مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۱، شماره۶، شهریور۱۳۹۵(شماره پی در پی۱۱۳)

خواص آنتی باکتریایی برخی از سوش‌های مخمری جدا شده از ریچال ایرانی و فرآورده های لبنی سنتی در ارمنستان

فرزاد کریم پور[1*]، سید هادی رضوی[2]، فلورا نوبار تخرونی[3]

[1]گروه تغذیه، دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [2]گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تهران، تهران، ایران، [3]گروه بیوتکنولوژی، آکادمی‌علوم ارمنستان، ایروان، ارمنستان

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: استفاده از مواد نگهدارنده برپایه بیوتکنولوژی و یا سوش‌های مولد این مواد همواره مورد علاقه حوزه زیست فن‌آوری غذایی و یکی از آخرین راه حل‌های افزایش زمان ماندگاری از طرف مقامات بهداشتی ونظارتی می‌باشد. این مطالعه، با هدف بررسی خاصیت آنتی‌باکتریایی مایع رویی مخمرهای جداشده از ریچال فرآورده لبنی سنتی ایران و فرآورده‌های لبنی تخمیری ارمنستان انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، مایع رویی یا سوپر ناتانت ۷۷ سوش مخمری از فرآورده‌های ارمنی و۱۲ سوش از ریچال ایرانی خالص‌سازی شد. مواد خالص‌سازی شده بر سه سوش *باسیلوس سوبتیلوس، باسیلوس تیورینجینسیس، سالمونلاتایفی موریوم* به عنوان عاملین فساد در مواد غذایی در سه محیط کشت ،در دو حالت هوازی وبی هوازی مورد آزمون قرارگرفتند. میزان قطرهاله ایجاد شده اندازه‌گیری و به عنوان قدرت آنتی باکتریایی آنها گزارش شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار spssنسخه ۱۶ آنالیزگردیدند. روش تحلیل پراش یک طرفه برای مقایسه میانگین ها بکار برده شد. سطح معنی داری کمتر از ۵ درصد در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از مجموع ۸۹ سوش مخمری، سه سوش مربوط به ریچال و ۹ سوش از فرآوردهای ارمنی(درکل ۱۳/۵درصد)، خاصیت آنتی‌باکتریایی ازخود نشان دادند. سوش‌هایT86 از مخمرهای ارمنی و FA1(25) از ریچال در تمام شرایط هوازی و بی‌هوازی در سه نوع محیط کشت، دارای قطر هاله بیشتر و در نتیجه خاصیت آنتی‌باکتریایی قوی‌تری داشتند. در مقایسه میانگین قطر هاله‌های ایجادی بر سه عامل فساد، سوش‌های ریچال اختلاف معنی‌داری داشتند($p<۰/۰۵$). بالاترین اثر بر باسیلوس سوبتیلوس و پایین‌ترین اثر بر سالمونلا تایفی موریوم مشاهده شد.

بحث: با توجه به قدرت آنتی باکتریایی سوش‌ها مخمری جدا شده بر باکتری‌های‌عامل فساد در شرایط بی‌هوازی و هوازی بود. بنابراین، با اضافه کردن متابولیت ویا خود این مخمرها به مواد غذایی به عنوان نگهدارنده طبیعی ، می‌توان فرآورده ای عملگر وسینبیوتیک را به صنعت غذا معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: مایع رویی، نگهدانده، ریچال، مخمر، ارمنستان

***نویسنده مسئول: فرزاد کریم‌پور**، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده بهداشت، گروه تغذیه
Email: karimpourfarzad48@gmail.com

مقدمه

یکی از عوامل مشکل‌زا در صنعت لبنیات و فرآورده‌های لبنی رشد کپک و مخمر می‌باشد که این عوامل کاهش زمان ماندگاری محصول و عدم رضایت مشتری را به دنبال دارد(۱). این دسته میکرواورگانیسم‌ها خسارات جبران ناپذیری را به صنعت غذا وارد می‌کند(۲). برخی از میکرواورگارنیسم‌ها بر حسب گونه می‌توانند با متابولیت‌های خود عاملی برای نگهداری مواد غذایی باشند(۳). در همین راستا در مطالعه احمدوف و همکاران، نشان داده شد که لاکتوباسیلوس سرواتوس A61 توان بازدارندگی در برابر لیستریا مونوسایتوژن[۱] و باسیلوس سرئوس[۲] و همچنین جلوگیری از رشد قارچ های کلادوسپوریوم[۳] و فوزاریوم[۴] را دارند(۴). استفاده از خواص ضدباکتریایی وباکتری کشی باکتری‌های لاکتیکی و مخمرها همواره مورد نظر دانشمندان بوده است(۳). خواص آنتاگونیستی در مخمرها، رقابت در مصرف مواد غذایی، تغییرات pH در میحط رشد ناشی از اثر سینرژیکی تبادل یونی وتولید اسیدهای آلی، تولید غلظت بالایی از اتانول و ترشح ترکیب‌های ضدمیکروبی از جمله میکوسین [۶]را به دنبال دارد(۵). پروتئین مایکوسین[۵] مترشح از کریپتوکوکوس[۷] کاندیدا[۸]، دباراومایسیس[۹] کلویرومایسیس[۱۰] ترولپسیس[۱۱] ویلواپسیس[۱۲] و زیگوساکارومایسیس[۱۳] می‌باشد. این ماده باعث مهار یا کشتن دیگر گونه‌های مشخص میکرواورگانیسم‌ها می‌شود و پروتئین خارج سلولی یا گلیکوپروتئین غشای سلولی مخمرهای حساس را مختل می‌کند.

برخی سوش‌های تولید کننده میکوسین که دارای ارزش بالینی عبارتند از هانسیول[۱۴]، دباراومایسیس، تریکوسپورن[۱۵] (۶). مطالعات مرتبط با کاربردی ساختن مواد حاصل از متابولیسم میکرواورگانیسم‌ها به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی اندک بوده، ولی این شاخه در حال رشد می‌باشد. لذا با توجه به سیاست برنامه پنج‌ساله توسعه کشور مبنی بر افزایش سرانه مصرف فرآورده‌های لبنی و ایمنی مواد غذایی و کاهش استفاده از مواد نگهدارنده‌های شیمیایی در سطح عرضه محصولات لبنی(۳)، این مطالعه با هدف جداسازی، شناسایی و همچنین بررسی برخی خواص به ویژه اثرات ضد باکتریایی مخمرهای فرآورده‌های لبنی سنتی(با پتانسیل تولید مواد نگهدارنده طبیعی) بر سوش‌های ایرانی و ارمنی انجام شد.

1-*Listeria monocytogenes*
2-*Bacillus cereus*
3-*Cladosporium*
4-*Fusarium*
5-Saccharomyces
6-*Mycocin*
7-*Cryptococcus*
8- *Candida*
9-*Debaryomyces*
10-*Kluyveromyces*
11-*Torulopsis*
12-*Williopsis*
13-*Zygosaccharomyces*
14-*Hansenula*
15-*Trichosporon*

روش بررسی

ریچال بسته به نوع ماده اولیه به صورت ریچال شیری، دوغی و یا ماستی تهیه می‌گردد. این فرآورده‌های لبنی دارای میزان نمک و سبزی‌جات یکسان بوده در حا لی که در تهیه ریچال ماستی از ماست و آب، ریچال شیری از شیر حرارت داده شده و مایه ماست و ریچال دوغی از دوغ استفاده می‌گردد. برای تهیه هر سه نوع محصول مقدار ۳۰ کیلوگرم شیر کامل گاو از روستای ایدنک ـ شهرستان لنده تهیه گردید. سپس این شیر در شرایط کاملاً سنتی پخت گردید و پس از سرد شدن مقدار ۲۰ کیلوگرم آن جداسازی و به ظرف دیگری منتقل و با ماست سنتی همان منطقه مایه زنی شد. پس از آن این مایع به مدت ۳ـ۲ ساعت در دمای حدود ۴۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و پس از انعقاد به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. ۱۰ کیلوگرم باقیمانده به همراه مایه ماست، سبزی‌جات و نمک برای تهیه ریچال شیری به یک مشک دوغی اضافه گردید. ۲۰ کیلوگرم ماست به دست آمده را در دو مشک دوغی دیگر(چمتر (مشک عمل‌آوری شده برای نگهداری و تولید دوغ) ریخته شد. به یکی از آنها سبزیجات محلی بومی با پیشینه گیاه دارویی شامل؛ کرفس کوهی (کلوس)، موسیر، کاسنی، نعناع (همه این گیاهان به وسیله اساتید گیاه‌شناسی دانشگاه‌های یاسوج، علوم پزشکی اصفهان، شهرکرد و تهران در مطالعه‌های متعدد شناسایی و تأیید گردیدند) به همراه نمک جهت تولید ریچال ماستی، اضافه گردید. ماست داخل مشک دیگر از طریق آویزان کردن آن به یک سه پایه چوبی(ملار) و با همزدن افقی به مدت ۲ ساعت ضمن اضافه کردن کمی‌یخ یا آب خنک، به دوغ تبدیل گردید.سپس جداسازی کره از دوغ صورت گرفت. دوغ تولید شده را به همراه سبزی‌جات و نمک مورد اشاره برای تولید ریچال دوغی دوباره به مشک اضافه شد. مشک‌های حاوی ریچال‌ها در سایه در سطحی مرتفع از زمین به نام تلواره (محلی است برای نگهداری مشک که از چهار پایه‌ای تخت مانند که روی آن حصیری از نی مفروش شده است و پایه‌های آن در زمین ثابت می‌باشد) به مدت دو تا سه روز در دمای محیط جهت شکل‌گیری فرآیند، نگهداری گردید. همان‌طور که اشاره شد برای تهیه ریچال دوغی نیز از دوغ تهیه شده با مشک دوغی، استفاده گردید. این ریچال‌ها در شرایط محیطی یکسان جهت بررسی و مطالعه به نحو مطلوب به انسیتوی بیوتکنولوژی ایروان منتقل شدند. هم‌چنین فرآورده‌های لبنی ارمنی از روستاهای این کشور به صورت تصادفی در شرایط استریل نمونه‌برداری و در کنار یخ و در شرایط سرد به انسیتوی فوق جهت مطالعه انتقال داده شد(۳) .

نمونه‌های ریچال‌های ایرانی و لبنی ارمنی در شرایط استریل همگن وزن گردید .سپس با استفاده از آب پپتون ۱:۱۰ رقیق‌سازی مستقیم انجام و در محیط‌های کشت سابرودکستروز آگار تهیه‌شده از

شرکت همپشیر انگلستان، برای شمارش کپک و مخمرها در دمای انکوباسیون ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ساعت قرار داد ه شد. مخمرها جهت شناسایی اولیه براساس شکل فنوتیپی کلنی‌ها، جداسازی و سپس مورد بررسی میکروسکوپی و بیو شیمایی قرار گرفتند(۷ و ۳).

از سوش‌های خالص شده، کشت شبانه ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعته آماده گردید، به منظور اندازه‌گیری خواص، از متابولیت‌های این مخمرها استفاده شد. برای این منظور سوش‌ها در سه محیط کشت (ام آر اس، سابرو دکستروز(هر دو از کمپانی‌های میدیا)، سرم پایه و مواد(سولفات منیزیم، سدیم دی هیدروژن فسفات، دی پتاسیم نیتروژن فسفات، دی آمونیوم سولفات با PIT ۶ تا ۶/۵) به صورت براث تهیه و سوش‌های جداسازی شده به آنها تلقیح شدند. در ادامه، در دو شرایط هوازی در روتاری لرزان با ۲۲۰ دور در دقیقه به مدت ۷۲ ساعت و بی‌هوازی در انکوبا تور۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ساعت نگهداری گردید. در مرحله بعد مایع رویی سانتریفیوژ و برای خالص‌سازی این متابولیت از سیستم تعویض یونی و کرماتوگرافی استفاده گردید(۹ و۸). محلول آنتی‌باکتریال AMP با ماده خشک ۳۰ درصد و pH=۶ آماده گردید(۱۱ و ۱۰، ۵).

مایع رویی برای شناسایی خواص آنتی‌باکتریایی خالص‌سازی شد. سپس محلول استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد آزمون کشت سوش‌های (سالمونلا تایفی موریوم جی ـ۳۸[۱]، باسیلوس تیورینجینسیس۱۷ـ۸۹[۲]، باسیلوس سوبتیلوس۱۷-۸۹[۳]) به عنوان باکتری‌های عامل فساد در مواد غذایی، مورداستفاده قرار گرفت. پس از رشد سوش‌های عامل فساد در مرحله لگاریتمی، مقایسه کدورت با محلول نیم مک فارلند انجام گردید. در ادامه از آزمون کشت به عنوان گونه‌های مولد فساد رشد داده شده برداشته شد و بر سطح محیط کشت‌های پایه (نوترینت، مولر هینتون و سابرو دکستروز آگار) تلقیح و کشت چمنی مربوط تهیه گردید. مایع رویی از کشت شبانه سوش‌های مخمری جدا شده و بر سطح محیط کشت یاد شده چکانیده شد(تست نقطه ای). مایع رویی اضافه شده بر سطح پلیت، پس از خشک شدن، در گرمخانه با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت۱۶ـ۲۴ ساعت، قرار گرفت. پس از رشد، میزان قطر هاله(برحسب واحد میلی‌متر) اندازه‌گیری و بر این اساس قدرت آنتی‌باکتریایی یا مهار رشد به دست آمد(۱۱ و ۵، ۳).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و EXCL و آزمون آماری روش تحلیل پراش یک طرفه برای مقایسه میانگین‌ها به کار برده شد.

یافته‌ها

از ریچال‌ها ایرانی و فرآورده‌های لبنی ارمنی به ترتیب ۱۲و ۷۷ سوش مخمری جداسازی شد. این کلنی‌ها دارای اشکال فنوتیپی مختلفی بر محیط

سابرودکستروز آگار بودند. یافته‌های میکروسکوپی وآزمون‌های متعدد حاکی از وجود تفاوت‌ها و تشابه در خواص این سوش‌ها می‌باشد. سوش‌های مورد مطالعه پس از جدا وخالص‌سازی برخی از آنها شناسایی و سپس این سویه‌ها در مرکز کلکسیون انسیتوی بیوتکنولوژی ارمنستان نگهداری شدند. سوش‌های ریچال هم در مرکز فوق و برخی هم در مرکز کلکسیون سازمان علمی پژوهشی ایران ثبت و نگهداری شدند. ماده آنتی‌باکتریال AMP[1] از نتیجه خالص‌سازی مایع رویی به منظور اندازه‌گیری میزان تأثیر خواص آنها استحصال گردیدند.

مخمرهای جداسازی شده دارای خاصیت آنتی‌باکتریایی بودند وقدرت آنتی‌باکتریایی مایع رویی این مخمرها(حالت۱) بسیاربالاتراز بیومس (حالت۲)آنها بود.

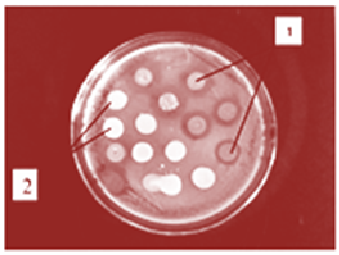
جدول ۱، نشان دهنده فعالیت آنتی‌باکتریایی مخمرها، در دو شرایط هوازی و بی‌هوازی می‌باشد که در هر دو شرایط در محیط کشت ام آر اس به جز FA1 و T86 مشترک نبوده، ولی در محیط‌های کشت سابرودکستروز و سرم پایه، تعداد مشترکات بیشتر از محیط ام آر اس بود. هم‌چنین معلوم شد که رشد سوش‌های مختلف جدا سازی شده بستگی به ترکیب محیط کشت و هم‌چنین شرایط اکسیژن رسانی داشت. ولی سوش‌هایی با رفتار متفاوت و یا در هر دو شرایط فعالیت ضدباکتریایی خود را حفظ کردند وجود داشت.

نتایج جدول ۱ نشان دهنده فعالیت آنتی‌باکتریایی و میزان هاله ایجاد شده به وسیله AMP یا مایع رویی خالص شده حاصل از ۱۲ سوش منتخب مورد بررسی در شرایط مختلف بود. سوش‌ها دارای رفتار متفاوت بر سه باکتری عامل فساد بودند.

نتایج حاصل از پایداری حرارتی مایع رویی برخی سوش‌ها بر باسیلوس سوبتیلوس پس از شوک حرارتی بر مایع رویی تأثیر آن بر باسیلوس سوبتیلوس آزموده شد. نتایج حاکی از خواص آنتی‌باکتریایی یکسان مایع رویی برخی از سوش‌ها ی آزمون تست بوده و اختلاف معنی‌داری در مقایسه با مایع رویی شاهد (بدون استرس حرارتی) در سطح($p<۰/۰۵$) وجود نداشت، اما سوش‌هایی بودند که در مقایسه با شاهد داری اختلاف معنی‌داری در سطح ($p<۰/۰۵$)بودند وخاصیت ضد باکتریایی خود را از دست دادند. مطابق نمودار ۱، فعالیت سوش‌های ایرانی جدا شده از ریچال در مقایسه با سوش‌های ارمنی از قدرت ضدباکتریایی قوی‌تری برخوردار بودند که به‌طور معنی‌داری($p<۰/۰۵$) نسبت

1- Anti microbial preparation or peptide(AMP)

به بقیه سوش‌ها بر با سوبتیلوس وتیورینجنیسس و سپس بر سالمونلا قدرت مهارکنندگی داشتند.



تصویر ۱: مهار رشد آزمون کشت*B. subtilis* ۱۷-۸۹ توسط مایع رویی و بیومس سوش‌های مخمرهای جدا شده ازریچال ایرانی وفرآورده های تخمیری ارمنی، ۱ مخمرهای که با ایجاد هاله آزمون کشت را مهار کردند، ۲ مخمرهای که با عدم ایجاد هاله آزمون کشت را مهار نکردند

جدول ۱: فعالیت آنتی باکتریایی سوش‌های ایرانی وارمنی در شرایط هوازی وبی هوازی برسه محیط کشت

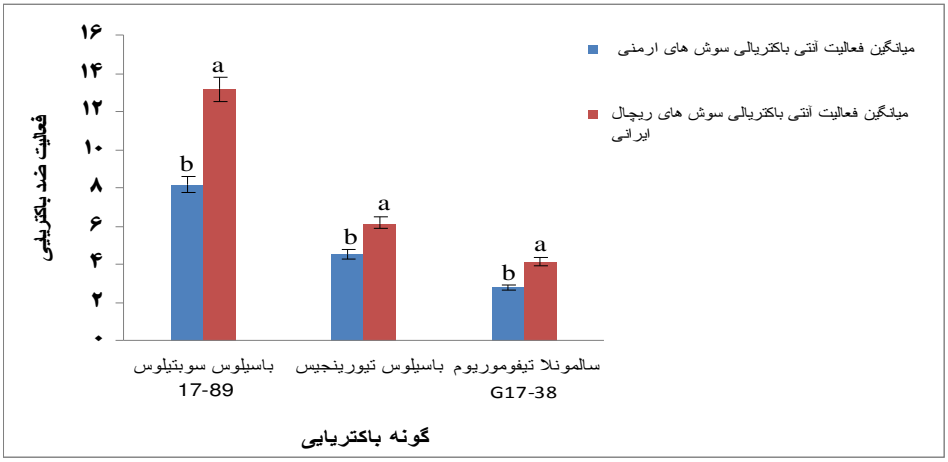
شرایط رشد	شماره سوش‌های جدا شد دارای فعالیت آنتی‌باکتریایی داشتند	محیط کشت
بی هوازی	T57,FA1,FA2,T62,T86	ام آر اس
دما ، =30°C,	FA1,T67,T68,T86,T62,T83,T96	،سابرو دکستروز
زمان =۱۲۰ ساعت	T68,T69,T86,T83,T57,T96,FA1,FA2	سرم پایه و $(NH_4)\ 2SO_4$; K_2NP0_4; NaH_2P0_4; $MgSO_4$; pH-6,0-6,5
هوازی	T90,T98,FA1,T86	ام آر اس
، دما =30°C	T57,T68,FA2,T35,T62,T83,FA1,FA2,T86	سابرو دکستروز
زمان =۷۲ ساعت	T43,T57,T68,T86,T98,FA2,T69,T72,T83, T92,FA1,FA3,FA4	سرم پایه و $(NH_4)\ _2SO_4$; K_2NP0_4; NaH_2P0_4; $MgSO_4$; pH-6,0-6,5

*سوش‌های ارمنی با پیشوند Tو سوش‌های ایرانی جدا شده از ریچال با پیشوند FAمی‌باشند

جدول ۲.اندازه قطر هاله ایجاد شده به وسیله AMP سوش‌های مختلف بر تست های آزمون

مایع رویی مخمرها	سالمونلاتایفوموریوم جی۱۷-۳۸	*باسیلوس تیورینجیس* ۱۷-۸۹	باسیلوس سوبتیلوس ۱۷-۸۹
T3	۹	۱۰	۱۱
T43	۰	۷	۹
T57	۸	۷.۵	۸
T68	۰	۰	۷
T69	۰	۰	۸
T83	۰	۰	۶.۵
T86	۸.۱	۱۰	۱۱
T92	۰	۶	۶
T98	۰	۰	۷
FA2(13)	۹	۰	۱۳
FA1(25)	۷	۶.۵	۱۳
FA4	۰	۱۲	۱۳.۵

توجه *- Ø براساس mm



نمودار ۱: مقایسه میانگین اندازه قطر ایجادشده وفعالیت آنتی باکتریایی بر باکتری های عامل فساد توسط سوش‌های ارمنی وریچال ایرانی

*حروف غیر یکسان در ستون ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵ درصد می‌باشد ($p<0/05$).

بحث

در این مطالعه تجربی، سوش‌ها از ریچال ایرانی و فرآورده‌های ارمنی جداسازی گردیدند. پس از غربالگری اولیه آنها با هدف بررسی خواص، مایع رویی سوش‌های مورد نظر استخراج و خالص‌سازی گردید. مایع رویی سوش‌ها داری هاله‌هایی با قطر متفاوت بودند. بیو مس سوش هایی که مایع رویی از آنها استحصال شد، برخی نقطه‌ای در وسط و یا هاله‌ای بسیار ضعیف در اطراف ایجاد کردند. این بدین معنا ست که توده باکتریایی قدرت ضد باکتریایی نداشته و برخی که داشته‌اند قوی یا قابل ملاحظه نبودند. مطالعه هاتوم و همکاران، دی میوناک و همکاران و خادم آبادی وهمکاران با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت داشت(۵ و ۲، ۱). این موضوع می‌تواند ناشی از استفاده مجدد، نامساعد بودن شرایط رشد، یا رفتن در فاز مرگ و آسیب‌دیدگی مخمرها در زمان استخراج متابولیت‌ها در سانتریفیوژ باشند. گرچه بررسی دیگر محققان از جهت نوع مخمر و مقایسه سوش‌های بیماری‌زا با مطالعه حاضر تفاوت‌هایی داشتند، ولی داشتن خواص‌آنتی باکتریایی مخمرها را بر سوش‌های عامل فساد تأیید می‌نمایند(۵ و۴، ۳). این مطالعه نشان داد که از تعداد ۸۹ مخمر جدا شده از ریچال ایرانی و فرآورده‌های ارمنی فقط ۱۲سوش ۱۳/۵ درصد توانایی مهار رشد کشت آزمون باسیلوس سوبتیلوس جی۱۷-۸۹ را داشتند. همان‌طوری که نتایج کشت سوش‌های انتخاب شده بر سه محیط کشت گفته شده در روش‌ها، در شرایط هوازی و بی هوازی و مقایسه رشد میکرواورگانیسم‌ها یافتیم که این شرایط برظهور فعالیت ضد باکتریایی تأثیر به سزایی دارند. FA1,T86 در تمام محیط‌ها و شرایط مورد مطالعه،

رشد، هم‌چنین خواص ضد باکتریایی قابل قبولی داشتند. بنابراین مخمرهای ریچال در هر دو حالت فعالیت ضد باکتریایی از خود نشان دادند، ولی در شرایط بی‌هوازی رشد مخمرها و تولید متابولیسیم حاصل از آنها بعد از زمان ۱۲۰ ساعته ایجاد شد، این در حالی است که در شرایط هوازی بعد از ۴۸ ساعت این خواص مشاهده گردید که بنا به نوع کاربری در صنعت این یافته می‌توان کمک نماید. یعنی زمان و دامنه عمل برای مطالعات بعدی و متخصصین زیست فن آوری غذا جهت ونوع کاربری مشخص گردید. نکته قابل توجه در اینجاست که یکی از مخمرهای ریچال بهترین خاصیت ضد باکتریایی را داشت. این یافته‌ها توسط سایر محقیق تأیید می‌گردد، گرچه تفاوت مطالعه حاضر با دیگران در این بود که این بررسی در سطح گسترده‌ای بوده، ولی سایرین به طور اختصاصی بریک گونه و یا بر سایر باکتری‌های عامل فساد مطالعه نموده‌اند(۱۵ــ۱۳ و۴). بهترین رشد در شرایط هوازی بر محیط سرم پایه (سولفات منیزیم، سدیم دی هیدروژن فسفات، دی پتاسیم نیتروژن فسفات ،دی آمونیوم سولفات۶-۶/۵-pH)بوده که در صورت استفاده کاربردی در صنایع غذایی و لبنی در شرایط گفته شده احتمال کسب نتایج بهتر و یا مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر در این محیط بالاتر خواهد بود. داده‌های به دست آمده مطابقت با مطالعه‌ها و بررسی‌های دیگر محققان دارد(۱۶ و۱۳، ۱۲). سوش‌های مخمری جدا شده از ریچال، دارای قدرت ضد باکتریایی بالاتری برسوش‌های عامل فساد در مقایسه با سوش‌های ارمنی بوده‌اند. به طوری که از میان ۱۲سوش جدا شده از ریچال یک کلنی انتخاب نهایی شد و از بین ۷۷ سوش ارمنی هم یک کلنی انتخاب نهایی صورت پذیرفت. علاوه بر این، گرچه سوش FA4 ایرانی انتخاب نهایی نبود، ولی دارای بالاترین قدرت آنتی‌باکتریایی به میزان ۱۳/۵میلی‌متر بر باسیلوس سوبتیلوس بود، ولی بر سالمونلا هیچ تأثیری نداشت. در مقایسه صورت پذیرفته بین کلیه سوش‌های انتخابی از ریچال ایرانی و فرآورده‌های ارمنی بهترین اثر بر سوبتیلوس بوده و اختلاف معنی‌داری در سطح($P<۰/۰۵$) داشتند، گرچه بر سالمونلا تأثیر داشتند، ولی اختلاف معنی داری حاکم نبود. نتایج با بررسی‌های دیگران از نظر تأثیر متابولیت‌ها ی مخمری به عنوان ضد باکتری مطابقت کامل دارد، ولی از نظر نوع سوش مخمری و نوع باکتری عامل فساد با مطالعه حاضر تفاوت‌هایی وجود داشت(۱۳ و ۶، ۵). تأثیر پایداری حرارتی بر خواص ضد باکتریایی AMP حاصل از ۱۲ سوش مخمری در دمای ۱۲۰ درجه سانتی گراد در ۱۵ دقیقه نشان داد فقط ۴ سوش خواص ضد باکتریایی خود را حفظ کردند و بقیه خواص ضد باکتریایی آنها را برباسیلوس سوبتیلوس از دست دادند. این یافته می‌تواند در زمان کاربری در صنعت خصوصاً در پروسه‌های که نیاز به حرارت دارند مؤثر باشد . این نتایج با نتایج مطالعه‌های قبلی محققین مطابقت دارد(۱۷ و۱۰). این ترکیب‌های احتمالا شبیه پروتئین، دارای خواص ضد باکتریایی بسیار با ارزش بوده به گونه‌ای که دارای فایده

اقتصادی فوق‌العاده بالا می‌باشند(۵) این در حالی است که استحصال پایین چنین موادی به وسیله برخی گونه‌های حشرات عملاً فعالیتی است غیر اقتصادی که ما توانستیم آن را با روش‌های بیوتکنولوژیکی استخراج نماییم که هم دارای خواص مورد نظر و هم اقتصادی باشد(۱۶). در این طرح محدودیت‌هایی از جمله عدم رشد برخی سوش‌ها در حین مطالعه، کمبود منابع مالی برای انجام شناسایی مولکولی کلیه سویه‌های جداسازی شده، عدم موافقت کتبی دانشگاه محل تحصیل برای انتقال سوش از ارمنستان به ایران، هم‌چنین کمبود منابع مالی جهت تجاری‌سازی وجود داشته، پیشنهاد می‌گردد که با انجام مطالعه‌های تکمیلی و انجام کارهای مشابه در راستای یافتن سوش‌های جدید و حمایت مالی برای تجاری کردن سویه‌های منتخب فعالیتی دانش بنیان بنا گردد .

نتیجه‌گیری

با توجه به اثر ضد میکروبی سوش‌های مخمری جدا شده از فرآورده های لبنی بر باکتری‌های عامل فساد مواد غذایی این سوش‌ها و مواد حاصل از متابولیت آنها می‌توانند جایگزینی مناسب برای نگهدارنده‌های شیمیایی بوده و قادر به تولید فرآورده‌ای سینبوتیک، با ماندگاری بالاتر را به بازار وصنعت لبنیات معرفی گردند.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر حاصل (پایا نامه مصوب درآکادمی علوم ارمنستان (انسیتوی بیوتکنولوژی وتولیدات آن) می‌باشد که با حمایت علمی این آکادمی ودانشگاه تهران انجام گردید.

REFERENCES

1.De Muynck C, Leroy AI, De Maeseneire S, Arnaut F, Soetaert W, Vandamme EJ. Potential of selected lactic acid bacteria to produce food compatible antifungal metabolites. Microbiological Research 2004; 159(4): 339-46.

2.Khadem Ahmadabadi B, Ehsani M, Daneshi M. Investigation of Antifungal of probiotic bacteria as starter to prolongation of Yoghurt shelf life. Proceedings of the first National Congress of Probiotics and Prebiotic: 2011 Oct 29-31 Shiraz

3.Karimpour F. Study of Iranian traditional fermented dairy beverage “Richal” and investigation of its production possibility.Ph. D. Dissertation. National Academy of Science, Armenia;2014.

4.Ahmadova A, Todorov SD, Hadji-Sfaxi I, Choiset Y, Rabesona H, Messaoudi S, et al. Antimicrobial and antifungal activities of Lactobacillus curvatus strain isolated from homemade Azerbaijani cheese. Anaerobe 2013; 20: 42-9.

5.Hatoum R, Labrie S, Fliss I. Identification and partial characterization of anti-listerial compounds produced by dairy yeasts. Probiotics and Antimicrobial Proteins 2013; 5(1): 8-17.

6.Ojovan IM, Arzumanyan VG, Basnakyan IA. Killer toxins of the clinically significant yeasts . Microbiology and Epidemiology 2002; 4: 79-83.

7.Azadnia P, Khan Nazer AH. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in tribes of Fars province. Iranian Journal of Veterinary Research 2009; 10(3): 235-40.

8.Khay EO, Idaomar M, Castro LMP, Bernárdez PF, Senhaji NS, Abrini J. Antimicrobial activities of the bacteriocin-like substances produced by lactic acid bacteria isolated from Moroccan dromedary milk. African Journal of Biotechnology 2013; 10(51): 10447-55.

9.De Macedo REF, Lye Miyague Costa LB, Luciano FB. Control of growth by bacteriocin-producing starter cultures in the manufacturing of dry fermented sausage. African Journal of Microbiology Research 2013; 7(9): 710-8.

10.Tkhruni FN, Agajaniyn A. Patent No. 1403 A2, 2004 Republic of Armenia.

11.Tkhruni FN. The use of Metabiotics of the lactic acid bacteria for The treatment of Salmonellosis in farms. Asian Academic Research Journal of Multidisciplinary 2015; 32(1): 176-83.

12.Lowes KF, Shearman CA, Payne J, MacKenzie D, Archer DB, Merry RJ, et al. Prevention of yeast spoilage in feed and food by the yeast mycocin HMK. Applied and Environmental Microbiology 2000; 66(3): 1066-76.

13.Baeza ME, Sanhueza MA, Cifuentes VH. Occurrence of killer yeast strains in industrial and clinical yeast isolates. Biological Research 2008; 41(2): 173-82.

14.Parente E, Brienza C, Moles M, Ricciardi A. A comparison of methods for the measurement of bacteriocin activity. Journal of Microbiological Methods1995; 22(1): 95-108.

15.Hamidi M, Mousavi Nasab SD, Ahmadi N, Basati Gh, Aolad GR, Salimian J, Zargar M. Synthesis of antimicrobial peptides in bacteria. Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences 2012; 20(4): 158-70.

16.Goerges S, Aigner U, Silakowski B, Scherer S. Inhibition of Listeria monocytogenes by food-borne yeasts. Applied and Environmental Microbiology 2006; 72(1): 313-8.

17.Karakhanyan MG, Hambardzymyan EV. Use of supernatants in the processed cheese technology. Journal Agrogitutsyun 2005; 1: 63-4.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Investigation of Antibacterial Properties of Yeast Strains Isolated from Iranian Richal and Traditional Dairy Products in Armenia

Karimpour F[1*], Razavi SH[2], Nubar Tkhruni F[3]

[1]Department of Nutrition, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [2]Department of Food Science and Technology, Tehran University, Tehran, Iran, [3]Department of Biotechnology, Academy of Sciences of Armenia, Yerevan, Armenia

Received: 30 Mar 2016 Accepted: 16 Aug 2016

Abstract

Background & aim:The use of bio preservative or strains as sources are interesting for food bioprocessing technologist, and is one of the latest methods to increase the shelf life of food by the health authorities . The present study aimed to investigate the antibacterial activity of supernatants of yeasts isolated from Richal as a traditional dairy product and fermented dairy products in Armenia.

Methods: In the present experimental study, the purified supernatant of 77 strains of Armenian yeast products and 12 strains from Iranian Richal were isolated. The purified supernatant were tested against three strains as food spoilages bacteria includes: *B. subtilis 17-89, B. Thuringensis17-89, S.typhimuium G-38 ,* on 3media in 2 condition as aerobic and anaerobic. The inhibition zone of the supernatant were measured and reported as antibacterial activity. Data were analyzed using statistical tests.

Result: A total of 89 strains of yeasts, that three species of Richal and Armenian products (13.5 percent) 9 strains had demonstrated antibacterial activity. T86 strain of Armenian yeasts and FA1(25) of Richal had shown more ZOI and antibacterial activity on three media at both aerobic and anaerobic conditions. Comparing the mean of ZOI upon three corruption factors, Richal strains were significantly different ($p < 0.05$). The highest and lowest effect was observed on Bacillus subtilis effect and Salmonella typhimurium respectively.

Conclusion: The results indicated that the yeast strains isolated in anaerobic and aerobic conditions on spoilage bacteria had antibacterial activity effect. Thus, it could be concluded that adding the yeast or its supernatant to food as a bio preservative, may introduce a operative product to the food industry.

Key Word: Supernatant, Preservative, *Richal*, Antibacterial, Armenia

[*]**Corresponding author: Karimpour F,** Department of Food and Drug Administration, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj
Email: karimpourfarzad48@gmail.com

Please cite this article as follows:
Karimpour F, Razavi SH, Nubar Tkhruni F. Investigation of Antibacterial Properties of Yeast Strains Isolated from Iranian Richal and Traditional Dairy Products in Armenia. Armaghane-danesh 2016; 21 (6): 552-562.