

ارزیابی خصوصیات کیونیموسین استخراجی از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی

نجمه حمیدیان^۱، بهاره شعبانپور^{۱*}، پرستو پورعاشوری^۱، پریسا حسین خضری^۲

۱- گروه عمل‌آوری محصولات شیلاتی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
* نویسنده مسئول (shabanpour@gag.ac.ir)
۲- پژوهشکده میگوی کشور، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، بوشهر، ایران

چکیده

پژوهش‌های اخیر در مورد خواص تغذیه‌ای و زیستی گونه‌های مختلف عروس دریایی، پتانسیل بالای آنها را به عنوان منابع بهره‌بردار نشده در بخش‌های بیوتکنولوژی و تولید مواد غذایی را نشان می‌دهد. یکی از ترکیبات ارزشمند موجود در عروس دریایی کیونیموسین است. در این پژوهش در ابتدا اثر روش‌های نگهداری پس از صید بر میزان بازده کیونیموسین استخراجی از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی بررسی شد، سپس ارزیابی و شناسایی ترکیبات کیونیموسین استخراجی، فعالیت ضد میکروبی و ضد اکسایشی آن مورد بررسی قرار گرفت. عروس‌های دریایی کاتوستیلوس تاگی پس از صید در آب، یخ و آب-یخ به نسبت ۱:۱ و به مدت ۸ ساعت قرار گرفتند، سپس کیونیموسین در هر تیمار به کمک اتانول استخراج گردید. ترکیبات تقریبی عروس دریایی، میزان بازده کیونیموسین اندازه‌گیری و کیونیموسین استخراج شده توسط آزمون‌های طیف‌سنجی مرئی-فرا بنفش، اسپکترومتری مادون قرمز تبدیل فوریه، سنجش پروتئین و الکتروفورز عمودی، ارزیابی شد و فعالیت ضدباکتریایی کیونیموسین در مواجهه با باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و فعالیت ضداکسایشی کیونیموسین به روش مهار رادیکال آزاد ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل در مقایسه با ویتامین C مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده از بررسی ماده خام استخراجی نشان می‌دهد بین درصد بازده کیونیموسین استخراجی تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مختلف مشاهده نگردید ($P > 0.05$). این ترکیب دارای: جرم مولکولی ۶۵ تا ۷۲ کیلودالتون، پیک‌های ۲۶۵ و ۲۷۵ بر سانتی‌متر مکعب در طیف‌سنجی مرئی-فرا بنفش است. همچنین کیونیموسین خام استخراجی خواص مهارکنندگی و کشندگی با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و خواص ضداکسایشی اندکی در مقایسه با ویتامین C از خود نشان داد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۲
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۸/۲۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۱
تاریخ انتشار برخط: ۱۴۰۱/۰۹/۱۴

واژه‌های کلیدی:

خواص شیمیایی
خواص ضد میکروبی
عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی
کیونیموسین



مقدمه

اپیتلیال موجودات زنده و محیط خارجی آنها ایجاد می‌کنند. این لایه مخاطی علاوه بر آب که بخش عمده‌ای (۹۵ درصد) از آن را تشکیل می‌دهد، شامل نمک‌ها، لیپیدهایی مانند اسیدهای چرب، فسفولیپیدها، کلسترول و پروتئین‌هاست (Bansil & Turner, 2006). عروس دریایی غنی از ترکیبات

بی‌مهرگان آبی و ماهیان از لایه موکوسی^۱ برای محافظت از بدن، سطوح آبشش و روده استفاده می‌کنند (Subramanian et al., 2008). لایه‌های موکوسی اغلب یک رابط هیدروژل منحصربه‌فرد و چندمنظوره بین سلول‌های

¹ Mucous membrane

Patwa و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای نشان دادند که گلیکوپروتئین‌های مخاطی عروس دریایی در جذب ذرات بسیار کوچک، یعنی نانوذرات، دفع آلودگی از سوسپانسیون‌های آبی که به‌طور خاص شامل نانو ساختار هستند نیز نقش بسیار مهمی دارند. در کشور ایران نیز تاکنون مطالعه‌های محدودی در زمینه عروس دریایی صورت گرفته است. Naseri Karimvand و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی استخراج ژلاتین از عروس دریایی کرامبیونلا اورسینی^۹ را مورد مطالعه قرار دادند. در مطالعه‌ای دیگر Barzkar (۲۰۱۵) به استخراج و خالص‌سازی پروتئین فلورسنت سبز (GFP^{۱۰}) از عروس دریایی کرامبیونلا اورسینی و امکان ساخت سنسور جیوه پرداختند. Hajiani (۲۰۱۵) استخراج و خالص‌سازی کلاژن از عروس دریایی جنس اورلیا^{۱۱} در سواحل دریایی خلیج فارس بوشهر را مورد بررسی و مطالعه قرار دادند. گونه عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی^{۱۲} گونه‌ای اپی‌پلاژیک و مخصوص نواحی گرمسیری است، که در اغلب خورها و آب‌های سواحل بندرعباس، بندر بوشهر و خوزستان در تمام طول سال قابل مشاهده می‌باشد، که روی استخراج و شناسایی خصوصیات و ویژگی‌های کاربردی کیونوموسین عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی در ایران تاکنون تحقیقی صورت نگرفته است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش استخراج کیونوموسین از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی و بررسی میزان بازده آن در شرایط متفاوت نگهداری پس از صید است و سپس بررسی خصوصیات شیمیایی، ضد میکروبی و ضد اکسایشی کیونوموسین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

استخراج کیونوموسین از عروس دریایی

نمونه‌های عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی از جزیره شیخ واقع در فاصله ۱۲ کیلومتری شمال بندر بوشهر به‌صورت کاملاً تصادفی به کمک تور دستی در ۹ مرحله صید گردید و در سه تیمار با شرایط نگهداری مختلف شامل (۱) غوطه‌وری در یخ و آب (۱:۱ حجمی/حجمی) با ترکیب سدیم هیپوکلریت و اتیلن دی‌تتراستیک اسید (EDTA^{۱۳}).

زیست‌فعال از قبیل موسین است (Nagai *et al.*, 2000). موسین‌ها عمده‌ترین و بزرگ‌ترین گلیکوپروتئین شناخته‌شده در مخاط هستند، که در تنظیم فعالیت‌های مختلف سلولی چه در شرایط طبیعی و چه در شرایط غیرطبیعی نقش دارند (Adikwu & Alozie, 2007; Bakshani *et al.*, 2018; Grundy *et al.*, 2000; Kimura *et al.*, 2003). تولید و ترشح مداوم لایه موکوسی سطحی ویژگی مهم بسیاری از موجودات آبی است که ابتدا در نیداریا^۱ و تینوفوراها^۲ به‌وجود آمده است. این ویژگی نشان می‌دهد که عروس‌های دریایی نیز می‌توانند گزینه مناسبی به‌عنوان یکی از منابع تولید موسین بشمار آیند. عروس دریایی تازه بسیار فسادپذیر است و در دمای محیط به‌راحتی دچار فساد آنزیمی و میکروبی می‌شود. بنابراین، فراوری آن بیشتر باید از زمانی که آبی زنده است تا چند ساعت پس از آن انجام شود (Bleve *et al.*, 2019).

مطالعه‌های محدودی در زمینه استخراج و کاربرد موسین عروس دریایی انجام شده است. Masuda و همکاران (۲۰۰۷) برای اولین بار از موسین این گونه گلیکوپروتئینی را از ترکیب ۵ گونه عروس دریایی با بازده بالا (۱ تا ۳ درصد وزن خشک، ۰/۰۲ تا ۰/۱ درصد وزن تر) استخراج کردند. آنها این ماده را که در عروس‌های دریایی رایج و عضوی از خانواده موسین نیز می‌باشد «کیونوموسین^۳» نامیدند و استفاده از این ترکیب که مشابه موسین در انسان است را به‌عنوان یک منبع دریایی جدید پیشنهاد نمودند (Masuda *et al.*, 2007). Ohta و همکاران (۲۰۰۹) کیونوموسین عروس دریایی ماه^۴ و عروس دریایی نامیرا^۵ را به موش دارای بیماری استئوآرتریت^۶ زانو تزریق کردند. نتایج حاکی از متوقف شدن بیماری در موش بیمار بود و موسین عروس دریایی ممکن است دارای اثرات بهبوددهندگی در بیماری استئوآرتریت زانو یا آرتروز زانو باشد (Ohta *et al.*, 2009). در تحقیق دیگری Pearson و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که کیونوموسین خالص‌سازی شده از عروس دریایی کاتوستیلوس موزایک^۷ اتصال باکتری سودوموناس آئروژینوزا^۸ به سلول‌های اپیتلیال قرنیه انسان را که در شرایط آزمایشگاهی رشد یافته، مهار می‌کند.

⁸ *Pseudomonas aeruginosa*

⁹ *Crambionella Orsini*

¹⁰ Green Fluorescence Protein

¹¹ *Aurelia sp*

¹² *Catostylus tagi*

¹³ Ethylenediaminetetraacetic acid

¹ Cnidaria

² Ctenophora

³ Qniumucin

⁴ *Aurelia aurita*

⁵ *Stomolophus nomurai*

⁶ Osteoarthritis

⁷ *Catostylus mosaicus*

تعیین بازده کیونوموسین

درصد بازده کیونوموسین پس از طی مراحل استخراج و توزین به صورت درصد از وزن تر ماده اولیه در هر سه تیمار گزارش شد. در نهایت نمونه‌های به دست آمده از تیمارها با یکدیگر ترکیب شده و برای انجام تست‌های شناسایی مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش پروتئین کیونوموسین

اندازه‌گیری پروتئین به روش برادفورد طبق پروتکل‌های استاندارد و با استفاده از سرم آلومین گاوی به عنوان استاندارد و در غلظت ۱/۵ میکرولیتر در سه تکرار انجام شد (Hammond & Kruger, 1988).

تعیین پروفایل اسیدهای آمینه

برای تعیین پروفایل اسیدهای آمینه از روش PICO.TAG جهت مشتق‌سازی نمونه و از دستگاه کروماتوگرافی مایع (HPLC, Knauer, Smartline, ساخت آلمان) جهت تعیین پروفایل اسید آمینه کیونوموسین استفاده شد (Matloubi et al., 2004).

آزمون طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش (UV-VIS)

طیف‌سنجی فرابنفش و مرئی بر اساس تابش فوتون‌های فرابنفش و مرئی بر نمونه و اندازه‌گیری میزان عبور و یا جذب ماده در طول موج‌های مختلف ثبت گردید. غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام از نمونه‌ها تهیه و سپس بازه طیفی ۲۰۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر (UV-160A, SHIMADZU, ساخت ژاپن) خوانده شد.

آزمون اسپکترومتری مادون قرمز تبدیل فوری (FTIR)

طیف‌سنجی مادون قرمز با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Perkin Elmer Spectrum 400, ساخت آمریکا) در گستره ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی‌متر و در تفکیک‌پذیری ۴ بر سانتی‌متر تعیین گردید.

آزمون الکتروفورز عمودی (SDS-PAGE)

جهت آنالیز SDS-PAGE از سیستم‌های بافری تریس-بورات SDTA به جای بافر معمول تریس-گلیسین استفاده شد. بورات با اتصال به قندها، موجب افزایش میزان بار منفی گلیکوپروتئین و تا حدود زیادی باعث جبران کاهش اتصال SDS خواهد شد (Issa et al., 2011).

۲) تیمار یخ‌گذاری با ترکیب سدیم هیپوکلریت و EDTA، ۳) غوطه‌وری در آب با ترکیب سدیم هیپوکلریت و EDTA. تمام تیمارها به آزمایشگاه مرکزی پژوهشکده میگوی بوشهر انتقال یافت. اتیلن‌دی‌آمین تتراستیک اسید ۵ تا ۱۰ میلی‌مولار و سدیم هیپوکلریت ۵ درصد به عنوان یک عامل ضدباکتری به نسبت ۱:۱۰ حجمی به عروس دریایی در شرایط نگهداری پس از صید اضافه شد. استخراج کیونوموسین طبق پتنت شماره JP6410855B2 ارائه شده توسط Baba (۲۰۱۵) با کمی تغییرات و با کمک اتانول ۹۹/۶ درصد انجام گرفت. نمونه‌ها پس انتقال به آزمایشگاه در مرحله اول به خوبی شست‌وشو، توزین و خرد شدند تا محلولی همگن تهیه شود. با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (sigma3-16PK universal centrifuge, ساخت آلمان) با ۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه همگن و مایع رویی حاصل جمع‌آوری و توزین شد. سپس به میزان حجمی/اوزنی مایع اولیه به دست آمده، اتانول ۹۹/۶ درصد اضافه گردید. از ترکیب اولیه پس از ۱۸ ساعت به کمک سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه) کلژن جداسازی گردید. به نسبت هر ۲ کیلوگرم عروس دریایی ۱۰ گرم کلرید کلسیم اضافه و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در فضای آزاد نگهداری گردید تا رسوب کلسیومی شده موسین تشکیل و به کمک سانتریفیوژ (۹۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) جداسازی انجام شد. به هر ۱ گرم رسوب موسین ۴۰ میلی‌لیتر ۰/۱ EDTA مول اضافه شده و به مدت ۶ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به کمک همزن مغناطیسی (JENWAY, ساخت انگلستان) به شدت هم‌زده شد. ترکیب به دست آمده به مدت ۴۸ ساعت به کمک کیسه دیالیز، خالص‌سازی گردید. محصول به دست آمده در فریزدرایر (CHRIST Beta 1-8 LSCplu, ساخت آلمان) به مدت ۲۴ ساعت خشک شد و کیونوموسین خام به دست آمد.

ارزیابی خصوصیات و ویژگی‌های کیونوموسین

اندازه‌گیری ترکیبات تقریبی عروس دریایی

ارزیابی شیمیایی ترکیبات موجود در عروس دریایی

مقادیر پروتئین، چربی، رطوبت، خاکستر عروس دریایی صید شده با روش استاندارد AOAC (۲۰۰۵) مورد سنجش قرار گرفت.

³ Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

¹ Visible-ultraviolet spectroscopic analysis (UV-VIS)

² Fourier transform infrared spectrometry analysis (FTIR)

پیکریل هیدرازیل ($DPPH^A$) و ۱ میلی لیتر حلال استخراج آماده شد. سپس میکروتیوپها به خوبی تکان داده شدند و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک و در دمای اتاق قرار گرفت. سپس کنترل و نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (Sarikurku *et al.*, 2008). ظرفیت ضد اکسایشی نمونهها به صورت درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH) با استفاده از رابطه (۱) محاسبه شد:

رابطه (۱)

$$DPPH \times 100 = (A_{cont} - A_{samp}) / A_{cont}$$

درصد بازدارندگی رادیکال DPPH

در رابطه (۱)، A_{cont} : میزان جذب DPPH و A_{samp} : میزان جذب نمونه + DPPH می باشد. ظرفیت آنتی اکسیدانی کیونیموسین به صورت درصد بازماندگی (RSA) بیان شد. نتیجه حاصل شده برای این نمونه با یک ترکیب آنتی اکسیدانی شناخته شده مانند ویتامین C مقایسه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری دادهها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام گرفت. نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی به کمک تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) آنالیز شد. جهت مقایسه میانگین از آزمون دانکن استفاده گردید و مقایسههای آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام پذیرفت. تمام آزمایشها در سه تکرار انجام شد و برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۱۰ استفاده شد.

نتایج و بحث

اندازه گیری ترکیبات عروس دریایی

گونههای مختلف عروس دریایی معمولاً حاوی بیش از ۹۵ درصد آب است که در گونههای مختلف تا حدودی متفاوت است (Hsieh & Rudloe, 1994). ترکیب شیمیایی عروس دریایی تازه بسیار تحت تأثیر ترکیبات محیط آبی آنهاست و با توجه به گونه، فصل و مکان می تواند متفاوت باشد (Lucas, 2009). آنالیز ترکیبات تقریبی عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی در جدول (۱) نشان داده شده است. بالابودن درصد میزان رطوبت بافت به منحصربه فرد بودن بافت عروس دریایی به دلیل توانایی بالای آنها در نگهداری آب ارتباط دارد (Zlatanos *et al.*, 2006).

ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی به روش ریزرت سازی^۱

ابتدا فعال سازی کشت ذخیره باکتری استافیلوکوکوس اورئوس^۲ (ATCC 29213) در محیط کشت مولر هینتون برات^۳ تحت شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. سپس جهت ارزیابی حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی کیونیموسین از روش ریزرت سازی استفاده شد. به این منظور مقداری از باکتری در سرم فیزیولوژی استریل مخلوط شد تا کدورتی برابر با $OD=0.1$ به دست آید، که برابر با ۰/۵ مک فارلند است. از طرف دیگر، غلظت های مختلفی از نمونه (از ۱ میلی گرم در میلی لیتر رقیق سازی سریالی انجام گرفت) با استفاده از محیط کشت مولر هینتون برات در حجم ۱ میلی لیتر تهیه و استریل گردید. در انتها به هر یک از نمونهها ۱۰ از باکتری استافیلوکوکوس اورئوس موجود در سرم فیزیولوژی اضافه شد، سپس در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. همچنین یک گروه کنترل مثبت (محیط کشت به همراه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس) و یک گروه کنترل منفی (محیط کشت و کیونیموسین) در نظر گرفته شد. بعد از ۲۴ ساعت گرم خانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد رشد باکتریها بررسی شد و کمترین غلظت از کیونیموسین فاقد کدورت باکتری، برای تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC^4) ثبت گردید. همچنین برای تعیین حداقل غلظت کشندگی (MBC^5) از نمونههای کشت داده شده در محیط کشت مولر هینتون آگار^۶ و فاقد رشد باکتری، به عنوان مقادیر MBC گزارش و ثبت شد.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش مهار رادیکال های آزاد (DPPH)

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونههای کیونیموسین توسط روش von Gadow و همکاران (۱۹۹۷) ارزیابی شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولکس با غلظت ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکرومول استفاده شد. ابتدا درصد مهار IP یا درصد فعالیت خنثی سازی رادیکالی نمونهها (RSA^7) برای نمونه کیونیموسین به دست آمد. برای این منظور به مقدار متفاوتی از محلول رقیق شده نمونه کیونیموسین ۴۰۰۰ میکرولیتر محلول متانولی ۰/۰۴ درصد ۲و۲-دی فنیل-۱-ارتیو-۱-

⁶ Mueller Hinton Agar

⁷ Radical Scavenging activity

⁸ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

¹ Micro-dilution assay

² *Staphylococcus aureus*

³ Mueller Hinton Broth

⁴ Minimum Inhibition Concentration

⁵ Minimum Bactericidal Concentration

جدول ۱- درصد ترکیبات تقریبی عروس دریایی (وزن تر)

| نمونه | پروتئین | چربی | خاکستر | رطوبت |
|-----------------|-----------|------------|-----------|------------|
| کاتوستیلوس تاگی | ۱/۲۲±۱/۱۶ | ۰/۰۰۹±۰/۷۰ | ۱/۴۳±۰/۱۴ | ۹۷/۳۰±۰/۵۶ |

* داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

جدول ۲- درصد بازده کیونیموسین استخراجی از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی (گرم/کیلوگرم)

| عروس دریایی در یخ | عروس دریایی در آب و یخ | عروس دریایی در آب |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| ۰/۰۱۱±۰/۰۰۱ ^a | ۰/۰۱۲±۰/۰۰۱ ^a | ۰/۰۱۳±۰/۰۰۱ ^a |

* داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار ($P > 0.05$) در هر ردیف است.

Masuda و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی ترکیبات ۵ عروس دریایی *اورلیا اوریتا*، *نومفیلما نامیرا*، *روپیلما اسکولنتوما*، *کریسائورا ملاناسترا*^۴، *اسپیروکدون سالتاتور*^۵، *کاروپس یالموس کودریگاتوس*^۶ برای اولین بار موسین عروس دریایی به نام کیونیموسین را که دارای ساختاری مشابه موسین MUC5AC انسانی است، گزارش نمودند و میزان بازده موسین عروس دریایی را ۱ تا ۲ درصد از وزن خشک و ۰/۱ تا ۰/۰۲ درصد از وزن تر نشان دادند که با میزان بازده مطالعه حاضر مطابقت دارد. Pearson و همکاران (۲۰۱۱) نیز در مطالعه‌ای با استفاده از هضم ترپسین و کروماتوگرافی برهم‌کنش آب‌گریز (HIC^۷)، کیونیموسین را از چتر و موکوس ترش‌حی عروس دریایی کاتوستیلوس *موزاییک* جدا کرده و نشان دادند که بازده کیونیموسین چتر ۰/۰۰۸ درصد از وزن تر چتر، کیونیموسین موکوس ترش‌حی ۰/۰۹ درصد از کل وزن تر عروس دریایی بوده است.

ارزیابی میزان پروتئین

میزان پروتئین موجود در نمونه کیونیموسین خام استخراجی ۷/۹۷۵ درصد از وزن کل نمونه به دست آمد. Pearson و همکاران (۲۰۱۱) غلظت پروتئین موجود کیونیموسین چتر را ۲/۵ میلی‌گرم از کل وزن موسین و غلظت پروتئین در کیونیموسین ترش‌حی ۲۳ میلی‌گرم از میزان کیونیموسین ترش‌حی گزارش دادند.

تعیین اسیدآمین

نتایج جدول (۳) نوع و میزان اسیدآمین موجود در کیونیموسین عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی را نشان داده است. طبق نتایج حاصل از سنجش HPLC اسیدآمین‌های

در یافته‌های مشابه Khong و همکاران (۲۰۱۶) نیز در بررسی ترکیبات تقریبی چتر و بازوهای دهانی سه عروس دریایی خوراکی *آکرومیتوس هاردنبرگی*^۱، *روپیلما هیسپیدوم*^۲، *روپیلما اسکولنتوما*^۳ میزان پروتئین در چتر را ۰/۵۰ تا ۱/۵۸ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر و در بازوهای دهانی ۲/۰۱ تا ۲/۷۵ گرم در ۱۰۰ گرم وزن تر عروس‌های دریایی گزارش دادند و مشخص شد که بازوهای دهانی عروس دریایی تقریباً دو برابر بیشتر از چترها پروتئین دارند. آنها در این مطالعه نشان دادند که توزیع محتوای پروتئین عروس دریایی در قسمت‌های مختلف بدن بدون در نظر گرفتن گونه تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) وجود دارد (Khong et al., 2016). در مطالعه دیگری Morais و همکاران (۲۰۰۹) روی عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی نیز نشان دادند که میزان پروتئین در پاها با ۴/۴۳ گرم/کیلوگرم به صورت معنی‌داری بیشتر از چترها با ۱/۸۵ گرم/کیلوگرم از وزن تر می‌باشد.

بازده کیونیموسین

نتایج به دست آمده از میزان بازده کیونیموسین استخراجی عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی نگهداری در آب، مخلوط آب-یخ و یخ در جدول (۲) نشان داده شده است. بیشترین درصد بازده استخراجی کیونیموسین خام از نمونه نگهداری شده در آب به میزان ۰/۰۱۳ درصد و کمترین میزان بازده از نمونه نگهداری شده در یخ به میزان ۰/۰۱۱ درصد به دست آمده است. براساس نتایج به دست آمده اختلاف معنی‌داری در میزان بازده کیونیموسین استخراجی در اثر تیمارهای نگهداری اولیه عروس‌های دریایی در محیط‌های مختلف آب و یخ مشاهده نشد ($P > 0.05$).

⁵ *Spirocodon saltator*

⁶ *Chiropsalmus quadrigatus*

⁷ Hydrophobic interaction chromatography

¹ *Acromitus hardenbergi*

² *Rhopilema hispidum*

³ *Rhopilema esculentum*

⁴ *Chrysaora melanaster*

استیل گالاکتوزامین (GalNAc^۱) در دو باقی‌مانده Thr به شدت آ-گلیکوزیده^۲ می‌شود.

آزمون طیف‌سنجی مرئی-فرابنفش (UV-VIS)
شکل (۱) پیک‌های جذب کیونوموسین عروس‌دریایی کاتوستیلوس تاگی را در ۲۶۵ و ۲۷۵ نانومتر نشان می‌دهد، این نتایج همسو با نتایج Yu و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثر متقابل هیدروکلرایداکسی متازولین و موسین زیستی به کمک طیف‌سنجی UV-VIS، نتایج نمودار موسین زیستی به تنهایی با نمودار UV-VIS کیونوموسین مطابق دارد. Zhao و همکاران (۲۰۱۲) در مطالعه‌ای اتصال اپی‌گالوکاتچین‌گالات (EGCG^۳) به موسین معده^۴ خوک با زنجیره جانبی بسیار خالص شبیه به نوع MUC6 انسان توسط طیف‌سنجی (UV-VIS)، میکروکالری‌متری تیتراسیون هم‌دما اولترافیلتراسیون (ITC^۴) و میکروسکوپی الکترونی عبوری (TEM^۵) مورد مطالعه قرار دادند، نتایج نمودار UV-vis، پیک موسین خوک را در حدود ۲۷۵ نانومتر نشان داد که با نمونه^۵ مورد مطالعه در پژوهش حاضر مطابقت دارد (Zhao et al., 2012).

گلوتامیک، ترئونین، آلانین، پرولین و والین، اسید آمینه‌های اصلی موجود در نمونه^۵ استخراجی بودند. کیونوموسین عروس‌دریایی کاتوستیلوس تاگی دارای بیش از ۴۰ درصد کل اسیدهای آمینه می‌باشد. طبق گزارش‌های پیشین اسید آمینه‌های ترئونین، آلانین، پرولین و گلوتامیک در اکثر موسین‌ها یافت می‌شود (Chen et al., 2008). مقادیر تقریبی ترئونین، آلانین، والین و تا حدی پرولین نشان‌دهنده ساختارهای هسته‌ای تتراپپتیدی یا پنتاپپتیدی (در حضور گلوتامیک) است. این ترکیب همچنین با ترکیب اسید آمینه اکتاپپتیدی پشت‌سرهم که در کیونوموسین وجود دارد، مطابقت داشت (Masuda et al., 2007). مقادیر جزئی لیزین و آرژنین نشان‌دهنده مقاومت این کیونوموسین در برابر هضم تریپسین است (Pearson et al., 2011). مطابق گزارش Masuda و همکاران (۲۰۰۷) ترکیب اسید آمینه کیونوموسین دارای شباهت ساختاری بسیاری با موسین انسانی Muc5AC است و شامل مناطق تکراری پشت‌سرهم و منحصر به فرد متشکل از ۸ اسید آمینه با توالی اجماعی Ala-Pro-Thr-Val-Val-Glu-Thr است که از طریق N-

جدول ۳- نوع و میزان اسید آمینه موجود در کیونوموسین عروس‌دریایی کاتوستیلوس تاگی بر حسب درصد ماده^۶ تر

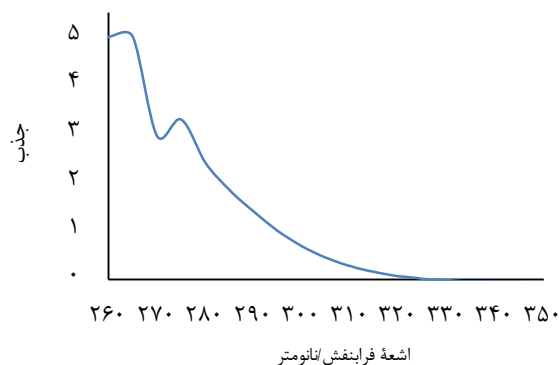
| نوع اسید آمینه | اسید آمینه ^۶ عروس‌دریایی کاتوستیلوس تاگی (میلی‌گرم/گرم) | اسید آمینه ^۶ مرجع** |
|----------------|--|--------------------------------|
| اسپارتیک | ۹۷/۹۴ | - |
| گلوتامیک | ۱۴۶/۴۷ | ۱۹/۵۲* |
| سرین | ۴۹/۲۶ | ۵/۰۶ |
| گلیسین | ۹۱/۷۲ | ۶/۴۴ |
| هیستیدین | ۱۰/۳۹ | ۳/۱۲ |
| آرژنین | ۷۳/۲۱ | ۵/۷۶ |
| ترئونین | ۴۷/۲۶ | ۳/۷۵* |
| آلانین | ۶۷/۳ | ۷/۲۹* |
| پرولین | ۱۰۹/۶۰ | ۵/۴۳* |
| تیروزین | ۲۹/۹۷ | ۳/۳۴ |
| والین | ۴۵/۶۲ | ۴/۰۸* |
| متیونین | ۱۹/۴ | ۲/۴۷ |
| سیستین | ۱۱/۴۶ | ۰/۷۶ |
| ایزولوسین | ۳۶/۶۶ | ۴/۰۵ |
| لوسین | ۵۹/۶ | ۷/۸۵ |
| فنیل آلانین | ۳۹/۲۴ | ۳/۸۱ |
| لیزین | ۷۴/۴۷ | ۶/۹۲ |

* اسید آمینه‌های مهم در ساختار کیونوموسین استخراجی از عروس‌دریایی
 ** پروتئین مرجع: نیاز انسان بالغ به اسیدهای آمینه مختلف بر حسب درصد ماده خشک (WHO, 2007).

^۴ Ultrafiltration isothermal titration microcalorimetry
^۵ Transmission electron microscopy

^۱ N-Acetylgalactosamine
^۲ O-linked glycosylation
^۳ Epigallocatechin gallate

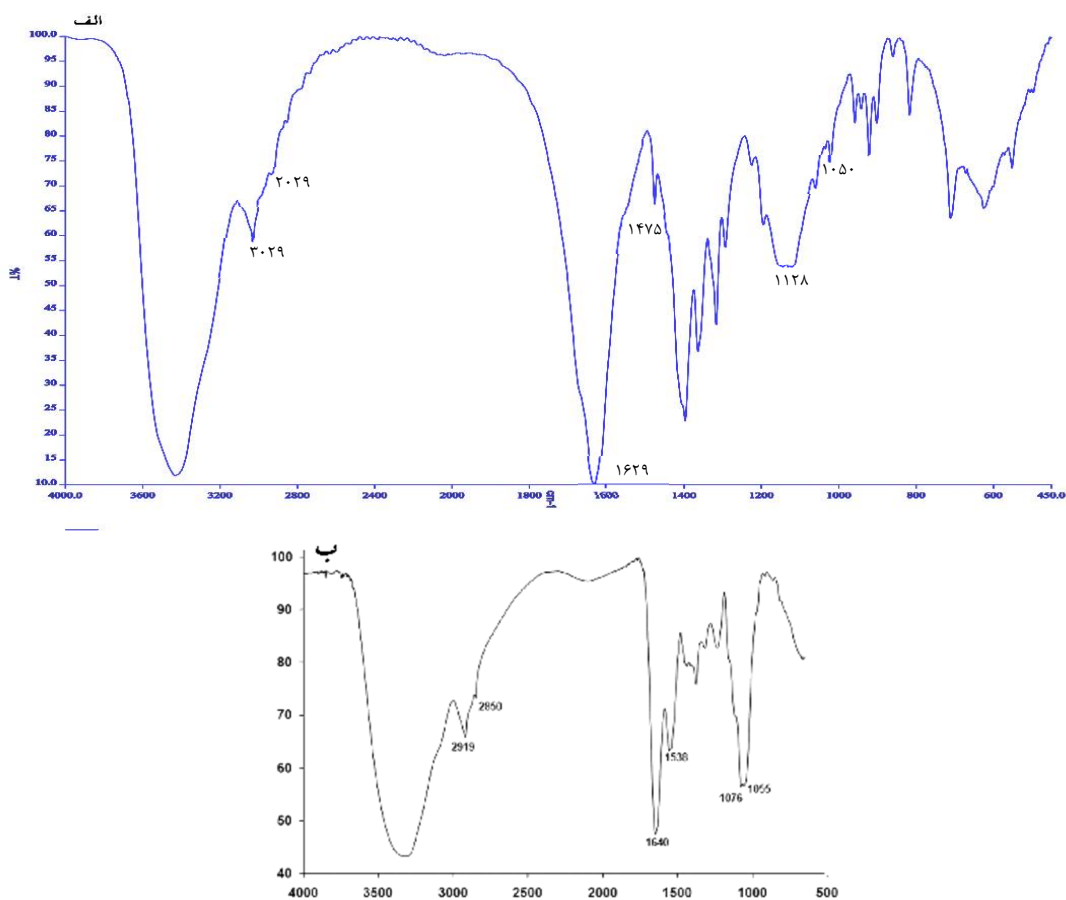
نتایج شکل (۲-الف) می‌توان پیک $C=O=1055-1067$ ، $CH_2=1475$ ، آمید $I=1629$ ، $C-H=3029$ را مشاهده کرد، شکل (۲-ب) نشان‌دهنده نمودار طیفسنجی مادون قرمز موسین معدۀ خوک است که با یکدیگر به‌طور کلی مطابقت دارد. براساس محدودیت‌های ترکیب‌های شناخته‌شده موسین (Davies & Viney, 1998)، پیک‌های جذب قوی در $1240-1050$ سانتی‌متر مربع به‌طور کلی به کشش $C-O$ و کشش $S-O$ اختصاص داده می‌شود. آمید I قوی‌ترین باند در ساختار پروتئین است؛ در نتیجه، حساس‌ترین و مفیدترین نشانه برای آنالیز ساختار پروتئین در طیفسنجی مادون قرمز می‌باشد (Cao & Xu, 2008). باند آمید I در ناحیه 1600 تا 1700 بر سانتی‌متر قرار دارد و بیشتر به ارتعاش کششی از گروه کربونیل ($C=O$) در زنجیره پلی‌پپتیدی ارتباط دارد (Pati et al., 2010). آمید I بازتابی از حضور اتصال عرضی بین مولکولی است. پیک 1629 - بر سانتی‌متر کشش $N-CO$ (آمید I) را در شکل (۲-الف) نمودار طیفسنجی مادون قرمز کیونوموسین می‌توان مشاهده کرد.



شکل ۱- جذب اشعه فرابنفش توسط کیونوموسین استخراجی از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی

آزمون طیفسنجی مادون قرمز (FTIR)

نمودار طیفسنجی مادون قرمز از کیونوموسین نشان‌دهنده پیک‌های مشخصی از کیونوموسین است هر چند تمامی این پیک‌ها در این نمودار قابل شناسایی نیست. همان‌طور که در شکل (۲) مشخص است پیک 1055 ، 1224 و 1475 نشان‌دهنده ساختار زنجیره هیدروکربنی و پیک 1626 نشان‌دهنده ساختار آمیدی کیونوموسین است. براساس



شکل ۲- طیفسنجی مادون قرمز الف) کیونوموسین استخراجی از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی و ب) موسین PGM از سیگما آلدریج (Petrash et al., 2011)

جدول ۴- پیک‌های کیونیموسین در نمودار طیف‌سنجی مادون‌قرمز FT-IR

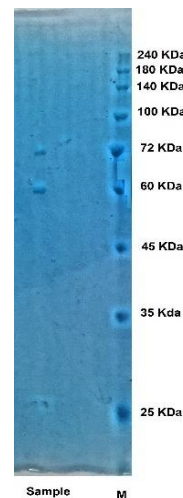
| موسین معدۀ خوک | کیونیموسین | پیک طیف‌سنجی FTPIR |
|----------------|------------|------------------------------|
| ۱۰۵۵-۱۰۷۶ | ۱۰۵۱-۱۰۶۷ | S=O کشیدگی قندهای پیچیده C-O |
| - | ۱۱۲۸ | S=O کشیدگی |
| ۱۲۳۷ | ۱۲۲۴.۳۳ | استیل C-O-C |
| ۱۴۵۱ | ۱۴۷۵ | CH ₂ scissoring |
| ۱۵۳۸ | | N-H خمش (آمید II) |
| ۱۶۴۰ | ۱۶۲۹ | N-استیل C=O کشیدگی (آمید I) |
| ۲۸۵۰-۲۹۱۹ | ۳۰۲۹ | C-H کشیدگی |

کیونیموسین حاصل از ۵ عروس دریایی در حدود ۵۰ تا ۶۵ کیلودالتون گزارش شده است، مطابقت دارد. Pearson و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند کیونیموسین حاصل از چتر در عروس دریایی کاتوستیلوس موزاییک دارای وزن مولکولی بالاتری در حدود ۱۲۰ تا ۱۷۰ کیلودالتون است. دلیل ماهیت پراکنده باند در SDS-PAGE را می‌توان ناشی از تفاوت زنجیره قندها در گونه‌های مختلف (Masuda *et al.*, 2007)، گلیکوزیلاسیون قابل توجه در موسین‌ها و تشکیل بیش از ۵۰ درصد از جرم مولکولی گلیکوپروتئین‌ها توسط الیگوساکاریدها بیان کرد (Pearson *et al.*, 2011).

ارزایی فعالیت ضدباکتریایی

نتایج حاصل از حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره کیونیموسین در جدول (۵) نشان داده شده است. حداقل غلظت از عصاره کیونیموسین خام که موجب جلوگیری از رشد ۵۰ درصد از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر با ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر و حداقل غلظتی از عصاره کیونیموسین که موجب مرگ ۱۰۰ درصد از باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* برابر با ۱۰۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر است. Pearson و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت مهار چسبندگی باکتریایی موسین‌های عروس دریایی، با استفاده از سلول‌های اپیتلیال قرنیۀ انسان (HCE¹) رشد یافته در کشت سلولی حاوی موسین و باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* (Paer6264-GFP) مورد بررسی قرار داده و بیان کردند، کیونیموسین چتر دارای خاصیت مهارکنندگی باکتریایی بیشتری در مقایسه با کیونیموسین ترشحی خارجی و MUC1 گاو است، که می‌تواند به دلیل وجود برخی از ساختارهای قندی روی این کیونیموسین باشد و برای چسبندگی باکتری‌ها مطلوب تر است (Laparra *et al.*, 2009; Sanz & Van den Abbeele *et al.*, 2009).

باندهای حدود ۱۶۳۰ نشان‌دهنده حضور آمیدهاست. آمید III نشان‌دهنده ترکیبی از ارتعاشات کششی C-N و N-H تغییر یافته است و باندهای ناحیه ۱۲۰۰ تا ۱۳۰۰ بر سانتی‌متر همانند اثر انگشت در نظر گرفته می‌شوند (Cao & Xu, 2008). هر چند پیک‌های دیگر نیز در شکل (۲) قابل مشاهده هستند که می‌تواند به دلیل ناخالصی کیونیموسین خام استخراجی باشد. این نتایج در مقایسه با نتایج حاصل از موسین خوک در جدول (۴) نشان داده شده است.



شکل ۳- وزن مولکولی کیونیموسین استخراجی از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی

آزمون SDS-PADG

وزن مولکولی نمونه کیونیموسین در آزمون SDS-PADG مورد ارزیابی قرار گرفت. بازه وزنی ۶۰ تا ۷۲ کیلودالتون را به صورت خاص برای نمایش وزنی کیونیموسین می‌توان مشاهده کرد. همان‌طور که در شکل (۳) قابل مشاهده است کیونیموسین استخراجی دو باند وزن مولکولی را در فاصله بین ۶۰ تا ۷۲ کیلودالتون نشان می‌دهد، نتایج به دست آمده با مطالعه Masuda و همکاران (۲۰۰۷) که روی

¹ Human corneal epithelial cell

می‌دهد که با افزایش میزان غلظت نمونه میزان جذب و قدرت مهارکنندگی کیونوموسین نیز افزایش می‌یابد. بیشترین درصد میزان جذب نمونه کیونوموسین ۲ درصد در غلظت ۱۲۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر است. طبق نتایج کیونوموسین مورد آزمایش دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی اندکی نسبت به ویتامین C است. Morais و همکاران (۲۰۰۹) در پژوهشی نشان دادند که عصاره چتر و بازوهای دهانی عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی متوسطی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج حاصل از این پژوهش به نظر می‌رسد که شرایط نگهداری از عروس دریایی پس از صید از دریا هر چند بر سرعت فساد شیمیایی، میکروبی و آنزیمی آنها تأثیرگذار است و مرحله مهمی در فراوری این محصول دریایی است، اما در بازده استخراجی موسین تفاوت معنی‌داری ایجاد نمی‌کند. کیونوموسین استخراجی عملکرد ضدباکتریایی و ضداکسایشی اندکی دارند که می‌تواند باتوجه به انتخاب از طریق اصلاح زنجیره‌های آ-گلیکان^۱ در آنها این ویژگی بهبود یابد. در راستای مطالعه انجام شده تهیه پروتکل مناسب برای خالص‌سازی بیشتر کیونوموسین عروس دریایی و بررسی خصوصیات فیزیکی و زیستی کیونوموسین می‌تواند در مطالعات بیشتر بررسی گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و حمایت معنوی پژوهشکده میگوی کشور واقع در بوشهر انجام گردید که بدین وسیله از آنها قدردانی می‌شود.

مشارکت نویسندگان

نجمه حمیدیان: ارائه ایده پژوهشی، جمع‌آوری داده، نوشتن پیش‌نویس مقاله، بازبینی و اصلاح مقاله؛ بهاره شعبانپور: طراحی و نظارت بر مطالعه، تأیید نسخه نهایی؛ پرستو پورعاشوری: تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها؛ بازبینی و اصلاح مقاله؛ پریسا حسین خضری: تجزیه و تحلیل و تفسیر داده‌ها، نظارت بر مطالعه.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

جدول ۵- بررسی ویژگی ضدباکتریایی کیونوموسین استخراجی از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی

| نمونه موسین | باکتری استفیلوکوکوس اورئوس (میکروگرم/میلی‌لیتر) |
|-------------|--|
| MIC | >۱۰۰۰ |
| MBC | >۱۰۰۰ |

هرچند نحوه عملکرد ضد میکروبی موسین‌ها به خوبی شناخته نشده است اما مکانیسم جذب میکروبی موسین‌ها را می‌توان به گیرنده‌های سطحی خاص موجود در میکروب‌ها (به‌عنوان مثال، لکتین‌ها و آنزیم‌ها) نسبت داد. گیرنده‌های میکروبی که از طریق نیروهای مولکولی غیرکووالانسی مانند بار و آب‌گریزی هدایت می‌شوند (Murray et al., 1982; Nesbitt et al., 1982)؛ و این گیرنده‌ها، به‌طور خاص به زنجیره‌های الیگوساکارید موجود در گلیکوپروتئین‌های موسین متصل می‌شوند تا در طول فرایند چسبندگی مخاطی، ترکیب مولکولی مطلوب زنجیره‌های گلیکوپروتئین، جذب میکروبی را تسهیل می‌کند (Tabak et al., 1982).

جدول ۶- فعالیت آنتی‌اکسیدانی عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی

| غلظت نمونه (میکروگرم/میلی‌لیتر) | درصد خنثی‌سازی رادیکالی در کیونوموسین (RSA%) |
|------------------------------------|--|
| ۶۲/۵۰ | -۲/۴۸±۱/۲۰ |
| ۱۲۵ | ۰/۶۱±۰/۲۴ |
| ۲۵۰ | ۱/۱۴±۰/۲۱ |
| ۵۰۰ | ۱/۰۹±۰/۲۹ |
| ۷۵۰ | ۰/۷۱±۰/۲۹ |
| ۱۰۰۰ | ۰/۹۴±۰/۲۱ |
| ۱۲۵۰ | ۲/۰۰±۰/۲۱ |
| . | ۲/۴۵±۰/۵۱ |
| ۸/۲۵ | ۱۳/۶۱±۰/۵۱ |
| ۱۶/۵ | ۴۹/۹۲±۰/۴۱ |
| ۳۳ | ۶۷/۱۰±۰/۴۵ |
| ۶۶ | ۸۱/۰۲±۰/۴۵ |

* داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف معیار بیان شده‌اند.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش حذف رادیکال

DPPH

جدول (۶) ویژگی آنتی‌اکسیدانی کیوموسین خام استخراج شده از عروس دریایی کاتوستیلوس تاگی را نشان

¹ O-Glycan

منابع

- Adikwu, M., & Alozie, B. (2007). Application of snail mucin dispersed in detarium gum gel in wound healing. *Sci Res Essay*, 2(6), 195-198.
- AOAC. (2005). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists International. *Official Methods: Gaithersburg, MD, USA*.
- Baba, T. (2015). Method for Fractionally Extracting Mucin and Collagen. U.S. Patent Application 14/407,798. In: Google Patents.
- Bakshani, C. R., Morales-Garcia, A. L., Althaus, M., Wilcox, M. D., Pearson, J. P., Bythell, J. C., & Burgess, J. G. (2018). Evolutionary conservation of the antimicrobial function of mucus: a first defence against infection. *NPJ Biofilms Microbiomes*, 4, 14. <https://doi.org/10.1038/s41522-018-0057-2>
- Bansil, R., & Turner, B. S. (2006). Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Current opinion in colloid & interface science*, 11(2), 164-170. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2005.11.001>
- Barzkar, M. (2015). *Extraction and purification of GFP (Green Fluorescence Protein) from Crambionella Orsini jellyfish and the possibility of making a mercury sensor*. [Unpublished Master's thesis, Khorramshahr Marine Science and Technology University].
- Bleve, G., Ramires, F. A., Gallo, A., & Leone, A. (2019). Identification of Safety and Quality Parameters for Preparation of Jellyfish Based Novel Food Products. *Foods*, 8(7). <https://doi.org/10.3390/foods8070263>
- Cao, H., & Xu, S. Y. (2008). Purification and characterization of type II collagen from chick sternal cartilage. *Food Chem*, 108(2), 439-445. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.022>
- Chen, Y.-Z., Tang, Y.-R., Sheng, Z.-Y., & Zhang, Z. (2008). Prediction of mucin-type O-glycosylation sites in mammalian proteins using the composition of k-spaced amino acid pairs. *BMC bioinformatics*, 9(1), 101. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-101>
- Davies, J. M., & Viney, C. (1998). Water–mucin phases: conditions for mucus liquid crystallinity Presented at TAC 97, Oxford, UK, 14–15 April 1997.1. *Thermochimica acta*, 315(1), 39-49. [https://doi.org/10.1016/S0040-6031\(98\)00275-5](https://doi.org/10.1016/S0040-6031(98)00275-5)
- Grundy, M. M., McKenzie, J. D., Richardson, N. V., Bavington, C. D., Mulloy, B., Lever, R., & Page, C. P. (2000). *Product from starfish*. [https://patents.google.com/patent/WO2000075183A1/en?q=\(Product+starfish\)&oq=Product+from+starfish](https://patents.google.com/patent/WO2000075183A1/en?q=(Product+starfish)&oq=Product+from+starfish)
- Hajjani, A. (2015). *Extraction and purification of collagen from sea urchins of the genus Aurelia sp in the sea shores of the Persian Gulf of Bushehr* [Unpublished Master's thesis, Isfahan University of Technology].
- Hammond, J. B. W., & Kruger, N. J. (1988). The Bradford Method for Protein Quantitation. In J. M. Walker (Ed.), *New protein techniques* (pp. 25-32). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/0-89603-126-8:25>
- Hsieh, Y. H. P., & Rudloe, J. (1994). Potential of utilizing jellyfish as food in Western countries. *Trends in Food Science & Technology*, 5(7), 225-229. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(94\)90253-4](https://doi.org/10.1016/0924-2244(94)90253-4)
- Issa, S. M., Schulz, B. L., Packer, N. H., & Karlsson, N. G. (2011). Analysis of mucosal mucins separated by SDS-urea agarose polyacrylamide composite gel electrophoresis. *Electrophoresis*, 32(24), 3554-3563. <https://doi.org/10.1002/elps.201100374>
- Khong, N. M. H., Yusoff, F. M., Jamilah, B., Basri, M., Maznah, I., Chan, K. W., & Nishikawa, J. (2016). Nutritional composition and total collagen content of three commercially important edible jellyfish. *Food chemistry*, 196, 953-960. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.094>
- Kimura, S., Gohda, T., & Sakurai, Y. (2003). Characterization of Nidamental Mucin from Japanese Common Squid *Todarodes pacificus*. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, 89, 7-13.
- Laparra, J. M., & Sanz, Y. (2009). Comparison of in vitro models to study bacterial adhesion to the intestinal epithelium. *Lett Appl Microbiol*, 49(6), 695-701. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02729.x>
- Lucas, C. H. (2009). Biochemical composition of the mesopelagic coronate jellyfish *Periphylla periphylla* from the Gulf of Mexico. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(1), 77-81. <https://doi.org/10.1017/S0025315408002804>
- Masuda, A., Baba, T., Dohmae, N., Yamamura, M., Wada, H., & Ushida, K. (2007). Mucin (qniu mucin), a glycoprotein from jellyfish, and determination of its main chain structure. *J Nat Prod*, 70(7), 1089-1092. <https://doi.org/10.1021/np060341b>
- Matloubi, H., Aflaki, F., & Hadjiezadegan, M. (2004). Effect of γ -irradiation on amino acids content of baby food proteins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17(2), 133-139. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2003.09.005>

- Morais, Z. B., Pintão, A. M., Costa, I. M., Calejo, M. T., Bandarra, N. M., & Abreu, P. (2009). Composition and In Vitro Antioxidant Effects of Jellyfish *Catostylus tagi* from Sado Estuary (SW Portugal). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 18(1-2), 90-107. <https://doi.org/10.1080/10498850802581799>
- Murray, P. A., Levine, M. J., Tabak, L. A., & Reddy, M. S. (1982). Specificity of salivary-bacterial interactions: II. Evidence for a lectin on *Streptococcus sanguis* with specificity for a NeuAc α 2,3Gal β 1,3Gal1NAc sequence. *Biochemical and biophysical research communications*, 106(2), 390-396. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(82\)91122-6](https://doi.org/10.1016/0006-291X(82)91122-6)
- Nagai, T., Worawattanamateekul, W., Suzuki, N., Nakamura, T., Ito, T., Fujiki, K., . . . Yano, T. (2000). Isolation and characterization of collagen from rhizostomous jellyfish (*Rhopilema asamushi*). *Food chemistry*, 70(2), 205-208. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00081-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00081-9)
- Naseri Karimvand, M., Nikpour, Y., Taghavi Moghadam, A., & Ghanemi, K. (2018). Determine Physicochemical properties of Gelatin extracted from Persian Gulfs jellyfish *Crambionella orsini*. *Journal of Marine Science and Technology*, 16(4), 77-85. <https://doi.org/10.22113/jmst.2016.34142>
- Nesbitt, W. E., Doyle, R. J., & Taylor, K. G. (1982). Hydrophobic interactions and the adherence of *Streptococcus sanguis* to hydroxylapatite. *Infect Immun*, 38(2), 637-644. <https://doi.org/10.1128/iai.38.2.637-644.1982>
- Ohta, N., Sato, M., Ushida, K., Kokubo, M., Baba, T., Taniguchi, K., . . . Mochida, J. (2009). Jellyfish mucin may have potential disease-modifying effects on osteoarthritis. *BMC Biotechnol*, 9, 98. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-9-98>
- Pati, F., Adhikari, B., & Dhara, S. (2010). Isolation and characterization of fish scale collagen of higher thermal stability. *Bioresource Technology*, 101(10), 3737-3742. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.133>
- Patwa, A., Thiéry, A., Lombard, F., Lilley, M. K. S., Boisset, C., Bramard, J.-F., . . . Barthélémy, P. (2015). Accumulation of nanoparticles in “jellyfish” mucus: a bio-inspired route to decontamination of nano-waste. *Scientific reports*, 5(1), 11387. <https://doi.org/10.1038/srep11387>
- Pearson, R., Tellam, R., Xu, B., Zhao, Z., Willcox, M., & Kongsuwan, K. (2011). Isolation, biochemical characterization and anti-adhesion property of mucin from the blue blubber jellyfish (*Catostylus mosaicus*). *Bioscience Methods*, 2. <https://doi.org/10.5376/bm.2011.02.0004>
- Petrash, D. A., Lalonde, S. V., Gingras, M. K., & Konhauser, K. O. (2011). A surrogate approach to studying the chemical reactivity of burrow mucous linings in marine sediments. *Palaios*, 26(9/10), 594-600. <http://www.jstor.org/stable/41317440>
- Sarikurcu, C., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., & Harmandar, M. (2008). Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (lamiaceae) by three different chemical assays. *Bioresour Technol*, 99(10), 4239-4246. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.058>
- Subramanian, S., Ross, N. W., & MacKinnon, S. L. (2008). Comparison of antimicrobial activity in the epidermal mucus extracts of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 150(1), 85-92. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2008.01.011>
- Tabak, L. A., Levine, M. J., Mandel, I. D., & Ellison, S. A. (1982). Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *J Oral Pathol*, 11(1), 1-17. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1982.tb00138.x>
- Van den Abbeele, P., Grootaert, C., Possemiers, S., Verstraete, W., Verbeken, K., & Van de Wiele, T. (2009). In vitro model to study the modulation of the mucin-adhered bacterial community. *Appl Microbiol Biotechnol*, 83(2), 349-359. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-1947-2>
- von Gadow, A., Joubert, E., & Hansmann, C. F. (1997). Comparison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), α -Tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of agricultural and food chemistry*, 45(3), 632-638. <https://doi.org/10.1021/jf960281n>
- WHO. (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition : report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. In. Geneva: World Health Organization.
- Yu, X., Liu, H., Yang, Y., Lu, S., Yao, Q., & Yi, P. (2013). The investigation of the interaction between Oxymetazoline hydrochloride and mucin by spectroscopic approaches. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 103, 125-129. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.11.019>
- Zhao, Y., Chen, L., Yakubov, G., Aminiafshar, T., Han, L., & Lian, G. (2012). Experimental and Theoretical Studies on the Binding of Epigallocatechin Gallate to Purified Porcine Gastric Mucin. *The journal of physical chemistry B*, 116(43), 13010-13016. <https://doi.org/10.1021/jp212059x>
- Zlatanov, S., Laskaridis, K., Feist, C., & Sagredos, A. (2006). Proximate composition, fatty acid analysis and protein digestibility-corrected amino acid score of three Mediterranean cephalopods. *Mol Nutr Food Res*, 50(10), 967-970. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600003>

Evaluation of Qniumucin Properties Extracted from the Jellyfish *Catostylus tagi*

Najmeh Hamidian¹, Bahareh Shabanpour^{1*}, Parastoo Pourashori¹,
Parisa Hossen Khezri²

1- Department Seafood Processing, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran

* Corresponding author (shabanpour@gag.ac.ir)

2- Shrimp Research Institute, Iranian Fisheries Science Research Institute, Bushehr, Iran

Abstract

Recent research on the nutritional and biological properties of different species of jellyfish have shown their high potential as untapped resources in biotechnology and food production sectors. Qniumucin is one of the valuable compounds found in jellyfish. In this research, the effect of post-catch storage methods on the yield of qniumucin extracted from *Catostylus tagi* jellyfish was investigated. Then, the evaluation and identification of the extracted qniumucin compounds, its antimicrobial and antioxidant activity, were investigated. *Catostylus tagi* jellyfish were placed in water, ice, and water-ice at a ratio of 1:1 for 8 h after being caught. Then, the qniumucin in each treatment was extracted with the help of ethanol. The approximate composition of the jellyfish, the yield of qniumucin was measured, and the qniumucin extracted was evaluated by UV spectrometry, FTIR, protein assay, and SDS PAGE. The antibacterial activity of qniumucin against *Staphylococcus aureus* bacteria was investigated, along with the antioxidant activity of qniumucin by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method, compared to vitamin C. The results obtained from the examination of the extracted raw material showed that there was no significant difference between the yield percentage of the extracted qniumucin in different treatments ($P > 0.05$). This compound had: molecular mass of 65 to 72 KD and peaks of 265 and 275 cm^{-1} in UV spectroscopy. Also, the extracted crude qniumucin showed inhibitory and lethal properties at a concentration of 1000 $\mu\text{g/mL}$ against *Staphylococcus aureus* bacteria and showed little antioxidant properties compared to vitamin C.

Keywords: Anti-microbial properties, *Catostylus tagi*, Chemical properties, Extraction, Qniumucin

