اثر حفاظتی ملانین باکتریایی کونژوگه با تیتانیوم اکسید در برابر اشعه ماورا بنفش

سید علی رضایی[1*]، علی جوادی[1]، زهرا کدخدایی[1]، محمدرضا ذوالفقاری[1]

۱) گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱۲ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲۲**

چکیده

مقدمه: برخی از گونه های ازتوباکتر قادر به تولید ملانین می باشند. ملانین باعث حفاظت در برابر اشعه ماورا بنفش می شود. هدف از این تحقیق جداسازی ازتوباکتر با قدرت تولید ملانین و بهینه سازی تولید آن و تاثیر ترکیب آن با نانوذرات تیتانیوم اکسید بر حفاظت از نور فرابنفش می باشد.

مواد و روش ها: از ۲۰۰ نمونه خاک نقاط مختلف زراعی شهر قم به روش بیوتست بر روی محیط Ashby s mannitol agar کشت داده شد. بهینه سازی شرایط مانند pH، دما، منبع گلوکز، منابع اسید آمینه و هوادهی بر میزان تولید ملانین ارزیابی شد. سپس ملانین استخراج شده و با ترکیب نانواکسید تیتانیوم کونژوگه گردید و سپس تاثیر هر یک از ترکیبات بر روی باکتری اشریشیاکلی تحت تاثیر پرتو فرابنفش بر حسب زمان بررسی شد.

یافته های پژوهش: گونه ازتوباکتر وینلندی مولد ملانین جداسازی شد. اپتیمم pH حدود ۷/۵ تعیین گردید. قند گلوکز در غلظت های مختلف (۱-۶ درصد) باعث کاهش میزان تولید محصول گردید. اسید آمینه متیونین اثر مهاری در حالی که اسید آمینه تیروزین دارای باعث افزایش میزان محصول شد. اسید آمینه تریپتوفان در ۰/۷-۰/۱ درصد نیز سیر افزایشی در میزان تولید محصول داشت. در حالی که سیستئین و فنیل آلانین تغییری در میزان تولید محصول ایجاد نکرده است. ترکیب اکسید تیتانیوم با ملانین به طور معنی داری اثر محافظتی بر روی اشریشیاکلی تحت تاثیر نور فرابنفش نشان داد.

بحث و نتیجه گیری: ایزوله های بومی ازتوباکتر جدا شده از خاک های زراعی با داشتن قدرت تولید ملانین می توانند به عنوان منبعی در استفاده آن در صنعت باشند.

واژه های کلیدی: ازتوباکتر، پیگمان ملانین، اکسید تیتانیوم، نور فرابنفش

* نویسنده مسئول: گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

Email: memary2000@gmail.com

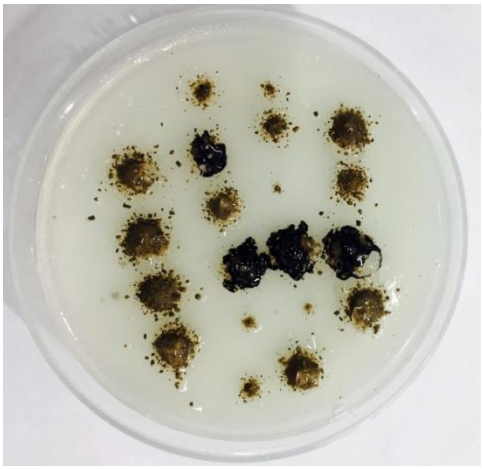
Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

مقدمه

ملانین به طور گسترده در حیوانات و گیاهان یافت می شود. این ترکیب نقش مهمی در محافظت از اشعه ماورا بنفش دارد(۱). ملانین در مو و پوست انسان در حفاظت از اشعه ماوراء بنفش نقش دارد(۱) ملانین هم چنین توسط میکروارگانیسم ها تولید می شود و باعث حفاظت آن ها در برابر مواد شیمیایی نظیر فلزات سنگین و عوامل اکسیداتیو و حرارت می شود(۲). نقش جدیدی که از ملانین سنتز شده توسط قارچ ها یافت شده محافظت و جذب اشعه گاما است(۳). ارگانیسم جنس ازتوباکتر یک باکتری آزادزی و هوازی با قدرت تثبیت ازت در خاک است و تولید ملانین توسط این باکتری گزارشد شده است(۴). تولید ملانین ارتباط مستقیمی با تثبیت ازت در خاک دارد و شرایط احیایی را در خاک جهت تثبیت ازت فراهم می کند(۵). ملانین به صورت یوملانین، آلوملانین، فئوملانین، پیوملانین و نوروملانین توسط مسیرهای مختلف بیوشیمیایی سنتز می شود(۶). میکروارگانیسم های بسیاری ملانین را در شرایط استرس نظیر حرارت بالا، فقر غذایی و قرارگیری در محیط های هیپراسموتیک تولید می کنند(۷). جداسازی ملانین از انسان و حیوان امکان پذیر نیست و از نظر اخلاقی مشکل دارد ولی این رنگدانه در میکروارگانیسم هایی نظیر ازتوباکتر که به وفور در خاک های زراعی یافت می شود وجود دارد و جداسازی آن و ایجاد شرایط تولید مناسب می تواند چشم اندازی در تولید مصارف آرایشی و بهداشتی باشد(۸) هدف از این مطالعه جداسازی ازتوباکترهای موجود در خاک های زراعی شهر قم است که پس از شناسایی گونه های مولد پیگمان، بهترین گونه انتخاب و شرایط بهینه از نظر تولید ملانین تحت فاکتورهایی نظیر pH، دما، منبع گلوکز، انواع اسید آمینه ها، هوادهی مورد ارزیابی قرار گرفته و اثرات محافظتی ملانین به تنهایی و همراه با تیتانیوم اکسید بر روی باکتری اشریشیاکلی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه و جداسازی و شناسایی: برای این منظور جداسازی باکتری از خاک در محیط Ashby s manitol agar (مرک، آلمان) صورت گرفت به طوری که از ۲۰۰ نمونه خاک بر روی این محیط به صورت نقطه ای ریخته شد(تصویر شماره ۱) و سپس محیط ها در ۳۰ درجه سانتی گراد گرماگذاری شدند(۱۰). شناسایی میکروارگانیسم رشد کرده بر روی این محیط ها بر اساس تست های بیوشیمیایی(حرکت، مانیتول، مالتوز، اینوزیتول، رافینوز، گالاکتوز) و تست های مورفولوژیکی طبق کتاب سیستماتیک Bergey صورت گرفت.



تصویر شماره ۱. روش کشت نمونه های خاک بر روی محیط Ashby s manitol agar

بررسی پارامترهای موثر در تولید ملانین:

بررسی تاثیر هوادهی: کشت در محیط مایع Ashbys manitol broth انجام شد و ارلن ها در شیکر انکوباتور در دورهای مختلف (۱۴۰، ۱۲۰، ۱۰۰، ۸۰، ۶۰) قرار داده شد و نتایج رشد و تولید ملانین ثبت گردید(۱۰).

بررسی تاثیر pH: جهت یافتن بهترین pH در تولید ملانین در محیط مناسب Ashbys manitol broth با PH مختلف(۵، ۵/۵، ۶، ۶/۵، ۷، ۷/۵، ۸) کشت انجام شد و تولید ملانین در این شرایط تعیین شد(۱۰).

بررسی تاثیر گلوکز: از درصد مختلف قند گلوکز (۰/۵، ۱،۳،۲، ۴،۵،۶) در محیط Ashbys manitol broth استفاده شد و تولید ملانین در این شرایط بررسی شد(۱۰).

بررسی تاثیر دما: از دمای ۲۰ تا ۴۰ درجه سانتی گراد در محیط Ashbys manitol broth استفاده شد و تولید ملانین در این شرایط بررسی شد(۱۰).

بررسی تاثیر اسید آمینه ها: از آمینو اسیدهای فنیل آلانین، سیستئین، متیونین، تیروزین، تریپتوفان با غلظت های متفاوت در محیط Ashbys manitol broth استفاده شد و تولید ملانین در این شرایط بررسی شد(۱۰).

ترکیب پیگمان ملانین با TiO_2 و آنالیز آن با دستگاه FT-IR:

از دستگاه FT-IR مدل WQF 510 شرکت Rayleigh ساخت کشور چین جهت بررسی ساختمان هر یک از ترکیبات قبل از عمل کونژوگاسیون و بررسی تغییرات در ساختار هر یک از آن ها پس از عمل کونژوگاسیون استفاده شد. از ملانین استخراج شده از باکتری و ذرات تیتانیم اکسید که از شرکت US research Nanomaterials کشور امریکا با اندازه ذرات ۱۰-۳۰ نانومتر و خلوص ۹۹ درصد در این آزمایش استفاده شد. عمل کونژوگاسیون این دو ماده با روش ترکیب با یکدیگر انجام شد. ملانین توسط سانتریفیوژ rpm ۶۰۰۰ از محیط کشت جدا گردید. رسوب حاصله بعد از جداسازی در OHaN (0.5N) pH=8، حل گردید. ملانین محلول با حجم دو برابر مایع با آب مقطر استریل شستشو داده شد. مرحله شستشو ۳ بار تکرار شده و محصول نهایی در آون ۲۰۰ درجه خشک گردید. پودر خشک ملانین را به صورت محلول در آب تهیه(۱۰ mg/ml) و ۵ میلی لیتر از آن با ۱۰ میلی لیتر محلول تیتانیوم اکسید ۵ درصد مخلوط شد. سپس مواد به تنهایی و در ترکیب با هم را به طور جداگانه با KBr ترکیب کرده و تحت فشار از این ترکیبات قرص تهیه و تحت تاثیر دستگاه FT-IR طیف مورد نظر هر یک از ترکیبات بر اساس ساختار آن ها ثبت و مورد بررسی قرار گرفت.

تاثیر ترکیبات بر روی موجود زنده تحت تاثیر اشعه UV بر حسب زمان و فاصله: ۱ درصد ملانین استخراج شده محلول در آب با pH=7 را با روش فیلتراسیون استریل می نمائیم. مقدار ۱ میلی لیتر از محلول فوق را به یک میکروپلیت اضافه می نمائیم. از سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند باکتری اشریشیاکلی (ATCC25922) تهیه شده از کلکسیون میکروبی ایران به مقدار ۱/ میلی لیتر به میکروپلیت ها اضافه می نمائیم. میکروپلیت را در مجاورت پرتو Uv (لامپ Uv) با فاصله ثابت با زمان های متفاوت قرار می دهیم از میکروپلیت های پرتو دیده تحت طول موج ۶۲۰ نانومتر توسط دستگاه الیزا ریدر جذب گرفته و ثبت می کنیم. جذب یک نمونه کنترل که فاقد ملانین است را نیز ثبت می کنیم. نمونه های حاوی ملانین و فاقد ملانین را با یکدیگر مقایسه می نمائیم. مشابه آزمایش فوق را با ملانین+اکسید تیتانیوم(Tio2) انجام می دهیم. به تمام نمونه ها مقدار مساوی از سوسپانسیون باکتری اضافه می کنیم و پرتودهی مانند روش بالا انجام می شود و سپس مقایسه دو نمونه و ارزیابی اثر مخلوط آن ها بر حفاظت در برابر پرتو UV با اسپکتروفتومتری در طول موج ۶۰۰ نانومترانجام شد.

یافته های پژوهش

جمع آوری و شناسایی: از تعداد ۲۰۰ نمونه خاک به روش کشت نقطه ای(روش بیوتست)(تصویر شماره ۱)، ۵۰ باکتری ازتوباکتر به دست آمد. از بین این جدایه ها گونه غالب از نظر تولید پیگمان انتخاب شد. طبق تست های بیوشیمیایی گونه باکتری جداسازی شده ازتوباکتر وینلندی تشخیص داده شد.

تاثیر میزان هوادهی بر تولید ملانین: فرآیند بیوسنتز ملانین در میکروارگانیسم ها، یک واکنش اکسیداتیو است در صورت کاهش اکسیژن محیط، محصول کاهش می یابد. در این آزمایش(نمودار شماره ۱) با افزایش میزان هوادهی در دامنه ۱۴۰-۸۰(rpm) روند صعودی در تولید محصول مشاهده گردید.

تاثیر میزان گلوکز محیط بر تولید ملانین: شرایط محیط کشت در میان میکروارگانیسم های مختلف متفاوت است. منبع کربن موجود در محیط کشت اختصاصی مانیتول می باشد. اضافه نمودن گلوکز به محیط کشت با درصدهای متفاوت نشان می دهد که اضافه نمودن این قند سبب تضعیف تولید ملانین گردیده است(نمودار شماره ۲).

بررسی تاثیر دمای محیط کشت بر میزان تولید ملانین: از فاکتورهای مهم دمای محیط کشت است که در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفته است با توجه به این که این باکتری از خاک جداسازی شده است و میکروارگانیزم های معمول خاک در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد رشد مناسبی دارند اما دمای اپتیمم برای ماکزیمم تولید ملانین در ۳۷ درجه سانتی گراد بود. به طوری که در دمای بالاتر از آن کاهش قابل توجهی در میزان تولید ملانین مشاهده گردید(نمودار شماره ۳).

تاثیر pH اولیه محیط کشت بر میزان تولید ملانین: همان طور که در نمودار شماره ۴ مشاهده می شود، محیط کشت هایی با pH اولیه مختلف مورد آزمایش قرار گرفت و تغییرات رشد و تولید ملانین در پایان انکوباسیون مورد بررسی قرار گرفت. تولید ملانین با افزایش pH تا حدود ۷/۵ روند افزایشی دارد و بعد از آن به طور قابل ملاحظه ای کاهش یافت.

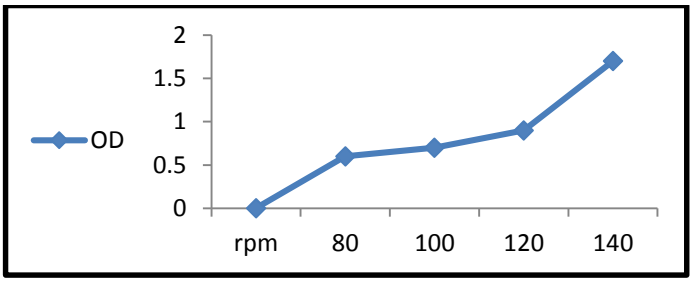
تاثیر درصد تیروزین برمیزان تولید ملانین: اسید آمینه تیروزین به عنوان سوبسترا در تولید ملانین نقش اساسی را داراست. با افزایش درصد تیروزین در محیط کشت تا حد معین ماکزیمم تولید ملانین ملاحظه گردید. همان طور که در نمودار شماره ۵ مشاهده می شود، حداکثر تولید ملانین در غلظت ۰/۳ درصد تیروزین مشاهده می گردد. در غلظت های بالاتر کاهش در میزان تولید ملانین مشاهده گردید(نمودار شماره ۵)

تاثیر درصد میتونین بر میزان تولید ملانین: همان طور که در نمودار شماره ۶ مشاهده می شود، در بررسی غلظت های مختلف اسید آمینه میتونین سبب تضعیف تولید محصول می گردد با افزایش درصد میتونین در محیط کشت کاهش قابل ملاحظه ا ی در میزان تولید مشاهده می گردد که اثر مهار کنندگی در تولید ملانین را نشان می دهد.

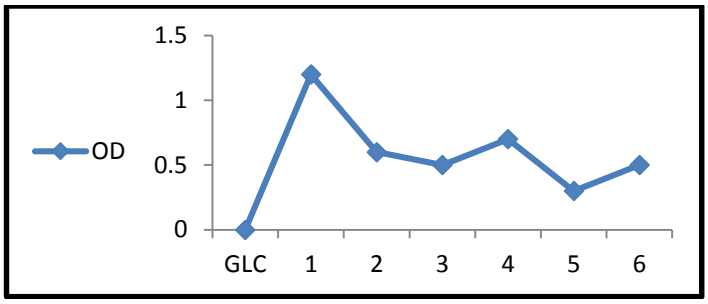
تاثیر درصد فنیل آلانین بر میزان تولید ملانین: در استفاده از اسید آمینه فنیل آلانین به جای تیروزین در محیط تغییری در میزان تولید ملانین در غلظت های مختلف محیط کشت مشاهده نگردید(نمودار شماره ۷).

تاثیر درصد تریپتوفان بر میزان تولید ملانین: همان طور که در نمودار شماره ۸ مشاهده می گردد، استفاده از اسید آمینه تریپتوفان در محیط کشت تولید ملانین، سبب تحریک و افزایش میزان تولید محصول گردید.

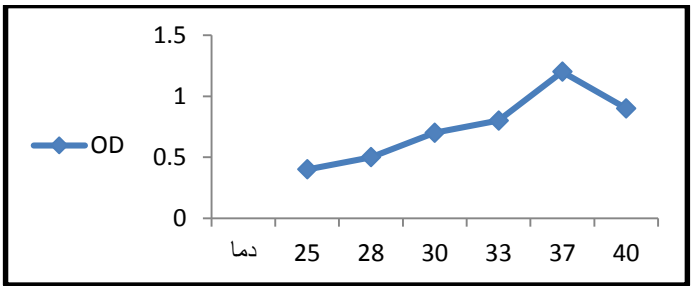
تاثیر درصد سیستئین بر میزان تولید ملانین: همان طور که در نمودار شماره ۹ مشاهده می گردد، استفاده از اسید آمینه سیستئین در محیط کشت تغییری در میزان تولید ملانین نداشته و عامل محرک تولید ملانین نمی باشد.



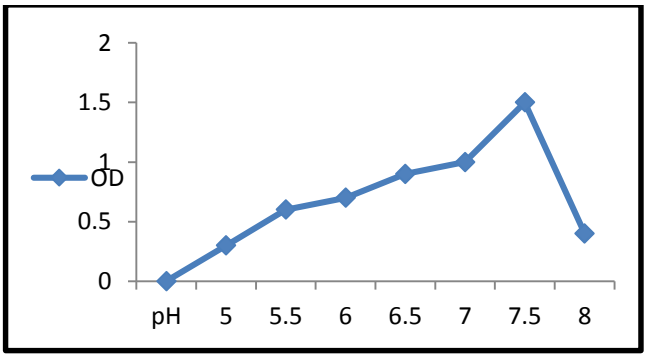
نمودار شماره ۱. تاثیر دور شیکر بر تولیدملانین



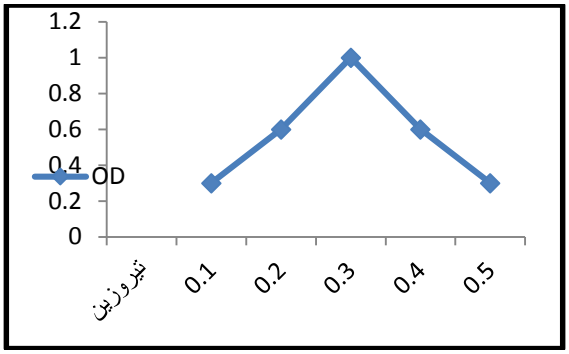
نمودار شماره ۲. تاثیر گلوکز بر تولید ملانین



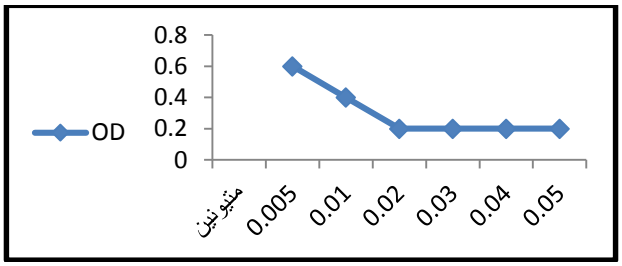
نمودار شماره ۳. تاثیر دمای انکوباسیون بر تولید ملانین



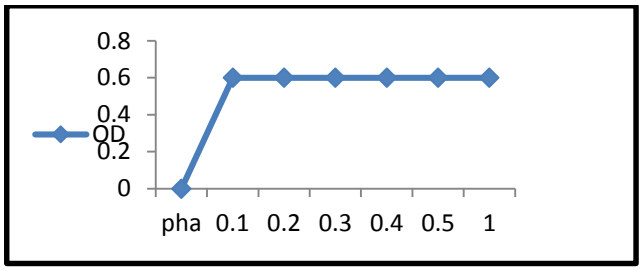
نمودار شماره ٤. تاثیر pH بر تولید ملانین



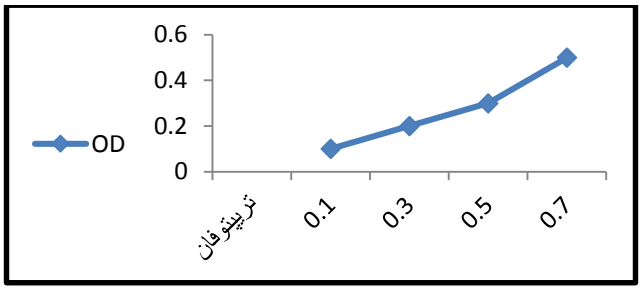
نمودار شماره ۵. تاثیر تیروزین بر تولید ملانین



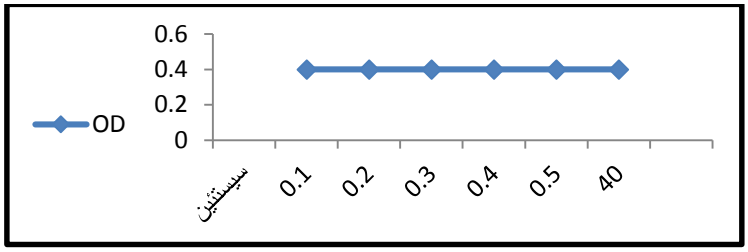
نمودار شماره ٦. تاثیر متیونین بر تولید ملانین



نمودار شماره ۷. تاثیر درصد فنیل الانین بر تولید ملانین

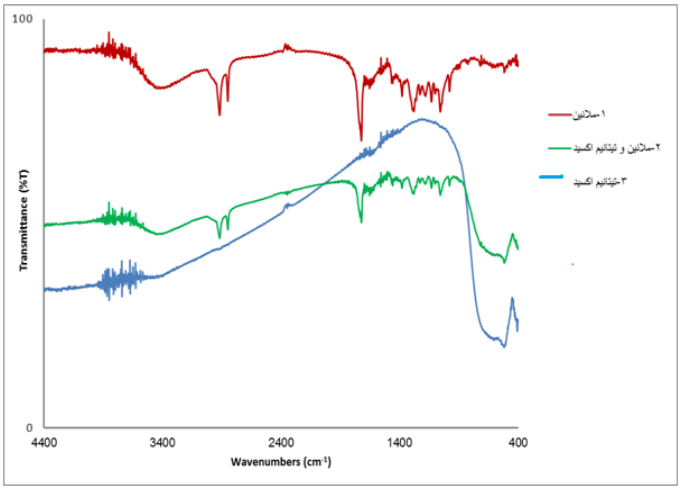


نمودار شماره ۸. تاثیر تریپتوفان بر تولید ملانین



نمودار شماره ۹. تاثیر سیستئین بر تولید ملانین

نتایج حاصل از آنالیز دستگاهی ترکیب نانوتیتانیوم با ملانین: با مشاهده و مقایسه طیف های FTIR(طبق نمودار شماره ۱۰) ملانین و نانو ذرات تیتانیم اکسید به صورت خالص با طیف کامپوزیت ملانین/تیتانیم اکسید، حضور Ti-o در گستره(۶۰۰-۵۰۰ cm-1) به همراه حضور گروه های عاملی OH- و NH2- در گستره (۳۵۰۰-۳۰۰۰cm-1)، C-H در گستره(۲۹۳۰-cm-1 ۲۸۵۰)، C=O در (۱۷۳۰cm-1) و C-N در گستره (۱۵۰۰-۱۲۰۰cm-1) مشخص کننده جذب و پیوند و ترکیب ملانین با تیتانیم اکسید است و صحت تولید موفقیت آمیز Tio2-Melanin را ثابت می کند. در واقع طیف ۳ بیانگر حضور مخلوط گروه های عاملی طیف های خالص ۱ و ۲ می باشد.



نمودار شماره ۱۰. FT-IR ۱-ملانین، ۲-ملانین-تیتانیوم اکسید، ۳-تیتانیوم اکسید

نتایج تاثیر ترکیبات بر روی موجود زنده بر حسب زمان تابش و فاصله با منبع نور: نتایج حاصل از آزمایشات تفاوت معنی داری را در حفاظت باکتری اشریشیاکلی توسط ترکیب نانواکسید تیتانیوم کونژوگه با ملانین نشان داد. در این نتایج جذب نوری حاصل از رشد باکتری تحت تاثیر اشعه بر حسب زمان طبق جدول شماره ۱ افزایش نشان داد.

جدول شماره ۱. تاثیر حفاظتی ترکیبات مورد مطالعه در برابر اشعه ماورا بنفش بر روی باکتری اشریشیاکلی

	ملانین	ملانین- نانواکسید تیتانیوم	نانواکسید تیتانیوم	محیط فاقد ترکیبات
OD (زمان ۳ ساعت)	۰/۱	۰/۳	۰/۱	۰/۱
OD (زمان ۶ ساعت)	۰/۶	۰/۸	۰/۸	۰/۱
OD (زمان ۱۲ ساعت)	۰/۸	۱/۲	۰/۸	۰/۱
OD (زمان ۲۴ ساعت)	۰/۸	۱/۴	۰/۸	۰/۱

بحث و نتیجه گیری

ملانین پیگمان هتروپلیمری منحصر به فرد در اشکال مختلف حیات است. این پیگمان به طور معمول به رنگ قهوه ای-سیاه دیده می شـــود و از جمله فعالیت های آن حفاظت در برابر اشعه خورشید و نور ماورا بنفش می باشد. استخراج ملانین از قلمرو گیاهان بسیار سخت است لذا منبع میکروبی این ترکیـــب را می توان از طبیعت جداسازی و این پلیمر را از آن استخراج کرد. یکی از منابع میکروبی مهم در طبیعت جنس ازتوباکتر می باشد که گونه های مختلف آن توانایی تولید ملانین را دارند. از گونه های مهم مولد ملانین می توان ازتوباکتر ویلندی و کروکوکوم را نام برد. باکتری ازتوباکتر ویلندی که در این مطـــالعه از خاک های زراعی شهر قم جدا شد قدرت تولید ملانین را داشت که شرایط مختلف جهت بهینه سازی تولید آن مورد مطالعه قرار گرفت. در pH برابر ۷/۵ محیط کشت بیشترین تولید ملانین مشاهده شد. قند گلوکز در تمامی غلظت های مورد استفاده باعث کاهش تولید محصول ملانین شد. اسید آمینه متیونین نیز غلظت مهاری در تولید ملانین نشان داد در حالی که تیروزین در غلظت ۰/۳ درصد بیشترین اثر القایی را داشت. اسید آمینه تریپتوفان در غلظت ۰/۱ تا ۰/۷ درصد نیز سیر افزایشی در میزان تولید ملانین را داشت و سیستئین و فنیل آلانین در میزان تولید محصول تاثیری ایجاد نکرد. هوادهی مناسب نیز در دور rpm ۱۴۰ باعث افزایش تولید ملانین شد. Vishva و همکاران در سال ۲۰۱۶ این باکتری را از خاک باغ های هندوستان جداسازی کردند. در مطالعه آن ها اپتیمم شرایط برای تولید بیشتر پیگمان مورد بررسی قرار گرفت که تیروزین در غلظت ۰/۶ درصد بهترین اثر را نشان داد و اسکوربیک اسید مهار کننده تولید ملانین معرفی شد(۱۰). Pathan و همکاران در سال ۲۰۱۶ بر روی جداسازی و شناسایی مولدین ملانین از آب های فاضلاب اقدام کردند. در مطالعه آن ها جنس ازتوباکتر، سودوموناس و باسیلوس دارای قدرت تولید ملانین بودند که اسید آمینه تیروزین نقش القایی را در تولید بیشتر ملانین نشان داد(۱۱). Gospodaryov و همکاران در سال ۲۰۱۱ باکتری ازتوباکتر کروکوکوم را از خاک جدا کرده و تولید ملانین را درحضور بنزوئیک اسید و قند مانیتول بررسی نمودند. در مطالعه آن ها بنزوئیک اسید نسبت به مانیتول تولید ملانین را افزایش داد و یون مس نیز نقش مهمی را در تولید ملانین داشت(۱۲). در مجموع مطالعات نقش تیروزین و برخی یون ها نظیر مس را در تولید ملانین گزارش نموده اند. مطالعاتی از کونژوگاسیون ملانین با تیتانیوم اکسید یافت نشد. تنها در مطالعه Nanis و همکاران ۲۰۱۲، اثرات محافظتی ملانین استخراج شده از قارچ آسپرژیلوس فومیگاتوس را بر روی خود این قارچ تحت تاثیر نور UV مورد بررسی قرار دادند که در زمان ۶۰ دقیقه بیشترین رشد قارچ مشاهده شد(۱۳). مطالعه حاضر نیز نشان داد خاک های زراعی دارای تنوعی از باکتری ها به خصوص جنـــس ازتوبـــاکتر می باشد که قدرت تولید ملانین را داشته و می توان سویه غالب را که تحت شرایط آزمایشگاهی تمام شرایط ماکزیمم تولید ملانین در آن بررسی شده جهت مطالعات زیست فناوری و تولید صنعتی ملانین معرفی نمود؛ و می توان با ترکیب آن با تیتانیوم اکسید در محافظت بیشتر از اشعه ماورای بنفش از آن استفاده کرد.

سپاسگزاری

این مـــقاله حاصـــل از طـــرح پژوهـــشی با شماره ۲۳۹۳۴ بوده که با حمایت مـــالی دانـــشگاه آزاد اسلامی واحـــد قم به انجام رسیده اســـت. بدین وسیـــله از مسئولین دانشـــگاه که شرایط اجـــرای فعـــالیـــت های پژوهـــشی را فـــراهم می آورنـــد صـــمیمـــانه تشـــکر و قـــدردانی می شـــود.

References

1. Hill H. The function of melanin or six blind people examine an elephant. Bio Essays J 1992; 14: 49-56. doi:10.1002/bies.950140111

2. Eisenman H , Casadevall A. Synthesis and assembly of fungal melanin. Appl Microbiol Biotech J 2012;93: 931-40. doi: 10.1007/s00253-011-3777-2.

3. Castelvecchi D. Dark powder pigment seems to put radiation to good use. Sci News J 2007;171: 325.
4. Jensen H. The Azotobacteriaceae. Bacteriol Rev J 1954;18: 195-214.
5. Plonka PM, Grabacka M. Melanin synthesis in microorganisms biotechnological and medical aspects. Acta Biochim Pol J 2006; 53: 429-43.
6. Hewedy M, Ashour S. Production of a melanin like Pigment by Kluyveromyces marxianus and Streptomyces chibaensis. Aust J Basic Appl Sci 2009; 3: 920-7. doi: 10.5897/AJB11.296.
7. Shivaprasad S, Page W. Catechol formation and melanization by Na^+ dependent Azotobacter chroococcum a protective mechanism for aeroadaptation. Appl Environ Microbiol J 1989;55: 1811–7.doi: 10.12944/CARJ.1.1.04
8. Thompson J, Skerman V. Azotobacteraceae the taxonomy and ecology of the aerobic nitrogen-fixing bacteria. London Acad 1979; 5:277-80. doi: 10.1099/00207713-33-2147
9. Banerjee A, Supakar S, Banerjee R. Melanin from the nitrogenixing bacterium Azotobacter chroococcum a spectroscopic characterization. Plos one 2014;9: 845-74. doi:10.1371/journal.pone.0084574. ecollection 2014.
10. Vishva M, Sashikant G. Melanin pigment production studies from Azotobacter vinelandii. Adv Life Sci J 2016; 9: 44-9. doi: 10.26479/2018.0403.31
11. Pathan A, Pethe A. Studies of melanin producing bacteria and extraction of bacterial melanin from sewage water. Appl Res J 2016;2: 413-5.
12. Gospodaryov D, Lushchak V. Some properties of melanin produced by Azotobacter chroococcum and its possible application in biotechnology. Biotechnologia Acta 2011; 4: 61-9. doi:579.841.21:579.222.4
13.Allam N, Elzaher E. Protective role of Aspergillus fumigatus melanin against ultraviolet irradiation and Bjerkandera adusta melanin as a candidate vaccine against systemic candidiasis. Af J of Biotech 2012; 11: 6566-77.doi: 10.5897/AJB11.4136

The Protective Effect of Conjugated Bacterial Melanin with Titanium Oxide against UV

Rezaie A[1], Javadi A[1], Kadkhodayi Z[1], Zolfaghari M[1]*

(Received: May 2, 2017 Accepted: June 12, 2017)

Abstract

Introduction: Some Azotobacter species can produce melanin. Melanin protects against UV. The purpose of this study was to isolate Azotobacter with the power of producing melanin and optimize its production and the effect of its combination with titanium oxide nanoparticles on the protection against ultraviolet light (UV).

Materials & Methods: Overall, 200 soil samples from different parts of Qom, Iran, were cultured on Ashby's mannitol agar medium using Bio-test method. The effect of optimization of conditions such as pH, temperature, glucose source, amino acid sources, and aeration on the amount of melanin production was assessed. Afterwards, melanin was extracted, conjugated with titanium nanosilicate compound, and then the effect of each of the compounds on Escherichia coli was examined under the influence of UV based on time.

Findings: Melanin-producing Azotobacter vinelandii species were isolated. The optimum pH was determined about 7.5. Glucose at different concentrations (1-6%) reduced the production of the product. Methionine amino acid had an inhibitory effect, while tyrosine amino acid increased the production rate. Tryptophan amino acid at 0.1-0.7% also increased the production rate, while cysteine and phenylalanine did not change the production rate. The combination of titanium oxide with melanin showed a significant protective effect against Escherichia coli bacterium under the influence of UV.

Discussion & Conclusions: Native isolates of Azotobacter isolated from agricultural soil with the power of producing melanin can be used as a source for its use in the industry.

Keywords: Azotobacter, Melanin pigment, Titanium oxide, UV

1. Dept of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran
** Corresponding author Email: memary2000@gmail.com*