکلاژنی و استخراج کلاژن، هر یک از نمونه‌ها به مدت ۲ روز در سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار قرار داده شدند. در طی این مدت و پس از ۲۴ ساعت محلول تعویض شد. در ادامه نمونه‌ها را با آب مقطر شستشو داده تا pH آن به ۷ برسد. پس از شستشو، نمونه‌ها با

حاصل دیالیز شده و نمونه به دست آمده فریز-درایر می‌شود (۳۰ و ۳۱).

در این مطالعه به منظور استفاده از کلاژن در فرایندهای پایین دستی، این پلیمر زیستی از گونه عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک که از آب‌های ساحلی شمال خلیج فارس در استان بوشهر جمع‌آوری شده با استفاده از روش‌های حل در اسید و پپسین استخراج و خالص‌سازی شد.

## مواد و روش‌ها

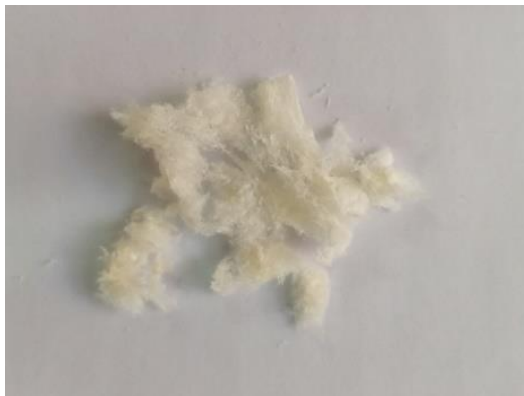
### مواد

سدیم هیدروکسید، استیک اسید، سدیم کلرید، پتاسیم کلرید، پتاسیم دی هیدروژن فسفات و سدیم هیدروژن فسفات از شرکت مرک خریداری شد. پپسین (E.C. 3.4.23.1) از شرکت زکریا شیمی پارس تهیه و بدون هرگونه خالص‌سازی استفاده شد. اوره، سدیم دودسیل سولفات ((Sodium dodecyl sulfate)، بیسینکینیک اسید ((BCA) Bicinchoninic acid) و سرم آلبومین گاوی از شرکت سیگما تهیه شد. کیسه دیالیز با (MWCO) Molecular weight cut-off ۱۰۰۰۰۰ نیز از شرکت آرکا طب روهم خریداری شد.

### نمونه‌گیری

تعداد ۲۰ نمونه زنده عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک از آب‌های ساحلی شمال خلیج فارس در محدوده جزیره شیخ استان بوشهر با استفاده از تور ترال جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در آب یخ قرار داده و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. شناسایی این گونه عروس دریایی؛ با توجه به مورفولوژی گونه جمع‌آوری شده و توسط زیست‌شناس دریایی دانشگاه خلیج فارس بوشهر، مورد تأیید قرار گرفت.

مولار به مدت ۳ روز دیالیز شد. در طی این فرایند محلول هر روز تعویض شد. در این مرحله نمونه‌های دیالیز شده با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس رسوب حاصل در استیک اسید ۰/۵ مولار حل گردید و به محلول تا غلظت ۱ مولار نمک اضافه کرده تا رسوب تشکیل شود. سپس به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ انجام شد. رسوب حاصل را در استیک اسید ۰/۵ مولار حل کرده و در مقابل استیک اسید ۰/۱ مولار به مدت ۳ روز دیالیز انجام شد. در طی این فرایند محلول هر روز تعویض شد. در مرحله آخر، محلول استخراج شده با فریز-درایر خشک شد (۳۴) (شکل ۳).



شکل ۳ کلاژن استخراج شده از عروس دریایی

غلظت پروتئین با استفاده از روش BCA اندازه‌گیری شد. در این روش،  $\text{Cu}^{2+}$  در حضور پروتئین و BCA تحت شرایط قلیایی به  $\text{Cu}^{2+}$  تبدیل شده و منجر به تولید رنگ بنفش می‌شود که در طول موج ۵۶۲nm جذب قوی دارد (۳۵ و ۳۶). به‌منظور رسم نمودار کالیبراسیون، غلظت‌های ۰ تا ۱۵  $\frac{\text{mg}}{\text{ml}}$  سرم آلبومین گاوی تهیه و با روش BCA مقدار جذب در طول موج ۵۶۲nm با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-Vis, SECOMAN, France) اندازه‌گیری و نمودار استاندارد BSA در مقدار جذب بر حسب غلظت به‌دست آمد. اندازه‌گیری مقدار پروتئین با سه بار تکرار انجام شد.

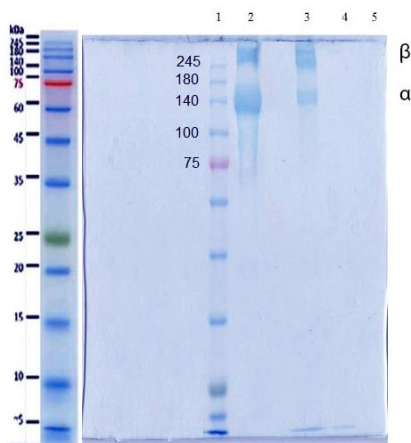
استفاده از دستگاه فریز-درایر (Christ, Beta 2-8 LDplus) در دمای پایین خشک (لیوفیلیزه) و سپس به پودر تبدیل شدند.

**استخراج و خالص‌سازی کلاژن محلول در اسید**  
استخراج کلاژن با استفاده از روش ناگای (Nagai) با کمی اصلاحات انجام شد (۳۳). بر این اساس، نمونه خشک شده عروس دریایی در استیک اسید ۰/۵ مولار به مدت ۳ روز عصاره‌گیری شد. پس از آن، محلول اسیدی در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ (Eppendorf, 5810R) محلول بالایی را جدا کرده و رسوب باقی‌مانده برای جداسازی با پپسین نگهداری شد. مرحله سانتریفیوژ در دو مرحله انجام گردید. به محلول بالایی به‌دست آمده از سانتریفیوژ تا غلظت ۱ مولار نمک اضافه کرده تا رسوب به‌دست آید. سپس به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه محلول به‌دست آمده سانتریفیوژ شد. رسوب حاصل از این مرحله در استیک اسید ۰/۵ مولار حل گردید. سپس با استفاده از غشاء تهیه شده به مدت ۳ روز دیالیز در مقابل استیک اسید ۰/۱ مولار انجام شد. در این مرحله محلول استیک اسید هر ۲۴ ساعت یک بار تعویض شد. در مرحله آخر، محلول استخراج شده با فریز-درایر خشک شد.

**استخراج و خالص‌سازی کلاژن محلول در پپسین**  
رسوب جدا شده از سانتریفیوژ مرحله اول را به‌منظور جدا کردن کلاژن با نسبت  $\frac{9\text{W}}{\text{V}}$  درصد در استیک اسید ۰/۱ مولار حل شد. سپس به آن پپسین با نسبت  $\frac{0.3\text{W}}{\text{V}}$  درصد اضافه کرده و به مدت ۳ روز در ظرف همزن‌دار قرار داده شد تا با هم‌زدن، هضم آنزیمی انجام شود. پس از عصاره‌گیری به‌وسیله پپسین، محلول به مدت ۳۰ دقیقه با شدت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، محلول بالایی در مقابل سدیم هیدروژن فسفات ۰/۰۲

استخراج شد. با اندازه‌گیری وزن عروس دریایی اولیه و مقدار عروس دریایی خشک تیرید شده درصد رطوبت چتر و بازوی عروس دریایی به ترتیب، ۹۸ درصد و ۹۵/۱ درصد به دست آمد.

الگوی SDS-PAGE کلاژن‌های استخراج شده از هر دو روش در شکل ۴ نشان داده شده است. الگوی الکتروفورز کلاژن استخراج شده محلول در اسید از چتر و بازوی عروس دریایی باندى را نشان نداد (ستون ۴ و ۵) اما الگوی الکتروفورز کلاژن استخراج شده محلول در پپسین باندهای آشکار زنجیره‌های  $\alpha$  در حدود ۱۴۰ تا ۱۵۰ کیلودالتون و باند دیمیر  $\beta$  در حدود ۲۴۰ کیلودالتون را نشان دادند (ستون ۲ و ۳). همانگونه که نتایج نشان می‌دهند الگوی الکتروفورز کلاژن‌های استخراج شده محلول در پپسین از چتر و بازوی عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک تقریباً مشابه هستند. این باندها مشابه الگوی الکتروفورز کلاژن استخراج شده در گزارش‌های پیشین می‌باشد (۳۹). جابجایی اندک باندهای کلاژن استخراج شده می‌تواند به علت تفاوت اندک در توالی اسیدهای آمینه و وزن مولکولی باشد (۳۹). با توجه به نتایج الکتروفورز ادامه آزمایش‌ها بر روی کلاژن استخراج شده از محلول در پپسین انجام شد.



شکل ۴) الگوی الکتروفورز کلاژن استخراج شده از عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک بدست آمده از سواحل استان بوشهر (ستون ۱) مارکر پروتئین با وزن مولکولی بالا (ستون ۲) کلاژن بازو محلول در پپسین (ستون ۳) کلاژن چتر محلول در پپسین (ستون ۴) کلاژن چتر محلول در اسید (ستون ۵) کلاژن بازو محلول در اسید

به منظور بررسی عدم تغییر ماهیت کلاژن و میزان خالص‌سازی آن از روش الکتروفورز استفاده شد. برای آماده‌سازی نمونه‌ها به منظور انجام آزمایش الکتروفورز، نمونه‌های کلاژن استخراج شده در بافر فسفات ۰/۱ مولار حاوی اوره ۲ مولار و SDS ۰/۲ درصد (pH=۷/۲) حل شد. الکتروفورز با استفاده از ژل ۱۰ درصد انجام و ۴۰ میکروگرم از نمونه بر روی ژل تزریق شد (۳۷).

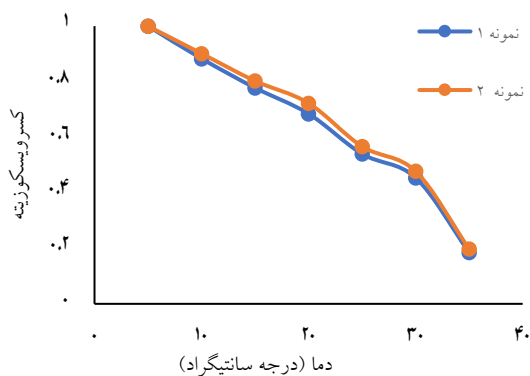
برای شناسایی کیفی مولکول کلاژن استخراج شده، تعیین ساختار مولکولی و شناسایی گروه‌های عاملی موجود در آن و همچنین مقایسه ساختاری آن‌ها با یکدیگر از روش طیف‌سنجی مادون‌قرمز (Thermo-AVATAR) در محدوده  $4000-400\text{cm}^{-1}$  استفاده شد. در روش ATR-FTIR نور به یک سل از جنس کریستال بر خورد کرده و مقداری از نور توسط نمونه جذب و از مقدار انرژی نور کاسته می‌شود. با توجه به اینکه هر پیوند در طول موج خاصی قادر به جذب انرژی مادون قرمز است، بنابراین با طیف IR می‌توان گروه‌های عاملی ترکیب را شناسایی کرد (۳۸).

دمایی که در آن تغییرات ویسکوزیته نصف تغییرات کل باشد به عنوان دمای تقلیب در نظر گرفته شد. دمای تقلیب طبق روش ژانگ (Zhang) و همکاران با کمی اصلاحات اندازه‌گیری شد (۳۲). به منظور اندازه‌گیری ویسکوزیته ۵ میلی‌لیتر محلول کلاژن ۰/۷۵ درصد در استیک اسید ۰/۱ مولار تهیه شد. نمونه‌های محلول کلاژن استخراج شده با سرنگ به آرامی به دستگاه تزریق شد. دمای مورد نظر مشخص شده و برای ایجاد تعادل حرارتی پس از حدود ۱۵ دقیقه ویسکوزیته اندازه‌گیری شد و ویسکوزیته محلول در چند دمای مختلف از  $5^{\circ}\text{C}$  تا  $35^{\circ}\text{C}$  با استفاده از ویسکومتر (Anton Paar, SVM3000) اندازه‌گیری شد.

## یافته‌ها

کلاژن با استفاده از دو روش استخراج محلول در اسید و پپسین به روش‌هایی که در بخش مواد و روش‌ها توضیح داده شده بود از بافت‌های بازو و چتر عروس دریایی

نمودار کسر ویسکوزیته برحسب دما برای کلاژن استخراج شده از چتر و بازوی عروس دریایی در شکل ۶ نشان داده شده است. دمای تقلیب کلاژن بازو حدود  $27/32^{\circ}\text{C}$  و کلاژن چتر  $28/72^{\circ}\text{C}$  به دست آمد.



شکل ۶) نمودار کسر ویسکوزیته بر حسب دما: نمونه ۱) کلاژن بدست آمده از بازوی عروس دریایی؛ نمونه ۲) کلاژن بدست آمده از چتر عروس دریایی

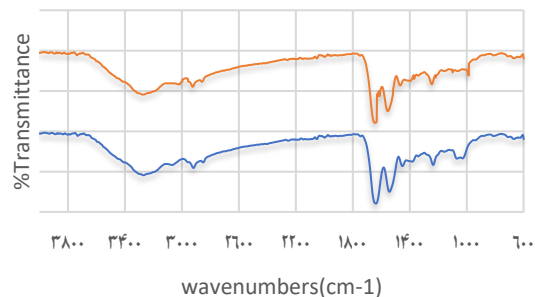
## بحث

نتایج نشان می‌دهند که الگوی الکتروفورز کلاژن استخراج شده محلول در پیپسین از چتر و بازوی عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک شامل زنجیره‌های  $\alpha$  و  $\beta$  دایمر است. از طرفی تحقیقات پیشین نشان داده است که الگوی الکتروفورز کلاژن استخراج شده از عروس دریایی سیانا نوزاکی (*nozakii Cyanea*) یک باند برجسته بین ۱۱۶ تا ۲۰۵ کیلو دالتون را نشان می‌دهد که بیانگر تشکیل این کلاژن از زنجیره  $\alpha 1$  است و چنین الگویی به طور گسترده در بی‌مهرگان وجود دارد (۳۲). ناگای (Nagai) و همکاران نشان دادند که کلاژن استخراجی از عروس دریایی رویلما اساموشی (*Rhopilema asamushi*) شامل دو زنجیره  $\alpha 1$  و  $\alpha 2$  می‌باشد (۳۴). همچنین الگوی الکتروفورز کلاژن استخراجی از عروس دریایی استمولوفوس ملگریس (*meleagris Stomolophus*) سه زنجیره  $\alpha 1$  و  $\alpha 2$  و  $\alpha 3$  را نشان داد (۳۳). این تفاوت در ترکیب کلاژن به

مقدار پروتئین موجود در کلاژن استخراج شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از نمودار استاندارد مقدار پروتئین برحسب  $\frac{mg}{ml}$  به دست آمد. مقدار پروتئین موجود در کلاژن استخراج شده از چتر و بازوی عروس دریایی در جدول ۱ نشان داده شده است.

نمونه‌ها	غلظت $\frac{mg}{ml}$	بازده کلاژن بر حسب وزن خشک $\frac{mg}{g}$
کلاژن چتر محلول در پیپسین	$0.729 \pm 0.009$	$145/800 \pm 1/925$
کلاژن بازو محلول در پیپسین	$0.640 \pm 0.007$	$128/066 \pm 1/517$

نتایج بدست آمده از ATR-FTIR برای کلاژن استخراج شده از چتر و بازوی عروس دریایی در شکل ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان دادند که اصلی‌ترین باندهای جذب برای کلاژن بازو در امید A ( $3276/62\text{cm}^{-1}$ )، امید B ( $3020/12\text{cm}^{-1}$ )، امید I ( $1641/20\text{cm}^{-1}$ )، امید II ( $1554/42\text{cm}^{-1}$ ) و امید III ( $1243/92\text{cm}^{-1}$ ) و برای کلاژن چتر در امید A ( $3270/84\text{cm}^{-1}$ )، امید B ( $3068/34\text{cm}^{-1}$ )، امید I ( $1637/34\text{cm}^{-1}$ )، امید II ( $1542/85\text{cm}^{-1}$ ) و امید III ( $1234/28\text{cm}^{-1}$ ) است.



شکل ۵) طیف ATR-FTIR (A) کلاژن استخراج شده از چتر عروس دریایی (B) کلاژن استخراج شده از بازوی عروس دریایی

در ناحیه  $3200-3440 \text{ cm}^{-1}$  باند آمید B در  $3100 \text{ cm}^{-1}$ ، باند آمید I در ناحیه  $1600-1700 \text{ cm}^{-1}$ ، باند آمید II در ناحیه  $1510-1580 \text{ cm}^{-1}$  و باند آمید III در ناحیه  $1200-1300 \text{ cm}^{-1}$  می‌باشند (۴۰ و ۴۱). آمید A مرتبط به ارتعاش کششی N-H است. ارتعاش کششی آزاد N-H در ناحیه  $3340-3440 \text{ cm}^{-1}$  می‌باشد که وقتی گروه NH از پپتید شامل پیوندهای هیدروژنی باشد به فرکانس پایین‌تر انتقال پیدا می‌کند. باند آمید A کلاژن‌های استخراج شده در  $3257/34 \text{ cm}^{-1}$  و  $3270/84 \text{ cm}^{-1}$  بود و به فرکانس پایین‌تر انتقال یافته که نشان می‌دهد، گروه N-H در کلاژن بیشتر تحت تأثیر پیوندهای هیدروژنی قرار گرفته و در نتیجه منجر به تثبیت ساختار مارپیچ کلاژن می‌شود (۴۲). آمید B نشان‌دهنده کشش نامتقارنی از  $NH_3^+$  و  $CH_2$  است. فرکانس‌های بالاتر از آمید B به دلیل حضور گروه آزاد  $NH_3^+$  از لیزین یا نیتروژن انتهایی می‌باشد (۴۰ و ۴۳).

آمید I سخت‌ترین باند در پروتئین است. بنابراین، حساس‌ترین و مفیدترین نشانگر برای آنالیز ساختار ثانویه پروتئین‌ها در FTIR است (۴۴). باند آمید I در ناحیه  $1600-1700 \text{ cm}^{-1}$  است و عمدتاً به ارتعاش کششی از گروه‌های کربونیل (C=O) همراه با گروه N-H در زنجیره پلی‌پپتیدی یا با پیوند هیدروژنی همراه با  $COO^-$ ، کششی CN و تغییر شکل CCN مرتبط است (۳۹ و ۴۵). آمید I بازتابی از حضور اتصال عرضی بین مولکولی است. باندهای حدود  $1630 \text{ cm}^{-1}$  نشان‌دهنده وجود ایمیدها و باندهای حدود  $1660 \text{ cm}^{-1}$  نشان‌دهنده اتصالات عرضی بین مولکولی و باندهای حدود  $1675 \text{ cm}^{-1}$  نشان‌دهنده  $\beta$  تغییر جهت داده می‌باشد. بنابراین، باند آمید I در  $1641/20 \text{ cm}^{-1}$  برای کلاژن بازو و در  $1637/34 \text{ cm}^{-1}$  برای کلاژن چتر نشان‌دهنده وجود ایمیدها است (۴۶ و ۴۷).

آمید II معمولاً بین  $1550-1600 \text{ cm}^{-1}$  است و به ارتعاش خمشی N-H کوپل شده با ارتعاش کششی

دلیل تفاوت در گونه عروس دریایی می‌باشد. علاوه بر این، نتایج نشان می‌دهد که تراکم (چگالی) زنجیره‌های کلاژن استخراجی چتر بیشتر از بازو است. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که کلاژن استخراج شده از چتر عروس دریایی پیوندهای عرضی بین مولکولی و درون مولکولی بیشتری نسبت به کلاژن‌های استخراج شده از بازوی آن دارد (۳۲).

نتایج آزمایشگاهی نشان داد که مقدار بازده استخراج کلاژن محلول در پپسین از چتر و بازوی عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک بر اساس وزن خشک به ترتیب  $14/58$  درصد و  $12/8$  درصد می‌باشد. راستیان (Rastian) و همکاران، بازده کلاژن اسیدی از چتر و بازوی عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک را به ترتیب،  $1/46$  درصد و  $2/24$  درصد بدست آوردند (۳۹). نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که بازده استخراج کلاژن محلول در پپسین بیشتر از روش استخراج از محلول در اسید است. تحقیقات پیشین نشان داد که مقدار بازده استخراج کلاژن از عروس دریایی سیانا نوزاکی توسط روش محلول در اسید از چتر  $13$  درصد و برای کلاژن استخراج شده توسط روش محلول در پپسین  $5/5$  درصد است (۳۲). همچنین، برزیده (Barzideh) و همکاران، در تحقیقی مقدار کلاژن استخراج شده از عروس دریایی ریون (Ribbon) را در مقادیر مختلف پپسین ارزیابی کردند. بر اساس مقادیر گزارش شده توسط آن‌ها، مقدار بازده استخراج کلاژن از عروس دریایی ریون بین  $9$  تا  $19$  درصد می‌باشد. آن‌ها نشان دادند که با افزایش مقدار پپسین از  $5$  درصد ( $\frac{W}{W}$ ) تا  $10$  درصد ( $\frac{W}{W}$ ) مقدار بازده کلاژن افزایش یافته است (۲۳). نتایج بدست آمده نشان داد مقدار پروتئین موجود در چتر بیشتر از بازو است و مقدار کلاژن استخراج شده به گونه عروس دریایی و روش استخراج بستگی دارد.

مطالعات پیشین تأیید می‌نماید که باندهای اصلی جذب کلاژن در ناحیه باند آمید هستند و شامل باند آمید A



کلاژن تری‌پتیدی (Gly-X-Y) می‌باشند (۴۴). این باند برای کلاژن استخراج شده در طول موج‌های  $1243/92 \text{ cm}^{-1}$  و  $1234/28 \text{ cm}^{-1}$  مشاهده شد. نتایج ارائه شده برای کلاژن بازو و چتر محلول در پیپسین با کلاژن محلول در پیپسین برای عروس دریایی ریبون و کلاژن استخراج‌شده محلول در اسید از عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک در جدول ۲ نشان داده شده است.

C-N مرتبط است. باند امید II کلاژن‌های استخراج شده در  $1554/42 \text{ cm}^{-1}$  و  $1542/85 \text{ cm}^{-1}$  بود. فرکانس‌های پایین‌تر نشان می‌دهند که گروه N-H با زنجیره‌های  $\alpha$  متصل می‌باشد و پیوند هیدروژنی در کلاژن مشاهده می‌شود (۴۷). امید III نشان‌دهنده ترکیبی از ارتعاش کششی C-N و N-H تغییر یافته است. باندهای ناحیه  $1350-1200 \text{ cm}^{-1}$  همانند اثر انگشت در نظر گرفته می‌شوند، چون آن‌ها شامل

جدول ۲) مکان‌های پیک ATR-FTIR برای کلاژن استخراج شده از بازو و چتر عروس دریایی و برخی دیگر از کلاژن‌های مختلف (عدد حداکثر موج  $\text{cm}^{-1}$ )

ناحیه	کلاژن بازوی عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک	کلاژن چتر عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک	عروس دریایی ریبون <sup>۱</sup>	عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک <sup>۲</sup>	محدوده نرمال در پروتئین
A امید	۳۲۷۶/۶۲	۳۲۷۰/۸۴	۳۳۱۴	۳۲۹۲	۳۲۰۰-۳۴۰۰
B امید	۳۰۲۰/۱۲	۳۰۶۸/۳۴	۲۹۲۴	۲۹۲۱	۳۱۰۰
I امید	۱۶۴۱/۲۰	۱۶۳۷/۳۴	۱۶۵۳	۱۶۴۱	۱۶۰۰-۱۷۰۰
II امید	۱۵۵۴/۴۲	۱۵۴۲/۸۵	۱۵۵۱	۱۵۳۸	۱۵۱۰-۱۵۸۰
III امید	۱۲۴۳/۹۲	۱۲۳۴/۲۸	۱۲۳۹	۱۲۳۴	۱۳۰۰-۱۲۰۰

۱. برزیده و همکاران (۲۰۱۴) (۲۳) ۲. راستیان و همکاران (۲۰۱۸) (۳۹)

استخوان است. در این مطالعه روش‌های مختلف استخراج کلاژن (بافت‌ها و روش‌های آزمایشی) مطالعه شد. بهترین عملکرد کلاژن با استفاده از روش استخراج پیپسین و از بافت چتر عروس دریایی به دست آمد. کلاژن محلول در پیپسین از چتر و بازوی عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک با بازده به ترتیب ۱۴/۵۸ درصد و ۱۲/۸ درصد بر اساس وزن خشک استخراج شد. کلاژن استخراج شده محلول در پیپسین از چتر و بازوی عروس دریایی شامل زنجیره‌های  $\alpha$  و دایمر  $\beta$  بود. دمای تقلیب کلاژن استخراج شده از بازوی عروس دریایی حدود  $27/32^\circ\text{C}$  و چتر  $28/72^\circ\text{C}$  بود. طیف‌های طیف‌سنجی مادون قرمز کلاژن محلول در پیپسین از چتر و بازوی عروس دریایی تقریباً یکسان و شامل باندهای اصلی در ناحیه باند امید بودند و شبیه سایر کلاژن‌های گونه‌های دیگر بودند. در این مطالعه، نشان داده شد که گونه عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک می‌تواند به

مشاهده شد که دمای تقلیب کلاژن استخراج شده از بازوی عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک حدود  $27/32^\circ\text{C}$  و چتر  $28/72^\circ\text{C}$  است. این در حالی است که دمای تقلیب کلاژن استخراج شده از عروس دریایی سیانا نوزاکی  $23/8^\circ\text{C}$ ، برای عروس دریایی روپیلما اساموشی  $28/8^\circ\text{C}$  و برای عروس دریایی استمولوفوس ملگریس حدود ۲۶ گزارش شده است (۳۲-۳۴).

محدوده دمای سطح آب ناحیه شمال خلیج فارس بین  $7^\circ\text{C}$  در دی ماه تا  $45^\circ\text{C}$  در مرداد ماه است. اختلاف در دمای تقلیب از کلاژن‌های استخراج شده ممکن است ناشی از تفاوت گونه عروس دریایی و تفاوت جزئی در روش اندازه‌گیری به کار رفته، دمای محیط و دمای بدن عروس دریایی باشد (۳۲ و ۴۷).

### نتیجه‌گیری

کلاژن کاربردهای دارویی زیادی دارد زیرا ماده ساختمانی اصلی بافت سلول، غضروف، دندان و

علوم پزشکی بوشهر و جناب آقای دکتر افشار بارگاهی به جهت همکاری‌های لازم در انجام این مطالعه اعلام می‌دارند.

### تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

عنوان یک منبع دریایی طبیعی از کلاژن استفاده شود و این ماده دریایی کاندید مناسبی برای جایگزینی کلاژن‌های سایر منابع در برنامه‌های کاربردی زیست پزشکی است.

### سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس دانشگاه

### References:

- Balasubramanian P, Prabhakaran MP, Sireesha M, et al. Collagen In Human Tissues: Structure, Function, And Biomedical Implications From A Tissue Engineering Perspective. *Adv Polym Sci* 2013; 251: 173-206.
- Lee CH, Singla A, Lee Y. Biomedical Applications Of Collagen. *Int J Pharm* 2001; 221(1-2): 1-22.
- Giménez B, Turnay J, Lizarbe MA, et al. Use Of Lactic Acid For Extraction Of Fish Skin Gelatin. *Food Hydrocolloid* 2005; 19(6): 941-50.
- Law JX, Liao LL, Saim A, et al. Electrospun Collagen Nanofibers And Their Applications In Skin Tissue Engineering. *Tissue Eng Regen Med* 2017; 14(6): 699-718.
- Schmidt MM, Dornelles RC, Mello RO, et al. Collagen Extraction Process. *Int Food Res J* 2016; 23(3): 913-922.
- Hashim P, Ridzwan MM, Bakar J, et al. Collagen In Food And Beverage Industries. *Int Food Res J* 2015; 22(1): 1.
- Rahmani Del Bakhshayesh A, Annabi N, Khalilov R, et al. Recent Advances On Biomedical Applications Of Scaffolds In Wound Healing And Dermal Tissue Engineering. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2018; 46(4): 691-705.
- Tangsadthakun C, Kanokpanont S, Sanchavanakit N, et al. Properties Of Collagen/Chitosan Scaffolds For Skin Tissue Engineering. *J Met Mater Min* 2006; 16(1): 37-44.
- Zhang D, Wu X, Chen J, et al. The Development Of Collagen Based Composite Scaffolds For Bone Regeneration. *Bioact Mater* 2018; 3(1): 129-38.
- Woo T, Lau L, Cheng N, et al. Efficacy Of Oral Collagen In Joint Pain—Osteoarthritis And Rheumatoid Arthritis. *J Arthritis* 2017; 6(2): 1-4.
- Fujiwara NH, Kallmes DF, Li ST, et al. Type 1 Collagen As An Endovascular Stent-Graft Material For Small-Diameter Vessels: A Biocompatibility Study. *J Vasc Interv Radiol* 2005; 16(9): 1229-36.
- Lee A, Hudson AR, Shiwarski DJ, et al. 3D Bioprinting Of Collagen To Rebuild Components Of The Human Heart. *Science* 2019; 365(6452): 482-7.
- Breschi L, Maravic T, Cunha SR, et al. Dentin Bonding Systems: From Dentin Collagen Structure To Bond Preservation And Clinical Applications. *Dent Mater* 2018; 34(1): 78-96.
- Al Zahrani R. Extraction And Isolation Of Collagen Type I From Fish Skin [dissertation]. New Zealand: University of Otago, Dunedin, 2011.
- Noorzai S, Verbeek C, Lay M, et al. Collagen Extraction From Various Waste Bovine Hide Sources. *Waste Biomass Valori* 2020; 11(11): 5687-98.
- Gorlov IF, Titov EI, Semenov GV, et al. Collagen From Porcine Skin: A Method Of Extraction And Structural Properties. *Int J Food Prop* 2018; 21(1): 1031-42.

17. Addad S, Exposito JY, Faye C, et al. Isolation, Characterization And Biological Evaluation Of Jellyfish Collagen For Use In Biomedical Applications. *Mar Drugs* 2011; 9(6): 967-83.
18. Avila Rodriguez MI, Rodriguez Barroso LG, Sánchez ML. Collagen: A Review On Its Sources And Potential Cosmetic Applications. *J Cosmet Dermatol* 2018; 17(1): 20-6.
19. Song E, Kim SY, Chun T, et al. Collagen Scaffolds Derived From A Marine Source And Their Biocompatibility. *Biomaterials* 2006; 27(15): 2951-61.
20. Tibballs J, Yanagihara AA, Turner HC, et al. Immunological And Toxinological Responses To Jellyfish Stings. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2011; 10(5): 438-46.
21. Taheri N, Mohebbi GH, Vazirizadeh A, et al. The Toxinology Of Jellyfishes; A Systematic Review. *Iran South Med J* 2013; 16(5): 359-79. (Persian)
22. Poole S, Naidoo R, Edwards J. Creating A Shelf Stable Marinated Jellyfish Product From The Underutilised Species *Catostylus Mosaicus*. AFFS-Food Technology, Department Of Primary Industries, 2002.
23. Barzideh Z, Latiff AA, Gan CY, et al. Isolation And Characterisation Of Collagen From The Ribbon Jellyfish (*Chrysaora Sp.*). *Int J Food Sci Technol* 2014; 49(6): 1490-9.
24. Khong NM, Yusoff FM, Jamilah B, et al. Improved Collagen Extraction From Jellyfish (*Acromitus Hardenbergi*) With Increased Physical-Induced Solubilization Processes. *Food Chem* 2018; 251: 41-50.
25. Arslan YE, Kantarcıoğlu İ. *Salvadora Persica* Extract-Laden Jellyfish Collagen Hybrid Constructs For Periodontal Tissue Regeneration. *J Turkish Chem Soc Section A: Chem* 2019; 6(1): 51-62.
26. Felician FF, Yu RH, Li MZ, et al. The Wound Healing Potential Of Collagen Peptides Derived From The Jellyfish *Rhopilema Esculentum*. *Chin J Traumatol* 2019; 22(1): 12-20.
27. Mearns Spragg A, Tilman J, Tams D, et al. The Biological Evaluation Of Jellyfish Collagen As A New Research Tool For The Growth And Culture Of Ipsc Derived Microglia. *Front Mar Sci* 2020; 7: 689.
28. Flaig I, Radenković M, Najman S, et al. In Vivo Analysis Of The Biocompatibility And Immune Response Of Jellyfish Collagen Scaffolds And Its Suitability For Bone Regeneration. *Int J Mol Sci* 2020; 21(12): 4518.
29. Pitt KA. Life History And Settlement Preferences Of The Edible Jellyfish *Catostylus Mosaicus* (Scyphozoa: Rhizostomeae). *Mar Biol* 2000; 136(2): 269-79.
30. Coppola D, Oliviero M, Vitale GA, et al. Marine Collagen From Alternative And Sustainable Sources: Extraction, Processing And Applications. *Mar Drugs* 2020; 18(4): 214.
31. Lim YS, Ok YJ, Hwang SY, et al. Marine Collagen As A Promising Biomaterial For Biomedical Applications. *Mar Drugs* 2019; 17(8): 467.
32. Zhang J, Duan R, Huang L, et al. Characterisation Of Acid-Soluble And Pepsin-Solubilised Collagen From Jellyfish (*Cyanea Nozakii* Kishinouye). *Food Chem* 2014; 150: 22-6.
33. Nagai T, Ogawa T, Nakamura T, et al. Collagen Of Edible Jellyfish *Exumbrella*. *J Sci Food Agric* 1999; 79(6): 855-8.
34. Nagai T, Worawattanamatekul W, Suzuki N, et al. Isolation And Characterization Of Collagen From Rhizostomous Jellyfish (*Rhopilema Asamushi*). *Food Chem* 2000; 70(2): 205-8.
35. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, et al. Measurement Of Protein Using Bicinchoninic Acid. *Anal Biochem* 1985; 150(1): 76-85.
36. Walker JM. The Bicinchoninic Acid (BCA) Assay For Protein Quantitation. *The Protein Protocols Handbook*. United States: Springer, 2009, 11-5.
37. Furthmayr H, Timpl R. Characterization Of Collagen Peptides By Sodium Dodecylsulfate-Polyacrylamide Electrophoresis. *Anal Biochem* 1971; 41(2): 510-6.
38. Glassford SE, Byrne B, Kazarian SG. Recent Applications Of ATR FTIR Spectroscopy And

- Imaging To Proteins. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1834(12): 2849-58.
39. Rastian Z, Pütz S, Wang Y, et al. Type I Collagen From Jellyfish *Catostylus Mosaicus* For Biomaterial Applications. *ACS Biomater Sci Eng* 2018; 4(6): 2115-25.
40. Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Isolation And Characterization Of Collagen From The Cartilages Of Brownbanded Bamboo Shark (*Chiloscyllium Punctatum*) And Blacktip Shark (*Carcharhinus Limbatus*). *LWT-Food Sci Technol* 2010; 43(5): 792-800.
41. Pelton JT, Mclean LR. Spectroscopic Methods For Analysis Of Protein Secondary Structure. *Anal Biochem* 2000; 277(2): 167-76.
42. Wang L, An X, Xin Z, et al. Isolation And Characterization Of Collagen From The Skin Of Deep-Sea Redfish (*Sebastes Mentella*). *J Food Sci* 2007; 72(8): E450-5.
43. Ahmad M, Benjakul S, Nalinanon S. Compositional And Physicochemical Characteristics Of Acid Solubilized Collagen Extracted From The Skin Of Unicorn Leatherjacket (*Aluterus Monoceros*). *Food Hydrocolloid* 2010; 24(6-7): 588-94.
44. Cao H, Xu SY. Purification And Characterization Of Type II Collagen From Chick Sternal Cartilage. *Food Chem* 2008; 108(2): 439-45.
45. Pati F, Adhikari B, Dhara S. Isolation And Characterization Of Fish Scale Collagen Of Higher Thermal Stability. *Bioresour Technol* 2010; 101(10): 3737-42.
46. Kittiphattanabawon P, Benjakul S, Visessanguan W, et al. Isolation And Characterisation Of Collagen From The Skin Of Brownbanded Bamboo Shark (*Chiloscyllium Punctatum*). *Food Chem* 2010; 119(4): 1519-26.
47. Krishnan S, Perumal P. Preparation And Biomedical Characterization Of Jellyfish (*Chrysaora Quinquecirrha*) Collagen From Southeast Coast Of India. *Int J PharmPharm Sci* 2013; 5(3): 698-701.

Original Article

# Extraction and Purification of Collagen from the Jellyfish *Catostylus mosaicus* of the Persian Gulf

E. Hajiani (MSc)<sup>I\*</sup>, S. Osfouri (PhD)<sup>I\*\*</sup>

<sup>I</sup> Department of Chemical Engineering, School of Petroleum, Gas, and Petrochemical Engineering, Persian Gulf University, Bushehr, Iran

(Received 2 Dec, 2020

Accepted 16 Feb, 2021)

### Abstract

**Background:** Collagen is a protein that constitutes a major component of connective tissue and has many applications in the medical and non-medical fields. The increase in the world population and the need for proteins have led to a special focus on seafood. Furthermore, jellyfish is a rich and renewable source of collagen. Therefore, many researchers have shown interest in collagen extraction from jellyfish. This study aims to extract and purify collagen from jellyfish *Catostylus mosaicus*.

**Materials and Methods:** Acid-soluble and pepsin-soluble collagens were extracted and purified using a membrane with a MWCO of 100,000 from jellyfish *Catostylus mosaicus*. Protein content, type, denaturation temperature, and functional groups of the extracted collagens were evaluated using spectrophotometer, electrophoresis, viscometry, and Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy, respectively.

**Results:** The results showed that pepsin-soluble collagen extracted from the umbrella and arm of the *Catostylus mosaicus* jellyfish consisted of chains  $\alpha$  and dimer  $\beta$ , and the yields of the pepsin-soluble collagens extracted from the jellyfish umbrella and arm were 14.58% and 12.8% of the dry weight. The results also showed that the denaturation temperature of collagen extracted from the jellyfish arm and umbrella were about 27.32 °C and 28.72 °C, respectively. The FTIR spectra of pepsin-soluble collagen from the jellyfish umbrella and arm were almost identical to other types of collagens.

**Conclusion:** The results show that this species of jellyfish can be used as a renewable marine source of collagen instead of other sources of collagens.

**Keywords:** Extraction, Purification, Protein, Collagen, Jellyfish

©Iran South Med J.All right reserved

Cite this article as: Hajiani E, Osfouri S, Extraction and Purification of Collagen from the Jellyfish *Catostylus mosaicus* of the Persian Gulf. Iran South Med J 2021; 24(2): 88-100

Copyright © 2021 Hajiani, et al, This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

<sup>\*\*</sup>Address for correspondence: Department of Chemical Engineering, School of Petroleum, Gas, and Petrochemical Engineering, Persian Gulf University, Bushehr, Iran. Email: osfouri@pgu.ac.ir

\*ORCID: 0000-0001-7618-3219

\*\*ORCID: 0000-0002-4111-8318

Website: <http://bpums.ac.ir>

Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>