

ساخت کمپلکس کیتوزان-ملانین از ضایعات دریایی و ارزیابی فعالیت جاذب پرتوی فرابنفش آن

طیبه زارعی کرمانی^۱، مرتضی یوسفزادی^{۲*}، فاطمه صداقت^۱، معروف زارعی^۳

DOI: 10.22124/japb.2024.24296.1493

تاریخ پذیرش: خرداد ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: فروردین ۱۴۰۲

چکیده

پرتوی فرابنفش خورشید تاثیر بسیار منفی و خطرناکی بر پوست انسان می‌گذارد و باعث ایجاد سرطان پوست می‌شود. ضدآفتاب‌های معمولی به دلیل داشتن ترکیبات شیمیایی مشکلاتی را در برخی افراد ایجاد می‌کنند که این امر تقاضا برای ضدآفتاب‌های حاوی مواد طبیعی را افزایش داده است. در این راستا و به منظور دستیابی به ترکیبات طبیعی ایمن ضدآفتاب، از دو پلیمر کیتوزان و ملانین به عنوان فیلتر پرتوی فرابنفش (UV) در کرم‌های ضدآفتاب، استفاده شد. ابتدا، کیتوزان از ضایعات میگو و ملانین از جوهر نرم‌تن مرکب استخراج و در قالب کمپلکس کیتوزان-ملانین ساخته شد. در ادامه، فعالیت جاذب پرتوی فرابنفش کمپلکس به دست آمده به روش طیف‌سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری مورد بررسی قرار گرفت. سنجش میزان SPF (در طول موج ۲۹۰ تا ۳۲۰ نانومتر) نشان داد که این ترکیب دارای SPF ۲۲/۶ است. از نتایج این پژوهش می‌توان چنین نتیجه گرفت که کمپلکس کیتوزان-ملانین به دلیل عملکرد زیستی و عدم سمیت می‌تواند به عنوان یک جایگزین مناسب برای ترکیبات شیمیایی موجود در ضدآفتاب‌ها و محصولات آرایشی-بهداشتی دیگر مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: کیتوزان، پرتوی فرابنفش، ملانین، نرم‌تن مرکب.

۱- دانشجوی دکتری زیست‌شناسی دریا، گروه زیست‌شناسی دریا، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۲- استاد گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه قم، قم، ایران.

۳- استاد گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

* نویسنده مسئول: morteza110110@gmail.com

مقدمه

پرتوی فرابنفش (UV) خورشید شامل سه طیف از طول موج‌های نامرئی هستند: UVA، UVB و UVC. UVA (۳۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر) عامل چین و چروک پوست، تغییر رنگ و برنزه شدن پوست، UVB (۲۸۰ تا ۳۲۰ نانومتر) عامل آفتاب‌سوختگی، قرمزی و بیماری‌های پوستی مانند سرطان و UVC (۲۰۰ تا ۲۸۰ نانومتر) بسیار خطرناک بوده و عامل اصلی ایجاد سرطان پوست است، اما خوشبختانه در جو زمین به دام می‌افتد (Wang et al., 2018; Supanakorn et al., 2022). در چند دهه اخیر، به دلیل آلودگی‌ها و مواد آلوده وارد شده به جو مانند کلرفلوروکربن و دی‌اکسید نیتروژن، ضخامت لایه اوزن کاهش یافته که باعث افزایش میزان پرتوی UVB در اطراف سطح زمین شده است و نیاز به استفاده از کرم‌های ضدآفتاب را بیشتر کرده است تا آسیب‌های ناشی از پرتوی فرابنفش خورشید را کاهش دهد (Bolaji and Huan, 2013; Morsy et al., 2017).

کرم‌های ضدآفتاب را می‌توان به دو نوع شیمیایی و فیزیکی تقسیم کرد. در کرم‌های ضدآفتاب فیزیکی از فیلترهای UV فیزیکی مانند تیتانیوم دی‌اکسید و روی اکسید

استفاده می‌شود که امواج فرابنفش را بازتاب یا انعکاس می‌دهند و از ورود آن به پوست جلوگیری می‌کنند. این کرم‌ها به عنوان خنثی‌کننده‌های فیزیکی شناخته می‌شوند (Supanakorn et al., 2022). کرم‌های ضدآفتاب شیمیایی معمولاً از ترکیباتی مانند آووبنزون (Avobenzone)، اسید سولفونیک ترفتالیلیدین دی‌کامفور (Terephthalylidene Dicamphor Sulfonic Acid) و درومتريزول تری‌سیلوکسان (Drometrizole Trisiloxane) استفاده می‌کنند. این ترکیبات به‌تنهایی حفاظت کافی را در برابر طیف گسترده‌ای از پرتوی فرابنفش فراهم نمی‌کنند، بنابراین معمولاً به همراه یکدیگر استفاده می‌شوند (Donglikar and Deore, 2016). استفاده از ضدآفتاب مناسب، از تأثیرات مخرب پرتوی فرابنفش بر روی پوست جلوگیری می‌کند و به جلوگیری از آسیب‌های ناشی از آن مانند سرطان، آفتاب‌سوختگی و تیرگی پوست کمک می‌کند (Geng et al., 2008; Piccirillo et al., 2014; Supanakorn et al., 2022). این مسئله تقاضا را برای ضدآفتاب‌های بسیار کارآمد و موثری که به لحاظ شیمیایی بی‌ضرر و ایمن باشند و

حفاظت کافی در برابر طیف گسترده UV را فراهم کنند، در سال‌های اخیر افزایش داده است. یکی از موادی که می‌توان از آنها در ضدآفتاب‌ها استفاده کرد، ملانین‌ها هستند. ملانین یک گروه از پلیمرهای زیستی هستند که در انسان‌ها و جانداران دیگر وجود دارند و عملکردهای مختلفی دارند (Chen et al., 2010; Magarelli et al., 2010). در انسان، ملانین مسئول تولید رنگدانه‌های پوست است و همچنین به عنوان یک محافظ در برابر پرتوی فرابنفش خورشید عمل می‌کند. همچنین قادر است پرتوی فرابنفش را جذب کرده و از آسیب به هسته سلول و DNA جلوگیری کند (Aliev et al., 2013; Kurian et al., 2014; Saini et al., 2015). ملانین در صنایع مختلفی نیز کاربرد دارد از جمله صنایع کشاورزی، پزشکی، لوازم آرایشی و دارویی. قدرت ملانین در جذب طیف گسترده‌ای از نور خورشید، آن را به یک ماده مفید برای استفاده در کرم‌های ضد آفتاب تبدیل کرده است (Mbonyirivuze et al., 2015). با فیلتر کردن پرتوی فرابنفش و جذب گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species)، ملانین می‌تواند به کاهش آسیب پرتوی فرابنفش در داخل بدن کمک کرده و

در نتیجه از آسیب به هسته سلول و DNA محافظت کند (Perna et al., 2013; Liang et al., 2018). ملانین به عنوان یک عامل مفید در تقویت پوست انسان و جلوگیری از پیری و چین و چروک شناخته شده است. این پلیمر می‌تواند به حفظ سلامت و جوانی پوست کمک کند (Dong et al., 2017). در کنار ملانین، بیوپلیمر دیگری نیز وجود دارد که به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد آن توجه زیادی را در سال‌های اخیر به خود جلب کرده است. کیتوزان با نام علمی پلی β -(۴،۱)-۲-آمینو-۲-داکسی-D-گلوکوپیرانوز، کوپلیمری از β -(۴ $\leftarrow$ ۱)-۲-آمینو-۲-داکسی-D-گلوکان و β -(۴ $\leftarrow$ ۱)-۲-آمینو-۲-داکسی-D-گلوکان است که از فرآیند استیل‌زدایی کیتین به دست می‌آید. این پلیمر در هر حلقه گلوکز، دارای یک گروه آمین آزاد و دو گروه هیدروکسی آزاد است (Rafique et al., 2016). بیشتر پلی‌ساکاریدهای موجود در طبیعت از جمله سلولز، دکستران، پکتین، آلجینیک اسید، آگار، آگاروز و کاراجینان به صورت خنثی یا اسیدی هستند، در حالی که کیتین و کیتوزان به صورت بازی در طبیعت وجود دارند. همین ویژگی منحصر به فرد است

که آنها را قادر می‌سازد تا به صورت شیمیایی با چربی‌ها، کلسترول، پروتئین‌ها، DNA، RNA و یون‌های فلزی پیوند تشکیل دهند. کیتوزان به دلیل حضور گروه‌های آمین در موقعیت کربن شماره ۲، بسیار پرکاربردتر از کیتین است (Yaqoob et al., 2021). ویژگی‌های منحصر به فردی چون زیست‌سازگاری، زیست‌تخریب‌پذیری، غیرسمی بودن، فعالیت ضدباکتریایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی منجر به کاربرد گسترده این پلیمر در صنایع مختلف شده است (Shariatnia and Jalali, 2018). با توجه به مطالب یاد شده و به دلیل نیازی که در صنایع آرایشی-بهداشتی به تولید ضدآفتاب‌هایی بر پایه ترکیبات طبیعی احساس می‌شود، مطالعه حاضر با هدف دستیابی به یک ترکیب طبیعی ایمن و مطلوب قابل استفاده در ضدآفتاب‌ها، انجام شده است. در این پژوهش از ترکیباتی مانند ملانین و کیتوزان استفاده شده است.

ملانین که از جوهر نرم‌تن مرکب به دست می‌آید، یک رنگ دانه طبیعی است و توانایی جذب پرتوی فرابنفش را دارد. به علاوه، کیتوزان که از ضایعات میگو موزی (*Fenneropenaeus merguensis*) به دست

می‌آید، یک پلی‌ساکارید طبیعی است که خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی دارد. با ترکیب این دو ماده، ترکیبی تولید می‌شود که همراه با ویژگی‌های ضدآفتاب ملانین، خواص ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی کیتوزان را نیز دارا است. ترکیب ملانین-کیتوزان به عنوان یک ترکیب طبیعی می‌تواند به دلیل استفاده از ماده ملانین، که رنگدانه طبیعی پوست است و همچنین استفاده از کیتوزان با خواص ضدآفتابی، ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی، به عنوان یک جایگزین ایمن و مطلوب برای ترکیبات شیمیایی ضدآفتاب مورد استفاده قرار گیرد. این ترکیب می‌تواند به محافظت از پوست در برابر پرتوهای فرابنفش و جلوگیری از آسیب سلولی ناشی از اکسیداسیون کمک کند. این پژوهش به بررسی بهبود ترکیبات ضدآفتاب طبیعی و ایجاد گزینه‌های ایمن و مطلوب برای محصولات مراقبت از پوست پرداخته است.

مواد و روش‌ها

استخراج ملانین از جوهر نرم‌تن مرکب

نرم‌تن مرکب تازه صید شده از بازار ماهی‌فروشان شهر بندرعباس خریداری و همراه با یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. سپس

کیتوزان مطابق با روش Aneesh و همکاران (۲۰۲۰) استفاده شد. ابتدا، پوسته‌ها در محلول آبی سدیم هیدروکسید ۳ درصد با حفظ نسبت ۲:۳ به مدت ۴۵ دقیقه جوشانده شدند. سپس فاز مایع دور ریخته شد و پوسته‌ها با آب مقطر شسته شدند. در مرحله بعد، پوسته به دست آمده میگو با محلول ۱/۲۵ مولار هیدروکلرید اسید تحت هم زدن ثابت قرار گرفت. در نهایت، برای به دست آوردن کیتین پودر به دست آمده چندین مرتبه با آب مقطر شستشو داده شد (Ghorbel-Bellaaj et al., 2012; Aneesh et al., 2020).

استخراج کیتوزان

به منظور استخراج کیتوزان از کیتین از فرآیند استیل‌زدایی استفاده شد. به این منظور کیتین تهیه شده تحت تیمار سدیم هیدروکسید ۴۰ درصد با حفظ نسبت ۱:۱۰ (جامد: مایع) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. در پایان فرایند، فاز رویی تخلیه شد و رسوب به دست آمده پس از شستشو کامل با آب مقطر، به منظور خشک شدن در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (Knidri et al., 2019; Aneesh et al., 2020).

کیسه حاوی جوهر از نرم‌تن مرکب جداسازی و بعد از اندازه‌گیری وزن به یخچال منتقل شد. در ادامه (قبل از شستشو)، جوهر نرم‌تن مرکب با استفاده از دستگاه هموژنایز (D-130, Wiggen, آلمان) در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه (برای پنج بار) هم زده شد. سپس محلول به دست آمده به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (5810R, Eppendorf, آلمان) شد و ملانین استخراج شد (این فرایند سه بار تکرار شد). در نهایت، به منظور خشک شدن، نمونه به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد (Wang and Rhim, 2019; Ghattavi et al., 2023).

استخراج کیتوزان از پوسته میگو

آماده کردن نمونه و استخراج کیتین

برای استخراج کیتین، ابتدا ضایعات میگوی موزی (*Penaeus merguensis*)، گونه غالب صیدگاه‌های شهرستان بندرعباس، به صورت تازه از بازار ماهی‌فروشان خریداری و همراه با یخ به آزمایشگاه منتقل شد. سپس، پوسته میگو با استفاده از آب مقطر شستشو داده شد تا ضایعات و بقایای گوشت از آن جدا شود. از پوسته به دست آمده برای استخراج کیتین و

ساخت کمپلکس کیتوزان-ملانین

از سیستم رفلکس برای ساخت کمپلکس کیتوزان-ملانین استفاده شد. به این منظور، ۴۵ میلی‌لیتر اتانول خالص و ۴ قطره سولفوریک اسید به ظرف حاوی ۰/۲ گرم کیتوزان و ۱/۲۷ گرم ملانین اضافه شد و تحت شرایط $SPF = 45 \times \sum_{290}^{320} (EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda))$ گرفت. بعد از اتمام زمان رفلکس، محلول به دست آمده در ۱۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب به دست آمده در دستگاه فریزدرایر (Christ، آلمان) خشک و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Khayrova et al., 2021; Ghattavi et al., 2023).

ارزیابی فعالیت جاذب پرتوی فرابنفش

کمپلکس کیتوزان-ملانین با حلال DMSO (Dimethyl Sulfoxide) ترکیب و به منظور انحلال بهتر به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه سونیکت (Hielscher Ultrasonics، آلمان) قرار گرفت. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول به دست آمده درون کوط ریخته شد و در دستگاه اسپکتروفتومتر (UV/Vis 6305، Jenway، انگلستان) قرار گرفت. در ادامه جذب نمونه‌ها در طول‌موج‌های ۲۸۰-۳۲۰

نانومتر یادداشت شد. محاسبه شاخص محافظت ضدآفتاب (SPF) با استفاده از رابطه ۱ انجام گرفت (Rincon-Fontan et al., 2018).

رابطه ۱:

CF: ضریب تصحیح؛ $EE(\lambda)$: طیف بازده ارتیمی؛ $I(\lambda)$: طیف شیشه‌ساز خورشیدی که با یک طیف‌سنج کالیبره شده اندازه‌گیری شد؛ $Abs(\lambda)$: اندازه‌گیری طیف و میزان جذب محصول.

ارزیابی سمیت کمپلکس کیتوزان-ملانین

برای تهیه ناپلی آرتمیا ۰/۵ گرم سیستم *Artemia urmiana* در شرایط آزمایشگاهی تخم‌گذاری قرار داده شد (۱ لیتر آب با شوری ۲۸ گرم در لیتر، pH ۷/۲-۹ و دمای ۲۷-۲۹ درجه سانتی‌گراد). ناپلی‌های تخم‌گذاری شده پس از ۴۸ ساعت برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. در ادامه، به چاهک‌های پلیت ۲۴ خانه، ۵۰۰ میکرولیتر آب دریا و تعداد ۱۰ آرتمیا اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت تحت تیمار با غلظت‌های ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ میلی‌گرم در لیتر کمپلکس کیتوزان-ملانین قرار گرفت (Hisem et al., 2011). این آزمایش با چهار

تکرار و در حضور DMSO به عنوان حلال صورت گرفت. برای هر نمونه مقادیر LC₅₀ تعیین شد.

آنالیز، بررسی شکل ذرات، پراکندگی و یکنواختی ترکیب کیتوزان-ملانین در کامپوزیت بود.

تجزیه و تحلیل FT-IR

برای تعیین گروه‌های عاملی نمونه خشک شده کیتوزان، ملانین و کمپلکس کیتوزان-ملانین از تجزیه و تحلیل FT-IR (Fourier Transform Infrared) استفاده شد. این تجزیه و تحلیل، روشی است که برای تعیین گروه‌های عاملی و نوع پیوند بین مولکول‌ها در ترکیبات شیمیایی و آلی مورد استفاده قرار می‌گیرد. به این منظور، نمونه‌های به دست آمده با برمید پتاسیم مخلوط و به صورت قرص شفاف در آمد و در دستگاه طیف‌سنجی قرار گرفت. طیف FT-IR با اسکن در محدوده ۵۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی‌متر به دست آمد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی

ریخت‌شناسی سطحی نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM، S-4160، Hitachi، ژاپن) بررسی شد. برای بهبود رسانایی سطح، نمونه‌ها پیش از تصویربرداری با لایه‌ای نازک از طلا (یا آلیاژ طلا-پالادیوم) پوشش داده شد. هدف از این

تجزیه و تحلیل داده‌ها

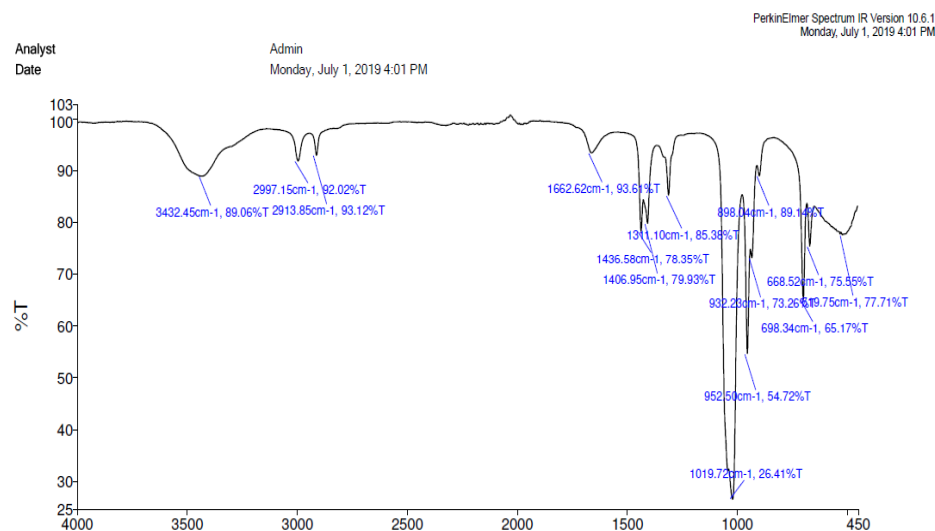
تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و پس‌آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($P < 0.05$) صورت گرفت. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 استفاده شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل FT-IR ملانین

طیف‌سنجی FT-IR برای تفسیر ساختار، ظرفیت اتصال، جذب و جایگاه‌های یون‌های فلزی در ملانین مهم است. با توجه به شکل ۱ پیک‌هایی در ۳۴۳۲ بر سانتی‌متر مشاهده می‌شود که در محدوده یک پیک گسترده است. این پیک جذب گسترده نشان دهنده حالت‌های ارتعاش کششی N-H یا O-H است. (Centeno and Shamir, 2008; Magarelli et al., 2010; Ghattavi et al., 2023). دو پیک مشاهده شده در طیف FT-IR در بازه ۲۹۹۷ و ۲۹۱۳ بر سانتی‌متر به

عنوان کششی CH اختصاص داده می‌شوند (Centeno and Shamir, 2008; Mbonyirivuze et al., 2015). همچنین جذب در ناحیه ۳۲۰۰ تا ۳۴۰۰ بر سانتی‌متر می‌تواند نتیجه ارتعاشات کششی N-H یا O-H باشد که شامل OH فنولیک و کربوکسیلیک و گروه‌های آمین در ایندول و پیرول باشد.



شکل ۱: طیف FT-IR ملانین استخراج شده از جوهر نرم‌تن مرکب

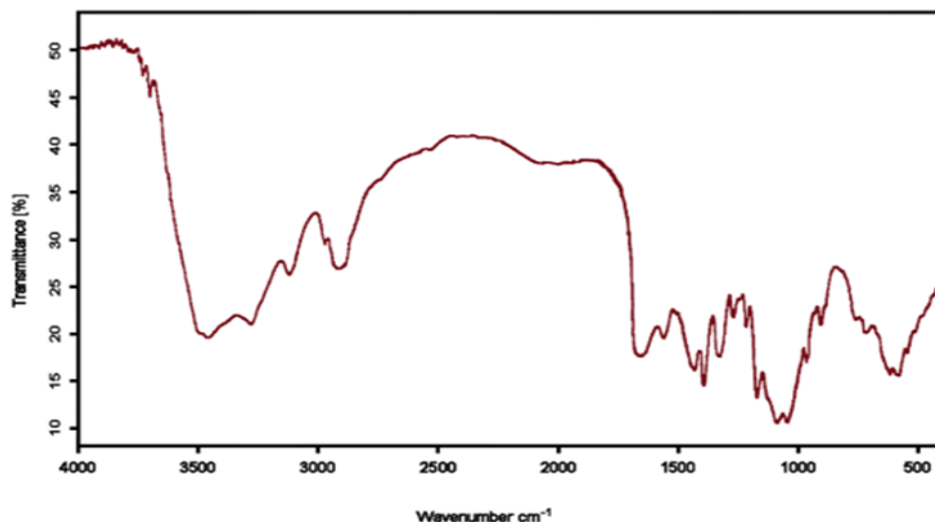
در محدوده طیفی بین ۱۷۵۰ و ۱۵۵۰ بر سانتی‌متر، ارتعاش کشش پیوند دوگانه C=O (COOH) و همچنین پیوندهای دوگانه C=C و پیوند N-C سیستم آروماتیک است که در منطقه ۱۴۰۰-۱۳۰۰ بر سانتی‌متر وجود دارد (Magarelli et al., 2010). با وجود خاصیت جذب یون‌های فلز در ملانین نرم‌تن مرکب، میدان جذبی در ۱۷۰۰ بر سانتی‌متر، ارتعاش کشش پیوند دوگانه C=O (COOH) و همچنین پیوندهای دوگانه C=C و پیوند N-C سیستم آروماتیک است که در منطقه ۱۴۰۰-۱۳۰۰ بر سانتی‌متر وجود دارد (Magarelli et al., 2010). با وجود خاصیت جذب یون‌های فلز در ملانین نرم‌تن مرکب، میدان جذبی در ۱۷۰۰ بر سانتی‌متر، ارتعاش کشش پیوند دوگانه C=O (COOH) و همچنین پیوندهای دوگانه C=C و پیوند N-C سیستم آروماتیک است که در منطقه ۱۴۰۰-۱۳۰۰ بر سانتی‌متر وجود دارد (Magarelli et al., 2010). با وجود خاصیت جذب یون‌های فلز در ملانین نرم‌تن مرکب، میدان جذبی در ۱۷۰۰ بر سانتی‌متر، ارتعاش کشش پیوند دوگانه C=O (COOH) و همچنین پیوندهای دوگانه C=C و پیوند N-C سیستم آروماتیک است که در منطقه ۱۴۰۰-۱۳۰۰ بر سانتی‌متر وجود دارد (Magarelli et al., 2010).

بر سانتی‌متر کاهش یافت. پیک‌های ۱۴۰۰ تا ۱۶۰۰ بر سانتی‌متر به ارتعاش خمشی پیوند گروه‌های C-H آلیفاتیک در رنگدانه ملانین نسبت داده می‌شوند (Sajjan et al., 2010). مرکز جذب در ۱۴۳۶ بر سانتی‌متر (ارتعاش خمشی CH₂-CH₃) یکی از ویژگی‌های ملانین است. کشش فنلی C-OH در ۱۳۱۱ بر سانتی‌متر مربوط به ترکیبات فنلی است. مرکز

تجزیه و تحلیل FT-IR کیتوزان

نتایج FT-IR نمونه کیتوزان استخراج شده (شکل ۲) با نتایج Ghattavi و همکارانش در سال ۲۰۲۳ و همچنین Jang و همکارانش در سال ۲۰۰۴ یکسان است. به طور کلی، پیک‌های جذب حدود ۱۶۶۰، ۱۵۵۰ و ۹۷۳ بر سانتی‌متر که از جمله خاصیت‌های کیتوزان است، به ترتیب نوارهای آمید I، II و III هستند. پیک تیز در محدوده جذب ۱۳۷۸ بر سانتی‌متر به حالت تغییر شکل متقارن OCH_3 اختصاص داده شده است (Jang et al., 2023; Ghattavi et al., 2004). این پیک‌های مشخص شده به یکدیگر شباهت دارند، اما پیک آمید I با توجه به ساختار بلوری به دلیل پیوند هیدروژنی کمی متفاوت شده است.

جذب در ۱۰۱۹ بر سانتی‌متر نشانگر ارتعاش کششی C=O آلیفاتیک است که این نیز ویژگی رنگدانه ملانین است (Yao et al., 2012). مرکز مشاهده شده در ۹۵۲ تا ۷۵۰ بر سانتی‌متر ناشی از خم شدن خارج از صفحه از گروه C-H آروماتیک است. پیک‌های زیر ۷۰۰ بر سانتی‌متر به C-H آلیفاتیک در رنگدانه ملانین نسبت داده می‌شوند (Wang and Rhim, 2019). تفاوت در پیک ۲۹۱۳ بر سانتی‌متر نشان داد که ملانین نرم‌تن مرکب دارای محتوای بالایی از ساختارهای آلیفاتیک است. از آنجایی که رنگ ملانین ناشی از جذب نور توسط الکترون‌های کروموفورها (واحدهای دوگانه مزدوج در Eumelanin) است، مرکز جذب ۱۶۶۲ بر سانتی‌متر از پیک‌های NH و CN ملانین نرم‌تن مرکب را نشان می‌دهد (Wang and Rhim, 2019).



شکل ۲: طیف FT-IR کیتوزان استخراج شده از ضایعات میگو

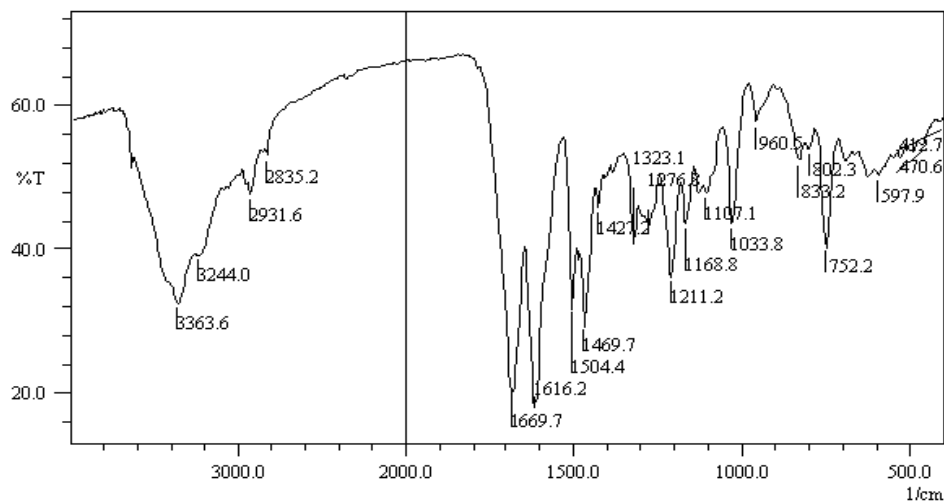
(۳۶۰۰-۳۰۰۰ بر سانتی‌متر) گروه کیتوزان دارای یک ساختار دقیق است که به نظم در پیک‌های مختلف ماکرومولکول‌ها نسبت داده می‌شود (Ghattavi et al., 2023).

تجزیه و تحلیل FT-IR کمپلکس کیتوزان-ملانین

نتایج FT-IR کمپلکس کیتوزان-ملانین (شکل ۳) پیکی را در محدوده ۳۳۶۳-۳۲۴۴ بر سانتی‌متر نشان داد که مربوط به گروه عاملی OH است. وجود پیک‌های جذب ۲۸۳۵-۲۹۳۱ بر سانتی‌متر را می‌توان به ارتعاش کششی گروه عاملی C-H آلیفاتیک

وجود پیک‌های جذبی روی نمونه کیتوزان در محدوده جذب ۳۴۰۰، ۲۸۰۰، ۱۶۶۰، ۱۵۵۰، ۱۳۲۰ و ۱۰۹۰ بر سانتی‌متر بیانگر گروه‌های $\text{CH}_2\text{-NH}_2$ و CH-OH موجود در ساختار کیتوزان است. در ساختار کیتوزان، وجود پیک‌های کششی N-H در محدوده ۳۴۲۰ و ۳۴۰۰ بر سانتی‌متر، O-H در محدوده ۳۴۸۰ و ۳۴۵۰ بر سانتی‌متر و پیک‌های کششی C-H برای گروه‌های CH_2 و CH_3 در محدوده ۲۹۶۰ و ۲۸۴۰ بر سانتی‌متر دارای فرکانس‌های جذبی هستند (Mohammed et al., 2013; Ghattavi et al., 2023). در منطقه مربوط به OH و NH

اختصاص داد (Mbonnyirivuze et al., 2023 Ghattavi et al., 2015).



شکل ۳: طیف FT-IR کمپلکس کیتوزان-ملانین

پیک جذب در محدوده ۲۸۰۰-۳۶۰۰ بر سانتی-متر به ارتعاشات کششی (N-H و O-H) آمین، آمید یا کربوکسیلیک اسید و گروه‌های آمینی فنولیک و آروماتیک موجود در سیستم‌های اندولیک و پیرولیک اختصاص دارد (Magarelli et al., 2010).

وجود پیک برجسته در محدوده ۱۶۶۹ بر سانتی-متر نوسانات کششی از C=O آمیدی را نشان می‌دهد (El-Naggar and El-Ewasy, 2017). تشکیل پیک جدید در محدوده جذب ۱۶۱۶ بر سانتی-متر مربوط به تشکیل پیوند ایمینی C=N بین گروه عاملی C=O در ملانین و NH₂ در کیتوزان است. وجود

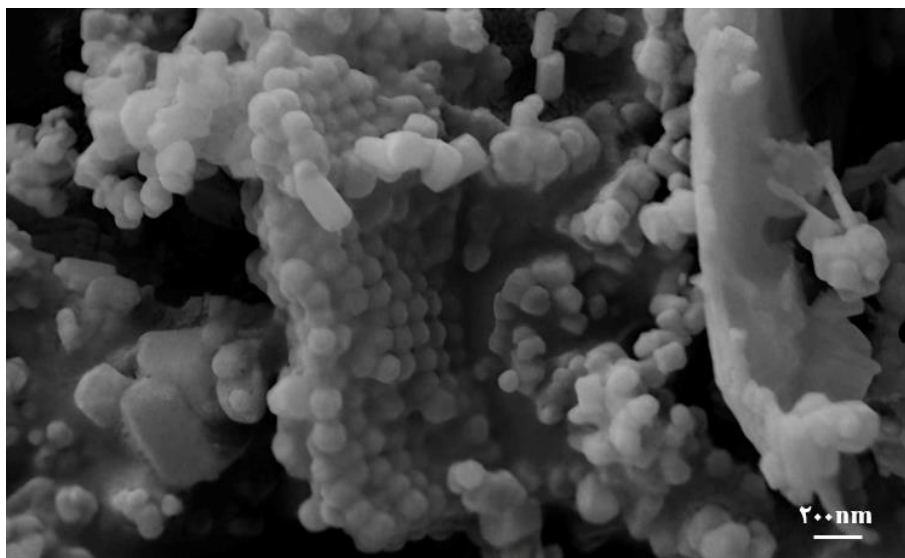
پیک‌هایی در محدوده ۱۴۰۰-۱۵۰۰ بر سانتی-متر به گروه عاملی CH آلیفاتیک در رنگدانه اختصاص دارد (Sajjan et al., 2010). نقطه جذب پیک در ۱۴۲۲ بر سانتی-متر، یکی از ویژگی‌های رنگدانه ملانین، به عنوان نقطه عطف (CH₂-CH₃) شناخته می‌شود. کشش فنولیک C-OH در پیک جذب ۱۲۲۱ بر سانتی-متر مربوط به ترکیبات فنولیک است (Yao et al., 2012). با توجه به وجود یک پیک جدید در ۱۶۱۶ بر سانتی-متر، می‌توان نتیجه گرفت که تشکیل پیوند بین کیتوزان-ملانین و ساخت یک ماده جدید رخ داده است.

تصویر میکروسکوپ الکترونیکی کمپلکس کیتوزان-ملانین

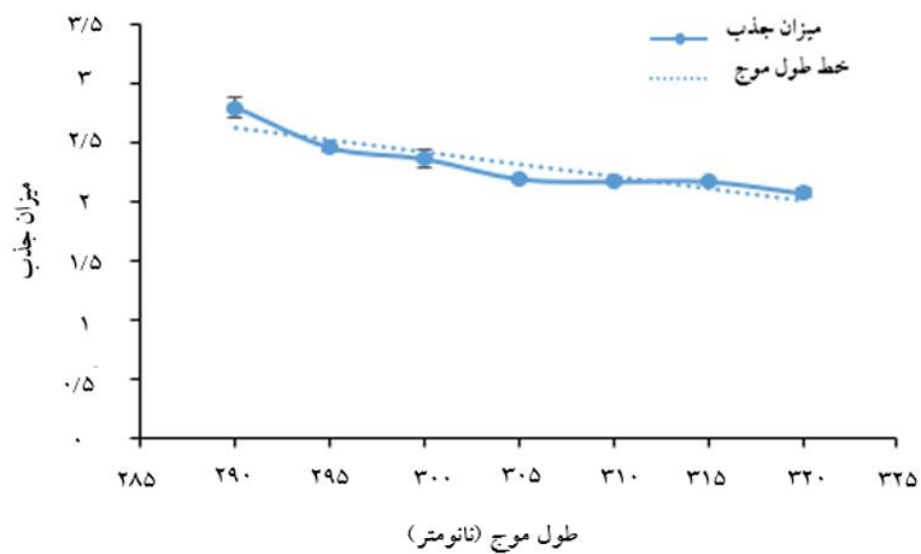
تصویر SEM در شکل ۴ ریخت‌شناسی سطح کامپوزیت کیتوزان-ملانین را نشان می‌دهد. تصویر SEM ساختارهای کروی با سطح نسبتاً صاف و توزیع یکنواخت را در ماتریس کیتوزان نشان می‌دهد. این توزیع یکنواخت در کنار نتایج آنالیزهای تکمیلی (مانند FT-IR) نشانه‌ای از ترکیب موفقیت‌آمیز کیتوزان و ملانین در کامپوزیت است.

ارزیابی فعالیت جاذب پرتوی فرابنفش

مقدار جذب پرتوی فرابنفش خورشید توسط کمپلکس کیتوزان-ملانین در شکل ۵ نشان داده شده است. با اندازه‌گیری طول‌موج در منطقه فرابنفش بین ۲۸۰-۳۰۰ نانومتر، بهترین عملکرد جذب در این ناحیه دیده شد که نشان دهنده جذب نور در منطقه UVB، خطرناک‌ترین نوع پرتوی فرابنفش خورشید، است. این در صورتی است که با انتقال به سمت منطقه مرئی، مقدار جذب کاهش یافت. مقدار جذب UV-Vis برای ترکیب کیتوزان-ملانین ۲۲/۶ با غلظت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود.



شکل ۴: تصویر SEM ترکیب کیتوزان-ملانین



شکل ۵: مقدار جذب پرتوی فرابنفش خورشید توسط کمپلکس کیتوزان-ملاتین

ارزیابی سمیت کمپلکس کیتوزان-ملانین
 نتایج قرارگیری ناپلی *Artemia urmiana* در معرض غلظت‌های مختلف کیتوزان-ملانین به مدت ۴۸ ساعت، برای تعیین فعالیت سمیت سلولی، در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق جدول ۱، پس از ۲۴ ساعت، هیچ مرگ و میری از ناپلی‌هایی که در معرض کمپلکس کیتوزان-ملانین قرار داشتند، مشاهده نشد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، در غلظت ۵۰ میلی گرم در میلی لیتر میانگین مرگ و میر ۱ و

در غلظت ۲۰۰ میلی گرم در میلی لیتر میانگین مرگ و میر ۴/۶۶ بود. میزان مرگ و میر برای ناپلی آرتمیا در مدت زمان ۴۸ ساعت برابر با ۵۳ درصد بود. این نشان داد که افزایش غلظت کیتوزان-ملانین میزان مرگ و میر را افزایش داد. مقدار LC_{50} برای ۲۴ ساعت برابر با صفر بود. این در حالی است که در مدت زمان ۴۸ ساعت، مقدار LC_{50} برای غلظت‌های آزمایش شده برابر با ۱۹۰/۲۴۶ بود.

جدول ۱: سنجش میزان سمیت کمپلکس کیتوزان-ملانین بر *Artemia urmiana* (میانگین $\pm$ انحراف معیار)

غلظت کمپلکس کیتوزان-ملانین (mg/L)		مرگ و میر (%)	
		پس از ۲۴ ساعت	پس از ۴۸ ساعت
۲۰۰		0.00 ± 0.00^a	4.66 ± 0.72^a
۱۰۰		0.00 ± 0.00^a	3.66 ± 0.72^b
۵۰		0.00 ± 0.00^a	2.33 ± 0.27^c
۲۵		0.00 ± 0.00^a	1.71 ± 0.72^c
۱۲/۵		0.00 ± 0.00^a	1.00 ± 0.48^d
۶/۲۵		0.00 ± 0.00^a	0.00 ± 0.00^d
۳/۱۲۵		0.00 ± 0.00^a	0.00 ± 0.00^d
۱/۵۶		0.00 ± 0.00^a	0.00 ± 0.00^d
LC_{50}		۰	۱۹۰/۲۴۶

برای هر غلظت از ۱۰ آرتمیا استفاده شد. در هر ستون، حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها است ($P < 0.05$).

بحث

است (Hoel et al., 2016; Dos Santos et

al., 2020). ضایعات فراوری میگو و جوهر نرم تن مرکب به عنوان ارزشمندترین و بهترین منبع کیتوزان و ملانین هستند که از این ترکیبات به عنوان آنتی اکسیدان در فرمولاسیون های غذایی و مواد آرایشی-بهداشتی استفاده می شود (Aneesh et al., 2020). در مطالعه حاضر، کیتوزان و ملانین از ضایعات موجودات دریایی خلیج فارس استخراج شد و توانایی این ترکیبات در قالب کمپلکس کیتوزان-ملانین برای جذب ترکیبات فرابنفش و عدم وجود سمیت به منظور استفاده در کرم های ضدآفتاب مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که جذب نور توسط کمپلکس کیتوزان-ملانین در ناحیه پرتوی فرابنفش (۲۹۰-۳۲۰ نانومتر) بسیار مناسب است به طوری که می توان از آن در ترکیب با اجزای محافظ نور معمولی یک ترکیب آرایشی استفاده کرد. این نتایج با نتایج مطالعه Liang و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت دارد. نتایج پژوهش Liang و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که ترکیب ملانین با تیتانیوم دی اکسید منجر به جذب پرتوی فرابنفش می شود. همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که ملانین پوشش گسترده و قابل توجهی

خورشید برای زندگی بر روی زمین ضروری است، زیرا قرار گرفتن در معرض آفتاب به اندازه کافی، باعث ارتقا مکانیسم های زیستی مستقل و وابسته به ویتامین D در بدن می شود و همچنین دارای فواید شناخته شده ای برای سلامت انسان ها است. با این حال، قرار گرفتن در معرض نور خورشید و تشعشعات ساطع شده از آن به مدت طولانی باعث آفتاب سوختگی، پیری زودرس، ملانوم^۱ و سرطان های پوست غیرملانومی می شود (Geng et al., 2008; Augustine et al., 2021). به منظور جلوگیری از آسیب های پوستی، استفاده از ضدآفتاب ها ضروری است. با این حال بسیاری از این ترکیبات ضدآفتاب دارای عناصر سرطان زا مثل آووبنزون و بنزوفون (Benzophenone) هستند. از این رو، تقاضا برای ضدآفتاب های حاوی ترکیبات طبیعی که دامنه جذب مناسب دارند و علاوه بر ایجاد حفاظت در برابر پرتوهای فرابنفش آسیب های جانبی برای پوست نداشته باشند، رو به افزایش

۱- تومور سلول های ملانین ساز، بویژه تومور بدخیم مرتبط با سرطان پوست.

داده‌های جذب UV-Vis، بویژه در ناحیه UVB، نشان داد که ترکیب کیتوزان-ملانین می‌تواند به عنوان یک محافظ موثر در برابر پرتوی مضر فرابنفش عمل کند و بر کاربرد بالقوه آن در محافظت از پوست تاکید دارد. علاوه بر این، Yang و همکاران در سال ۲۰۲۰ گزارش کردند که کیتوزان موجود در نانو کامپوزیت کیتوزان-سلولز توانایی محافظت عالی و با دوام را در برابر پرتوی فرابنفش دارد که این نتایج با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر مطابقت دارد. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که برای محصولات ضدآفتاب، شاخص محافظت از نور SPF مهم‌ترین عامل است که بیانگر این موضوع است که کرم ضدآفتاب تا چه اندازه از ایجاد قرمزی پوست ناشی از پرتوهای UVB و UVA جلوگیری می‌کند (Geoffrey et al., 2019). در این پژوهش، SPF کمپلکس کیتوزان-ملانین اندازه‌گیری شد که با بهره‌گیری از روش ارائه شده در متن مقدار SPF ۲۲/۶ تعیین شد. همچنین ناپلی آرمیا به مدت ۴۸ ساعت در غلظت‌های مختلف کیتوزان-ملانین قرار گرفت. نتایج نشان داد که پس از ۲۴ ساعت هیچ مرگ و میری در ناپلی آرمیا مشاهده نشد، اما با افزایش غلظت کیتوزان-ملانین و گذشت ۴۸

از نور UVB و UVA را ارائه می‌دهد و محافظت در برابر پرتوی فرابنفش و پایداری نور نمونه‌های پشم را بهبود می‌بخشد (Liang et al., 2019) که این نتایج با ویژگی‌های اسپکتروفتومتری ارائه شده در شکل ۵ و نتیجه الگو جذب نور فرابنفش توسط کمپلکس کیتوزان-ملانین مطابقت دارد. همچنین نتایج اولیه این پژوهش با نتایج به دست آمده توسط Brenner و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت دارد. مطالعات قبلی در بررسی خاصیت جذب پرتوی فرابنفش ملانین نشان می‌دهد که ملانین به دست آمده از باکتری می‌تواند سلول‌های فیبروبلاست XP را از آپوپتوز ناشی از UVA محافظت کند. چنین محافظتی ممکن است تا حدی به دلیل توانایی مهار ROS توسط ملانین باشد که می‌تواند تجمع جهش‌های مضر در سلول را محدود و بنابراین محافظت موثر را در برابر UVA فراهم کند (Geng et al., 2008). این پدیده از مشخصه‌های ملانین است که به دلیل ساختار پیچیده آن است (Sajjan et al., 2010; Perna et al., 2013). رنگدانه ملانین به دلیل وجود نقش محافظتی در برابر نور خورشید شناخته شده است (Brenner and Hearing, 2008; Tarangini and Mishra, 2014).

ساعت میانگین مرگ و میر ناپلی‌ها افزایش یافت (Ghattavi et al., 2023). میزان مرگ و میر برای ناپلی‌های آرتمیا در مدت زمان ۴۸ ساعت برابر با ۵۳ درصد بود. همچنین مقدار LC_{50} برای ۲۴ ساعت برابر با ۰ و برای ۴۸ ساعت برای غلظت‌های بررسی شده برابر با ۱۹۰/۲۴۶ بود.

در مجموع، با توجه به داده‌های موجود می‌توان نتیجه گرفت کمپلکس کیتوزان-ملانین به طور مستقیم در طول ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلفی که مورد استفاده قرار گرفت، سمیت سلولی قابل تشخیصی در ناپلی آرتمیا نداشت. اما با افزایش زمان به ۴۸ ساعت و افزایش غلظت کیتوزان-ملانین، میزان مرگ و میر ناپلی آرتمیا افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت سمیت سلولی کیتوزان-ملانین در ناپلی‌ها به زمان و غلظت بستگی دارد. با انجام مطالعات بیشتر، می‌توان به نتایج بهتری از مکانیسم‌های سمیت سلولی و آزمایش‌های زیستی دیگر کیتوزان-ملانین و تاثیر آن بر سلول‌ها و دیگر سیستم‌های زیستی رسید. این مطالعات می‌توانند به منظور استفاده بهینه و امن از کیتوزان-ملانین در برنامه‌های ضدآفتاب و پزشکی مفید باشد.

منابع

- Aliev G., Solis-Herrera A., Li Y., Kaminsky Y.G., Yakhno N.N., Nikolenko V.N., Zamyatnin Jr. A.A., Benberin V.V. and Bachurin S.O. 2013.** Human photosynthesis, the ultimate answer to the long term mystery of Kleiber's law or $E=M^{3/4}$: Implication in the context of gerontology and neurodegenerative diseases. *Open Journal of Psychiatry*, 3(4): 408–421. doi: 10.4236/ojpsych.2013.34045
- Aneesh P., Anandan R., Kumar L. R., Ajeeshkumar K., Kumar K. A. and Mathew S. 2020.** A step to shell biorefinery- Extraction of astaxanthin-rich oil, protein, chitin, and chitosan from shrimp processing waste. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(1): 205–214. doi: 10.1007/s13399-020-01074-5
- Augustine L.F., Nair K.M. and Kulkarni B. 2021.** Sun exposure as a strategy for acquiring vitamin D in developing countries of tropical region: Challenges & way forward. *Indian Journal of Medical Research*, 154(3): 423–432. doi: 10.4103/ijmr.ijmr_1244_18
- Bolaji B. and Huan Z. 2013.** Ozone depletion and global warming: Case for the use of natural refrigerant- A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 18: 49–54. doi: 10.1016/j.rser.2012.10.008
- Brenner M. and Hearing V.J. 2008.** The protective role of melanin against UV damage in human skin. *Photochemistry and Photobiology*, 84(3): 539–549. doi: 10.1111/j.1751-1097.2007.00226.x
- Centeno S.A. and Shamir J. 2008.** Surface enhanced Raman scattering (SERS) and FTIR characterization of the *Sepia* melanin pigment used in works of art. *Journal of Molecular Structure*, 873(1-3): 149–159. doi: 10.1016/j.molstruc.2007.03.026
- Chen S., Wang J., Xue C., Li H., Sun B., Xue Y. and Chai W. 2010.** Sulfation of a squid ink polysaccharide and its inhibitory effect on tumor cell metastasis. *Carbohydrate Polymers*, 81(3): 560–566. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.03.009
- Dong H., Song W., Wang C., Mu C. and Li R. 2017.** Effects of melanin from *Sepiella maindroni* ink (MSMI) on the intestinal microbiome of mice. *BMC Microbiology*, 17(1): 1–10. doi: 10.1186/s12866-017-1058-7
- Donglikar M.M. and Deore S.L. 2016.** Sunscreens: A review. *Pharmacognosy Journals*, 8(3): 171–179. doi: 10.5530/pj.2016.3.1

- Dos Santos A.P., Seta J.H.H., Kuhnen V.V. and Sanches E.G. 2020.** Antifouling alternatives for aquaculture in tropical waters of the Atlantic Ocean. *Aquaculture Reports*, 18: 1–8 (100477). doi: 10.1016/j.aqrep.2020.100477
- El-Naggar N.E.A. and El-Ewasy S.M. 2017.** Bioproduction, characterization, anticancer and antioxidant activities of extracellular melanin pigment produced by newly isolated microbial cell factories *Streptomyces glaucescens* NEAE-H. *Scientific Reports*, 7(1): 1–19. doi: 10.1038/srep42129
- Geng J., Tang W., Wan X., Zhou Q., Wang X.J., Shen P., Lei T.C. and Chen X.D. 2008.** Photoprotection of bacterial-derived melanin against ultraviolet A-induced cell death and its potential application as an active sunscreen. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 22(7): 852–858. doi: 10.1111/j.1468-3083.2007.02574.x
- Geoffrey K., Mwangi A. and Maru S. 2019.** Sunscreen products: Rationale for use, formulation development and regulatory considerations. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 27(7): 1009–1018. doi: 10.1016/j.jsps.2019.08.003
- Ghattavi S., Homaei A., Kamrani E., Saberi D. and Daliri M. 2023.** Fabrication of antifouling coating based on chitosan-melanin hybrid nanoparticles as sustainable and antimicrobial surface. *Progress in Organic Coatings*, 174: 107327. doi: 10.1016/j.porgcoat.2022.107327
- Ghorbel-Bellaaj O., Younes I., Maalej H., Hajji S. and Nasri M. 2012.** Chitin extraction from shrimp shell waste using *Bacillus* bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(5): 1196–1201. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.08.034
- Hisem D., Hrouzek P., Tomek P., Tomsickova J., Zapomelova E., Skacelova K., Lukesova A. and Kopecky J. 2011.** Cyanobacterial cytotoxicity versus toxicity to brine shrimp *Artemia salina*. *Toxicon*, 57(1): 76–83. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.10.002
- Hoel D.G., Berwick M., De Gruijl F.R. and Holick M.F. 2016.** The risks and benefits of sun exposure 2016. *Dermato-Endocrinology*, 8(1): 1–17 (e1248325). doi: 10.1080/19381980.2016.1248325
- Huang S., Pan Y., Gan D., Ouyang X., Tang S., Ekunwe S.I. and Wang H. 2011.** Antioxidant activities and UV-protective properties of melanin from the berry of *Cinnamomum burmannii* and *Osmanthus fragrans*. *Medicinal Chemistry Research*, 20(4): 475–481. doi: 10.1007/s00044-010-9341-2
- Jang M.K., Kong B.G., Jeong Y.I., Lee C.H. and Nah J.W. 2004.**

- Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources. *Journal of Polymer Science (A)*, 42(14): 3423–3432. doi: 10.1002/pola.20176
- Khayrova A., Lopatin S. and Varlamov V. 2021.** Obtaining chitin, chitosan and their melanin complexes from insects. *International Journal of Biological Macromolecules*, 167: 1319–1328. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.086
- Knidri H.E., Dahmani J., Addaou A., Laajeb A. and Lahsini A. 2019.** Rapid and efficient extraction of chitin and chitosan for scale-up production: Effect of process parameters on deacetylation degree and molecular weight. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139: 1092–1102. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.079
- Kurian N., Nair H. and Bhat S. 2014.** Melanin producing *Pseudomonas stutzeri* BTCZ10 from marine sediment at 96m depth (Sagar Sampada cruise# 305). *International Journal of Current Biotechnology*, 2(5): 6–11.
- Liang Y., Pakdel E., Zhang M., Sun L. and Wang X. 2019.** Photoprotective properties of alpaca fiber melanin reinforced by rutile TiO_2 nanoparticles: A study on wool fabric. *Polymer Degradation and Stability*, 160: 80–88. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2018.12.006
- Liang Y., Sun L. and Wang X. 2018.** Photodegradation and aggregation prevention of natural melanin nanoparticles by silica coating method. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*, 6(1): 1–10.
- Magarelli M., Passamonti P. and Renieri C. 2010.** Purification, characterization and analysis of sepia melanin from commercial sepia ink (*Sepia officinalis*). *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 5(2): 18–28. doi: 3214/ 321428104002
- Mbonyirivuze A., Nuru Z., Ngom B.D., Mwakikunga B.W., Dhlamini S.M., Park E. and Maaza M. 2015.** Morphological and chemical composition characterization of commercial *Sepia* melanin. *American Journal of Nanomaterials*, 3(1): 22–27. doi: 10.12691/ajn-3-1-3
- Mohammed M.H., Williams P.A. and Tverezovskaya O. 2013.** Extraction of chitin from prawn shells and conversion to low molecular mass chitosan. *Food Hydrocolloids*, 31(2): 166–171. doi: 10.1016/j.foodhyd.2012.10.021
- Morsy R., Ali S.S. and El-Shetehy M. 2017.** Development of hydroxyapatite-chitosan gel sunscreen combating clinical multidrug-resistant bacteria. *Journal of Molecular Structure*,

- 1143: 251–258. doi: 10.1016/j.molstruc.2017.04.090
- Perna G., Lasalvia M., Gallo C., Quartucci G. and Capozzi V. 2013.** Vibrational characterization of synthetic eumelanin by means of Raman and surface enhanced Raman scattering. *The Open Surface Science Journal*, 5(1): 1–8. doi: 10.2174/1876531901305010001
- Piccirillo C., Rocha C., Tobaldi D., Pullar R., Labrincha J., Ferreira M., Castro P.M. and Pintado M. 2014.** A hydroxyapatite-Fe₂O₃ based material of natural origin as an active sunscreen filter. *Journal of Materials Chemistry (B)*, 2(36): 5999–6009. doi: 10.1039/C4TB00984C
- Rafique A., Zia K.M., Zuber M., Tabasum S. and Rehman S. 2016.** Chitosan functionalized poly (vinyl alcohol) for prospects biomedical and industrial applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 87: 141–154. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.02.035
- Rincon-Fontan M., Rodriguez-Lopez L., Vecino X., Cruz J. and Moldes A. 2018.** Design and characterization of greener sunscreen formulations based on mica powder and a biosurfactant extract. *Powder Technology*, 327: 442–448. doi: 10.1016/j.powtec.2017.12.093
- Saini A.S., Tripathi A. and Melo J.S. 2015.** On-column enzymatic synthesis of melanin nanoparticles using cryogenic poly (AAM-co-AGE) monolith and its free radical scavenging and electro-catalytic properties. *RSC Advances*, 5(106): 87206–87215. doi: 10.1039/C5RA18965A
- Sajjan S., Kulkarni G., Yaligara V., Lee K. and Karegoudar T. 2010.** Purification and physiochemical characterization of melanin pigment from *Klebsiella* sp. GSK. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(11): 1513–1520. doi: 10.4014/jmb.1002.02006
- Shariatnia Z. and Jalali A.M. 2018.** Chitosan-based hydrogels: Preparation, properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 115: 194–220. doi: 10.1016/j.ijbio.2018.04.034
- Supanakorn G., Thiramanas R., Mahatnirunkul T., Wongngam Y. and Polpanich D. 2022.** Polydopamine-based nanoparticles for safe sunscreen protection factor products with enhanced performance. *ACS Applied Nano Materials*, 5(7): 9084–9095. doi: 10.1021/acsanm.2c01395
- Tarangini K. and Mishra S. 2014.** Production of melanin by soil microbial isolate on fruit waste extract: Two step optimization of key parameters. *Biotechnology*

- Reports, 4: 139–146. doi: 10.1016/j.btre.2014.10.001
- Wang C., Wang D., Dai T., Xu P., Wu P., Zou Y., Yang P., Hu J., Li Y. and Cheng Y. 2018.** Skin pigmentation-inspired poly-dopamine sunscreens. *Advanced Functional Materials*, 28(33): 1–9 (1802127). doi: 10.1002/adfm.201802127
- Wang L.F. and Rhim J.W. 2019.** Isolation and characterization of melanin from black garlic and sepia ink. *LWT- Food Science and Technology*, 99: 17–23. doi: 10.1016/j.lwt.2018.09.033
- Yang X., Wang Z., Zhang Y. and Liu W. 2020.** A biocompatible and sustainable anti-ultraviolet functionalization of cotton fabric with nanocellulose and chitosan nanocomposites. *Fibers and Polymers*, 21(11): 2521–2529. doi: 10.1007/s12221-020-1339-x
- Yao Z., Qi J. and Wang L. 2012.** Isolation, fractionation and characterization of melanin-like pigments from chestnut (*Castanea mollissima*) shells. *Journal of Food Science*, 77(6): 671–676. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02714.x
- Yaqoob A.A., Ahmad A., Ibrahim M.N.M. and Rashid M. 2021.** Chitosan-based nanocomposites for gene delivery: Application and future perspectives. P: 245–262. In: Bhawani S.A., Karim Z. and Jawaid M. (Eds.). *Polysaccharide-Based Nanocomposites for Gene Delivery and Tissue Engineering*. Elsevier Science, Netherlands. doi: 10.1016/B978-0-12-821230-1.00001-3



Research Paper

Synthesis of chitosan-melanin complex from marine waste and evaluation of its UV absorbing activity

Tayebeh Zarei Kariani¹, Morteza Yousufzadi^{2*}, Fatemeh Sedaghat¹,
Maarof Zarei³

DOI: 10.22124/japb.2024.24296.1493

Received: April 2023

Accepted: June 2024

Abstract

Ultraviolet rays of the sun have a very negative and dangerous effect on human skin and cause skin cancer. Conventional sunscreens cause problems in some people due to the presence of chemical compounds, which has increased the demand for sunscreens containing natural ingredients. In this direction and in order to obtain safe natural sunscreen compounds, two polymers, chitosan and melanin, were used as ultraviolet (UV) filters in sunscreen creams. First, chitosan was extracted from shrimp waste and melanin from squid ink and synthesized in the form of chitosan-melanin complex. In the following, the ultraviolet ray absorbing activity of the resulting complex was investigated by spectroscopic method and using a spectrophotometric device. Measuring the amount of SPF (in wavelength of 290 to 320 nm) showed that this composition has SPF 22.6. From the results of this research, it can be concluded that the chitosan-melanin complex can be considered as a suitable alternative for chemical compounds in sunscreens and other cosmetic-sanitary products due to its biological function and non-toxicity.

Key words: *Chitosan, Ultraviolet Rays, Melanin, Squid.*

1- Ph.D. Student in Marine Biology, Department of Marine Biology, Faculty of Marine Science and Technology, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2- Professor in Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Qom, Qom, Iran.

3- Professor in Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding Author: morteza.110110@gmail.com