

مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوی پلی فنلی در اکتینومیست‌های دریایی رسوبات ساحل دیلم

معصومه ناطق زاده^۱، سهیلا مطرودی^{۱*}، کمال الدین حق بین^۲

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر

۲. پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۴

شناسه دیجیتال (DOI): [10.22113/jmst.2018.104541.2073](https://doi.org/10.22113/jmst.2018.104541.2073)

چکیده

با توجه به اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها در درمان بیماری‌های مزمن و جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی و به منظور دستیابی به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طبیعی با منشا میکروبی، از اکتینومیست‌های دریایی که منبع غنی از ترکیبات زیستی هستند، استفاده شد. در این تحقیق، ۱۵ ایزوله باکتری اکتینومیست دریایی که از رسوبات ناحیه بین جزر ومدی ساحل دیلم جدا شده شده‌اند، برای آنالیز مولکولی و بررسی روابط فیلوژنی ایزوله‌های مورد مطالعه، درخت فیلوژنی بر اساس توالی‌های 16S rDNA، رسم گردید. علاوه بر این، در مطالعه حاضر، محتوی فنلی تام (TPC) توسط معرف فولین سیوکالتو و با استفاده از اسیدگالیک به عنوان یک مرجع استاندارد تعیین شد و نتایج بر حسب میلی‌مولارگالیک اسید بیان شد. سپس پتانسیل آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با روش قدرت کاهندگی آهن Fe^{+3} (FRAP) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که قدرت کاهندگی با محتوای فنلی تام مرتبط بود. در بین ایزوله‌های مورد بررسی، ایزوله AHA1 بیشترین محتوی فنلی تام (۱۴۱۹ میکرومولار) و کمترین مقدار AMJ1 (۶۰۸/۸) و همچنین دو ایزوله AHA3 و AMJ5 به ترتیب بیشترین (۲۳۰/۶۶ میکرومولار) و کمترین (۷۵/۵۷ میکرومولار) فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش قدرت کاهندگی آهن را نشان دادند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که سویه‌های مورد مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی از خود نشان دادند، که می‌توان از آنها برای جداسازی و شناسایی ترکیبات مهم آنتی‌اکسیدانی جهت مطالعات بیشتر استفاده کرد.

واژگان کلیدی: اکتینومیست‌های دریایی، ساحل دیلم، ferric reducing antioxidant power، محتوای فنلی تام

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: s.matroodi@kmsu.ac.ir

۱. مقدمه

مواد سمی و مفید هر دو را دارند. علت آن اینست که هم به بدن آسیب می‌رسانند و هم مفید هستند و برای درمان بسیاری از بیماری‌ها در انسان استفاده می‌شوند. رادیکال‌های آزاد یا از متابولیسم سلول‌های نرمال یا از منابع خارجی (مانند آلودگی، کشیدن سیگار، تشعشعات و مواد دارویی) حاصل می‌شوند (Lakhtakia et al., 2011). زمانیکه تراکم رادیکال‌های آزاد زیاد می‌شود به تدریج تجزیه نمی‌شوند و بر اثر تجمع آنها پدیده استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود. این پروسه در توسعه بیماری‌های تحلیل برنده حاد نقش مهمی ایفا می‌کند (Pham-Huy et al., 2008). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اکسیداسیون لیپیدها را از طریق مهار آغاز تکثیر واکنش‌های زنجیره ای اکسیداسیون مهار می‌کنند و در حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارند. اخیراً روش‌های کلینیکی آنتی‌اکسیدان‌ها برای مدیریت و کاربرد دارو نواقص تحلیل سیستم عصبی، پیری، و بیماری‌های تحلیل برنده حاد، افزایش یافته‌است.

در این مطالعه پتانسیل آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنلی اکتینومیست‌های جدا شده از ساحل دیلم، ارزیابی گردید (Irshad et al., 2012). تحقیقات مختلفی به بررسی فعالیت‌های دارویی و آنتی‌اکسیدانی متابولیت ثانویه اکتینوباکتری‌های جدا شده از رسوبات مختلف در جهان، صورت گرفته است (Kekuda et al., 2013; Sanjivkumar et al., 2016). ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو ترکیب herbimycin A و dihydroherbimycin A، تولید شده توسط استرپتومایسس (Sanjivkumar et al., 2016)، همچنین مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت زیستی مانند فعالیت ضد میکروبی ترکیبات تولید شده بوسیله ایزوله اکتینومیست A2 توسط Kekuda و همکاران (۲۰۱۳) از جمله این تحقیقات می‌باشند. هدف از این مطالعه بررسی محتوی پلی فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اکتینومیست‌های

به دنبال کشف اولین متابولیت‌های زیست فعال میکروبی در سال ۱۹۴۰، میکروبیولوژیست‌ها بر جداسازی، خالص‌سازی و شناسایی مولکول‌های فارماکولوژیکی تولید شده توسط میکروارگانیسم‌ها تمرکز کردند. در سال ۱۹۴۶، استرپتومایسس، اولین آنتی‌بیوتیک تولید شده در برابر بیماری سل از باکتری *Streptomyces griseus* گزارش شد. اکتینومیست‌ها بعنوان باکتری‌های گرم مثبت تولید کننده آنتی‌بیوتیک شناخته شده‌اند. گروهی از اکتینومیست‌ها، آنهایی که در دریاها زندگی می‌کنند (Ramesh, 2009; Bull et al., 2007; Singh et al., 2008). متابولیت‌ها طبیعی بعنوان منبعی از ترکیبات ارزشمند با کاربردهای متنوع می‌باشند که در محیط‌های آبی کمتر شناخته شده (Bull et al., 2015; Heidari et al., 2007) و گزارش‌های کمی از اکتینومیست‌های دریایی ایران وجود دارد. محیط دریایی در ایران غنی از میکروبی‌های متنوع است. تاکنون میکروفلور دریایی به خوبی در ایران شناخته شده نیست.

اکتینومیست‌های دریایی با ارزشمند ترین پروکاریوت‌ها به لحاظ اقتصادی و بیوتکنولوژی هستند. تاکنون حدود ۳۲۵۰۰ متابولیت ثانویه ی فعال زیستی از میکروارگانیسم‌ها کشف شده‌است که برآورد می‌شود ۱۰۰۰۰ مورد از آنها از باکتری‌های دریایی جدا شده است (Thenmozhi et al., 2010). اکتینومیست‌های دریایی بهترین منبع برای تولید متابولیت‌های ثانویه هستند که اکثریت این ترکیبات از جنس استرپتومایسس مشتق شده‌اند (Berdy, 2005). آنتی‌اکسیدان به ماده ای اطلاق می‌شود که فرایند اکسیداسیونی را به تاخیر می‌اندازد و یا مانع تخریب و آسیب از طریق فرایند اکسیداسیون می‌شود (Arabsorkhi et al., 2015; Dekkers et al., 1996). رادیکال‌های آزاد و اکسیدکننده‌ها نقش دوگانه بعنوان

مایع، محیط کشت فیلتر و در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانترفیوژ شد. رسوب دور ریخته شد و از سوپرناتانت برای بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ترکیبات پلی فنلی استفاده شد.

اندازه گیری مقدار ترکیبات فنولی کل: در این روش، میزان ۵۰۰ میکرولیتر از محلول سوپرناتانت هر یک از باکتری‌ها در لوله های آزمایش مجزا با ۲/۵ میلیلیتر معرف فولین سیوکالتو ۳۳٪ مخلوط گردید. پس از گذشت ۵ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط به آنها حدود ۲ میلی لیتر محلول سدیم کربنات ۷۵٪ اضافه شد. در نهایت پس از ۲ ساعت جذب محلول ها در ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد (Singleton et al., 1999). از آسکوربیک اسید به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره بیان شد. بدین صورت که محلول پایهای از این ماده با غلظت یک میلی مولار تهیه گردید. سپس از این محلول پایه غلظت های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰، ۱۰۰۰ میکرومولار) آماده شد و پس از انجام مراحل مختلف مطابق روش ذکر شده مقدار جذب نمونه ها خوانده شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون آسکوربیک اسید، با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد، مقدار ترکیبات فنولی تام موجود در عصاره محاسبه شد. محتوای فنولیک تام با میانگین دو بار تکرار آزمایش گزارش گردیده است.

بررسی قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP): در این روش ویژگی الکترون دهنده گی آنتی اکسیدان ها در pH پایین موجب احیاء کاتیون Fe^{3+} به Fe^{2+} می شود. بنابراین قادرند کمپلکس بی رنگ فریک-تری پیریدیل-تریازین^۳ را به کمپلکس آبی رنگ فرس-تری-پیریدیل-تریازین^۴ تبدیل نمایند که در طول موج

ساحل دیلم با استفاده از روش های فولین سیوکالتو و قدرت احیاکنندگی آهن می باشد.

۲. مواد و روش ها

در این بررسی ۱۵ ایزوله باکتری اکتینومیست که از قبل بر اساس توالی 16S rRNA شناسایی شده بودند (Jabari et al., 2016; Alijani et al., 2017) و توالی نوکلئوتیدی آن ها در سایت NCBI ثبت شده بود، انتخاب شدند.

آنالیز داده های توالی یابی و ترسیم درخت های فیلوژنی: برای رسم درخت های فیلوژنی از نرم افزار MEGA6 استفاده شد (Tamura et al., 2004). درخت های فیلوژنی به روش پیوند هم جوار^۱ (NJ) ترسیم گردید و آنالیز بوت استرپ نیز با ۱۰۰۰ بار تکرار صورت گرفت.

استخراج متابولیت های پلی فنلی اکتینومیست ها: ابتدا ایزوله ها در محیط کشت LB کشت داده شدند و پس از گذشت یک هفته به محیط کشت القایی منتقل شدند. محیط کشت القایی شامل ۱۰ گرم مالتوز، ۵ گرم عصاره مخمر، ۲/۹ گرم سدیم فسفات، ۳/۲ گرم پتاسیم فسفات، ۱ گرم آمونیوم کلرید، ۰/۵ گرم منیزیم سولفات، ۰/۵ گرم کلسیم کربنات، ۲۰ میکرولیتر سولفات آهن، ۱۰۰ میلی گرم سولفات روی، ۳۰۰ میلی گرم اسیدبوریک، ۲۰۰ میلی گرم کلرید کبالت، ۳۰ میلی گرم کلرید منگنز، ۳۰ میلی گرم سدیم مولیبدن، ۲۰ میلی گرم نترات نیکل، ۱۰ میلی گرم نترات مس، در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب می باشد (Nonomura, 1974). برای این منظور، هر یک از سویه های اکتینومیست در ارلن های ۲۵۰ میلی-لیتری حاوی ۵۰ میلی لیتر محیط کشت القایی تلقیح شدند. ارلن ها در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ روز در انکوباتور شیکردار با دور ۱۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. برای جداسازی میسلیم ها از فاز

^۲Ferric Reducing Antioxidant Power

^۳ferric-tripyridyltriazine

^۴ferrous-tripyridyltriazine

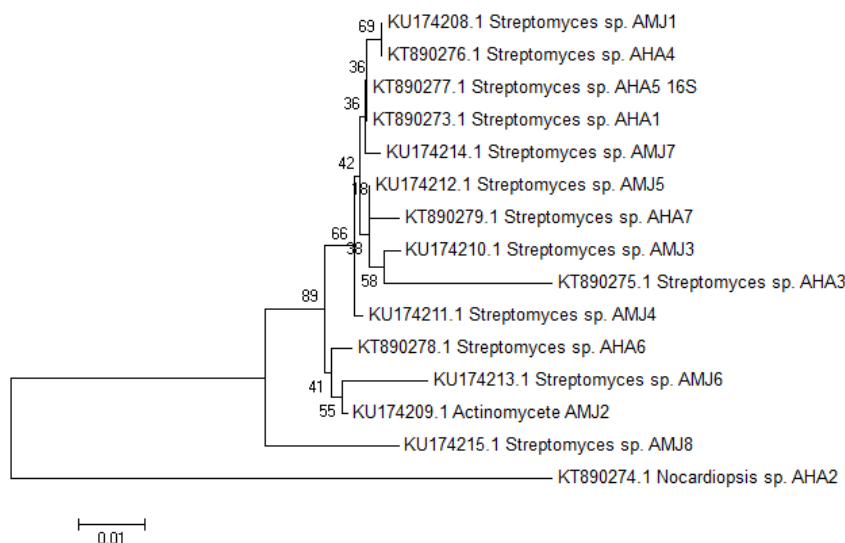
^۱Neibor-joining

خطی مربوط به منحنی استاندارد، قدرت احیاکنندگی (ظرفیت آنتی اکسیدانی) هر عصاره محاسبه شد. آنالیز آماری: برای بررسی رابطه همبستگی بین محتوای فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FRAP از نرم افزار SPSS 16.0 و از ضریب همبستگی پیرسن استفاده شد.

۳. نتایج

نتایج حاصل از بررسی درخت فیلوژنی نشان می-دهد که ایزوله AHA2 از گونه *Nocardiosis SP.* بیشترین فاصله ژنتیکی را با سایر ایزوله ها از گونه *Streptomyces SP.* دارد و از بین گونه های استرپتومایسس، ایزوله AMJ8 بیشترین فاصله ژنتیکی را با سایر ایزوله ها دارد. همچنین ایزوله AMJ1 بیشترین نزدیکی را به ایزوله AHA4 از نظر توالی ژنتیکی دارد و در یک گروه خواهری قرار می گیرند. ایزوله AMJ2 بیشترین نزدیکی را به ایزوله AMJ6 از نظر توالی ژنتیکی دارد و در یک گروه خواهری قرار می گیرند. همچنین ایزوله AHA3 بیشترین نزدیکی را به ایزوله AMJ3 از نظر توالی ژنتیکی دارد و در یک گروه خواهری قرار می گیرند (شکل ۱).

۵۹۳ نانومتر جذب دارد. به منظور سنجش این ویژگی، در لوله آزمایش مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از سوپرناتانت یا محلول استاندارد آسکوربیک اسید با ۲۸۵۰ میکرولیتر معرف FRAP مخلوط گردید. معرف FRAP شامل ۲۵ میلی لیتر بافر استات ۳۰۰ میلی مولار با $\text{pH} = ۳/۶$ ، ۲/۵ میلی لیتر TPTZ (فریک-تری پرییدیل-اس-تریازین) ۱۰ میلی مولار محلول در ۴۰HCl میلی مولار و $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ۲۰ میلی-مولار می باشد. مخلوط حاصل قبل از استفاده ورتکس و در دمای 37°C گرم شد. بعد از ۳۰ دقیقه جذب نمونه ها در ۵۹۳ نانومتر نسبت به شاهد (شامل ۱۵۰ میکرولیتر آب مقطر به همراه ۱۸۵۰ میکرولیتر معرف FRAP)، خوانده شد (Benzie and Strain, 1996). از آسکوربیک اسید به عنوان مرجع استاندارد برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میکرومول بر لیتر عصاره بیان شد. بدین صورت که محلول پایهای از این ماده با غلظت یک میلی مولار تهیه گردید. سپس از این محلول پایه غلظت های مختلف (۱۰۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ میکرومولار) آماده شد و پس از انجام مراحل مختلف مطابق روش ذکر شده مقدار جذب عصاره ها خوانده شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون آسکوربیک اسید، با قرار دادن مقدار جذب عصاره ها در معادله



شکل ۱. درختچه NJ گونه های مورد مطالعه براساس توالی 16S rDNA

نتایج بررسی قدرت احیاکنندگی آهن (FRAP): باتوجه به منحنی استاندارد رسم شده برای آسکوربیک اسید ، نتایج مربوط به قدرت احیاکنندگی عصاره هر ایزوله بر حسب میکرومول اکی والان آسکوربیک اسید بر لیتر، در جدول ۱ محاسبه شده است. مقادیر به دست آمده برای قدرت احیاکنندگی طیف $75/57 \pm 8/97$ تا $230/66 \pm 15/24$ ($\mu\text{M ASC}$) را شامل شد. بیشترین قدرت احیاکنندگی مربوط به سویه AHA3 ($230/66$) میکرومولار) و کمترین قدرت احیاکنندگی مربوط به سویه AMJ5 ($75/57$) میکرومولار) بود.

نتایج بررسی محتوای تام فنلی: باتوجه به منحنی استاندارد رسم شده برای گالیک اسید ، نتایج مربوط به محتوای تام فنلی عصاره هر ایزوله بر حسب میکرومول اکی والان گالیک اسید بر لیتر، در جدول ۱ محاسبه شده است. مقادیر به دست آمده برای محتوای ترکیبات فنلی تام، طیف $608/8 \pm 9/6$ تا $1419 \pm 298/68$ ($\mu\text{M GAE}$) را شامل می شود. که بیشترین محتوای فنلی کل مربوط به سویه AHA1 و کمترین محتوای فنلی مربوط به سویه AMJ1 می باشد.

جدول ۱. بررسی محتوای فنلی و ظرفیت احیاکنندگی آهن در ایزوله های اکتینومیست دریایی مورد مطالعه

سویه	FOLIN(μMGAE)	FRAP(μMASC)
AHA1	$1419 \pm 298/68$	$114/27 \pm 13/19$
AHA2	$626/2 \pm 55/15$	$132/17 \pm 4/62$
AHA3	$879/2 \pm 64/77$	$230/66 \pm 15/24$
AHA4	$629 \pm 64,77$	$103/83 \pm 7/60$
AHA5	$783/9 \pm 3/363$	$127/55 \pm 7/45$
AHA6	$892 \pm 17/81$	$118/62 \pm 0/4$
AHA7	$935/3 \pm 106/4$	$112/91 \pm 17/97$
AMJ1	$608/8 \pm 9/61$	$197/89 \pm 3/61$
AMJ2	$845/5 \pm 5/798$	$135/47 \pm 2/77$
AMJ3	$988/4 \pm 36/4$	$91/26 \pm 30/55$
AMJ4	$949/9 \pm 46/52$	$197/89 \pm 3/61$
AMJ5	$794/6 \pm 17/81$	$75/57 \pm 8/97$
AMJ6	$811/3 \pm 11/4$	$114/77 \pm 12/86$
AMJ7	$1122/7 \pm 9/192$	$93/42 \pm 8/68$
AMJ8	$766 \pm 97/29$	$116/87 \pm 1/02$

۴. بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر از روش FRAP برای بررسی قدرت آنتی اکسیدانی اکتینومیست های دریایی جدا شده از رسوبات ساحل دیلم، استفاده شد. همچنین برای بررسی محتوای تام فنلی، از روش فولین سیوکالتو استفاده شد. پتانسیل آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی

نتایج حاصل از بررسی همبستگی بین فعالیت آنتی اکسیدانی به روش FRAP و محتوای فنلی نشان داد که همبستگی بین آنها وجود ندارد (ضریب همبستگی (R) > صفر).

DPPH و FRAP اندازه‌گیری شد، که در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در هر میلی‌لیتر، قدرت مهارى عصاره اتیل استاتی، ۴۳/۲ درصد و قدرت کاهش Fe^{+3} عصاره اتیل استاتی، ۰/۳۷ گزارش شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلفی از آسکوربیک‌اسید و عصاره اتیل-استاتی *Streptomyces parvulus VITJS11* اندازه-گیری کردند و مشاهده کردند که با افزایش غلظت، قدرت کاهندگی افزایش می‌یابد. همچنین حداکثر فعالیت آنتی‌اکسیدانیدر غلظت ۵ $\mu g/ml$ ، با ۸۵٪ قدرت کاهندگی گزارش شد. علاوه بر این در مطالعات Kekuda و همکاران (۲۰۱۳) و Thenmozhi و همکاران در سال ۲۰۱۲ شبیه به این یافته‌ها مشاهده شده است. روش فولین سیوکالتو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر نشان می‌دهند. بین محتوای فنولی موجود در عصاره و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن رابطه متقابلی وجود دارد (Katalinic et al., 2006). به طوری که محتوای فنولی به عنوان یک عامل کلیدی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی متابولیت ثانویه اثر می‌گذارد (Marković and Manojlović, 2010). در واقع ترکیبات فنولی به صورت موثری به عنوان دهنده هیدروژن عمل نموده، لذا به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر عمل می‌کنند (Gulluce et al., 2007). همچنین نقش کلیدی ترکیبات فنولی به عنوان حذف کننده رادیکال‌های آزاد در چندین مقاله گزارش شده است (Katalinic et al., 2006; Theriault et al., 2006). در این بررسی، مقایسه بین دو شاخص قدرت آنتی‌اکسیدانی، روش FRAP و محتوای تام فنولی نشان داد رابطه مستقیمی بین این دو شاخص دیده می‌شود. به طوری که در برخی از سویه‌ها که محتوای فنولی بالایی داشتند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالایی مشاهده شد. به طور مثال سویه‌های AHA1

موجود در عصاره، ناشی از نوع و غلظت این ترکیبات و نیز تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک این ترکیبات است. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال آزاد افزایش می‌دهد (Ross and Kasum 2002; Mladenka et al., 2010; Nemzer et al., 2011; Sandoval-Acuna et al., 2010; Naine et al., 2015).

در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Zhang et al., 2009). در مطالعات Kekuda، در سال ۲۰۱۳، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱۱ ایزوله اکتینومیست *Streptomyces SRDPH03*، جدا شده از ریزوسفر خاک‌های کارناتا‌کا در هند، نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، قدرت مهارکنندگی افزایش می‌یابد. همچنین بیشترین اثر مهارکنندگی عصاره‌ها در غلظت ۱۰۰ $\mu g/ml$ ، با درصد مهار ۵۰٪ گزارش شد. در مطالعه حاضر بیشترین قدرت کاهندگی مربوط به سویه AMJ3 با مقدار ۱۰/۱۱ mM بود. در مطالعات انجام شده توسط Sanjivkumar و همکاران در سال ۲۰۱۶، فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتیل استاتی متابولیت ثانویه سویه *Streptomyces olivaceus* را بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که در غلظت ۱۰۰ $\mu g/ml$ فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و قدرت کاهندگی آهن به ترتیب ۶۲/۰۶٪ و ۳۲/۵۱٪ بود. قدرت کاهندگی یک ترکیب به عنوان یک شاخص مهم در پتانسیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفته می‌شود. به طوری که عصاره‌هایی که در واکنش FRAP شرکت نمی‌کنند، قدرت آنتی‌اکسیدانی پایینی دارند. در مطالعه‌ای که توسط Kannabiran و Thenmozhi در سال ۲۰۱۲ صورت گرفته بود، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اکتینومیست‌های دریایی گونه *Streptomyces sp. VITSTK7* با دو روش

نتیجه گیری: بوضوح اکتینومیسیتها منبعی غنی از ترکیبات مهم اقتصادی و دارویی هستند بررسی ویژگیها و پتانسیل آنها برای اهداف آنتی اکسیدانی در این تحقیق نشان می‌دهد ایزوله های مورد مطالعه کاندیدهای خوبی برای استخراج و شناسایی دقیق ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی هستند و می‌توان از آنها برای سلامت انسان استفاده کرد.

منابع

- Alijani H, Matroodi S, sharafi A, zamani I. 2017. Diversity and Antimicrobial Activities of *Streptomyces* Isolated from intertidal Sediments of Deylam, Iran. *Razi J Med Sci.* 24 (162): 22-31.
- Arabsorkhi F., Safaeian S., Salimi L. 2015. The Comparison of Antioxidant Property of Enriched Jelly Gum with *Chlorella vulgaris* and Normal Jelly Gum. *J marine sci technol.* 12(1).
- Baltz RH. 2008. Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes. *Curr Opin Pharmacol.* 8:1-7.
- Benzie FF., Szeto YT. 1999. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *J Agri Food Chem.* 47(2): 633-636.
- Benzie IF., Strain JJ., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analy biochem.* 239(1):70-76.
- Berdy J. 2005. Bioactive Microbial Metabolites. *J Antibio. (Tokyo).* 58:1-26.
- Bull A.T., Stach JEM. 2007. Marine actinobacteria: new opportunities for natural product search and discovery. *Trend Microbiol.* 15:491-9.
- Dekkers J., van Doornen L., Kemper H. 1996. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med.* 21: 213-238.
- Gulluce M., Sahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A. Ozkan H. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food chem.* 103(4): 1449-1456.

AMJ4, AMJ3, AMJ2, AHA7, AHA6, AHA3, AMJ7, AMJ5, که محتوای فنلی بالایی داشتند، ظرفیت آنتی اکسیدانی خوبی هم از خود نشان دادند. از طرفی سویه AHA4 که محتوای فنلی پایینی داشت، ظرفیت آنتی اکسیدانی پایینی از خود نشان داد. البته در مورد برخی از سویه‌ها که محتوای فنلی پایینی داشتند، توانایی بالایی در ظرفیت آنتی اکسیدانی مشاهده شد. این موضوع نشان می‌دهد که برخی از ترکیبات آنتی اکسیدانی که محتوای فنلی پایینی دارند، قادرند در واکنش مربوط به FRAP شرکت کنند. بررسی همبستگی بین محتوای فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که رابطه مستقیمی بین آنها وجود ندارد. در مطالعه حاضر، از محیط کشت القایی در شرایط دمایی و زمانی یکسان، برای جداسازی عصاره‌ی تمامی ایزوله‌ها استفاده شد. سپس از عصاره خام به دست آمده، برای سنجش خاصیت آنتی اکسیدانی به روش FRAP استفاده شد. در مطالعات Nagaseshu در سال ۲۰۱۶، به منظور بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی ایزوله‌های اکتینومیسیت دریایی به روش DPPH و FRAP، از عصاره متانولی استفاده شد و عصاره‌ها فعالیت مهارکنندگی و قدرت کاهندگی خوبی از خود نشان دادند. نتایج با Benzie و همکاران مشابه است آنها نیز رابطه بالایی بین محتوی فنلی و آزمایش FRAP یافتند. Rice-Evans و همکاران در سال ۱۹۹۷ (۳۰) گزارش کردند که ترکیبات حاوی ویژگی‌های ردوکس هستند که به آنها اجازه می‌دهد مانند عناصر کاهشی (دهنده هیدروژن) عمل کنند. پتانسیل ردوکس ترکیبات فنلی، نقش مهمی در تعیین پتانسیل آنتی اکسیدان عمل می‌کند. در پایان می‌توان نتیجه گرفت که پتانسیل آنتی اکسیدان عصاره های اکتینومیسیت ساحل دیلم، قدرت آنتی اکسیدانی بالایی را نشان می‌دهند. همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی این عصاره ها متناسب با محتوی فنلی است.

- Nemzer BV., Rodriguez LC., Hammond L., DiSilvestro R., Hunter JM., Pietrkowski Z. 2011. Acute reduction of serum 8-iso-PGF2-alpha and advanced oxidation protein products in vivo by a polyphenol-rich beverage; a pilot clinical study with phytochemical and in vitro antioxidant characterization. *Nutr J* 10(1):1-11.
- Nonomura H., Ohara Y. 1974. Distribution of actinomycetes in soil. XII. A new species of actinomycetes, *Thermononospora mesouviformis*, sp. nov. *J Ferment Technol.* 52: 10-13.
- Pham-Huy LA., He H., Pham-Huyc C. 2008. Free radicals, antioxidants in disease and health. *Int J Biomed Sci.* 4:89-96.
- Ramesh S. 2009. Marine actinomycetes diversity in Bay of Bengal, India: isolation and characterization of bioactive compounds from *Streptomyces fungicidicus* MML 1614. India. Dissertation, University of Madras, Chennai, India.
- Refrenece
- Rice-Evans CA., Miller NJ., Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 4: 304-309.
- Ross JA., Kasum CM. 2002. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr.* 22:19-34.
- Sandoval-Acuna C., Ferreira J., Speisky H. 2014. Polyphenols and mitochondria: an update on their increasingly emerging ROS-scavenging independent actions. *Arch Biochem Biophys.* 559:75-90.
- Sanjivkumar M., Babu DR., Suganya AM., Silambarasan T., Balagurunathan R., Immanuel G., 2016. Investigation on pharmacological activities of secondary metabolite extracted from a mangrove associated actinobacterium *Streptomyces olivaceus* (MSU3). *Biocata Agri Biotechnol.* 6: 82-90.
- Singh SB., Pelaez F. 2008. Biodiversity, chemical and drug discovery. *Progr Drug Res.* 65:143-74.
- Singleton VL., Orthofer R., Lamuela-Raventós RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Meth enzymol.* 299: 152-178.
- Tamura K., Dudley J., Nei M. Kumar, S. 2007. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecul Boil Evol.* 24(8): 1596-1599.
- Heidari M., Zolgharnin H., Sakhaei N., Mirzaei A., Movahedinia A. 2015. Antioxidant capacity and phenolic and flavonoid content of macro algae in the northern coasts of the Persian Gulf in Bushehr province. *J marine sci technol.* 14(1).
- Irshad M., Singh M., Zafaryab M., Rizvi MMA. 2012. Comparative analysis of the antioxidant activity of *Cassia fistula* extracts. *Inter J Med Chem.* doi:10.1155/2012/157125.
- Katalinic V., Milos M., Kulisic T., Jukic M. 2006. Screening of 70 medicinalplant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem.* 94:550-7.
- Jabari M, Matroodi S, Zolgharnein H, Sharafi A, Zamani I. 2016. Screening, isolation and study of antifungal activity of marine actinomycetes from Deylam nearshore sediments. *Iran J Med Microbiol.* 9 (4) :87-94.
- Kekuda PTR, Rakesh KN., Junaid S. Kekuda PT. 2013. Antibacterial and antioxidant activities of *Streptomyces* species SRDP-H03 isolated from soil of Hosudi, Karnataka, India. *J Drug Deliv Sci Technol.* 3(4): 47-53.
- Lakhtakia R., Ramji MT., Lavanya K., Rajesh K., Jayakumar K., Sneha C., Narayan A., Ramya B., Ramana G., Chari PVB., Chaitanya KV. 2011. The role of antioxidants in human health maintenance: Small molecules with infinite functions. *IJPSR.* 2:1395-402.
- Markovic ZS., Manojlovic NT. 2010. Analytical characterization of lichexanthone in lichen: HPLC, UVspectroscopic and DFT analysis of lichexanthone extracted from *Laurera benguelensis*(Mull. Arg.). *Zahlbr Monatshefte Chemie.* 141:945-52.
- Mladenka P., Zatloukalova L., Filipsky T., Hrdina R. 2010. Cardiovascular effects of flavonoids are not caused only by direct antioxidant activity. *Free Radical Bio Med.* 49(6):963-75.
- Nagaseshu P., Gayatrivedi V., Anil Kumar B., Seema Kumari, Murali Mohan G., Rama Rao Malla. 2016. Antioxidant And Antiproliferative Potentials Of Marine Actinomycetes. *Inter J Pharma Pharmaceut Sci.* 8(8): 277-284.
- Naine SJ., Devi CS., Mohanasrinivasan V. 2015. Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activity of Marine *Streptomyces parvulus* VITJS11 Crude Extract. *Brazilian Arch Biol Technol.* 58(2): 198-207.

Thenmozhi M., Sindhura S., Kannabiran K. 2010. Characterization of Antioxidant activity of *Streptomyces* species VITTK3 isolated from Puducherry Coast, India. J Adv Sci Res. 1:46-52.

Zhang Z., Liao L., Moore J., Wu T., Wang Z. 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). Food Chem. 113(1): 160-1

Th'eriault M., Gaillett S., Kermasha S., Lacroix M. 2006. Antioxidant, antiradical and antimutagenic activities of phenolic compounds present in maple products. Food Chem. 98: 490-501.

Thenmozhi M., Kannabiran K. 2012. Antimicrobial and antioxidant properties of marine actinomycete *Streptomyces* sp. VITSTK7. Oxidant. Antioxidant Med Sci. 1: 51-57.

Comparative Antioxidant Activities and Polyphenolic Content of Marine actinomycetes from Deylam nearshore sediments

Masoomeh Nateghzadeh¹, Soheila Matroodi^{1*}, Kamahldin Haghbeen²

1. Department of Marine biology, Faculty of Marine Science and oceanography, Khorramshahr University of marine science and technology, Iran.

2. National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology

(DOI): [10.22113/jmst.2018.104541.2073](https://doi.org/10.22113/jmst.2018.104541.2073)

Abstract

Antioxidant used for chronic disease as treatment and for replacing artificial antioxidant with natural antioxidant; To investigate antioxidant activity, we used marine actinomycetes as an important resources of bioactive compounds.. In this study, for phylogenetic analysis of 15 marine actinomycetes isolated from Deylam intertidal sediments, 16S rDNA sequences were used. In addition, the total phenolic content (TPC) was determined with the Folin-Ciocalteu's reagent using gallic acid as a standard and the results were expressed as mM of gallic acid. Then, the antioxidant potential of the extracts was determined by analytical methods, ferric reducing antioxidants power (FRAP). The antioxidant potential of the crude extracts exhibited strong ferric reducing power activity at 517nm and the reducing power activity was strongly correlated with the total phenolics content of the isolates. Among the tested isolates, AHA1 (1419 μ M) and AMJ1 (608.8) showed the highest and lowest total phenolic content, respectively. Moreover AHA3 and AMJ5 (230.66 and 75.57 μ M) showed the highest and lowest reducing power, respectively. These strains showed acceptable antioxidant activity and could be good candidates for more studies as nature resources of pharmaceutical antioxidant compound.

Keywords: Marine actinomycetes, Antioxidant activity, FRAP, Total phenolic Content (TPC)

List of tables & figures

Table 1. Total phenolic content and ferric reducing power activity in marine actinomycetes.

Figure 1. Neighbor- Joining tree of isolated strains based on 16S rDNA sequences.

*Corresponding author, E-mail: s.matroodi@kmsu.ac.ir