

## ارزیابی کلاژن دیواره بدن خیار دریایی گونه *Stichopus horrens* خلیج چابهار و ژلاتین حاصل از آن

گیلان عطاران فریمان<sup>۱\*</sup>، علی طاهری<sup>۲</sup>، نورا برزکار<sup>۳</sup>

□ - استادیار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه زیست دریا

۲ - استادیار، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه شیلات و فراوری آبزیان

۳ - دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار، دانشکده علوم دریایی، گروه زیست دریا

(تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۷)

### چکیده

ترکیبات طبیعی و زیست فعال موجود در جانوران دریایی می‌تواند به عنوان یک منبع ترکیبات کاربردی برای سلامتی باشد. در این تحقیق کلاژن از دیواره بدن خیاردریایی گونه *S. horrens* جمع‌آوری شده از خلیج چابهار به روش محلول در اسید استخراج شد و ترکیبات اسید آمینه آن مورد بررسی قرار گرفت، همچنین ژلاتین حاصله از کلاژن دیواره بدن استخراج گردید و ویژگی‌های عملکردی آن بررسی شد. کلاژن خالص سازی شده با استفاده از آزمون الکتروفورز با پلی آکریلامید در حضور دودسیل سولفات شناسایی شد و نوع آن تعیین گردید. نتایج نشان داد که کلاژن استخراجی از دیواره بدن این گونه از خیار دریایی دارای یک زنجیره  $\alpha_1$  با وزن مولکولی ۱۲۵ کیلو دالتون و یک باند سنگین بتا با وزن مولکولی ۲۵۰ کیلو دالتون بوده و کلاژن نوع I می‌باشد. کلاژن دارای محتوای بالایی از ایمینواسیدها بود و غالب ترین اسید آمینه در کلاژن دیواره بدن خیار دریایی گلیسین بود. ژلاتین نیز طبق روش آبکافت اسیدی استخراج شد. ژلاتین دارای نقطه ذوب ۳۰°C و نقطه تشکیل ژل ۵°C بود. ویسکوزیته ژلاتین استحصالی cp ۰/۶۵ / ۲ بود و از ویسکوزیته گونه‌های ماهی و پستانداران پایین تر بود.

**کلید واژگان:** خیاردریایی، ژلاتین، کلاژن، ویژگی های عملکردی

\* مسئول مکاتبات: gilan.attaran@gmail.com

## ۱- مقدمه

اقیانوسها منبع ترکیبات طبیعی هستند که دارای فعالیت های زیستی گسترده ای در زمینه های مختلف می باشند و از گروه های مختلف جانوری از جمله خارپوستان، ماهیان و اسفنج ها جداسازی شده اند. کلاژن یک ترکیب با ارزش در بافت همبند می باشد که در تمامی جانوران پرسلولی یافت می شود و بطور گسترده در پوست، استخوان و تاندون توزیع یافته است [۱]. کلاژن نوع I ترکیبی از سه زنجیره پلی پپتیدی متصل به هم است که یک ساختار مارپیچ ۳ گانه را تشکیل می دهد. مارپیچ ها دارای تکرارهای متوالی Gly-X-Y برای کلاژن هستند، که در آن X عمدتاً پرولین و Y عمدتاً هیدروکسی پرولین است [۲]. کلاژن دارای ۲۰ نوع ترکیب اسید آمینه است که بطور کلی، در ترکیبات اسید آمینه ای مشتق شده از کلاژن منابع مختلف تفاوت وجود دارد. این تفاوت مربوط به محتوای ایمینو اسید و آلانین است و می تواند تعیین کننده درجه هیدروکسیلاسیون باشد [۳].

کلاژن دنا توره شده در اثر حرارت به ژلاتین تبدیل می شود. ژلاتین یک ترکیب پروتئینی محلول است که از مشتقات اصلی کلاژن بافت های پیوندی، پوست، استخوان و رباط می باشد [۴ و ۵]. یکی از پرمصرف ترین مواد پروتئینی کلونیدی در صنایع غذایی، دارویی، صنعتی، پزشکی و نظامی به شمار می رود [۵]. ژلاتین و کلاژن حاوی مقادیر نسبتاً بالایی از برخی اسیدهای آمینه غیر قطبی مانند گلیسین، پرولین، والین و آلانین هستند [۴]. کیفیت ژلاتین مواد غذایی تا حد زیادی به خواص رئولوژیک آن (به طور عمده قدرت ژل و ویسکوزیته) بستگی دارد. گزارشات اخیر نشان می دهد که تولید جهانی سالانه ژلاتین حدود ۳۲۶۰۰۰ تن است که ژلاتین بدست آمده از پوست خوک با تولید حدود ۴۶ درصد، پوست گاو (۲۹/۴ درصد) و استخوان گاو (۳۳/۱ درصد) می باشد [۶]. با این حال، به دلیل نگرانی های اخیر در رابطه با بیماری های مشترک انسان و دام از جمله آنسفالوپاتی اسفنجی شکل (بیماری جنون گاوی<sup>۱</sup>) و همچنین اعتقادات مذهبی در جوامع استفاده کننده از غذاهای حلال در عدم استفاده از ژلاتین و کلاژن خوک موجب شده تا افزایش تقاضا برای منابع جایگزین کلاژن و ژلاتین، مانند پوست، استخوان و فلس جانوران

Bovine spongiform encephalopathy بیماری جنون گاوی<sup>۲</sup>

دریایی مانند ماهی، میگو، خرچنگ، اسفنج و خیار دریایی بوجود آید [۷ و ۸]. با اینکه بی مهرگان تقریباً حدود ۹۵٪ سلسله جانوری را تشکیل می دهند، اطلاعات موجود در زمینه کلاژن و ماتریکس خارج سلولی آن ها نادر است. پیچیدگی نسبی کلاژن های بی مهرگان، مشکل بودن خالص سازی و تعیین خصوصیات آن ها مانعی برای مطالعات روی این شاخه جانوری شده است. با این وجود مطالعات مقدماتی روی کلاژن بی مهرگان انجام شده است. کلاژن از گونه های مختلف بی مهرگان دریایی از جمله عروس دریایی، اسفنج ها، نرم تنان و سخت پوستان جداسازی شده است که بیشترین کاربرد را در صنایع دارویی، آرایشی و غذایی داشته و باعث ترمیم بافت ها، به ویژه پس از آسیب دیدگی می شوند. محصولات کلاژنی دریایی، تراکم فیبر در پوست را افزایش می دهند و منجر به تجدید سلول ها شده و ظهور خطوط نازک و چین و چروک پوست را کاهش داده و سبب جوان سازی دوباره پوست می شود [۸]. ژلاتین دریایی با قدرت ژل کم تولید ژل بسیار نرمی می کند که می تواند روی ویژگی های عملکردی آن تاثیرگذار باشد [۳]. خیارهای دریایی جانورانی از شاخه خارپوستان و رده هولوتوریده هستند، تاکنون تقریباً بیش از ۱۴۰۰ گونه زنده از این رده شناسایی شده است [۹]. حدود ۷۰ درصد از کل پروتئین دیواره بدن خیار دریایی متشکل از الیاف کلاژن بسیار نامحلول است. در کشور ایران و خارج از کشور تحقیقات متعددی روی کلاژن و ژلاتین آبزیان از جمله ژلاتین پوست ماهی بلوگا، کلاژن شکم پای نرثای مانگرو انجام شده است [۱۰ و ۱۱]. اما تاکنون فقط یک تحقیق روی کلاژن خیار دریایی *Holothuria parva* دریای عمان [۱۲] در کشور ایران انجام شده است. اطلاعات کمی در مورد کلاژن خیار دریایی خارج از کشور به جز چند گزارش از گونه های *S. japonicus*، *Stichopus vastus*، *Cucumaria frondosa* [۷، ۱۳ و ۱۴] وجود دارد و هیچ گونه تحقیقی روی ژلاتین خیار دریایی در ایران و خارج از کشور انجام نشده است. با توجه به عدم وجود اطلاعات کافی از کلاژن و ژلاتین گونه های خیار دریایی ایران در این پژوهش به بررسی ویژگی های کلاژن خیار دریایی گونه *S. horrens* و ژلاتین حاصل از دیواره بدن این گونه جانوری صید شده از آبهای چابهار پرداخته شده است.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- نمونه گیری

۱۰ عدد از نمونه خیار دریایی *Stichopus horrens* به وزن ۳۸/۶۳ گرم، از منطقه‌ی زیر جزر و مدی خلیج چابهار، توسط غواص جمع آوری شد. نمونه ها با ظرف حاوی یخ خشک به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار منتقل و در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

### ۲-۲- آنالیز ترکیبات

رطوبت به روش خشک کردن در آون ب مدت ۱۶-۱۸ ساعت در دمای ۱۰۰-۱۰۲ درجه سانتی گراد [۱۵]، خاکستر به روش خشک با استفاده از کوره الکتریکی در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد [۱۵]. میزان پروتئین نیز طبق روش بیورت [۱۶] تعیین و میزان جذب نمونه ها با استفاده از دستگاه طیف نورسنج (UV/Vis) در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد. لیپیدها طبق روش Bligh and Dyer استخراج شد [۱۷].

### ۲-۳- استخراج و جداسازی کلاژن

#### ۲-۳-۱- آماده سازی قطعات دیواره بدن

نمونه های خیار دریایی با آب مقطر شستشو شد و جداسازی پوست از امعا و احشا در تشت یخ صورت گرفت، سپس پوست توسط تیغ اسکالپل به قطعات ریز برش داده شد.

#### ۲-۳-۲- مراحل شستشو

۱۰۰ گرم پوست خیار دریایی *Stichopus horrens* با ۲ لیتر آب مقطر در یک ارلن مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در گرمخانه تکان دهنده (IPP-500) تحت شرایط دمایی ۴ درجه سانتی گراد به آرامی هم زده شد، سپس مرحله شستشو تحت شرایط دمایی و زمانی مرحله بالا تکرار گردید و نمونه ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند.

#### ۲-۳-۳- جداسازی رشته های خام کلاژن

جداسازی رشته های خام کلاژن طبق روش [۱۳] انجام شد، تمامی مراحل در دمای ۴ °C انجام گردید. پس از طی مراحل شستشو، دیواره بدن با ۱ لیتر از محلول ۴ میلی مولار EDTA و تریس هیدروکلرید ۰/۱ مولار مخلوط و در انکوباتور شیکردار به مدت ۲۴ ساعت به آرامی هم زده شد. مراحل شستشوی فوق

دوبار تکرار شد. سپس ۱ لیتر آب مقطر به نمونه ها اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در گرمخانه با دمای ۴ درجه سانتی گراد همزده شد. در ادامه مخلوط حاصله به مدت ۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ (centurion scientific model K241R) با دور ۹۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. محلول رویی از رسوبات جدا شد و با دور ۱۰۰۰۰ g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. رسوبات حاوی رشته های خام کلاژن بودند و رسوبات با کمک خشک کن انجمادی

(JAL TEB model JFD2L) خشک گردید.

### ۲-۳-۴- تهیه کلاژن محلول در پپسین (PSC)<sup>۳</sup>

تهیه کلاژن محلول در پپسین طبق روش [۷] با اندکی تغییر به شرح زیر انجام شد. به رشته های کلاژن (۲۰W/V) سود ۰/۱ مولار اضافه شد و به مدت ۳ روز در دمای ۴ °C به آرامی همزده شد. باقیمانده حاصل از استخراج قلیایی با آب مقطر شستشو داده شد و سپس با استیک اسید ۰/۵ مولار و آنزیم پپسین خوک تیمار شد. نمونه ها با دور ۱۲۰۰۰ g به مدت ۶۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. PSC موجود در محلول رویی با کمک NaCl با غلظت نهایی ۰/۸ مولار نمک زدایی شد. سپس محلول با دور کم سانتریفیوژ شد. رسوبات در استیک اسید ۰/۵ مولار حل گردید و محلول حاصله در کیسه دیالیز با منفذ KD ۱۲ ریخته شد و در برابر  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ۰/۰۲ مولار دیالیز شد. رسوبات توسط سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ g جمع آوری شد. سپس کلاژن محلول در پپسین بدست آمده با دستگاه خشک کن انجمادی خشک شد.

### ۲-۳-۵- الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید در حضور

#### سدیم دودسیل سولفات (SDS-PAGE)

آزمون SDS-PAGE طبق روش [۱۸] با استفاده از ژل پلی اکریل آمید ۹٪ انجام شد. نمونه های کلاژن در  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  (۷/۲ pH) در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر حل شد. نمونه ها (حدود ۲۰ میکرولیتر) با بافر بارگذارنده مخلوط شد. ۶۰ میلی مول بر لیتر تریس- هیدروکلراید، با pH ۸، حاوی ۲۵٪ گلیسرول، SDS ۲٪، بروموفنول بلو ۰/۱٪ در نسبت ۴:۱:۱ (V) به درون چاهک اعمال و الکتروفورز انجام شد، نشانگر با محدوده 10-250K با شماره ۲۶۶۱۹ بکار رفت. بعد از

### ۲-۴-۳- سنجش غلظت پروتئین ژلاتین

غلظت پروتئین ژلاتین طبق روش بیورت تعیین شد [۱۶] میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/vis) در طول موج ۵۴۰ nm خوانده شد.

### ۲-۴-۴- تعیین دما و زمان بستن ژل

محلول ۱۰ درصد وزنی- حجمی از نمونه آماده سازی و در حمام آب گرم حل شد و بعد به حمام آب ۴۰ درجه انتقال داده شد سپس حمام آب (HB 4 basic) به آرامی با اضافه کردن آب با دمای ۲ درجه سانتی‌گراد سرد شد. در این حالت دماسنج در محلول قرار داده شد و هر ۲۰ ثانیه یکبار دماسنج از محلول خارج شد دمایی که در آن هیچ قطره ای از دماسنج در هنگام بیرون آوردن از محلول نچکد به عنوان دمای بستن ثبت شد. برای تعیین زمان بستن نیز ژلاتین، پس از حل کردن به حمام آب ۱۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد و یک تکه چوب در داخل محلول قرار داده شد به فاصله زمانی ۲۰ ثانیه چوب خارج شد زمانی که دیگر چوب خارج نشد به عنوان زمان بستن در نظر گرفته شد [۲۲].

### ۲-۴-۵- تعیین دما و زمان باز شدن ژل

محلول ۱۰ درصد (وزنی / حجمی) از نمونه آماده سازی شد سپس نمونه بمدت ۱۶ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد یخچال نگهداری شد پس از طی این مرحله، نمونه به حمام آب ۱۰ درجه انتقال داده شد و به تدریج به آن آب با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد اضافه و دما و زمان باز شدن به این صورت اندازه‌گیری شد [۲۲].

### ۲-۴-۶- تعیین ویسکوزیته ژلاتین

ویسکوزیته نمونه ژلاتین طبق روش استاندارد انگلستان [۲۳] تعیین شد. محلول ژلاتین به ویسکومتر مووین از نوع استوالد (Cannon-Fenske) انتقال داده شد. ویسکومتر در حمام آب ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه برای تثبیت درجه حرارت قرار داده شد، سپس زمان جریان توسط کرومومتر ثبت شد و ویسکوزیته نیز از طریق معادله  $V = K(t - \theta)$  با واحد centipoise (CP) محاسبه گردید.

## ۳- نتایج و بحث

الکتروفورز، ژل با کوماسی برلیانت بلو به مدت ۲۰ دقیقه رنگ آمیزی گردید. سپس با محلول رنگ بر شامل متانول، استیک اسید گلاسیال و آب مقطر رنگ بری صورت پذیرفت.

### ۲-۳-۶- تجزیه اسید آمینه

یک میلی گرم در میلی لیتر از کلاژن استخراج شده با آب خالص تهیه گردید و ۱۵ میکرولیتر از آن خشک گردید و درون آمپول های شیشه ای در بسته در جو نیتروژن با اسیدکلریدریک ۶ مولار در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت آبکافت گردید. بعد از آبکافت، نمونه مجدد تحت خلا خشک شد و پس از انحلال در بافر و مشتق سازی توسط نین هیدرین جهت تعیین نیم رخ اسیدهای آمینه کلاژن محلول در پیپسین دیواره بدن خیار دریایی *S.horrrens* بوسیله دستگاه کرماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) در طول موج ۴۴۰ و ۵۷۰ نانومتر بررسی شد. مخلوطی از اسیدهای آمینه با غلظت مشخص جهت استاندارد استفاده شد. میزان اسیدهای آمینه با محاسبه سطح زیر پیک هر اسید آمینه نسبت به مساحت کل پیک ها توسط نرم افزار ویژه دستگاه کرماتوگرافی مایع با کارایی بالا برآورد شد [۱۹ و ۲۰].

### ۲-۴-۲- استخراج و جداسازی ژلاتین

#### ۲-۴-۱- تهیه ژلاتین

ژلاتین توسط روش [۲۱] با اندکی تغییر استخراج شد. قطعات پوست بوسیله محلول سدیم هیدروکساید با غلظت ۰/۲ (w/v)٪ در سه مرحله متوالی ۴۰ دقیقه ای و در هر بار با ۶۰۰ سی سی از محلول تیمار شد. سپس با آب شهری تا خشتی شدن آب خروجی (pH ۷) شستشو گردید. نمونه بوسیله محلول اسید سولفوریک تیمار گردید. در این مرحله قطعات پوست، در سه مرحله متوالی ۴۰ دقیقه ای در محلول اسید سولفوریک با غلظت ۰/۲٪ بر حسب وزن به حجم قرار داده شد. در مرحله بعدی مجدداً شستشو با آب مقطر تا زمان خشتی شدن pH ادامه یافت. سپس پوست با محلول رقیق اسید سیتریک ۱٪ (w/v)٪ در سه مرحله متوالی ۴۰ دقیقه ای تیمار شد. مرحله شستشو جهت خشتی کردن pH آب خروجی آن تکرار شد. استخراج ژلاتین به وسیله آب مقطر در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. نمونه ها در انکوباتور با دور ۱۶۰۰rpm بمدت ۱۲ ساعت به آرامی هم زده شد. در مرحله آخر نمونه ها صاف و خشک گردید.

## ۳-۱- ترکیبات تقریبی

نتایج حاصل از ترکیبات تقریبی دیواره بدن خیار دریایی *Stichopus horrens* در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱ تجزیه ترکیبات دیواره بدن خیار دریایی *S. horrens* (درصد بر اساس وزن تر)

| خاکستر (%) | چربی (%) | پروتئین (%) | رطوبت (%) | گونه                     |
|------------|----------|-------------|-----------|--------------------------|
| ۳/۳۳       | ۰/۴      | ۳/۴۷        | ۹۲/۸      | <i>Stichopus horrens</i> |

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل ترکیبات تقریبی خیار دریایی گونه *S. horrens* برای رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر به ترتیب ۹۲/۸، ۳/۷۴، ۰/۴، ۳/۳۳ بود. نتایج نشان می‌دهد که دیواره بدن خیار دریایی گونه *S. horrens* دارای میزان زیادی رطوبت و میزان کمی چربی می‌باشد. مقدار رطوبت دیواره بدن خیار دریایی *S. horrens* در تحقیق حاضر بیشتر از میزان رطوبت گونه‌های خیار دریایی *P. californicus* [۲۴] و *Apostichopus japonicas* [۲۵] است. میزان رطوبت دیواره بدن خیار دریایی گونه *S. horrens* به میزان رطوبت خیار دریایی گونه *Stichopus japonicus* [۲۶] نزدیک است. میزان پروتئین دیواره بدن خیار دریایی گونه *S. horrens* در تحقیق حاضر از میزان پروتئین گونه‌های خیار دریایی *Stichopus japonica* [۲۷]، *Parastichopus Parvimensis* و *Parastichopus californicus* [۲۸] کمتر است. میزان چربی دیواره بدن خیار دریایی گونه *S. horrens* در تحقیق حاضر از میزان چربی گونه‌های خیار دریایی *P. californicus* [۲۸]، *S. japonicus* [۲۶] و *P. Parvimensis* [۲۸] بالاتر بود ولی از میزان چربی خیار دریایی گونه *Cucumaria Japonicas* [۲۹] کمتر بود. میزان خاکستر دیواره بدن خیار دریایی گونه *S. horrens* از میزان خاکستر گونه‌های *S. japonicus* [۲۷] و *Parastichopus californicus* [۲۶] بالاتر بود.

نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر برای ترکیبات تقریبی بیشتر به داده‌های گزارش شده از گونه‌های خیار دریایی *S. japonicus* و *Cucumaria frondosa* و دیگر گونه‌های خیار دریایی توسط [۲۶ و ۳۰] مشابه بود و همچنین به اطلاعات و داده‌های گزارش شده توسط [۲۸] که رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین به ترتیب ۹۰/۸۱-۷۶/۴۹، ۰/۹-۳/۴، ۰/۰۳-۰/۳، ۱۱/۵۲-۴/۷ می‌باشد نزدیک بود. به طور کلی خیار دریایی دارای رطوبت بالا و پروتئین کم تری نسبت به ماهی‌ها و صدف‌ها در تحقیقات دیگر محققین بود. همانطور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود با توجه به درصد کم چربی و خاکستر و درصد پروتئین دیواره بدن خیار دریایی می‌توان نتیجه گرفت که دیواره بدن خیار دریایی از ارزش غذایی بالایی برخوردار است و کاربرد آن در صنایع غذایی پیشنهاد می‌گردد.

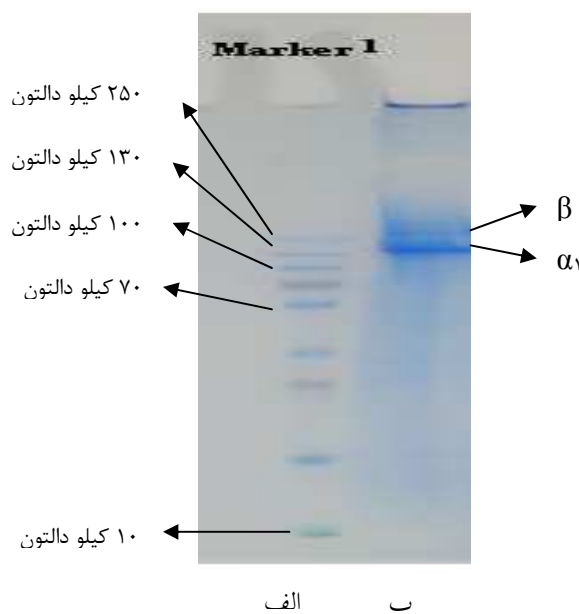
### ۳-۲- آزمون الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید در حضور سدیم دودسیل سولفات ( SDS-PAGE )

نوع کلاژن محلول در پیپسین (PSC) استخراج شده از دیواره بدن خیار دریایی *S. horrens* از طریق الکتروفورز با ژل پلی اکریل آمید (SDS-PAGE) تعیین شد. در شکل (۱) یک باند با وزن مولکولی بیش از ۲۵۰ کیلو دالتون که نشان دهنده زنجیره بتا و یک باند با وزن مولکولی حدود ۱۲۵ کیلو دالتون که نشان دهنده زنجیره آلفا ۱ می‌باشد دیده شد و بیانگر کلاژن نوع I می‌باشد.

زنجیره  $\alpha_3$  در کلاژن *S. horrens* نامعلوم است و جداسازی زنجیره  $\alpha_3$  توسط SDS-PAGE امکان‌پذیر نیست به این خاطر که زنجیره‌های  $\alpha_1$  و  $\alpha_3$  دارای ماهیت شیمیایی مشابهی هستند و ویژگی‌های الکتروفورزی و مهاجرت به موقعیت‌های مشابه بر روی ژل دارند. نتایج گزارش شده از استخراج شده از *Parastichpus* و *Stichopus japonicus* *californicus* با ساختار  $(\alpha_1)_3$  و با وزن مولکولی به ترتیب ۱۳۵ و ۱۳۸ کیلو دالتون می‌باشد [۳۱]. مولکول‌های کلاژن خیار دریایی *S. Japonicas* که توسط [۷] گزارش شده است دارای زیر واحدهای  $(\alpha_1)_2$  و  $\alpha_2$  می‌باشد در حالیکه در گونه خیار دریایی *C. frondosa* که توسط [۱۳] گزارش شده است دارای زیر واحدهای  $(\alpha_1)_3$  می‌باشد. در توتیای دریایی نیز زیر واحدهای کلاژن  $(\alpha_1)_2$  و  $\alpha_2$  می‌باشد [۳۳] و کلاژن پوست بادکنک ماهی [۳۴] نیز مانند کلاژن پستانداران از قبیل خوک از نوع I می‌باشد.

### ۳-۳- تجزیه و تحلیل اسید آمینه

ترکیبات اسید آمینه یکی از مهم‌ترین مشخصه‌های کلاژن است و در شناسایی انواع مختلف کلاژن نقش دارد در جدول ۲ فهرستی از ترکیبات اسید آمینه کلاژن آبکافت شده دیواره بدن *S. horrens* بیان شده است. بطور کلی ۱۹ اسید آمینه شناسایی شد که شامل ۹ اسید آمینه ضروری و ۹ اسید آمینه غیر ضروری هستند. نسبت اسیدهای آمینه ضروری به غیر ضروری یکسان بود. نمونه‌های کلاژن محلول در پپسین دیواره بدن خیار دریایی در تحقیق حاضر دارای بیشترین مقدار از اسید آمینه گلیسین (یک سوم) (۳۲۵ میلی گرم در گرم) می‌باشد. میزان اسید آمینه آلانین و گلوتامیک اسید (۱۱۰ میلی گرم در گرم)، پرولین (۹۲ میلی گرم در گرم) و هیدروکسی پرولین که اسید آمینه رایج در کلاژن جانوران است (۶۹ میلی گرم در گرم) می‌باشد. کمترین مقدار اسید آمینه مربوط به تیروزین (۵ میلی گرم در گرم)، فنیل آلانین (۳ میلی گرم در گرم) و هیستیدین (۵ میلی گرم در گرم) می‌باشد که مقدار آنها تقریباً با مقدار اسیدهای آمینه تیروزین، فنیل آلانین و هیستیدین گزارش شده توسط [۷] و [۳۱] مشابه می‌باشد. میزان اسید آمینه پرولین و هیدروکسی پرولین کلاژن خیار دریایی گونه *S. horrens* در تحقیق حاضر از میزان این اسیدهای آمینه در



شکل (۱) تصویر ژل حاصل از الکتروفورز کلاژن خیار دریایی گونه *S. horrens* (الف) نشانگر مولکولی، (ب) کلاژن محلول در پپسین نتایج حاصل از الگوی الکتروفورز کلاژن محلول در پپسین دیواره بدن خیار دریایی *S. horrens* در شکل (۱) نشان می‌دهد که کلاژن محلول در پپسین شامل یک زیر واحد عمده  $(\alpha_1)$  که تقریباً ۱۲۵ kD و زنجیره‌های  $\beta$ ، بیش از ۲۵۰ kD بود. الگوی SDS-PAGE (زنجیره‌های  $\alpha_1$  و  $\beta$  از کلاژن محلول در پپسین *S. horrens* به گزارشات گونه‌های دیگر از خیار دریایی شبیه بود [۲۴] و [۳۱]. این مشاهدات نشان می‌دهد که کلاژن *S. horrens* ممکن است از نوع I باشد. وزن مولکولی کلاژن دیواره بدن هر دو گونه از خیار دریایی در تحقیق حاضر (۱۲۵-۲۵۰ کیلو دالتون) است که در مقایسه با کلاژن اسفنج (۵۸ کیلو دالتون) و کلاژن استخوان گاو میش (۲۵۰/۳-۱۱۷/۷ کیلو دالتون) دارای وزن مولکولی بالایی می‌باشد اما نسبت به کلاژن پوست خوک (۱۵۰-۲۰۵ کیلو دالتون) دارای وزن مولکولی پایین‌تری می‌باشد. کلاژن استخراجی از پوست ماهی مرکب گونه *Sepia lycidas* نیز تنها یک باند ساده آلفا را نشان داد و بنظر می‌رسد که  $\alpha_1$  بوده است و یک باند سنگین بتا در کلاژن محلول در پپسین آن بدست آمد که مشابه با نتایج تحقیق حاضر است. اخیراً یک هتروترایمر منحصر بفرد  $\alpha_3, \alpha_2, \alpha_1$  شامل سه زنجیره غیر یکسان در کلاژن پوست ماهی پولاک آلاسکا بوسیله [۳۲] گزارش شده بود که نشانگر وجود زنجیره  $\alpha_3$  بود. وجود و یا عدم وجود

خیار دریایی گونه *S.japonicus* کمتر است. میزان اسید آمینه گلايسين، آلانين، گلوتاميك اسيد، والين، آرژنين، تيروزين، ترئونين، ليزين، لوسين و ايزولوسين خیار دریایی گونه *S.horrens* در تحقیق حاضر از میزان این اسیدهای آمینه در خیار دریایی گونه *S.japonicus* اندکی بیشتر است [۳۱].

**جدول ۲** ترکیبات اسید آمینه کلاژن خیار دریایی (میلی گرم در گرم)

| میزان | آمینو اسید      |
|-------|-----------------|
| ۵     | هیستیدین        |
| ۲۲    | ایزولوسین       |
| ۱۸    | لوسین           |
| ۸     | لیزین           |
| ۸     | متیونین         |
| ۳     | فنیل آلانین     |
| ۵     | تیروزین         |
| ۳۴    | ترئونین         |
| ۵۵    | آرژنین          |
| ۲۴    | والین           |
| ۶۰    | آسپارتیک اسید   |
| ۱۱۰   | گلوتامیک اسید   |
| ۴۲    | سرین            |
| ۳۲۵   | گلايسين         |
| ۱۱۰   | آلانين          |
| ۹۲    | پرولين          |
| ۶۹    | هیدروکسی پرولين |
| ۱۰    | هیدروکسی لیزین  |
| ۱۰۰۰  | کل              |

این مقدار با نسبت هیدروکسی پرولين به پرولين خیار دریایی *Stichopus japonicus* گزارش شده توسط [۳۱] برابر بود. مقدار ایمینواسیدهای کلاژن هیدرولیز شده (پرولين + هیدروکسی پرولين) در تحقیق حاضر ۱۶۱ از ۱۰۰۰ می باشد که با مقدار ایمینو اسید PSC گزارش شده توسط [۳] [۷] [۱۶۳] میلی گرم در گرم (۳۱)، (۱۶۱ میلی گرم در گرم) مشابه می باشد. محتوای بالای ایمینو اسیدها، به ویژه محتوای هیدروکسی پرولين، بسیار با اهمیت است، زیرا بر خواص عملکردی کلاژن و همچنین افزایش پایداری حرارتی کلاژن تاثیرگذار است [۳]. این اطلاعات نشان می دهد که خیار دریایی گونه *Stichopus horrens* دارای برنامه های کاربردی گسترده ای در صنایع غذایی می باشد. سیستمین عمدتاً نه در منابع آب شیرین و نه در منابع دریایی شناسایی نشده است [۳۵] مطالعات مختلف تایید کرده اند که نسبت کم لیزین به آرژنین به طور قابل توجهی غلظت کلاسترول را در سرم و آئورت، کاهش می دهد و پیشنهاد شده که نسبت کم Lys/Arg یک پروتئین اثر hypocholesterolemic (کاهش سطح کلاسترول) را اعمال می کند [۳۶]. در مطالعه حاضر، مقدار نسبت Lys/Arg حدود ۰/۱۴ است که نسبت به سایر محصولات شیلانی این نسبت Lys/Arg بسیار کمتر است این نسبت در خیار دریایی جنس *C. frondosa* ۰/۹۶ [۳۷]، در خیار دریایی جنس *C. maenas* ۰/۸۸ [۳۶] و در دیواره بدن خیار دریایی سیاه و قرمزجنس (*Apostichopus japonicas*) (۰/۳۴-۰/۴۱) است [۲۵] بنابراین، این نتایج نشان می دهد که دیواره بدن خیار دریایی برای افراد مبتلا به چربی خون مفید می باشد.

### ۳-۴- خصوصیات فیزیکیوشیمیایی ژلاتین

نتایج حاصل از خصوصیات فیزیکیوشیمیایی ژلاتین دیواره بدن خیار دریایی *S.horrens* در جدول ۳ گزارش شده است.

**جدول ۳** خصوصیات فیزیکیوشیمیایی ژلاتین دیواره بدن خیار دریایی *S.horrens*

| ویسکوزیته | دمای بستن | زمان بستن | دمای باز | زمان باز | درصد پروتئین ژلاتین |
|-----------|-----------|-----------|----------|----------|---------------------|
| ۶۰ □ C    | ژل        | ژل        | شدن ژل   | شدن ژل   |                     |
| ۲,۰۶ cp   | ۵ °C      | ۸m        | ۳۰ °C    | ۱۰m      | ۸۷,۹۳ mg/ml         |

در مطالعه حاضر نسبت هیدروکسی پرولين به پرولين کلاژن دیواره بدن خیار دریایی گونه *S.horrens* برابر با ۰/۷ بود که

همانطور که از جدول ۳ مشاهده می‌شود نقطه تشکیل ژل و نقطه ذوب ژل و ویسکوزیته محلول ژلاتین تعیین شد. دمای تشکیل ژل از ژلاتین دیواره بدن خیاردریایی در مطالعه حاضر  $5^{\circ}\text{C}$  است که دمای تشکیل ژل ژلاتین دیواره بدن خیاردریایی مورد مطالعه در تحقیق حاضر تقریباً به دمای تشکیل ژل ژلاتین ماهیان سرد آبی ( $12-14^{\circ}\text{C}$ ) نزدیک است اما از دمای تشکیل ژل ژلاتین ماهی خاویاری (*Amur sturgeon*) ( $13^{\circ}\text{C}$ )، پوست خوک ( $24^{\circ}\text{C}$ )، ماهیان گرم آبی ( $19-18^{\circ}\text{C}$ ) پایین‌تر می‌باشد [۲]. نقطه ذوب ژلاتین استحصال از کلاژن دیواره بدن خیار دریایی گونه *S. horrens*  $30^{\circ}\text{C}$  و به نقطه ذوب ژلاتین گاو ( $30-33^{\circ}\text{C}$ ) درجه سانتی گراد) و خوک ( $32-30^{\circ}\text{C}$ ) نزدیک است و نسبت به نقطه ذوب ژلاتین ماهی خاویاری (*Amur sturgeon*) ( $18^{\circ}\text{C}$ ) و ماهیان گرمابی ( $23-29^{\circ}\text{C}$ ) درجه سانتی گراد) و ماهیان سردابی ( $10^{\circ}\text{C}$ ) درجه سانتی گراد) دارای مقدار بالاتری می‌باشد [۲۱]. نقطه ذوب ژلاتین دیواره بدن خیار دریایی گونه *S. horrens* از نقطه تشکیل ژلاتین پستانداران پایین‌تر و با نقطه ذوب ژلاتین پستانداران در یک رنج می‌باشد در حالیکه نقطه ذوب ژلاتین و نقطه تشکیل ژلاتین ماهی از نقطه ذوب ژلاتین و نقطه تشکیل ژلاتین پستانداران پایین‌تر است. نتایج نشان می‌دهد که ژلاتین استحصال از دیواره بدن خیاردریایی از نقطه ذوب بالایی و دمای شروع تشکیل ژل پایینی برخوردار است. با توجه به بالا بودن نقطه ذوب در ژلاتین دیواره بدن خیار دریایی تصور می‌شود که ژلاتین حاصله دارای محتوای بسلر بالایی از ایمینواسیدها (پروлін + هیدروکسی‌پروлін) می‌باشد و به همین خاطر است که ژلاتین حاصله از پایداری حرارتی بسیار بالایی برخوردار می‌باشد که این امر حائز اهمیت است. از آنجایی که ژلاتین استحصال از دمای نقطه ذوب بالایی می‌باشد در نتیجه این ویژگی کاربرد این محصول را در فرآورده‌های غذایی افزایش می‌دهد.

ویسکوزیته دومین ویژگی فیزیکی و با اهمیت از لحاظ تجاری ژلاتین [۴] است. تیمارهای مختلف، درجه حرارت استخراج ژلاتین و غلظت بروی ویسکوزیته اثر می‌گذارند [۳۷]. غلظت محلول ژلاتین دیواره بدن خیار دریایی  $0.1\%$  بود. از آنجایی که دمای استاندارد برای اندازه گیری ویسکوزیته  $60^{\circ}\text{C}$  می‌باشد و افزایش درجه حرارت سبب کاهش ویسکوزیته می‌شود.

ویسکوزیته ژلاتین استخراج شده در دمای  $60^{\circ}\text{C}$  برابر با  $\text{cp}$   $2.06$  طبق جدول ۳ می‌باشد. این مقدار از ویسکوزیته ژلاتین دیواره بدن خیاردریایی از ویسکوزیته ژلاتین تجاری گاو و ماهی های سرد آبی و گربه ماهی کمتر است. مقدار ویسکوزیته برای بیشتر ژلاتین های تجاری از محدوده  $2$  تا  $7 \text{ mPa.s}$  و برای آنهایی که تخصصی هستند بالای  $13 \text{ mPa.s}$  می‌باشد [۳۸]. گمان می‌شود که علت پایین بودن ویسکوزیته ژلاتین استحصال از کلاژن دیواره بدن خیاردریایی حرارت اعمال شده حین اندازه گیری این خصوصیت و همچنین بالا بودن رقت نمونه و شرایط استخراج و محلولی که نمونه ها با آن تیمار شده اند یعنی اسید می‌باشد. ژلاتینی که دارای ویسکوزیته پایین باشد تولید ژل ضعیف و براق می‌کند و ژلاتینی که دارای ویسکوزیته بالا می‌باشد تولید ژل های سفت می‌کند. یعنی ژلاتین هایی که ویسکوزیته بالایی دارند ژله های جویدنی تری نسبت به ژلاتین-هایی با ویسکوزیته ی پایین و درخشان تر تولید می‌کنند. پیشنهاد می‌شود ویسکوزیته با دستگاه ویسکومتر دیجیتال در رمپ دمایی مختلف نیز اندازه گیری شود. نتایج حاصل از مقایسه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ژلاتین استحصال از کلاژن دیواره بدن خیار دریایی *S. horrens* با میزان استاندارد GMIA [۳۹] نشان داد که ژلاتین اسیدی استحصال از کلاژن دیواره بدن خیار دریایی *S. horrens* جهت استفاده در صنایع دارویی و غذایی و تولید کپسول های نرم دارای خصوصیات منطبق بر استاندارد می‌باشد به این صورت که ویسکوزیته ژلاتین استحصال در رنج ویسکوزیته استاندارد ژلاتین اسیدی قرص ها و خوراکی ها قرار دارد و همچنین با توجه به مطابقت میزان درصد پروتئین آنها با درصد پروتئین استاندارد در ساخت کپسول های نرم نیز می‌تواند زمینه کاربردی آن گسترده گردد. همچنین از این ژلاتین ها می‌توان در تولید فرآورده های غذایی که باید در یخچال نگهداری شود نیز مورد استفاده قرار گیرد چرا که در دمای یخچال حالت ژل دارد.

#### ۴- نتیجه گیری

ترکیبات اسید آمینه و SDS-PAGE نشان داد که کلاژن از نوع I بوده و یک زنجیره  $\alpha_1$  تقریباً  $125 \text{ kDa}$  را نشان داد. کلاژن محلول در پپسین حاوی مقدار زیادی از ایمینو اسیدها ( $161$  میلی گرم در گرم) را نشان داد. از آنجاییکه بدن به  $10$  اسید آمینه



- [7] Saito, M., Kunisaki, N., Urano, N., and Kimura, S. 2002. Collagen as the major edible component of sea cucumber (*Stichopus japonicus*). *Journal of Food Science*, 67, 1319-1322.
- [8] Pei, X. R., Yang, R. Y., Zhang, Z. F., Xu, Y. J., Han, X. L., Wang, J. B., and Li, Y. 2008. Effects of marine collagen peptide on delaying the skin aging. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*, 42(4), 235-238.
- [9] Purcell, S., Lovatelli, A., Vasconcellos, M., and Ye, Y. 2010. Managing sea cucumber fisheries with an ecosystem approach. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 620, Rome, Italy, <http://www.earthprint.com/productfocus.php?id=FAO110866>.
- [10] Mahjoorian, A., Mortazavi, S. A., Tavakolipour, H., Motamedzadegan, A., and Askari, B. 2013. Rheological properties of skin gelatin of Beluga Sturgeon (*Huso huso*) from The Caspian Sea. *Annals of Biological Research*, 4(7), 227-234.
- [11] Palpandi, C., Ramasamy, P., Rajinikanth, T., Vairamani, S., and Shanmugam, A. 2010. Extraction of collagen from mangrove archeogastropod *Nerita crepidularia* Lamarck, 1822. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 5(1), 23-30.
- [12] Adibzadeh, N., Aminzade, S., Jamili, S. and Mostafavi, P. 2012. Isolation and characterization of collagen from localized sea cucumber (*Holothuria parva*) of Oman Sea. *NCMBJ*, (6), 59-65.
- [13] Trotter, J. A., Lyons-Levy, G., Thurmond, F. A., and Koob, T. J. 1995. Covalent composition of collagen fibrils from the dermis of the sea cucumber, *Cucumaria frondosa*, a tissue with mutable mechanical properties. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 112A, 463-478.
- [14] Bechtel, P. J., Oliveira, A. C. M., Demir, N., and Smiley, S. 2012. Chemical composition of the giant red sea cucumber, *Parastichopus californicus*, commercially harvested in Alaska. *Food Science & Nutrition*, 1 (1), 63-73.
- [15] Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2005. Official methods of analysis of AOAC International (18th ed). Gaithersburg, MD: AOAC International.
- [16] Gornal, A. G., Bardwil, G. S., and David, M. M. 1949. Determination of serum proteins by the mean of the Biuret reactions. *Biochemistry*, 177, 751-766.

ضروری نیاز دارد ۹ عدد از این اسید آمینه در کلاژن دیواره بدن خیار دریایی موجود می باشد ویسکوزیته ژلاتین با غظت ۱٪ در دمای ۶۰ درجه دارای مقدار ۲/۰۶ cp بود. ژلاتین استحصال از دیواره بدن خیار دریایی از نقطه ذوب بالایی و دمای شروع تشکیل ژل پایی برخوردار است. نتایج نشان می دهد که خیار دریایی *S. horrens* یک منبع مطلوب برای تولید کلاژن و ژلاتین جهانی می باشد.

## ۵- سپاسگزاری

از دانشگاه دریانوردی و علوم دریایی چابهار که امکان انجام این پژوهش را در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد خانم نورا برزکار فراهم نمود تشکر و قدردانی می نمایم.

## ۶- منابع

- [1] Zhu, C. F., Li, G. Z., Peng, H. B., Zhang, F., Chen, Y., and Li, Y. 2010. Effect of marine collagen peptides on markers of metabolic nuclear receptors in type 2 diabetic patients with/without hypertension. *Biomedical and Environmental Sciences*, 23(2), 113-120.
- [2] Gomez-Estaca, J., Gomez-Guillen, M.C., Fernandez-Martin, F., and Montero, P. 2011. Effects of gelatin origin, bovine-hide and tuna-skin, on the properties of compound gelatin-chitosan films. *Food Hydrocolloids*, 25, 14-61.
- [3] Gómez-Guillén, M.C., Turnay, J., Fernández-Díaz, M.D., Ulmo, N., Lizarbe, M.A., and Montero, P. 2002. Structural and physical properties of gelatin extracted from different marine species: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, 16(1), 25-34.
- [4] Kim, S., and Mendis, E. 2006. Bioactive compounds from marine processing by products: a review. *Food Research International*, 39, 383-393.
- [5] Senchiu, B., Avena-Bustillos, R. J., Shey, J., Yee, E., Bechtel, P., Imam, S. H., Glenn, G. M. and Orts, W. J. 2006. Rheological and mechanical properties of cross-linked fish gelatins. *Polymer*, 47, 6379-6386.
- [6] Karim, A. A. and Bhat, R. 2009. Fish gelatin: properties, challenges and prospects as an alternative to mammalian gelatins. *Food Hydrocolloids*, 23, 563-576.

- [28] Chang-Lee, M.V., Price, R.J. and Lampila, L.E. 1989. Effect of processing on proximate composition and mineral content of sea cucumbers (*Parastichopus* spp.). *Journal of Food Science*, 54, 567-568.
- [29] Bordbar, S., Anwar, F., and Saari, N. 2011. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods. A Review," *Marine Drugs*, 2011, 9, 1761-1805.
- [30] Sidwell, V. D. 1981. Chemical and nutritional composition of finfishes, whales, crustaceans, mollusks, and their products. NOAA Technical Memorandum NMFS F/SEC-11, U.S. Dept. of Commerce, Washington DC.
- [31] Cui, F. X., Xue, C. H., Li, Z. J., Zhang, Y. Q., Dong, P., Fu, X. Y. and Gao, X. 2007. Characterization and subunit composition of collagen from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Food Chemistry*, 100, 1120-1125.
- [32] Kimura, S., and Ohno, Y. 1987. Fish type I collagen: tissue-specific existence of two molecular forms,  $\alpha_1\alpha_2\alpha_3$ , in Alaska pollack. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 88B, 409-413.
- [33] Robinson, J. J. 1997. Comparative biochemical analysis of sea urchin peristome and rat tail tendon collagen. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117B, 307-313.
- [34] Nagai, T., Araki, Y., and Suzuki, N. 2002. Collagen of skin of ocellate puffer fish (*Takifugu rubripes*). *Food Chemistry*, 78, 173-177.
- [35] Zhang, F., Wang, A., Li, Z., He, S., and Shao, L. 2011. Preparation and characterisation of collagen from freshwater fish scales. *Food and Nutrition Sciences*, 2, 818-823.
- [36] Inhamuns, A. J., Franco, M. R. B., and Batista, W. S. 2009. Seasonal variations in total fatty acid composition of muscles and eye sockets of tucunare (*Cichla* sp.) from the Brazilizn Amazon area. *Food Chemistry*, 117, 272-275.
- [37] Jing, W., Chaoqun, H., and Sigang, F. 2010. Chemical composition and nutritional quality of sea cucumbers. *Journal of Science and Food Agriculture*, 90, 2469-2474.
- [38] Banks, F.A. 1990. Gelatin. In: Harris, P. (Ed.). *Food Gels*. 233-389. New York: Elsevier Applied Sciences.
- [39] GMI, 2003. Standard Methods for Sampling and Testinf of Gelatin. New York: s.n.
- [17] Bligh, E. G., and Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 37(8), 911-917.
- [18] Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- [19] Bahadar Khan, S., Qian, Z. J., Ryu, B., and Kim, S. K. 2009. Isolation and Biochemical Characterization of collagens from Seaweed Pipefish, *Syngnathus Schlegeli*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 14, 436-442.
- [20] Bidlingmeyer, B. A., Cohen, S. A., Tarvin, L. 1984. Rapid analysis of amino acids using pre-column derivatisation. *Journal of Chromatography*, 336, 93-104.
- [21] Gudmundsson, M., and Hafsteinsson, H. 1997. Gelatin from cod skins as affected by chemical reatments. *Journal of Food Science*, 62, 37-47.
- [22] Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., and Duodu K. 2004. Extraction and physico-chemical characterisation of Nile perch (*Lates niloticus*) characterisation of Nile perch skins and bone gelatin. *Journal of Food Hydrocolloids*. 18, 581-592.
- [23] British standard institute . 1975. Methods for sampling and testing gelatin (physical & chemical methods). Gr 8. London, UK. BSI / 757.
- [24] Liu, Z., Oliveira, A. C. M., and Su, Y. C. 2010. Purification and characterization of pepsin-solubilized collagen from skin and connective tissue of giant red sea cucumber (*Parastichopus californicus*). *Journal of Agricultur and Food Chemistry*, 58, 1270-1274.
- [25] Lee, M. H., Kim, Y. K., Moon, H. S., Kim, K. D., Kim, G. G., Cho, H. A., Yoon, N. Y., Sim, K. B., Park, H. Y., Lee, D. S., Lim, C.W., Yoon, H. D., and Han, S. K. 2012. Comparison on Proximate Composition and Nutritional Profile of Red and Black Sea Cucumbers (*Apostichopus japonicus*) from Ulleungdo (Island) and Dokdo (Island), Korea. *Food Science and Biotechnology*, 21(5), 1285-1291.
- [26] DHEW, 1972. Food composition table for us in east Asia. DHEW Publication No. (NIH) 73-465, U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare, Washington, DC.
- [27] Tanikawa, E., 1955. Studies on the protein of the meat of sea cucumber (*Stichopus japonicus*), Hokaido: Memoar of the Facualety of Fisheries of Hokaido University. No3:1.

## Sea cucumber (*Stichopus horrens*) body wall collagen of Chabahar bay and its gelatin properties

Attaran Fariman, G.<sup>1\*</sup>, Taheri, A.<sup>2</sup>, Barzkar, N.<sup>3</sup>

1. Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University.

2. Department of Fisheries, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University.

3. M s student, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Sciences, Chabahar Maritime University

(Received: 93/4/23 Accepted: 93/8/7)

The natural and bioactive compounds from marine animals can be used as functional compositions for healthcare. Collagen and gelatin of marine animals could be having pharmacological and cosmetic applications. In the present study collagen was extracted from the body wall of sea cucumber (*S. horrens*) collected from Chahbahar Bay and its Amino acid composition was investigated. Also, gelatin from this collagen was extracted according to acidic hydrolyzed method and the functional properties were studied. The type of purified collagen was identified by the SDS-PAGE method. The results indicated the extracted collagen was the type I, because it had a  $\alpha_1$  chain by the molecular weight of 125 KDa and a heavy band of  $\beta$  chain with the molecular weight of 250 KDa. The collagen contained high amount of Imino Acids and the glycine was the dominant Amino acid. The melting and gelling point of the Gelatin was 30°C and 5°C, respectively. The viscosity of the gelatin was 2.065 cp, lower than other fish species and mammals.

**Keywords:** Sea cucumber, Collagen, Gelatin, Functional properties

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: [gilan.attaran@gmail.com](mailto:gilan.attaran@gmail.com)