

مقایسه سیلافین استخراج شده از دو ریزجلبک *Chaetoceros calcitrans* و *Chaetoceros muelleri*

سعد بازاریار^۱، منصوره قائمی^{۲*}، نسرین چوبکار^۳، نرگس جوادزاده^۲

تاریخ دریافت: تیر ۹۷

تاریخ پذیرش: آبان ۹۷

چکیده

پروتئین سیلافین (Silaffin) یکی از پروتئین‌هایی است که در ریزجلبک *Chaetoceros* به وفور یافت می‌شود. این ماده در صنایع آرایشی، بهداشتی و تغذیه موجودات کاربرد دارد. در این پژوهش به مقایسه سیلافین استخراج شده از دو ریزجلبک *Chaetoceros muelleri* و *Chaetoceros calcitrans* پرداخته شده است. برای انجام آزمایش، دیواره سیلیسی نمونه‌های تهیه شده از بندرعباس با استفاده از EDTA و SDS استخراج و غلظت پروتئین آن به روش بردفورد اندازه‌گیری شد. سپس برای شناسایی اسیدهای آمینه موجود، با روش الکتروفورز SDS-PAGE وزن مولکولی آن‌ها تخمین زده شد. تجزیه اسیدهای آمینه با استفاده از HPLC صورت گرفت. نتایج حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در میزان سیلافین استخراج شده از ریزجلبک *C. muelleri* نسبت به ریز جلیبک *C. calcitrans* بود ($P < 0.05$). همچنین بین دو ریزجلبک از نظر میزان اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، آسپارژین، گلايسين، والين، تیروزین + آلانین، اختلاف معنی‌دار آماری وجود نداشت ($P > 0.05$). این در حالی بود که میزان اسیدهای آمینه گلوتامیک اسید، سرین، فنیل آلانین، ایزولوسین، لوسین، متیونین، تربیتوفان، آرژنین، ترئونین، گلوتامین + هیستیدین اختلاف آماری معنی‌دار نشان دادند ($P < 0.05$). بنابراین، می‌توان چنین نتیجه گرفت که ریزجلبک *C. muelleri* از نظر میزان پروتئین سیلافین می‌تواند گزینه مناسب‌تری برای استفاده در صنایع مختلف با رویکرد بیوتکنولوژی در صنایع غذایی و دارویی باشد.

واژگان کلیدی: سیلافین، اسید آمینه، دیانومه، *Chaetoceros muelleri*، *Chaetoceros calcitrans*.

۱- کارشناس ارشد شیلات، گروه شیلات، دانشکده کشاورزی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

۲- دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، اهواز، ایران.

۳- دانشیار گروه شیلات، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران.

* نویسنده مسئول: Mansoreh.Ghaeni@gmail.com

مقدمه

دیگری وجود ندارد. مثلا پروتئین قابل جذب که در مغز ران گوشت گوساله وجود دارد ۲۲ درصد است ولی جذب پروتئین جلبکها ۶۰ درصد است (فرامرزی و همکاران، ۱۳۸۹). از جمله پروتئینهایی که در جلبکها می‌تواند مورد توجه قرار گیرد پروتئین سیلافین (Silaffin) است که در صنایع غذایی آرایشی و بهداشتی کاربرد دارد. این پروتئین به طور عمده در جلبکهای قهوه‌ای و همچنین در دیاتومه‌ها و بیشتر در ریزجلبک *Chaetoceros* یافت می‌شود. سیلافین‌ها پروتئین‌هایی هستند که باعث تشکیل پوشش سیلیسی در دیاتومه‌ها می‌شوند. ساختار ویژه آن‌ها باعث می‌شود که به مولکول‌های پلی‌کاتیونی تبدیل شده، در نتیجه بتوانند به خوبی به ذرات سیلیس متصل شوند و در شکل‌گیری شبکه سیلیسی موثر واقع شوند. این پروتئین‌ها شدیداً گلیکوسیلیاتی و سولفات‌ی بوده، حاوی مانوز، گالاکتوز، گلوکز و اسید گلوکورونیک هستند (Shrestha et al., 2012).

از جلبک‌های دریایی به دلیل دارا بودن خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدویروسی و همچنین داشتن ترکیبات مفیدی مانند

دیاتومه‌ها یک گروه عمده از جلبک‌ها و یکی از مهم‌ترین انواع فیتوپلانکتون‌ها است. از ویژگی‌های آن‌ها وجود دیواره سیلیسی (دی‌اکسید سیلیکون هیدراته)، به نام فراستل (Frustule) است (Shrestha et al., 2012). دیاتومه‌ها عمدتاً دریایی هستند ولی در آب شیرین و زیستگاه‌های خاکی نیز یافت می‌شوند و دارای کلروفیل‌های a و c ، β -کاروتن و رنگدانه‌های گزانتوفیلی مانند دیاتوزانتین و فوکوزانتین هستند. مواد ذخیره‌ای موجود در دیاتومه‌ها شامل چربی، ولوتین و کرایزولامینارین است. از جمله کاربردهای این ریزجلبک‌ها عبارت هستند از غذای انسان، غذای دام، پرورش آبزیان، حاصلخیزی خاک و همچنین استفاده از عصاره آن‌ها در صنایع آرایشی و بهداشتی. یکی از مواد به دست آمده از این ریزجلبک‌ها، پروتئین است. لازم به ذکر است که روش‌های مختلف فرآوری و خشک کردن جلبک‌ها بر روی هضم آن‌ها تاثیر به سزایی دارد (سلطانی و غفاری، ۱۳۹۱). قسمت عمده‌ای از ترکیبات بیوشیمیایی هر جلبک از اسیدهای آمینه ضروری تشکیل شده است که بدن انسان قادر به ساخت آن‌ها نیست. این مقدار اسید آمینه در هیچ منبع پروتئینی

برای انجام این پژوهش، ریزجلبک‌های *Chaetoceros calcitrans* و *Chaetoceros muelleri* از پژوهشکده اکولوژی خلیج فارس و دریای عمان واقع در بندرعباس در فصل بهار تهیه شد.

محیط کشت ریزجلبک

از محیط کشت کانوی (Conway) به منظور کشت ریزجلبک‌ها استفاده شد. کشت در شرایط آزمایشگاه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، در حجم ۲ میلی‌لیتر در لیتر محیط کشت و دوره نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی با منبع نوری دو لامپ مهتابی ۴۰ وات (۱۰۰۰ لوکس) انجام شد (Lananan et al., 2013).

سنجش پروتئین

برای بررسی پروتئین، ۰/۳ گرم از نمونه‌ها به همراه ۳ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ (Merck، آلمان)، ۱/۱ گرم قرص کلدال و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر داخل دستگاه هضم کلدال (S4، behr Labor-Technik، آلمان) گذاشته شد و پس از قرار دادن در دستگاه تقطیر نیتروژن، اسید اوریک به دست آمده با اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال تیتر و درصد پروتئین تعیین شد (Manurung et al., 2007).

کاروتنوئیدها، پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها، اسیدهای چرب ضروری، ویتامین‌ها و مواد معدنی به منظور افزایش مقاومت در برابر بیماری‌ها، بهبود رشد و بازماندگی میگوی *Litopenaeus vannamei* استفاده می‌شود (Dashtian Nasab et al., 2009). اما با وجود کاربرد وسیع جهانی ریزجلبک *Chaetoceros*، تاکنون در ایران استفاده تجاری مناسبی از این ریزجلبک نشده است. در ایران بیشتر به شناسایی جنس‌ها و گونه‌های دیاتومه‌ها پرداخته شده است و مطالعات انجام شده بر روی ریزجلبک *Chaetoceros* به منظور چگونگی استفاده از آن‌ها به عنوان غذای زنده در مراکز تکثیر و پرورش میگو بوده است (Raa, 1996; Hellio et al., 2001; Bansemir et al., 2006; Dashtian Nasab et al., 2009; Kadam and Prabhasankar, 2010).

این مطالعه با هدف جداسازی و استخراج پروتئین سیلافین و بررسی میزان و توالی آن در دو گونه ریزجلبک *Chaetoceros* موجود در ایران *Chaetoceros calcitrans* و *Chaetoceros muelleri* به منظور گسترش کاربرد آن‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

استخراجی در ۲۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و عصاره نهایی دو بار با استون و در نهایت با آب مقطر شستشو داده شد (Manurung et al., 2007).

جداسازی پروتئین سیلافین

فراستل استخراج شده در ۵۰ میلی‌لیتر از محلول هیدروژن فلورید ۲ مولار و آمونیوم فلورید ۸ مولار با pH ۵ حل شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای صفر درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شد تا محلول‌های بالا تبخیر شود. پروتئین استخراجی به مدت ۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با آب مقطر ترکیب شد تا جداسازی صورت گیرد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پروتئین خارج شده که در آب مقطر حل شده بود برای مراحل بعدی آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Manurung et al., 2007).

غلظت پروتئین با روش برادفورد توسط آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد سنجیده شد. وزن مولکولی پروتئین نیز با روش SDS-PAGE تخمین زده شد. به این ترتیب که ۱۰ میکروگرم نمونه در محلول

سنجش اسیدهای آمینه

۰/۱ گرم از پودر نمونه‌ها در اسید کلریدریک ۶ نرمال به مدت ۲۴ ساعت در آن ۱۱۰°C هضم و سپس در آب رقیق شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول برداشته شد و به آن ۰/۵ میلی‌لیتر بافر و ۰/۴ میلی‌لیتر محلول OPA (Ortho-phthalaldehyde) مشتق‌ساز به دلیل شناسایی در روش فلورسانس افزوده شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از نمونه نهایی به دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC، Hewlett Packard، HP 1046A، آمریکا) تزریق (Brown et al., 1997) و اسیدهای آمینه موجود در نمونه تعیین شد.

استخراج دیواره سلولی سیلیسی

برای برداشت *Chaetoceros* محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (PIT320، قطران شیمی تجهیز، ایران) شد. توده زنده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد. سپس توده زنده برداشت شده در ۲ درصد سدیم دودسیل سولفات و ۱۰۰ میلی‌مول EDTA دو بار جوشانده شد تا اجزای دیواره حذف شدند. دیواره سلولی

بررسی، با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪، اختلاف کلی بین میانگین‌ها مشخص شد و مقایسه میانگین داده‌ها با پس‌آزمون دانکن صورت گرفت.

نتایج

در مطالعه حاضر میزان پروتئین سیلافین در دو ریزجلبک مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که میزان پروتئین در *C. muelleri* ($41/39 \pm 1/12$ درصد) بیشتر از مقدار آن در *C. calcitrans* ($38/44 \pm 1/14$ درصد) بود. در این دو ریزجلبک ۱۷ نوع اسید آمینه شناسایی شد. اسیدهای آمینه غیرضروری شامل آسپارتیک اسید (Asp)، گلوتامیک اسید (Glu)، آسپارژین (Asn)، سرین (Ser)، تیروزین (Tyr)، آلانین (Ala)، گلیسین (Gly)، گلوتامین (Gln) و اسیدهای آمینه ضروری شامل والین (Val)، فنیل آلانین (Phe)، ترئونین (Thr)، ایزولوسین (Ile)، لوسین (Leu)، متیونین (Met)، تریپتوفان (Trp)، آرژینین (Arg) و هیستیدین (His) بودند.

در بین اسیدهای آمینه غیرضروری، در هر دو ریز جلبک گلوتامیک اسید (Glu) بیشترین

بافر حل شد. محلول بافر شامل ۰/۳ میلی‌لیتر تریس اسید کلریدریک (pH ۶/۸)، ۲/۵ میلی‌لیتر گلیسیرویل ۵۰ درصد، ۱ میلی‌لیتر سدیم دو دسیل سولفات (SDS) ۱۰ درصد، ۰/۲۵ میلی‌لیتر مرکاپتو اتانول، ۰/۵ میلی‌لیتر برموفنول‌بلو ۱ درصد و ۰/۴۵ میلی‌لیتر آب مقطر بود. این محلول در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه جوشانده شد و سپس روی ژل آکریلامید ۱۰ درصد با ولتاژ ۱۰۰ به مدت یک ساعت و نیم قرار گرفت. پروتئین مارکر برای وزن مولکولی پائین شامل فسفریلاز b (۹۷ کیلودالتون)، آلبومین (۶۶ کیلودالتون)، اوآلبومین (۴۵ کیلودالتون)، کربونیک انیدراز (۳۰ کیلودالتون)، ممانعت کننده تریپسین (۲۰/۱ کیلودالتون) و آلفا لاکت آلبومین (۱۴/۴ کیلودالتون) بود. از رنگ نقره‌ای برای رنگ‌آمیزی استفاده شد (Manurung et al., 2007).

تجزیه و تحلیل آماری

به منظور تجزیه و تحلیل کلیه داده‌ها، از نرم‌افزار SPSS 16 Stats Direct استفاده شد. داده‌ها ابتدا برای اطمینان از نرمال بودن، با آزمون Shapiro-Wilk بررسی شدند. سپس در صورت نرمال بودن توزیع داده‌های مورد

مقدار را به خود اختصاص داد که این مقدار در *C. muelleri* $4/89 \pm 1/11$ درصد

و در *C. calcitrans* $3/88 \pm 1/11$ درصد بود (جدول)

اختلاف معنی‌دار آماری بین دو ریزجلبک مشاهده شد ($P < 0/05$). بین دو ریزجلبک مورد بررسی از نظر درصد اسیدهای آمینه گلوتامین و هیستیدین، اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد ($P < 0/05$ ؛ جدول ۳). همچنین بین دو ریزجلبک از نظر میزان درصد پروتئین، اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($P < 0/05$ ؛ جدول ۴).

۱). بین این دو ریزجلبک از نظر درصد اسید آمینه گلوتامیک اسید و همچنین سرین اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ($P < 0/05$).

در بین اسیدهای آمینه ضروری در هر دو ریزجلبک، تریپتوفان بیشترین مقدار را به خود اختصاص داد که این مقدار در *C. muelleri* $6/73 \pm 1/17$ درصد و در *C. calcitrans* $6/13 \pm 1/11$ درصد بود (جدول ۲). بین دو ریزجلبک از نظر درصد اسید آمینه والین، اختلاف معنی‌دار آماری بین دو جلبک مشاهده نشد ($P > 0/05$). اما از نظر درصد اسیدهای آمینه فنیل آلانین، ترئونین، لوسین، ایزولوسین، متیونین، تریپتوفان و آرژنین

مقایسه سیلافین در دو گونه *Chaetoceros* پروتئین سیلافین از نظر وزن بر حسب کیلوالتون (KDa) مورد بررسی قرار گرفت. همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، ریزجلبک *C. muelleri* از نظر میزان پروتئین سیلافین در سطح بالاتری ($41/39$ KDa) نسبت به ریزجلبک *C. calcitrans* ($38/44$ KDa) قرار داشت.

جدول ۱: نوع و مقدار اسیدهای آمینه غیرضروری در *Chaetoceros* و *Chaetoceros calcitrans* (*muelleri* (میانگین \pm انحراف معیار)

مقدار اسید آمینه (درصد)		نوع اسید آمینه
<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	
$2/81 \pm 1/23^a$	$2/43 \pm 1/19^a$	آسپارتیک اسید
$4/89 \pm 1/11^b$	$3/88 \pm 1/11^a$	گلوتامیک اسید
$1/45 \pm 1/14^a$	$1/47 \pm 1/11^a$	آسپارژین
$1/82 \pm 1/11^b$	$1/55 \pm 1/15^a$	سرین

تیروزین + آلانین	۲/۴۸±۱/۱۳ ^a	۲/۹۶±۱/۳۶ ^a
گلیسین	۲/۶۳±۱/۱۳ ^a	۲/۸۱±۱/۱۵ ^a

حروف غیرمشابه در هر ردیف اختلاف آماری معنی دار را نشان می دهد (P<۰/۰۵).

جدول ۲: نوع و مقدار اسید آمینه ضروری در *Chaetoceros muelleri* و *Chaetoceros calcitrans* (میانگین ± انحراف معیار)

نوع اسید آمینه	مقدار اسید آمینه (درصد)	
	<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
والین	۲/۵۷±۱/۱۱ ^a	۲/۵۴±۱/۱۴ ^a
فنیل آلانین	۱/۸۶±۱/۱۷ ^b	۱/۶۴±۱/۱۴ ^a
ترئونین	۲/۵۵±۱/۱۷ ^b	۲/۴۱±۱/۱۲ ^a
ایزولوسین	۲/۴۱±۱/۱۹ ^b	۲/۲۳±۱/۱۳ ^a
لوسین	۲/۷۵±۱/۱۹ ^b	۲/۵۵±۱/۱۴ ^a
متیونین	۵/۳۵±۱/۲۳ ^b	۳/۸۸±۱/۱۲ ^a
تریپتوفان	۶/۷۳±۱/۱۷ ^b	۶/۱۳±۱/۱۱ ^a
آرژینین	۲/۸۳±۱/۱۱ ^b	۲/۴۲±۱/۱۲ ^a

حروف غیرمشابه در هر ردیف اختلاف آماری معنی دار را نشان می دهد (P<۰/۰۵).

جدول ۳: مقدار اسیدهای آمینه گلوتامین و هیستیدین در *Chaetoceros muelleri* و *Chaetoceros calcitrans* (میانگین ± انحراف معیار)

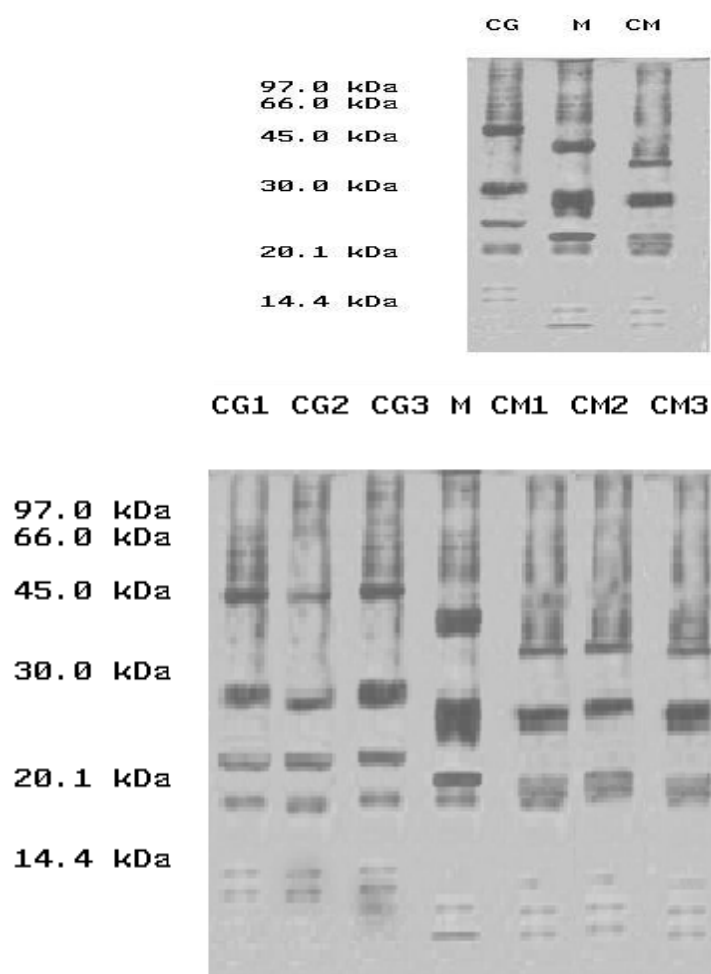
نوع اسید آمینه	مقدار اسید آمینه (درصد)	
	<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
گلوتامین + هیستیدین	۱/۴۶±۱/۱۲ ^b	۱/۴۹±۱/۱۱ ^a

حروف غیرمشابه اختلاف آماری معنی دار را نشان می دهد (P<۰/۰۵).

جدول ۴: میزان پروتئین در *Chaetoceros muelleri* و *Chaetoceros calcitrans* (میانگین ± انحراف معیار)

	<i>Chaetoceros muelleri</i>	<i>Chaetoceros calcitrans</i>
پروتئین (درصد)	۴۱/۳۹±۱/۱۲ ^b	۳۸/۴۴±۱/۱۴ ^a

حروف غیرمشابه اختلاف آماری معنی دار را نشان می دهد (P<۰/۰۵).



شکل ۱: مقادیر وزنی پروتئین سیلافین در دو گونه *Chaetoceros calcitrans* و *Chaetoceros muelleri*.
 CC: *Chaetoceros calcitrans*; CM: *Chaetoceros muelleri*; M: وزن مولکولی.

لازم به ذکر است که در این مطالعه درصد

پروتئین نشان دهنده مقدار کل پروتئین بحث

موجود در هر گونه است ولی مقدار وزنی نشان
 دهنده وزن یک مولکول پروتئین است.
 دو ریزجلبک *Chaetoceros*
calcitrans و *C. muelleri* از نظر میزان

پروتئین مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد میزان پروتئین سیلافین در گونه *C. muelleri* ($41/39 \pm 0/02$ درصد) بیشتر از گونه *C. calcitrans* ($38/44 \pm 0/04$) در مطالعه Raghavan بود ($P < 0/05$). و همکاران (۲۰۰۸) که میزان پروتئین *C. calcitrans* را در دماهای مختلف (۲۰، ۲۵ و ۳۰ درجه سانتی‌گراد) اندازه گرفتند، در دمای ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد ارزش تغذیه‌ای بالاتر و میزان کافی پروتئین را نشان دادند. در مطالعه حاضر نیز ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود. نتایج مطالعه Rodriguez و همکاران (۲۰۰۶) که ارزیابی کیفیت غذایی ریزجلبک *C. muelleri* را در لاروهای *Litopenaeus vannamei* مورد بررسی قرار دادند به گونه‌ای که میزان پروتئین در *C. muelleri* ($40/39$ درصد) کمی کمتر از مقادیر به دست آمده در مطالعه حاضر بود. این اختلاف کم احتمالاً می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع مواد مغذی مورد استفاده در این دو مطالعه باشد. در مطالعه Rodriguez و همکاران (۲۰۰۶) از محیط کشت $f/2$ استفاده شد. Vega و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر محیط کشت و مواد مغذی را بر محتوای پروتئین *C. muelleri* بررسی کردند. مقدار پروتئین در مطالعه Vega و همکاران (۲۰۱۰) در محیط کشت $f/2$ مقدار کمتری داشت. همچنین Martínez-Cordova و همکاران (۲۰۱۲) نیز تاثیر محیط کشت‌های جایگزین در تولید و ترکیب تقریبی ریزجلبک *Chaetoceros muelleri* را مورد بررسی قرار دادند که نتایج مطالعه آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد. مقدار پروتئین به دست آمده در این مطالعه در محیط کشت Aq-F (Aquacultural Fertilizer) ($15/48 \pm 0/72$ درصد) و کمتر از مطالعه حاضر بود. این اختلاف نیز به دلیل تفاوت در محیط‌های کشت مورد استفاده است. چرا که از نظر مواد مغذی موجود در آن‌ها تفاوت بسیاری وجود دارد.

در مطالعه حاضر، بین اسیدهای آمینه، تریپتوفان، در هر دو گونه *C. calcitrans* و *C. muelleri* ($6/13 \pm 1/11$ درصد) و بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است، ولی اگر این درصدها به تفکیک اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری مورد بررسی قرار داده شود، مشاهده می‌شود که بین اسیدهای آمینه غیرضروری، گلوتامیک اسید در *C. muelleri* ($4/89 \pm 1/11$ درصد) و بین اسیدهای آمینه ضروری تریپتوفان در

مطالعه حاضر بود و در مغایرت با آن است. Granum و همکاران (۲۰۰۲) نیز تغییرات روزانه اسیدهای آمینه را در دیاتومه *Skeletonema costatum* بررسی کردند که نتایج مطالعه آن‌ها با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد. میزان متیونین در مطالعه Granum و همکاران (۲۰۰۲) صفر بود که مقدار آن کمتر از مطالعه حاضر بود. این اختلاف ناشی از تفاوت در زمان نمونه‌برداری است. در مطالعه Granum و همکاران (۲۰۰۲) زمانی نمونه‌برداری انجام شد که دما ۱۳ درجه سانتی‌گراد بود.

در مطالعه حاضر میزان اسید آمینه والین در *C. calcitrans* (۲/۵۴±۱/۱۴ درصد) کمتر از مقدار آن در *C. muelleri* (۲/۵۷±۱/۱۱ درصد) بود که با نتایج مطالعه Brown (۲۰۰۲) مغایرت دارد و از مقادیر اسید آمینه والین در مطالعه ذکر شده که به همراه اسیدهای آمینه آرژنین، ایزولوسین، لوسین، لیزین، فنیل آلانین، پرولین، والین، ترئونین در یک محدوده اعلام شده بودند، کمتر بود.

در مطالعه حاضر میزان اسید آمینه آسپارژین در *C. calcitrans* (۱/۴۷±۱/۱۱ درصد) بیشتر از مقدار آن در *C. muelleri* (۱/۴۵±۱/۱۴ درصد) بود که با نتایج مطالعه

C. muelleri (۶/۷۳±۱/۱۷ درصد) بیشترین مقادیر را به خود اختصاص داده‌اند. به طور کل با توجه مقادیر اسیدهای آمینه بررسی شده در مطالعه حاضر، *C. muelleri* از نظر مقدار اسیدهای آمینه به جز آسپارژین و گلوتامین+هیستیدین در سطوح بالاتری نسبت به *C. calcitrans* قرار دارد.

در مطالعه حاضر میزان متیونین در *C. calcitrans* (۳/۸۸±۱/۱۲ درصد) کمتر از *C. muelleri* (۵/۳۵±۱/۲۳ درصد) بود که با نتایج مطالعه Brown (۲۰۰۲) بر خواص تغذیه‌ای ریزجلبک‌ها در تکثیر و پرورش ماهیان دریایی و میزان اسیدهای آمینه آن‌ها، مغایرت دارد، به طوری که در مطالعه ذکر شده میزان اسیدهای آمینه متیونین و تریپتوفان کمتر از مقادیر به دست آمده در مطالعه حاضر است. این اختلاف به دلیل تفاوت در خصوصیات محیط کشت جلبک است. در مطالعه Zhang و Richmond (۲۰۰۳) که ترکیب بیوشیمیایی کشت خالص *Isochrysis galbana* (یکی از جنس‌های دیاتومه) را مورد بررسی قرار دادند، در کشت تک‌گونه‌ای *I. galbana* میزان اسیدهای آمینه متیونین ۲/۸۸±۱/۷۴ درصد و تریپتوفان ۱/۹۵±۱/۷۶ درصد بود که کمتر از مقادیر به دست آمده در

در مطالعه حاضر میزان اسید آمینه فنیل آلانین در *C. calcitrans* ($1/64 \pm 1/14$) درصد) کمتر از مقدار آن در *C. muelleri* ($1/86 \pm 1/17$) درصد) بود. مقدار فنیل آلانین در مطالعه Brown (۲۰۰۲) ۵/۸ درصد بود و اختلاف آن با مطالعه حاضر به دلیل تفاوت شدت تابش نور در محیط کشت جلبک است. در مجموع با توجه به نتایج مطالعه حاضر و کاربردهایی که این پروتئین در صنایع مختلف دارد، پروتئین سیلافین استخراج شده می‌تواند جایگزین مناسبی برای سایر مواد شیمیایی پرمصرف در صنایع آرایشی، تولید رنگ، کاتالیزورها و بیوسنسورها در آنالیزهای مختلف باشد و حتی می‌توان از ریزجلبک‌های *C. muelleri* و *C. calcitrans* در صنایع غذایی استفاده کرد. همچنین با توجه به تجزیه اسیدهای آمینه در این دو ریزجلبک و میزان پروتئین موجود در آن می‌تواند گزینه مناسبی برای استفاده در آبی‌پروری باشد. در نهایت با توجه به مقادیر به دست آمده، پروتئین سیلافین در دو ریزجلبک، ریزجلبک *C. muelleri* می‌تواند گزینه مناسب‌تری نسبت به ریزجلبک *C. calcitrans* برای استفاده در صنایع باشد، اما اختلاف در مقدار پروتئین برداشت شده نیز بر اساس تفاوت در دما،

Brown (۲۰۰۲) که خواص تغذیه‌ای ریزجلبک‌ها و میزان اسیدهای آمینه را بررسی کردند مغایرت دارد و از مقادیر اسید آمینه آسپارژین در مطالعه ذکر شده به همراه گلوتامیک اسید، کمتر بود. این اختلاف‌ها به دلیل تفاوت شرایط کشت جلبک‌ها است. نتایج مطالعه Granum و همکاران (۲۰۰۲) بر تغییرات روزانه اسیدهای آمینه در دیاتومه *Skeletonema costatum* با نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد، به طوری که میزان آسپارژین در مطالعه آن‌ها ۲ درصد بود که مقدار آن بیشتر از مطالعه حاضر بود. این اختلاف ناشی از تفاوت در زمان نمونه‌برداری است.

در مطالعه حاضر میزان اسید آمینه گلیسین در *C. calcitrans* ($2/63 \pm 1/13$) درصد) کمتر از مقدار آن در *C. muelleri* ($2/81 \pm 1/15$) درصد) بود که با نتایج مطالعه Lohrenz و Taylor (۱۹۸۷) در بررسی پروتئین *Chaetoceros simplex* مغایرت دارد. میزان گلیسین در مطالعه Lohrenz و Taylor (۱۹۸۷) ۱۲/۴ درصد بود که بیشتر از مطالعه حاضر بود. این اختلاف ناشی از مواد معدنی مورد استفاده در محیط کشت است.

شوری و اختلاف در زمان برداشت، شدت تابش مواد تشکیل دهنده آن‌ها می‌تواند متغیر باشد. نور، طول زمان نمونه برداری، محیط کشت و

منابع

- فرامرزی م.ع.، فروتن فرح. و شکیبایی م. ۱۳۸۹. بیوتکنولوژی ریز جلبک‌ها. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۳۹۸ ص.
- سلطانی ن. و غفاری ر. ۱۳۹۱. بیولوژی و فیزیولوژی جلبک‌ها. انتشارات دانشگاه شهید بهشتی. ۲۳۴ ص.
- Bansemir A., Blume M., Schroder S. and Lindequist U. 2006.** Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252: 79–84.
- Brown M.R. 2002.** Nutritional value and use of microalgae for aquaculture. P: 281–292. In: Cruz-Suarez L.E., Ricque-Marie D., Tapia-Salazar M., Gaxiola-Cortes M.G. and Simoes N. (Eds.). *Avances en Nutricion Acuicola VI. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutricion Acuicola*, Mexico.
- Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K. and Dunstan G.A. 1997.** Nutritional properties of microalgae for mariculture, *Aquaculture*, 151: 315–331.
- Dashtian Nasab A., Afshar N., Mehrabi M.R. and Yeganeh V. 2009.** Investigating the effects of marine algae on the prevention and control of white spot disease in the Western Pacific shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 18(7): 84–57.
- Granum E., Kirkvold S.M. and Myklestad S. 2002.** Cellular and extracellular production of carbohydrates and amino acids by the marine diatom *Skeletonema costatum*: Diel variations and effects of N depletion. *Marine Ecology Progress Series*, 242: 83–94.
- Hellio C., De La Broise D., Dufosse L., Le Gal Y. and Bourgougnon N. 2001.** Inhibition of marine bacteria by extracts of macroalgae: Potential use for environmentally friendly antifouling paints. *Marine Environmental Research*, 52(3): 231–247.
- Kadam S.U. and Prabhasankar P. 2010.** Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products. *Food Research International*, 43: 1975–1980.
- Lananan F., Jusoh A., Ali N., Lam S.S. and Endut A. 2013.** Effect of Conway medium and f/2 medium on the growth of six genera of South China Sea marine microalgae. *Bioresource Technology*, 141: 75–82.
- Lohrenz S. and Taylor C. 1987.** Primary production of protein: I.

- Comparison of net cellular carbon and protein synthesis with C-derived rate estimates in steady-state cultures of marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series*, 35: 277–292.
- Manurung A., Syah D., Rika Pratiwi A. 2007.** Isolation and characterization of silaffin that catalyze biosilica formation from marine diatom *Chaetoceros gracili*. *Hayati Journal of Biosciences*, 14(3): 119–122.
- Martinez-Cordova L., Martinez-Porchas M., Lopez-Elias J. and Garcia-Sifuentes C. 2012.** Effect of alternative mediums on production and proximate composition of the microalgae *Chaetoceros muelleri* as food in culture of the copepod *Acartia* sp. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 40(1): 169–176.
- Raa J. 1996.** The use of immune-stimulatory substances in fish and shellfish farming. *Reviews in Fisheries Science*, 4(3): 229–288.
- Raghavan G., Gireesh R., Haridevi C.K. and Gopinathan C.P. 2008.** Growth and proximate composition of the *Chaetoceros calcitrans* f. *pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. *Aquaculture Research*, 39: 1053–1058.
- Rodriguez E., Lopez-Elias J., Aguirre-Hinojosa E., Carza-Aguirre M., Constanyino-franco F., Miranda-Baeza A. and Nieves-Soto M. 2006.** The effect of microalgal diets on growth, biochemical composition, and fatty acid profile of *Crassostrea corteziensis* (Hertlein) juveniles. *Aquaculture*, 263: 199–210.
- Shrestha R., Tesson B., Norden-Krichmar T., Federowicz S., Hildebrand M.E. and Allen A. 2012.** Whole transcriptome analysis of the silicon response of the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *BMC Genomics*, 13: 1–16.
- Vega J.M.P., Roa M.A.C., Saavedra M.D.P.S., Ramirez D.T. and Davalos C.R. 2010.** Effect of culture medium and nutrient concentration on fatty acid content of *Chaetoceros muelleri*. *Revista Latinoamericana de Biotecnologia Ambientaly Algal*, 1: 6–15.
- Zhang C.W. and Richmond A. 2003.** Sustainable, high-yielding outdoor mass culture of *Chaetoceros muelleri* var. *subsalsum* and *Isochrysis galbana* in vertical plate reactors. *Marin Biotechnology*, 5(3): 302–013.



Research Paper

Comparison of silaffin from two microalgae *Chaetoceros calcitrans* and *Chaetoceros muelleri*

Saad Bazyar¹, Mansoreh Ghaeni^{2*}, Nasrin Choobkar³, Narges Javadzadeh²

Received: July 2018

Accepted: November 2018

Abstract

Silaffin is one of the proteins found abundantly in microalga *Chaetoceros*. It is used in the cosmetics, health and nutrition industries. In this study, extracted silaffin from two microalgae *Chaetoceros muelleri* and *Chaetoceros calcitrans* have been compared. For the experiment, the silica wall of the samples prepared from Bandar Abbas was extracted by using EDTA and SDS and their protein concentration was measured by Bradford method. Then, molecular weight was estimated by SDS-PAGE electrophoresis to identify the available amino acids. Amino acids were analyzed by HPLC. Results showed a significant difference in the amount of silaffin extracted from *C. muelleri* compared to *C. calcitrans* ($P < 0.05$). Also, there was no significant difference between two microalgae in the amount of aspartic acid, asparagine, glycine, valine and tyrosine + alanine ($P > 0.05$). However, the amount of glutamic acid, serine, phenylalanine, isoleucine, leucine, methionine, tryptophan, arginine, threonine, and glutamine + histidine was significantly different ($P < 0.05$). *C. muelleri* in terms of the protein content of silaffin can be a better option for use in different industries with a biotechnological approach in food and pharmaceutical industries.

Key words: *Silaffin*, *Amino Acid*, *Diatom*, *Chaetoceros muelleri*, *Chaetoceros calcitrans*.

1- M.Sc. in Fisheries, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

2- Associate Professor in Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Ahvaz, Iran.

3- Associate Professor in Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Iran.

*Corresponding Author: Mansoreh.Ghaeni@gmail.com