بررسی خاصیت ضد میکروبی پروتئین هیدرولیز شده کینوا بر روی باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا

مینا مهدوی یکتا[۱]، لیلا نوری[۲*]، محمد حسین عزیزی[۳]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران
۲- ستادیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران
۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۰۷)

چکیده

عصاره ها، اسانس هاس گیاهی و ترکیبات طبیعی اثرات شناخته شده ضد باکتریایی دارند و می توان از آن ها بعنوان نگهدارنده های غذایی استفاده کرد. دانه کینوا منبع غنی پروتئین با خاصیت ضد اکسایشی و ضد باکتریایی قوی نسبت به سایر غلات می باشد. هدف از این پژوهش، بررسی خاصیت ضدمیکروبی پپتید فعال استخراج شده از کینوا بر روی باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلاانتریکا بوده است. برای تعیین شرایط بهینه هیدرولیز پپتید مناسب با بهترین خاصیت ضدمیکروبیو تعیین بهترین تیمار از نسبت های آنزیمی پپسین و آلکالاز در دما و زمان های مختلف استفاده شد. اثرات ضد باکتریایی پپتید هیدرولیز شده از پروتئین های کینوا بر روی دو نوع باکتری گرم مثبت و منفی (استافیلوکوکوس اورئوس و سامونلاانتریکا) در مقایسه با آنتی بیوتیک جنتامایسین به روش چاهک گذاری انجام شد. بیشترین قطر هاله عدم رشد در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلاانتریکا مربوط به پپتیدهای حاصل در شرایط فعالیت آنزیمی ۶۰ (آنسون برکیلوگرم پروتئین)، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و زمان ۱۵۰ دقیقه با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلیلیتر بود(۱/۰۰±۱۳/۰۰ برای استافیلوکوکوس اورئوس و ۱/۰۰±۱۱/۰۰ برای سالمونلاانتریکا). با توجه به نتایج به دست آمده پپتید حاصل از پروتئین کینوا، اثر مهارکنندگی خوبی بر باکتریهای استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا داشته است. توصیه می شود با استخراج پپتید و مواد موثره کینوا تحقیقات بیشتری روی این شبه غله انجام شود و از پپتیدهای آن به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی استفاده شود.

کلید واژگان: دانه کینوا، پپتید فعال، استافیلوکوکوس اورئوس، سالمونلا انتریکا

*مسئول مکاتبات: Nouri.le.ir@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-16]

۱- مقدمه

هر روز اثرات زیان آور نگهدارنده های شیمیایی از جمله عوارض سرطانزایی و خواص تراتوژنیک و نیز باقیمانده های سمی بر سلامت انسان به اثبات می رسد و تقاضا برای مصرف مواد غذایی که عمر ماندگاری آنها به صورت طبیعی افزایش یافته، بیشتر میشود[۱] لذا محققین مواد غذایی درصدد جایگزینی آنها با نمونه های طبیعی شده اند.

در سالهای اخیر توجه به استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی، منجر به تحقیقاتی در زمینه بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی و آنتی باکتریالی پپتیدها از پروتئین های هیدرولیز شده ای نظیر پروتئین سویا[۲]، کازئین[۳]، پروتئین سفیده تخم مرغ[٤] و پروتئین های گوشت ماهی[۵] شده است. هیدرولیز پروتئین یک فناوری سودمند جهت تولید فراورده های ضد اکسایشی و ضد میکروبی با ارزش افزوده بالا می باشد که تحت عنوان پپتیدهای زیست فعال شناخته می شوند[٦] پپتیدهای زیست فعال بعنوان اجزا پروتئینی مورد بررسی قرار میگیرند که در ساختار پروتئین اصلی غیرفعال بوده و بعد از آزادشدن توسط هیدرولیز آنزیمی عملکرد فیزیکوشمیایی متعددی از خود بروز میدهند[۷] این پپتیدها تاثیر مثبتی بر عملکرد بدن داشته ودر نهایت منجر به حفظ سلامتی مصرف کننده خواهد شد[۸]رایج ترین راه تولید پپتیدهای زیست فعال قوی از طریق هیدرولیزآنزیمی از قبیل آنزیم های پپسین و تریپسین می باشد. از مهم ترین عملکردهای کاربردی این ترکیبات زیست فعال می توان به فعالیت های ضد میکروبی ، ضد اکسایشی، ضد ترومبوز ، کاهش دهنده فشار خون ، تنظیم کننده فعالیت سیستم ایمنی و جذب کننده املاح اشاره کرد[۷]

دانه کینوا یک شبه غلات می باشد که قدمت ۵۰۰۰ ساله دارد. کینوا بسیار سبک‌تر و خوش هضم‌تر از دانه‌های برنج و منبع غنی پروتئین، منیزیم، فیبر، فسفر، ویتامین ب ۲، پتاسیم و دیگر مواد معدنی مانندآهن است [۹] این دانه، بومی کوه‌های آند در بولیوی، شیلی و پرو میباشد که خوشبختانه در سالهای اخیر کشت این بذر در کشور ایران نیز شروع شده است[۱۰, ۱۱] طبق مطالعات انجام شده، هزینه‌های تولید در واحد سطح این گیاه در ایران کمتر از گندم خواهد بود زیرا کشت این گیاه نیاز به آب، کود و عملیات زراعی بسیار کمتری نسبت به گندم دارد[۱۰،۱۲]همچنین با توجه به اینکه کینوا سرشار از پروتئین است، یک جایگزین عالی برای دیگر غلات از جمله برنج می تواند محسوب شود. کینوابا دارا بودن اسید آمینه‌های ضروری لیزین و متیونین که غلات و حبوبات دچار کمبود آن هستند،می‌تواند پروتئین کامل بدن را تامین کند به رفع مشکل سوء تغذیه کمک نماید[۱۳]

محققان داخلی اثرات ضد باکتریایی و ضد اکسیدانی، دانه ها و گیاهان سنتی و بومی بسیاری را بررسی کرده اند، با وجود در زمینه ارزیابی فعالیت ضد میکروبی گیاه کینوا در کشور ایران تاکنون مطالعه ای هدفمند در منابع علمی انجام نشده است و بیشتر بررسی های انجام شده در زمینه سازگاری رشد و جوانه زنی گیاه کینوا با شرایط اقلیمی بوده است[۱۰, ۱۱, ١٤] در این مطالعه به علت وجود درصد بالای پروتئین کینوا نسبت به سایر غلات (۲۵ درصد بیشتر)، پروتئین این دانه هیدرولیز شد و اثرات ضد میکروبی آنها بر روی دو گونه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا بررسی شد.

۲- مواد و روش ها

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی پپتید فعال حاصل از دانه کینوا از سویه های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس(PTCC1431) و سالمونلا انتریکا (PTCC 1709) تهیه شده از انستیتو پاستور ایران استفاده شد.

۲-۱-آماده سازی نمونه

بذر کینوا با واریته سانتاماریا (*Santa Maria*) از موسسه تحقیقاتی اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. جداسازی ناخالصی ها بصورت دستی انجام گردید. آسیاب دانه ها در موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر با استفاده از آسیاب (مدل*MB 1001B, Magic Bullet Blender,* ساخت کشور چین) انجام شد؛ و یک آرد کامل با درجه استخراج ۹٦ درصد از بذر کینوا بدست آمد. آرد حاصل با حلال هگزان به نسبت ۱:۵ در سه مرحله به مدت ۲٤ ساعت به کمک شیکر اوربیتالی (مدل*TM 52E, Fan AzmaGostar*ساخت ایران) چربی گیری شد و برای جداسازی حلال نمونه ۲٤ ساعت در آون با دمای ٤۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت. محصول بدست

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-16]

آمده در کیسه های پلی اتیلنی در یخچال در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد تا زمان مصرف نگهداری شد[٦]

۲-۲- ارزیابی الگوی الکتروفورزی

آنالیز الگوی الکتروفورزی عصاره خام و پپتیدهای خالص شده با استفاه از PAGETricine SDSانجام شد. از ژل استاکینگ ٦/٥ درصدو یک ژل دو قسمتی جدا کننده ۱۰ و ۱۵ درصد برای الگوی الکتروفورزی استفاده شد. بعد از اتمام کار ،ژل توسط رنگ آمیزی نیترات نقره ، رنگ آمیزی گردیدو مولکول های زیر ۱۰ کیلو دالتون که پپتید هستند، شناسایی شدند[۱۵]

۲-۳-استخراج پروتئین

کینوای چربی گیری شده به نسب 1:10 در آب پراکنده شد سپس pH محلول توسط سود ۱ نرمال به ۱۰رسیده و به مدت یک ساعت در دمای اتاق مخلوط شد و به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰ g و دمای ٤ درجه سانتیگراد در سانتریفوژ یخچال دار قرار گرفت. سپس pH مایع رویی به منظور رسوب پروتئین های کینوا توسط اسید کلریدریک ۱نرمال به ۵ رسید وتحت شرایط مشابه سانتیریفوژ(مدلHermle-z200A ساخت کشور آلمان) شد. رسوب بدست آمده برای هیدرولیز آماده گردید[۸]

۲-٤-تهیه محلول هیدرولیزات

برای این منظور، در پروتئین استخراج شده از کینوا با استفاده از آنزیم های پپسین و آلکالاز ، عمل هضم در ظرف شیشه ای درب دار توسط هم زن مغناطیسی(agitator)انجام شد. عصاره ی پروتئین کینوا در بافر سدیم فسفات و در pH بهینه ی آنزیم ۵ بار رقیق سازی شد. به نمونه های (پروتئین) رقیق شده آنزیم آلکالاز در pH اپتیمم ۸ اضافه گردید و هیدرولیز پروتئین ها در انکوباتور صورت گرفت تا پروتئین به هیدرولیزات خود تبدیل گردید. سپس به مخلوط های واکنش ها برای هضم بیشترآنزیم پپسین اضافه شد ولی قبل از اضافه کردن این آنزیم، pH مخلوط به۲/۵ رسانده شد. پس از اتمام زمان هیدرولیز، محلول ها برای ۱۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفت تا فعالیت آنزیم متوقف شد.

سپس سوسپانسیون حاصل در ۸۰۰۰ دور در دقیقه برای ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول های رویی به عنوان هیدرولیزات جداسازی گردید. سپس باکمک دستگاه اولترافیلتراسیون (مدل Amicon, US)و باغشای ۳۰۰۰دالتون ، پپتیدهای کوچک از این محدوده تهیه شدند[٦]

به منظور یافتن دامنه ی مناسب شرایط هیدرولیز جهت بهینه سازی ، ابتدا پیش تیمارهایی در شرایط مطابق با دماهای ٤۰، ٤٥ ، ٥۰ ، ٥٥ درجه سانتی گراد و زمان های ٦۰، ۹۰ ، ، ۱٥۰ ، ۱۸۰ ، ۲۱۰ دقیقه و فعالیت آنزیمی ۳۰ ، ٦۰ و ۹۰ واحد آنسون بر کیلوگرم پروتئین صورت گرفت .

۲-٥-سنجش فعالیت ضد میکروبی

۲-٥-۱-روش انتشار از چاهک در آگار (Agar well diffusion)

در این پژوهش پس از تهیه سوسپانسیون از کشت ۲٤ ساعت باکتری ها (باکتری گرم منفی سالمونلا انتریکا)(PTCC 1709و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC1431) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شد و در ۲٤ ساعت قبل از تست ، در محیط کشت مولر هینتون آگار (MHA) کشت داده شدند با کدورت مشابه استاندارد۵ /۰ مک فارلند ، از رقت ۱/۱۰۰ آن در سرم فیزولوژی استریل ، به روش spread بر روی محیط مولر هینتون آگار (merck) تلقیح نموده و برای ایجاد چاهک در زیر هود توسط ته پیپت پاستور استریل در کنار شعله و با رعایت شرایط کامل استریل به تعداد غلظت های مورد نظر چاهک ایجاد شد و ٤۰ لاندا توسط سمپلر ۵۰ لانداز غلظت های (۲۰۰، ٤۰۰، ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) را بر روی چاهک ریخته و برای شاهد نیز در وسط محیط داخل چاهک ایجاد شده ، DMSO را بعنوان کنترل منفی و جنتامایسین ۵ میلی گرم بهعنوانکنترل مثبت ریخته شد آنگاه پلیت های کشت داده شده در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت انکوبه شده و قطر هاله های عدم رشد توسط کولیس تعیین شد[۱٦, ۱۷]برای هر باکتری دو تکرار انجام شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-16]

Table 1 treatments of study (conditions, concentration, enzyme ratio, temperature and time)

T0: control (gentamicin + DMSO)	T8: Condition C and concentration of 400 µg/ml
T1: Condition A and concentration of 200 µg/ml	T9: Condition C and concentration of 800 µg/ml
T2: Condition A and concentration of 400 µg/ml	T10: Condition D and concentration of 200 µg/ml
T3: Condition A and a concentration of 800 µg/ml	T11: D conditions and concentration of 400 µg/ml
T4: Condition B and concentration of 200 µg/ml	T12: Condition D and Concentration 800 µg/ml
T5: Condition B and concentration of 400 µg/ml	T13: Condition E and concentration of 200 µg/ml
T6: Condition B and Concentration 800 µg/ml	T14: Condition E and concentration of 400 µg/ml
T7: Condition C and concentration of 200 µg/ml	T15: Condition E and Concentration 800 µg/ml

A: Enzyme ratio: 30(Anson unit/kg protein), temperature: 55 ° C, time: 210 min
B: Enzyme ratio: 60(Anson unit/kg protein), temperature: 50 ° C, time: 150 min
C: Enzyme ratio: 60(Anson unit/kg protein), temperature: 55 ° C, time: 180 min
D: Enzyme ratio: 90(Anson unit/kg protein), temperature: 50 ° C, time: 150 min
E: Enzyme ratio: 90(Anson unit/kg protein), temperature: 50 ° C, time: 180 min

۲-٦-تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به دست آمده به نسخه ۲۰ نرم افزار spss وارد شد. میانگین و انحراف معیار آنها محاسبه و برای مقایسه میانگین ها از تحلیل واریانس یک طرفه و برای معنادار بودن اختلاف بین آزمایش ها از آزمون تی در سطح $P<0.05$ استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج آزمون تعیین قطر هاله عدم رشد در مقابل استافیلوکوکوس اورئوسوسالمونلاانتریکا (mm) به روش چاهک گذاری در شرایط مختلف هیدرولیز (دمایی و زمان متفاوت) و سه غلظت متفاوت (۲۰۰، ٤۰۰، ۸۰۰ میکروگرم در میلیلیتر) در مقایسه با آنتی بیوتیک جنتامایسین در جدول ۲ نشان داده شده است لازم به ذکر است که حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر هر ستون در سطح احتمال ۹۵ درصد میباشد.

با استفاده از آزمون آنالیز واریانس، به منظور مقایسه اثر تیمارهای مورد مطالعه بر میزان رشد هاله پاتوژنهای استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا، فرض کرویت با استفاده از آزمون ماخولی مورد بررسی قرارگرفته است. نتایج حاصل از این آزمونها در جدول شماره ۲ خلاصه شده است. نتایج پژوهش نشان دادند که اثر غلظت بر میزان مهار باکتری ها معنی‌داراست، یعنی میانگین میزان قطر هاله عدم رشد در غلظت ۸۰۰ میکرو گرم بر میلی لیتر بین تمام تیمارها معنی دار بوده است. همچنین در جدول ۲ مشاهده می شود که بیشترین میزان اثر مهار باکتریهای استافیلوکوکوس به طور معنادار مربوط به تیمارهایی با بالاترین غلظت یعنی ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بوده است.

برای درک بیشتر اثر شرایط دما، زمان، نسبت آنزیمی با غلظت پپتیدهای حاصل از پروتئین کینوا به بررسی معناداری اثرات درون‌گروهی و بین گروهی تیمارهای مورد مطالعه پرداخته شد. یافته های حاصل از مقایسه درون گروهی تیمارها نشان دادند که تنها عامل غلظت پپتیدها تاثیر معنی دار بر میزان قطر هاله رشد پاتوژن ها را دارد ($P\text{-Value} \leq 0.05$).

Table 2 Mean values of growth inhibition zone of Staphylococcus aureus and Salmonella enterica

	Concentration (µg/ml)	Salmonella enterica(mm)	Staphylococcus aureus(mm)
control (gentamicin)	0	11.00 ± 1.00^{a}	13.33 ± 0.58^{a}
A	200	4.67 ± 0.58^{e}	5.67 ± 0.58^{e}
	400	5.67 ± 0.58^{e}	7.33 ± 0.58^{d}
	800	7.33 ± 0.58^{d}	8.00 ± 1.00^{d}
B	200	7.00 ± 0.00^{d}	9.67 ± 0.58^{c}
	400	8.00 ± 0.00^{c}	11.33 ± 0.58^{b}
	800	11.00 ± 1.00^{a}	13.00 ± 1.00^{a}
C	200	6.00 ± 1.00^{de}	9.67 ± 0.58^{c}
	400	8.67 ± 0.58^{bc}	11.33 ± 0.58^{b}
	800	10.00 ± 1.00^{ab}	12.00 ± 1.00^{ab}
D	200	9.67 ± 0.58^{ab}	11.00 ± 1.00^{bc}
	400	10.67 ± 0.58^{a}	11.67 ± 0.58^{b}
	800	11.00 ± 1.00^{a}	12.00 ± 1.00^{ab}
E	200	9.67 ± 0.58^{ab}	12.00 ± 1.00^{ab}
	400	10.67 ± 0.58^{a}	11.67 ± 0.58^{b}
	800	11.00 ± 1.00^{a}	12.00 ± 1.00^{ab}

*A significant difference between the values of each column at a confidence level of 95%
[a,b,c,d,e] Significant difference at 5% error level

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-16]

به عبارت دیگر در شرایط یکسان فعالیت آنزیم، دما و زمان فقط عامل غلظت، تعیین کننده ی میزان مهار رشد پاتوژن ها بوده است. با استفاده از مقایسه بین گروهی تیمارها، پی به اثر زمان، دما و فعالیت آنزیم در مهار باکتریها برده خواهد شد. یعنی با افزایش میزان فعالیت آنزیمی و دما، میزان مهار رشد پاتوژن ها هم بیشتر می شود. البته عامل زمان بین دقیقه ۱۵۰ درجه هیدرولیز و ۲۱۰ معنادار شده است.

همچنین به منظور مقایسه و درک بیشتر بین گروه‌های مذکور با استفاده از نمودار Error bar، مشاهده شد که میزان قطر هاله رشد در شرایط گروه A (نسبت آنزیم ۳۰ دمای ۵۵ درجه و زمان ۲۱۰ دقیقه) کمترین بوده است. به طور معنادار بیشترین قطر هاله عدم رشد در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا مر بوط به پپتیدهای حاصل در شرایط فعالیت آنزیمی ٦۰(آنسون بر کیلوگرم پروتئین)، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و زمان ۱۵۰ دقیقه با غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود(۱۳/۰۰±۱/۰۰ برای استافیلوکوکوس اورئوس و ۱۱/۰۰±۱/۰۰ برای سالمونلا انتریکا).چنانکه در نمودارهای ۱ و ۲ نیز این اختلاف آشکار است.

به طور معنی دار بیشترین اثر مهار کنندگی پپتیدهای پروتئین کینوا در شرایط مختلف هیدرولیز(دما و زمان) بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا در غلظت ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر بود. با توجه به نتایج حاصل از آنالیز واریانس و مقایسه تیمارها با شاهد جنتامایسین، به طور معنادار بیشترین قطر هاله عدم رشد در مقابل استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا مر بوط به پپتیدهای حاصل در شرایط فعالیت آنزیمی ٦۰(آنسون بر کیلوگرم پروتئین)، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و زمان ۱۵۰ دقیقه بود. به عبارتی دیگر دما، زمان و غلظت بهینه برای خاصیت ضد باکتریایی پپتید های پروتئین کینوا به ترتیب ۵۰ درجه سانتیگراد، زمان درجه هیدرولیز ۱۵۰ دقیقه و غلظت ۸۰۰ میکروگرم در میلی لیتر می باشد. قدرت ضد باکتریایی پپتید های هیدرولیز شده از پروتئین کینوا در شرایط فوق در مقایسه با گروه شاهد (آنتی بیوتیک جنتامایسن) برابری کرد. کمترین میزان مهار رشد باکتریایی (استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلا انتریکا) در پایین ترین غلظت، دما، زمان و نسبت آنزیمی بود.

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر باگزارشsalehiوهمکاران (۲۰۱۱) که به بررسیخواص ضد باکتریایی پپتید صناعی D28 بر روی سویه های استافیلوکوکس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا پرداخته اند، مطابقت دارد. آنان دریافتند که پپتید سنتز شده بر روی استافیلوکوکوس اورئوس موثر بود. مطالعه آنان نشان داد که تقویت فعالیت ضد باکتریایی پپتیدها از طریق دیمریزاسیون، وابسته به روش های دیمریزاسیون و سویه باکتری می باشد[۱۸]

Jin HwaPark و همکارانش (۲۰۱۷) به بررسی خاصیت ضد اکسیدانی و ضد میکروبی دانه کینوا کشور کره در مقایسه با دانه کینوا کشورهای آمریکا و پرو پرداختند. تحقیقات آنان نشان داد که بالاترین میزان ترکیبات فنلی ۲۰,۹۱ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم در دانه کینوا کشور کره بوده است. خاصیت آنتی اکسیدانی دانه کینوا به دو روش قدرت اکسایش آهن و DPPH بود. به مشابه مطالعه ما عصاره دانه کینوا قدرت بالایی در مهارادیکال آزاد DPPH را داشت. همچنین ویژگی های ضد میکروبی عصاره دانه کینوا به روش دیسک دیفیوژن بررسی شد. بر خلاف مطالعه حاضر، قدرت ضد میکروبی عصاره دانه کینوا در کشور کره بر روی باکتریهای پاتوژن مواد غذایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس، لستریا منوسیتوژنز، باسیلوس سرئوس، اشرشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم و کمپیلوباکتر ژژونی پایین بود[۱۹]

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که پپتید حاصل از دانه کینوا به دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی در به تاخیر انداختن رشد میکروبهای پاتوژن و بیماریزا موثر می باشد[۲۰] اثرات مثبت و مهارکنندگی رشد باکتریها در دانه کینوا مربوط به ترکیبات زیستی فعال مانند پپتیدها می باشد[۲۰, ۲۱].

٤- نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که به طور معنی دار بیشترین اثر مهارکنندگی پپتیدهای پروتئین کینوا در شرایط مختلف هیدرولیز (دماوزمان) بر رشد استافیلوکوکوس اورئوس و سالمونلاانتریکا در غلظت ۸۰۰ میکروگرم پپتید در میلیلیتر بود. با توجه به وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی قوی در پروتئین کینوا،

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-16]

می توان از این دانه به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در صنعت مواد غذایی استفاده کرد.

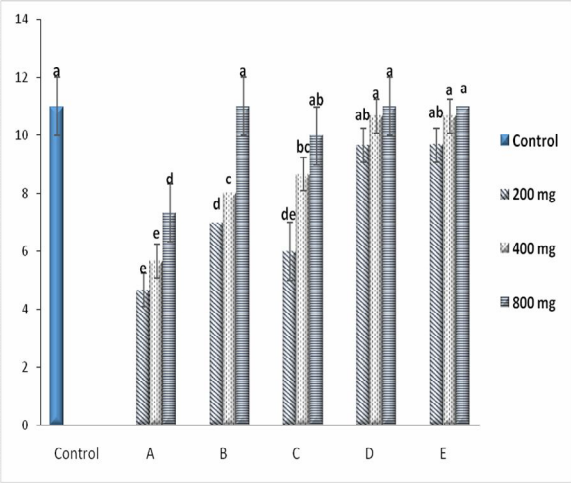

Fig 1 Growth inhibition zone of Salmonella enterica in different conditions

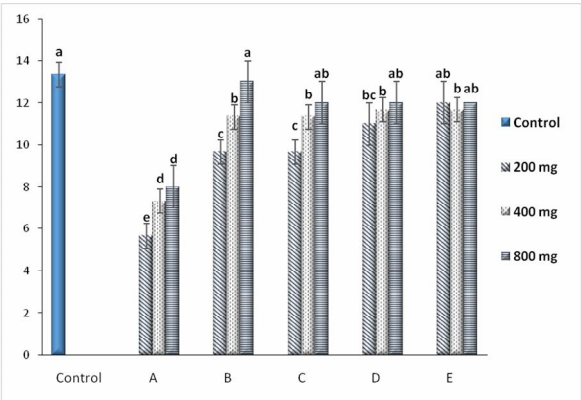

Fig 2 Growth inhibition zone of Staphylococcus aureus in different conditions

۵- منابع

[1] Davidson, P.M., T.M. Taylor, and S.E. Schmidt, Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds, in Food microbiology. 2013, American Society of Microbiology. p. 765-801.

[2] Gheldof, N., X.-H. Wang, and N.J. Engeseth, Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. Journal of agricultural and food chemistry, 2002. 50(21): p. 5870-5877.

[3] Gómez-Ruiz, J.Á., et al., Antioxidant activity of ovine casein hydrolysates: identification of active peptides by HPLC–MS/MS. European Food Research and Technology, 2008. 227(4): p. 1061-1067.

[4] Dávalos, A., et al., Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis. Journal of food protection, 2004. 67(9): p. 1939-1944.

[5] Korczek, K., J. Tkaczewska, and W. MIGDAŁ, Antioxidant and Antihypertensive Protein Hydrolysates in Fish Products–a Review. Czech J. Food Sci, 2018. 36(3): p. 00-25.

[6] Nongonierma, A.B., et al., Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) protein hydrolysates with in vitro dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory and antioxidant properties. Journal of Cereal Science, 2015. 65: p. 112-118.

[7] Korhonen, H. and A. Pihlanto, Bioactive peptides: production and functionality. International dairy journal, 2006 :(۹)۱۶ .p. 945-960.

[8] Aluko, R. and E. Monu, Functional and bioactive properties of quinoa seed protein hydrolysates. Journal of Food Science, 2003. 68(4): p. 1254-1258.

[9] Rizzello, C.G., et al., Improving the antioxidant properties of quinoa flour through fermentation with selected autochthonous lactic acid bacteria. International journal of food microbiology, 2017. 241: p. 252-261.

[10] Schahbazian, N. and B. Kamkar, Evaluation of amaranth production possibility in arid and semi arid regions of Iran. Asian J. of Plant Scie, 2006. 5(4): p. 580-585.

[11] Bazile, D., et al., Worldwide evaluations of quinoa: preliminary results from post international year of quinoa FAO projects in nine countries. Frontiers in plant science, 2016. 7: p. 850.

[12] Tahmasebi, M .and M. Firuzkoohi, DISCRIBATION OF QUINOA PLANT. Agricultural Science Letters, 2017. 1(1): p. 29-52.

[13] Vilcacundo, R., C. Martínez-Villaluenga, and B. Hernández-Ledesma, Release of dipeptidyl peptidase IV, α-amylase and α-

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-16]

glucosidase inhibitory peptides from quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) during in vitro simulated gastrointestinal digestion. Journal of Functional Foods, 2017. 35: p. 531-539.

[14] Sabaghnia, N., H. Dehghani, and S.H. Sabaghpour, Graphic analysis of genotype by environment interaction for lentil yield in Iran. Agronomy Journal, 2008. 100(3): p. 760-764.

[15] Schagger H. 2006. Tricine-SDS-PAGE. Nat Protoc. 1:16-22.

[16] Joshi, B., S. Lekhak, and A. Sharma, Antibacterial property of different medicinal plants: Ocim[21] um sanctum, Cinnamomum zeylanicum, Xanthoxylum armatum and Origanum majorana. Kathmandu university journal of science, engineering and technology, 2009. 5(1 :(p. 143-150.

[17] Holder, I. and S. Boyce, Agar well diffusion assay testing of bacterial susceptibility to various antimicrobials in concentrations non-toxic for human cells in culture. Burns, 1994. 20(5): p. 426-429.

[18] Salehi, M., et al., Evaluation of antibacterial effect of antimicrobial peptide D28 and its dimeric analogs. 2011.

[19] Park, J.H., et al., Antioxidant and Antimicrobial Activities of Quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) Seeds Cultivated in Korea. Preventive nutrition and food science, 201 :(۳)۲۲ .۷p. 195.

[20] Vega Gálvez, A., et al., Nutrition facts and functional potential of quinoa (Chenopodium quinoa willd.), an ancient Andean grain: a review. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010. 90(15): p. 2541-2547.

[21] Asao, M. andK. Watanabe, Functional and bioactive properties of quinoa and amaranth. Food science and technology research, 2010. 16(2): p. 163-168.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-16]

Antimicrobial activity of active peptide extracted from quinoa on Staphylococcus aureus and Salmonella enterica

Mahdavi-Yekta, M. [1], Nouri, L. [2*], Azizi, M. H. [3]

1. Ph.D. student of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Damghan Islamic Azad University, Damghan, Iran
2. Assistant Professor of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Damghan Islamic Azad University, Damghan, Iran
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, TarbiatModares University, Tehran, Iran

(Received: 2019/05/21 Accepted:2019/01/27)

Extracts, herbal essential oil and natural ingredients have known antibacterial properties and can be used as food preservatives. Quinoa seed is a rich source of protein with strong antioxidant and antibacterial properties than other cereals.The aim of this study was to investigate the antimicrobial activity of peptide extracted from quinoa on Staphylococcus aureus and Salmonella enterica bacteria.To determine the optimal condition of the peptide hydrolysis with the best antimicrobial property was used pepsin and alcalase enzyme at different temperatures and times.Antibacterial effects of hydrolyzed peptide from quinoa proteins on two types of gram positive and negative bacteria (Staphylococcus aureus and Samunellaantrica) were compared with the gentamicin antibiotic by Agar well diffusion method.The highest growth inhibition zone in Staphylococcus aureus and Salmonella enterica were seen at enzyme activity 60 (Anson per kg protein), Temperature of 50, 150 minutes and 800 µg / ml concentration(13.13 ± 1.00 for Staphylococcus aureus and 11.00 ± 1.1 for Salmonella enterica).According to the findings, the peptide derived from protein quinoa has a good inhibitory effect on Staphylococcus aureus and Salmonella enterica bacteria. It is recommended that further research is done on the quinoa seed and its peptides be used as a natural preservative in foods.

Key Words: Quinoa seed, Active peptide, Staphylococcus aureus, Salmonella enterica

* Corresponding Author's E-Mail Address: Nouri.le.ir@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-16]