مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی اثرات پروبیوتیکی و ضدمیکروبی مخمر غالب جدا شده از خمیرترش سویای جوانه‌زده

سیما شمس شرق[۱]، علیرضا صادقی[۱]*، محمود شمس شرق[۲]، فهیمه حاجی‌نیا[۱]، علی مویدی[۱]

۱-گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۲/۲۱

کلمات کلیدی:

مخمر پروبیوتیک،

خمیرترش،

سویای جوانه‌زده،

دگر اتصالی،

اثر ضدمیکروبی.

DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225.

* مسئول مکاتبات:

sadeghi.gau@gmail.com

چکیده

اخیرا بررسی مخمرهای با قابلیت پروبیوتیک جدا شده از بسترهای تخمیری به دلیل خواص عملکردی منحصر به فرد و فواید سلامتی‌بخش مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفته است. در پژوهش حاضر، مخمر غالب جدا شده از خمیرترش سویای جوانه‌زده با استفاده از PCR شناسایی گردید. سپس ویژگی‌های پروبیوتیکی و ضدمیکروبی جدایه مخمری مورد بررسی قرار گرفت. زنده‌مانی مخمر *Rhodotorula mucilaginosa* جدا شده در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش، معادل ۴۹/۶۱ درصد بود. همچنین اثر ضدباکتریایی و دگراتصالی آن در برابر *Escherichia coli* نسبت به سایر عوامل غذازاد مورد مطالعه به شکل معنی‌داری ($p<0/05$) بیشتر بود و به طور کلی جدایه مخمری در برابر باکتری‌های گرم منفی خاصیت بازدارندگی بیشتری نسبت به باکتری‌های گرم مثبت نشان داد. این مخمر فاقد فعالیت همولیزی بود و قابلیت خوداتصالی آن ۸۵/۴۳ درصد و آبگریزی آن در مقابل زایلن و هگزان به ترتیب ۹۳/۶۹ و ۵۶/۳۲ درصد بود. علاوه بر این، جدایه مخمری در برابر فلوکونازول و ناتامایسین به ترتیب، حساس و حساسیت نسبی نشان داد و در برابر سایر ترکیبات ضد قارچ و آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه مقاوم بود. همچنین جدایه مخمری مانع از رشد و تغییر رنگ قارچ *Aspergillus flavus* شد. بر اساس یافته‌های مذکور، مخمر غالب جدا شده از خمیرترش سویای جوانه‌زده از قابلیت مناسبی برای استفاده به عنوان کشت پروبیوتیک محافظت کننده در صنایع غذایی برخوردار است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

۱-مقدمه

پروبیوتیک به میکروارگانیسم زنده و فعالی اطلاق می‌شود که در صورت استفاده به تعداد کافی به توازن میکروبی دستگاه گوارش کمک کرده و سبب بهبود عملکرد آن می‌شود. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها هستند و علیرغم وجود گزارش‌های متعدد درخصوص قابلیت‌های پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک، اخیرا ویژگی‌های پروبیوتیکی برخی از مخمرها نیز بررسی شده است. مخمرهای پروبیوتیک، میکروارگانیسم-های یوکاریوت مقاوم به ترکیبات ضدباکتریایی هستند که می‌توانند کاربردهای عملکردی جالب توجهی مانند تحمل شرایط نامساعد دستگاه گوارش، اثرات تعدیل کننده دستگاه ایمنی و فعالیت ضدمیکروبی داشته باشند که آنها را به عنوان جایگزین‌های امیدوارکننده‌ای برای باکتری‌های پروبیوتیک مطرح می‌کند [۱ و ۲]. فرآورده‌های تخمیری، منابع غنی از پروبیوتیک‌ها و میکروارگانیسم‌های با قابلیت ضدمیکروبی هستند و مخمرها فلور میکروبی غالب در غذاهای تخمیری به‌ویژه خمیرترش محسوب می‌شوند. میکروارگانیسم‌های موجود در غذاهای تخمیر شده به مقدار زیادی قابلیت رقابت با عوامل بیماری‌زا را دارند. آنها متابولیت‌های بازدانده‌ای ترشح می‌کنند که دارای اثرات آنتاگونیستی علیه عوامل بیماری‌زا بوده و ایمنی مواد غذایی را افزایش می‌دهند. مخمرهایی که از بسترهای تخمیری جدا می‌شوند به علت جداسازی آنها از محیطی که pH آن به واسطه تولید اسیدهای آلی، پایین است غالبا توانایی تحمل شرایط تحت تنش مانند شرایط دستگاه گوارش را دارا می‌باشند [۳ و ٤].

گزارش‌هایی در خصوص اثرات پروبیوتیکی و ضد میکروبی فلور میکروبی غالب انواع خمیرترش نظیر خمیرترش‌های جو [۵]، بلوط [٦]، شبدر جوانه‌زده [۷]، آمارانت [۸]، باکویت [۹]، سبوس برنج [۱۰] و جو دوسر [۱۱] ارائه شده است. تا کنون، پژوهش‌هایی نیز در خصوص جداسازی مخمرهای پروبیوتیک از انواع خمیرترش و همچنین اثرات ضد میکروبی آنها ارائه گردیده است. به عنوان مثال، Rahimi و همکاران [۱۲] طی بررسی خواص پروبیوتیکی ۱۱ مخمر جدا شده از خمیرترش جوانه گندم دریافتند که تنها مخمر *Saccharomyces cerevisiae* RWGS07 با ۹۵/۷٤ درصد توانایی زنده‌مانی در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش از قابلیت ضد باکتریایی بالایی نسبت به *Listeria monocytogenes* برخوردار بود. علاوه بر ویژگی‌های مذکور، این مخمر قابلیت‌های تجمع و آبگریزی مطلوبی نیز داشت. Shruthi و همکاران [۱۳] ویژگی‌های پروبیوتیکی ۷۳ مخمر جدا شده از بسترهای تخمیری متفاوت را مورد ارزیابی قرار دادند و در نهایت ۱۰ مخمر، علاوه بر ایمن بودن از ویژگی‌های پروبیوتیکی مطلوبی نیز برخوردار بودند. از میان ۱۰ مخمر مذکور، مخمرهای *Meyerozyma guillermondii* MYSY23, MYSY19 و *Meyerozym caribbica* MYSY22 با زنده‌مانی ٦۵ درصد در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش، بیش از ۵۰ درصد خاصیت بازدارندگی در مقابل باکتری‌های غذازاد *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و *Salmonella paratyphi*، ۹۰ درصد خاصیت آبگریزی، ۷٤/۰۷ درصد خاصیت دگراتصالی و در نهایت مقاومت به تمامی ترکیبات آنتی‌بیوتیکی مورد مطالعه، دارای ویژگی‌های پروبیوتیکی مناسب‌تر و قابل توجهی بودند. Muche و همکاران [۱٤] نیز با هدف بررسی فلور میکروبی، اقدام به جداسازی و شناسایی مخمرها از خمیرترش اینجرا (Injera) اتیوپی نمودند و خواص پروبیوتیکی مخمرهای جدا شده را مورد مطالعه قرار دادند. محققین مذکور دریافتند که مخمرهای *S. cerevisiae* G1N1, G2N4 و *Candida humilis* G3N1, B6N3 و *Pichia kudriavzevii* G8N1 همگی خواص پروبیوتیکی قابل قبولی داشتند. ویژگی‌های بررسی شده در پژوهش مذکور، شامل زنده‌مانی در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده، مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین عدم همولیز خون بود.

همچنین گزارش‌هایی درخصوص اثرات ضدمیکروبی مخمرها و اجزای دیواره سلولی آنها وجود دارد. به عنوان مثال، ۵ محصول مختلف از دیواره سلولی مخمر *S.*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

cerevisiae جهت بررسی ظرفیت آنها برای مهار رشد *Clostridium perfringens* از طریق تجزیه و تحلیل سنتیک رشد عامل بیماری‌زا مورد بررسی قرار گرفتند [۱۵].تمامی محصولات دیواره سلولی مخمر با کاهش سرعت رشد و کاهش حداکثر رشد ویژه و همچنین افزایش مدت زمان فاز تاخیر، رشد عامل بیماری‌زا را مهار کردند. در مطالعه دیگری بخش‌های دیواره سلولی جدا شده از *Trichosporon mycotoxinivorans* جهت ارزیابی قابلیت اتصال آنها به عوامل بیماری‌زای گرم منفی مانند *E. coli*، *Campylobacter* و *Salmonella* بررسی شدند. از میان باکتری‌های مذکور فقط *Salmonella enteritidis* و *Salmonella Typhimurium* به دیواره سلولی متصل شده و بدین وسیله باعث تداخل در اتصال تاژک‌های باکتریایی به سلول‌های سطحی روده میزبان گردیدند [۱۶]. در پژوهش دیگری اثر مخمر *Rhodotorula mucilaginosa* بر روی *S. enterica Typhimurium* بررسی شد که مخمر مذکور توانست با خاصیت دگر اتصالی بر باکتری هدف اثرگذار باشد [۱۷]. اثر سه مخمر *Metschnikowia citriensis*، *Candida oleophil*و *Pseudozyma antarctic* بر *Penicillium digitatum* و *Penicillium italicum* مورد بررسی قرار گرفت. مخمرهای منتخب از طریق آسیب شدید سلولی یا تجزیه سلولی و همچنین کنترل فعالیت زیستی به‌وسیله تشکیل بیوفیلم و اتصال به میسیلیوم باعث مهار رشد قارچ‌های مذکور شدند [۱۸]. در مطالعه Chen و همکاران [۱۹] اثر *Saccharomyces boulardii* بر *Clostridioides difficile* به عنوان عامل عفونت‌زای گوارشی به اثبات رسید. بر این اساس، این مخمر از طریق آنتی‌بادی اختصاصی، سموم را خنثی کرده و از دستگاه گوارش در برابر عامل عفونت محافظت می‌کند. بر اساس بررسی منابع صورت گرفته، تاکنون ویژگی‌های پروبیوتیکی و ضدمیکروبی مخمر غالب جدا شده از خمیرترش سویای جوانه‌زده کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. لذا در پژوهش حاضر، ویژگی‌های پروبیوتیکی و ضد میکروبی مخمر غالب جدا شده از خمیرترش سویای جوانه‌زده مورد مطالعه قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه و آزمون‌های آرد

میکروارگانیسم‌های غذازاد مورد استفاده در این پژوهش شامل *E. coli* PTCC 1399، *S. aureus* PTCC 1112، *L. monocytogenes* PTCC 1298، *S. enterica* PTCC 1709 و *Aspergillus flavus* PTCC 5018 از مرکز کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. محیط‌های کشت میکروبی و مواد شیمیایی مصرفی نیز از برندهای Merck (آلمان) و Chromagar (فرانسه) خریداری گردیدند. جهت تهیه دانه جوانه‌زده سویا، ابتدا دانه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خیسانده شدند. سپس دانه‌ها در اتاقی تاریک با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ روز نگهداری شد [۲۰]. در مرحله بعد، برای رسیدن به رطوبت ۱۰ درصد دانه‌ها، آنها در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد و متعاقبا محصول نهایی آسیاب شد. ویژگی‌های آرد سویای جوانه‌زده بر اساس روش‌های مدون [۲۱] تعیین شد. بر این اساس، آرد سویای جوانه‌زده مورد استفاده، دارای ۱۳/۴ درصد چربی، ۳۴/۷ درصد پروتئین، ۱۱/۳ درصد رطوبت، ۴/۵ درصد خاکستر و ۳۶/۱ درصد کربوهیدرات کل بود.

۲-۲- تخمیر تصادفی سویای جوانه‌زده

برای تخمیر دانه سویای جوانه‌زده، ابتدا مخلوط آرد و آب با بازده خمیر (نسبت خمیر به آرد×۱۰۰) ۲۰۰ تهیه شد و سپس مخلوط مذکور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تخمیر گردید [۲۲].

۲-۳- جداسازی مخمر غالب از خمیرترش سویای جوانه‌زده

برای جداسازی مخمر غالب، ابتدا رقت‌های متوالی از سویای جوانه‌زده تخمیر شده در محلول رینگر، تهیه و سپس کشت سطحی آنها در محیط کشت Yeast Glucose Chloroamphenicle (YGC) agarصورت گرفت (۲۴ تا

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد). برای رسیدن به تک‌پرگنه خالص جدایه غالب نیز از روش کشت خطی، استفاده گردید. در ادامه، مورفولوژی میکروسکوپی مخمر غالب نیز مورد بررسی قرار گرفت [۱۲].

۲-٤- شناسایی مولکولی جدایه مخمری غالب

برای شناسایی مولکولی جدایه مخمری غالب ابتدا DNA آن، توسط کیت تجاری (Geneall کره جنوبی)، استخراج شده و سپس جدایه مذکور به کمک (PCR) Polymerase chain reaction دارای پرایمرهای (ITS) Internal transcribed spacer شامل (5′-ITS1 TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3′) و (5′-ITS4 TCCTCCGCTTATTGATATGC-3′) و همچنین توالی‌یابی (پیشگام، ایران) محصولات PCR شناسایی شد. بدین منظور توالی حاصل با داده‌های موجود در پایگاه National Center for Biotechnology Information (NCBI) به کمک رویه Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) مورد بررسی قرار گرفت [۲۳].

۲-۵- زنده‌مانی مخمر غالب در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش

ابتدا جدایه مخمری غالب در شرایط شبیه‌سازی شده معده در pH=2 حاوی پپسین (۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ساعت قرار گرفت. در ادامه، جدایه مخمری در شرایط شبیه‌سازی شده روده با pH حدود ٦/٥ و حاوی نمک‌های صفراوی ۰/۳ درصد و پانکراتین (۰/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شده و سپس در مقایسه با نمونه شاهد (تیمار نشده) زنده‌مانی آن با رقت‌سازی متوالی و کشت سطحی در محیط کشت YGC ارزیابی شد [۱].

۲-٦- فعالیت همولیتیک

برای بررسی فعالیت همولیتیک، ابتدا جدایه مخمری غالب روی محیط کشت Blood agar حاوی ۵ درصد خون دفیبرینه گوسفند کشت داده شد و به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. سپس انواع مختلف همولیز شامل α، β، یا همولیز γ (بدون هاله) مورد بررسی قرار گرفت [٢٤].

۲-۷- ارزیابی اثر ضد باکتریایی

برای ارزیابی اثر ضد باکتریایی جدایه مخمری غالب از شیوه کشت توام استفاده شد. در این روش، ابتدا جمعیت مساوی 10^6 colony forming units (CFU)/mL از جدایه مخمری به همراه هر یک از باکتری‌های غذازاد *E. coli*، *S. aureus*، *L. monocytogenes* و *S. enterica* در محیط کشت Brain Heart Infusion (BHI) Broth در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ٢٤ ساعت کشت داده شد و سپس رقت‌های متوالی از آن‌ها تهیه گردید. نمونه‌های مذکور در ادامه به صورت سطحی در محیط کشت Chromagar اختصاصی هر باکتری کشت داده شد و در نهایت جمعیت باکتری هدف با نمونه شاهد (بدون مخمر) مقایسه گردید [۲۵].

۲-۸- ارزیابی اثر ضد قارچی

بدین منظور از روش کشت دو لایه در برابر *A. flavus* استفاده شد. برای این کار ابتدا جدایه مخمری بر روی محیط کشت YGC agar کشت داده شد و پس از ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری، اسپور قارچ (10^4 اسپور در هر میلی‌لیتر) با محیط کشت Potato Dextrose Agar (PDA) مخلوط شده و بر روی پلیت‌های حاوی کشت مخمری ریخته شد. پس از انعقاد لایه دوم، پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد تا زمانی که نمونه شاهد (فاقد جدایه مخمری) تمام سطح پلیت را پوشاند گرمخانه‌گذاری گردیدند. در انتها قطر هاله عدم رشد قارچ با استفاده از نرم افزارImage J (نسخه ۱.٤.۳.٦٧) تعیین شد [٢٦].

۲-۹- خاصیت خود اتصالی

بدین منظور، سلول‌های حاصل از کشت ٢٤ ساعته مخمر در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفیوژ (Sigma، آلمان) گردید. در ادامه روماند مذکور دو بار با محلول (Phosphate-buffered Saline) PBS شستشو داده شد و از روماند حاصل برداشته

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

و جذب آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (PGI، انگلستان) خوانش گردید. سپس مخلوط مذکور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و در نهایت جذب آن تعیین گردید. میزان خود اتصالی براساس فرمول محاسباتی زیر تعیین گردید [۲۷].

میزان خود اتصالی (٪) =[1-(A_3/A_0)] ×100

A_0: جذب نمونه در ابتدای گرمخانه‌گذاری، A_3 : جذب نمونه پس از سه ساعت گرمخانه‌گذاری

۲-۱۰- خاصیت دگر اتصالی

به منظور ارزیابی خاصیت (دگر اتصالی) تجمعی جدایه مخمری منتخب با *E. coli*، *S. aureus*، *S. enterica* و *L. monocytogenes* سلول‌های حاصل از کشت ۲۴ ساعته جدایه مخمری به مدت ۱۰ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مخلوط مذکور دو بار توسط PBS شستشو داده شده و در ادامه مخلوط دارای حجم‌های مساوی از سوسپانسیون حاوی جمعیت یکسان از جدایه مخمری و هر یک از باکتری‌های غذازاد تهیه گردید. جذب نوری سوسپانسیون‌های مذکور نیز پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به صورت مجزا و مخلوط در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانش گردید و در فرمول زیر قرار داده شد [۲۷].

دگر اتصالی (٪) = (($A_{Yeast} + A_{Pathogen}/2) - A_{mix}$ / ($A_{Yeast} + A_{Pathogen}$) /2) × 100

A_{Yeast}: جذب سوسپانسیون مخمری، $A_{Pathogen}$: جذب سوسپانسیون باکتری غذازاد، A_{mix} : جذب سوسپانسیون مخلوط مخمر و باکتری غذازاد

۲-۱۱- خاصیت آبگریزی

ابتدا کشت فعال جدایه مخمری به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس دوبار با PBS شسته شده در ادامه سه میلی‌لیتر از این سوسپانسیون با یک میلی‌لیتر هگزان و یا زایلن مخلوط شد. پس از ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد فاز تحتانی در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانش گردید و در فرمول زیر قرار داده شد [۲۸].

آبگریزی (٪) = (1 - ($A_{final}/A_{initial}$) × 100)

$A_{initial}$: جذب ابتدایی نمونه، A_{final} : جذب پایانی نمونه

۲-۱۲- حساسیت جدایه مخمری به ترکیبات ضد قارچ و آنتی‌بیوتیک

برای ارزیابی میزان حساسیت جدایه مخمری به ترکیبات ضد قارچ و آنتی‌بیوتیک‌های رایج از روش انتشار در دیسک استفاده شد. بدین منظور ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از کشت ۲۴ ساعته جدایه مخمری به چهار میلی‌لیتر محیط کشت PDA (دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد) افزوده شد و سپس داخل پلیت‌ها ریخته شد. در ادامه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیک شامل استرپتومایسین، سیپروفلوکساسین، نالیدیکسیک اسید، ونکومایسین، سفازولین، سفتریاکسون، سفالوتین و آمپی‌سیلین و دیسک‌های ضدقارچ شامل فلوکونازول، کتوکونازول، ایتراکونازول، ناتامایسین، سوربات و پروپیونات بر روی سطح پلیت قرار گرفت و پلیت‌های مذکور به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردیدند. نهایتاً قطر هاله عدم رشد در اطراف این دیسک‌ها اندازه‌گیری شد [۲۹ و ۳۰].

۲-۱۳- آنالیز آماری

نتایج حاصل از این پژوهش بر اساس طرح کاملا تصادفی در سه تکرار و با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۰) با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) one way analysis of variance مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) least significant difference در سطح $p<۰/۰۵$ انجام شد. از نرم افزار Microsoft office Excel 2018 نیز برای ترسیم نمودارها استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شناسایی مولکولی جدایه مخمری غالب

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

ژل الکتروفورز محصولات PCR تکثیر اختصاصی توالی هدف جدایه مخمری را مورد تایید قرار داد (شکل۱) و بر اساس نتایج توالی‌یابی محصولات PCR و مقایسه آنها با داده‌های پایگاه اطلاعاتی NCBI مخمر *R. mucilaginosa* با ۹۶ درصد تشابه به عنوان جدایه مخمری غالب خمیرترش سویای جوانه‌زده شناسایی گردید.

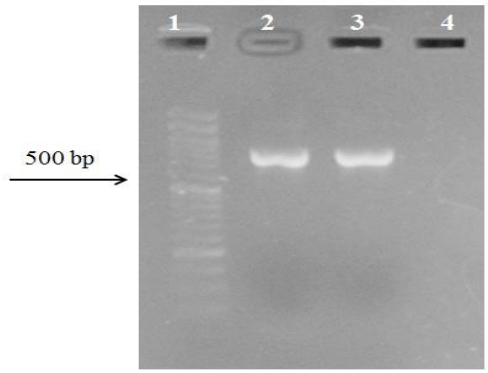

Fig (1)- Gel electrophoresis of PCR products to identify the predominant yeast isolated from sprouted soybean sourdough. Lane 1: 50 base pairs (bp) ladder, Lane 2: Positive control from baker's yeast DNA amplification, Lane 3: Amplification of isolated yeast DNA, Lane 4: Negative control.

Agarbati و همکاران [۳۱]، ۱۷۹ مخمر از ۱۳ خمیرترش متنوع جدا کردند. مخمرهای جدا شده غالب شامل گونه‌های *S. cerevisiae* و *Kazachstania unispora* بودند. در تحقیق Pahlavani و همکاران [۳۲] مخمر غالب جدا شده از خمیرترش جو جوانه‌زده از نوع *Wickerhamomyces anomalus* گزارش شد. شریط تخمیر به عنوان یک اکوسیستم تحت تنش از لحاظ دمایی، a_w، pH و فشار اسمزی امکان جداسازی مخمرهای بالقوه پروبیوتیک و ضدمیکروبی را به دنبال دارد.

۲-۳- زنده‌مانی در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش

زنده‌مانی مخمر غالب مورد مطالعه در این پژوهش در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش در مقایسه با نمونه کنترل معادل ۱/۸۷ ± ٤۹/٦۱ درصد بود.

براساس نتایج مطالعه Agarbati و همکاران [۳۱] مخمرهای *Debaryomyces hansenii* BAT2-1170، *K. unispora* m3-b3 و *S. cerevisiae* 4PV جدا شده از بستره تخمیری، تحت شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش به ترتیب دارای ۹۳/۸، ۸۹/٤ و ۹۱/٦ درصد زنده‌مانی بودند. در پژوهش دیگری مخمر *Candida norvegensis* f2fp21 جدا شده از تخمیر تصادفی خمیر فورا (Fura)، زنده‌مانی بیش از ۱۰۰ درصد را تحت شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده نشان داد [۳۳]. مهمترین ویژگی پروبیوتیک‌ها زنده‌مانی حداقل ۷۰ درصدی آنها تحت شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش است و ویژگی مذکور به میکروارگانیسم این امکان را می‌دهد که از شرایط نامساعد دستگاه گوارش عبور کرده و به محل اثر خود برسد. از عوامل موثر بر این قابلیت می‌توان به تطابق‌پذیری دیواره سلولی مخمر، یکپارچگی دیواره سلولی و قابلیت پاسخ به تنش اشاره کرد که مخمرهای پروبیوتیک را قادر می‌سازند تا در برابر شرایط اسیدی مقاومت کنند. توانایی و تحمل شرایط دستگاه گوارش همچنین به نوع مخمر و بستره جدا شده از آن بستگی دارد [۲۸].

۳-۳- قابلیت همولیز خون

فعالیت همولیزی مخمر غالب جدا شده از نوع گاما بود و هیچ‌گونه هاله‌ای تشکیل نداد.

فعالیت همولیز در مخمرها به سه صورت شامل آلفا همولیز (هاله سبز اطراف محل رشد مخمر)، بتا همولیز (ایجاد هاله روشن) و گاما همولیز (بدون ایجاد هاله) می‌باشد. طی پژوهش Muche و همکاران [۱٤] تمامی ۵ جدایه مخمری منتخب فاقد فعالیت همولیز خون و از

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

نوع گاما بودند و هیچ‌گونه هاله‌ای تشکیل ندادند. در پژوهش دیگری مخمرهای *Saccharomyces unisporus* ATCC10612 و *Kluyveromyces marxinus* ATCC16045 دارای فعالیت آلفا همولیتیک بودند درحالی که مخمر *Candida albicans* ATCC10231 دارای فعالیت بتا همولیتیک بود. وجود فعالیت همولیزی مخمرها موجب آسیب به لایه‌های اپی‌تلیال روده و همچنین فعالیت همولیزی آلفا باعث تجزیه گلبول‌های قرمز خون می‌شود، درحالی که نوع بتا سلول‌ها را به طور کامل تجزیه می‌کند. درصورت عدم همولیز خون و فعالیت از نوع گاما امکان استفاده جدایه‌ها در مواد غذایی وجود دارد [۳٤].

٤-۳- قابلیت خود اتصالی و آبگریزی

میزان قابلیت خوداتصالی جدایه مخمری ۰/۷۵ ± ۸۵/٤۳ درصد بود. میزان آبگریزی جدایه مخمری در برابر هگزان و زایلن نیز به ترتیب ٤/۳۷ ± ٥٦/۳۲ درصد و ۱/۲ ± ۹۳/٦۹ درصد بود.

در پژوهش Menezes و همکاران **[۳٥]** از میان ۱۱٥ جدایه مخمری فقط ۱٥ جدایه قابلیت تحمل شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش را داشتند که علاوه بر این ویژگی، دارای بالاترین خاصیت خوداتصالی نیز بودند. از میان ۱٥ مخمر مذکور، مخمرهای *Pichia membranifaciens* CCM0615، *S. cerevisiae* CCMA0716 و *Candida quercitrusa* CCMA0560 به ترتیب با ۹۱/۸، ۹۹/٦ و ۹٥/٥ درصد دارای بیشترین مقدار خوداتصالی بودند. در پژوهش دیگری، مخمر *M. guillermondi* PP573088 دارای ۹۲/۷٥ درصد آبگریزی و ۹۷/۸۸ درصد خوداتصالی بود **[۱۳]**. در صورتی که سویه‌های پروبیوتیکی دارای بیش از ٤۰ درصد خاصیت آبگریزی باشند می‌توان آنها را در دسته آبگریز طبقه‌بندی کرد. همچنین اگر خاصیت خوداتصالی آنها نیز بیشتر از ٤۰ درصد باشد، نشان‌دهنده توانایی تشکیل بیوفیلم و اتصال قوی بر روی لایه اپی‌تلیال روده است که می‌تواند از اتصال عوامل بیماریزا جلوگیری کند **[۳٦]**. اتصال مخمرها به سطوح، یک فرآیند پیچیده و چند مرحله‌ای است که شامل آبگریزی، برهمکنش‌های الکترواستاتیک و تغییرات در مناطق آبدوست و آبگریز اجزای دیواره سلولی می‌شود. از آنجاکه محیط دستگاه گوارش، یک فاز متحرک است آبگریزی و خوداتصالی از ویژگی‌های مهم پروبیوتیک‌ها جهت مقاومت در برابر حرکات دودی، اتصال به سلول‌های اپی‌تلیال روده، لانه‌گزینی آنها در دستگاه گوارش و جلوگیری از حذف سریع آنها محسوب می‌شوند. به طور کلی مخمرها در مقایسه با باکتری‌ها قابلیت خوداتصالی بهتری دارند که علت آن را می‌توان به اندازه بزرگتر و سنگین‌تر بودن آنها نسبت داد که در نهایت رسوب‌گذاری آنها را تسهیل می‌کند **[۲ و ۳۷]**.

۳-٥- بررسی قابلیت ضد باکتریایی و دگراتصالی

همانطور که در شکل(۲)آمده است قابلیت ضدباکتریایی و دگراتصالی جدایه مخمری در برابر باکتری‌های گرم منفی، بیشتر از باکتری‌های گرم مثبت مورد مطالعه بود. بیشترین قابلیت ضد باکتریایی و دگراتصالی این جدایه نیز به ترتیب با ۰/٥۸ ± ۹۷/۰٥ و ۲/٥۱ ± ٥۲/٤ درصد در برابر باکتری غذازاد *E. coli* مشاهده شد که به شکل معنی‌داری ($p<۰/۰٥$) از سایر عوامل بیماری‌زای مورد مطالعه بیشتر بود. کمترین قابلیت دگراتصالی نیز در برابر *L. monocytogenes* با ۳/٥۷ ± ۱۱/۱٦ درصد و کمترین اثر بازدارنده در برابر *S. aureus* با ۱/۸ ± ۲۰/۷۱ درصد مشاهده شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

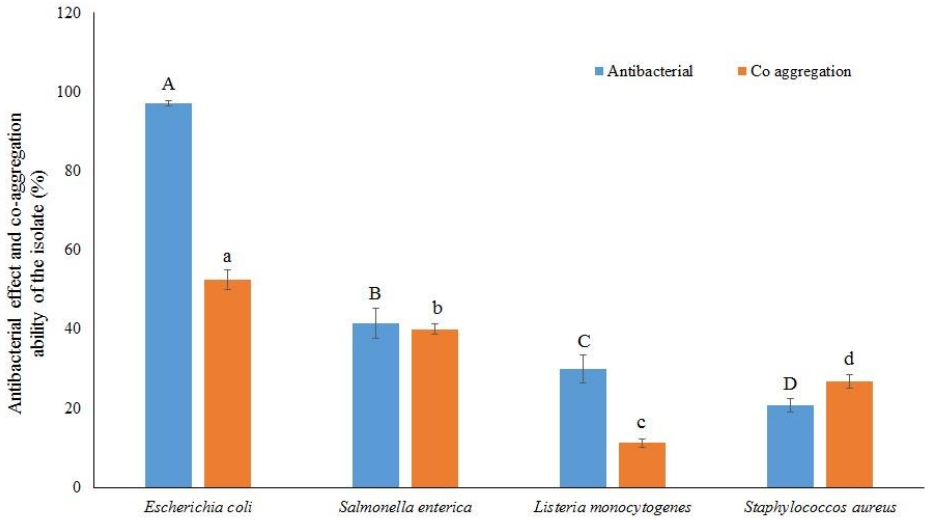

Fig (2)- The percentage of inhibition and the co-aggregation ability of the predominant yeast isolated from sprouted soybeans sourdough against some foodborne bacteria. Different lowercase and uppercase letters respectively indicate a significant difference at $p<0.05$ among the co-aggregation and antibacterial activities of the yeast isolate.

در مطالعه Agarbati و همکاران [۳۱]، اثرات ضدباکتریایی ۱۳ مخمر جدا شده از خمیرترش که شامل *S. cerevisiae* و *K. unispora* بودند علیه عوامل بیماری‌زا *E. coli*، *S. enterica*، *L. monocytogenes* و *S. aureus* مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی ۱۳ جدایه مخمری مذکور، اثرات ضدباکتریایی بالایی داشتند اما در مقابل *L. monocytogenes* ضعیف یا بی‌اثر بودند. در مطالعه دیگری نیز از ۹ جدایه که شامل مخمرهای *S. cerevisiae* و *P. kudriavzii* بودند، همگی نسبت به باکتری‌های غذازاد *E. coli*، *S. aureus*، *S. enterica* و *L. monocytogenes* خاصیت بازدارندگی داشتند. مخمرهای *P. kudriavzii* و *S. cerevisiae* نیز با تولید سم کشنده باعث کاهش رشد عوامل بیماری‌زا شدند [۲۸]. فعالیت ضدمیکروبی پروبیوتیک‌ها از جمله ویژگی‌های مهم آن‌ها است که از طریق تولید ترکیبات بازدارنده، حذف عوامل بیماری‌زا و ارتقاء عملکرد سد محافظ روده انجام می‌شود. یکی از ویژگی‌های مهم پروبیوتیک‌ها، قابلیت دگراتصالی آنها با باکتری‌های غذازاد می‌باشد که به واسطه کاربردهای درمانی و جلوگیری از حمله عوامل بیماری‌زای مختلف حائز اهمیت است [۲ و ۳۶]. Rahimi و همکاران [۱۲] گزارش کردند که جدایه مخمری منتخب، با ۷۵/۷۱ درصد بیشترین خاصیت دگراتصالی در برابر *S. enterica* را داشت. مطابق پژوهش مذکور، مخمر منتخب توانایی دگراتصالی بهتری در برابر باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت داشت که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. دگراتصالی یکی از مکانیسم‌های دفاعی پروبیوتیک‌ها جهت ایجاد یک محیط رقابتی برای عوامل بیماری‌زا است که مانع از لانه‌گزینی آنها در روده شده و همچنین از تجمع باکتری‌ها و ترشح مواد ضدمیکروبی آنها جلوگیری می‌کند [۲].

۶-۳- بررسی مقاومت به آنتی‌بیوتیک و ترکیبات ضد قارچ

نتایج حاصل از مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان داد که جدایه مخمری در برابر تمام آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه مقاوم بود. علاوه بر این، براساس نتایج جدول(۱) از بین ترکیبات ضد قارچ، بیشترین بازدارندگی از رشد جدایه مخمری در حضور فلوکونازول و سپس ناتامایسین مشاهده شد و جدایه مخمری در برابر سایر ترکیبات ضدقارچ مقاوم بود.

Table (1) - Comparison among sensitivity of yeast isolated from sprouted soybean sourdough towards the studied antimycotic compounds. Different letters indicate significant differences at $p<0.05$. The diameter of the inhibitory

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

zone less than 10, between 10-14, and more than 20 mm respectively indicates the resistance, semi sensitivity and sensitivity of the yeast to the studied compounds.

Antifungal compounds (concentration)	Inhibition diameter zone (mm)	Sensitivity
Fluconazole (150 mg)	21.67 ± 0.74^{a}	Sensitive
Natamycin (50 mg)	14.75 ± 0.43^{b}	Semi sensitive
Ketoconazole (200 mg)	0^{c}	Resistant
Calcium propionate (60 mg)	0^{c}	Resistant
Potassium sorbate (60 mg)	0^{c}	Resistant
Itraconazole (100 mg)	0^{c}	Resistant

Shruthi و همکاران [۱۳] ضمن بررسی ویژگی‌های پروبیوتیکی ۱۰ مخمر جدا شده از بسترهای تخمیری متفاوت، مقاومت آنتی‌بیوتیکی آنها را بررسی کردند که جدایه‌های مخمری نسبت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم بودند. در پژوهش دیگری سه مخمر *Kluyveromyces marxianus* MZ881932.1 *K. unispora* MZ881933.1 و *Pichia fermentans* MZ881934.1 نسبت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه مقاومت داشتند، اگرچه مخمر *K. marxianus* MZ881932.1 نسبت به استرپتومایسین با قطرهاله بازدارندگی ۱/۷۵ میلی‌متر حساسیت نسبی نشان داد. Qasim [۳۸] گونه‌هایی از مخمر Rhodotorula را از نظر حساسیت به ترکیب ضدقارچ ناتامایسین مورد بررسی قرار داد. بر اساس نتایج حاصل مشخص شد که مخمر مذکور با ایجاد هاله عدم رشد ۳۰ میلی‌متری، نسبت به ناتامایسین کاملا حساس بود.

مقاومت آنتی‌بیوتیکی یکی از مهمترین مسائل مربوط به استفاده از پروبیوتیک‌ها در تجارت مواد غذایی است. مخمرها مقاومت ذاتی در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها از خود نشان می‌دهند و در نتیجه به طور موثر، گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها را کنترل می‌نمایند. استفاده بیش از حد از باکتری‌های پروبیوتیک در مکمل‌های غذایی ممکن است باعث انتقال ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک در روده انسان شود. متعاقبا این ژن‌های مقاوم، می‌توانند به میکروارگانیسم‌های هم‌زیست در محیط روده نیز منتقل شود که منجر به عواقب بالینی مهمی می‌شود [۲ و ۳۹].

۷-۳- بررسی قابلیت ضد قارچی

اثر بازدارنده جدایه مخمری بر روی *A. flavus* در روز چهارم گرمخانه‌گذاری در مقایسه با نمونه شاهد در شکل(۳) آمده است. همانطور که مشاهده می‌شود جدایه مخمری مانع از رشد قارچ مذکور شده و از تغییر رنگ آن نیز ممانعت به عمل آورد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

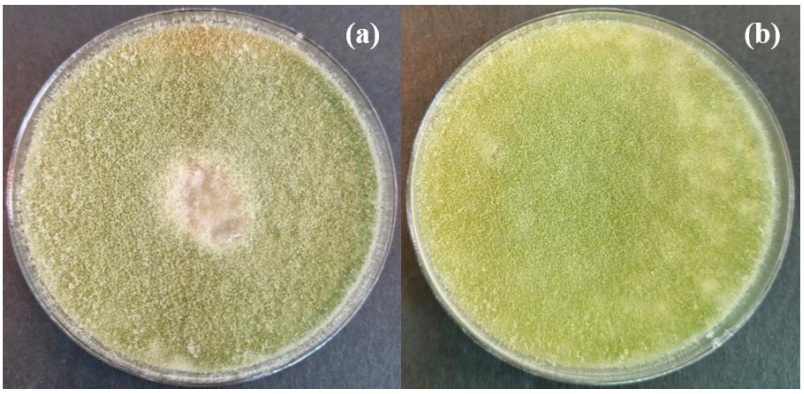

Fig (3)- Antifungal activity of *R. mucilaginosa* isolate against *A. flavus* using overlay assay (a) compared to the control sample (b).

Helmy و همکاران [٤٠] گزارش کردند که مخمرهای *P. kudriavzevii* QLB و *W. anomalus* HN1 دارای اثر ضدقارچی متوسطی در برابر قارچ‌های *A. flavus*، *Aspergillus niger* و *Aspergillus fumigatus* بودند. این پژوهشگران، فعالیت ضدقارچی مخمرهای مذکور را به تولید متابولیت‌های بازدارنده پروتئینی مانند مایکوسین‌ها مرتبط دانستند. در پژوهش دیگری اثر مخمرهای *Heyerozyma guillermondii* PP573088 و *Heyerozyma caribbica* PP573084 بر رشد قارچ‌های *A. niger* و *A. flavus* بررسی شد. مخمرهای مذکور به طور میانگین موجب کاهش ٦٠/٥٦ درصدی رشد این قارچ‌ها شدند [١٣]. مخمرها با مکانیسم‌هایی مانند رقابت بر سر مواد مغذی، تولید متابولیت‌های ضدقارچی مانند آنتی اکسیدان‌ها، دی‌اکسید کربن، متانول و پپتیدهایی با وزن مولکولی پایین، تولید آنزیم‌هایی مثل کیتیناز و تولید مایکوسین‌ها قادر به کنترل زیستی قارچ‌ها می‌باشند [٢ و ٤١].

٤- جمع‌بندی

اخیرا قابلیت‌های پروبیوتیکی و ضد میکروبی مخمرهای جدا شده از بسترهای تخمیری به عنوان کشت‌های محافظت کننده مورد توجه گسترده‌ای قرار گرفته است. در پژوهش حاضر، ابتدا مخمر غالب از سویای جوانه‌زده تخمیر شده جدا گردیده و سپس زنده‌مانی آن در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش و همچنین اثرات ضد باکتریایی آن در برابر برخی از مهمترین باکتری‌های غذازاد بررسی شد. در ادامه، سایر ویژگی‌های پروبیوتیکی، فعالیت همولیتیک و اثر ضد قارچی جدایه مذکور مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل، جدایه *R. mucilaginosa* به عنوان مخمر غالب خمیرترش سویای جوانه‌زده از زنده‌مانی مناسبی در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش برخوردار بود. همچنین قابلیت خود اتصالی و دگر اتصالی بالایی داشت و اثر ضد میکروبی آن در برابر *E. coli* بیشتر از سایر عوامل بیماری‌زای مورد مطالعه بود. همچنین مخمر مذکور فاقد قابلیت همولیز خون بود و اثر ضد قارچی آن بر *A. flavus* مورد تایید قرار گرفت. لذا می‌توان از مخمر پروبیوتیک جدا شده با قابلیت ضد میکروبی مناسب به عنوان کشت محافظت کننده و یک نگهدارنده زیستی ایمن در صنایع غذایی استفاده نمود.

قدردانی

این پژوهش در قالب یک پایان نامه کارشناسی ارشد زیست فناوری مواد غذایی و با حمایت "Iran Small Industries and Industrial Parks Organization" انجام شده است.

٥-منابع

[1] Fernandez-Pacheco, P., Arévalo-Villena, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., and Pérez, A. B. (2018). Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries. LWT-Food Science and Technology, 97, 332-340.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

[2] Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Shahryari, S., Kharazmi, M. S., and Jafari, S. M. (2022). Food applications of probiotic yeasts; focusing on their techno-functional, postbiotic and protective capabilities. Trends in Food Science & Technology, 128, 278-295.

[3] Hsiung, R. T., Fang, W. T., LePage, B. A., Hsu, S. A., Hsu, C. H., and Chou, J. Y. (2021). *In vitro* properties of potential probiotic indigenous yeasts originating from fermented food and beverages in Taiwan. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 13, 113-124.

[4] Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Hajinia, F., Kharazmi, M. S., and Jafari, S. M. (2023). FoodOmics as a promising strategy to study the effects of sourdough on human health and nutrition, as well as product quality and safety; back to the future. Trends in Food Science & Technology, 136, 24-47.

[5] Kiadaliri, F., Sadeghi, A., Khomeiri, M., Kashaninejad, M., and Aalami, M. (2018). Evaluating the antimicrobial properties of *Lactobacillus brevis* isolated from whole barley sourdough. Journal of Food Science and Technology (*Iran*), 15(2), 247-57.

[6] Purabdolah, H., Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., and Mohamadzadeh, J. (2022). Evaluation of probiotic and antifungal properties of the predominant LAB isolated from fermented acorn (*Quercus persica*). Journal of Food Science and Technology (Iran), 19(124), 171-183.

[7] Zarali, M., Sadeghi, A., Jafari, S. M., and Sadeghi Mahoonak, A. (2022). Evaluation of antimicrobial and probiotic properties of the predominant LAB isolated from fermented germinated clover seed. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(123), 299-315.

[8] Kia, S., Sadeghi, A., Kashaninejad, M., Khomeiri, M., and Zarali, M. (2023). Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus brevis* as the predominant LAB isolated from fermented amaranth. Journal of Food Science and Technology *(Iran)*, 19(132), 65-76.

[9] Shahryari, S., Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Sadeghi Mahoonak, A., and Moayedi, A. (2022). Evaluation of probiotic and antifungal properties of the yeast isolated from buckwheat sourdough. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 18(5), 575-588.

[10] Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Raeisi, M., and Nematollahi, Z. (2019). Biological control of foodborne pathogens and aflatoxins by selected probiotic LAB isolated from rice bran sourdough. Biological Control, 130, 70-79.

[11] Hajinia, F., Sadeghi, A., Sadeghi Mahoonak, A., Khomeiri, M., Maghsoudlou, Y., and Moayedi, A. (2020). Evaluation of probiotic and antifungal properties of the predominant LAB isolated from oat sourdough. Journal of Food Hygiene, 10(37), 45-59.

[12] Rahimi, D., Sadeghi, A., Kashaninejad, M., and Ebrahimi, M. (2024). Postbiotic characterization of a potential probiotic yeast isolate, and its microencapsulation in alginate beads coated layer-by-layer with chitosan. Heliyon, 10(7).

[13] Shruthi, B., Adithi, G., Deepa, N., Divyashree, S., and Sreenivasa, M. Y. (2024). Probiotic and functional attributes of yeasts isolated from different traditional fermented foods and products. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 1-19.

[14] Muche, N., Geremew, T., and Jiru, T. M. (2023). Isolation and characterization of potential probiotic yeasts from Ethiopian injera sourdough. Biotech, 13(9), 300.

[15] Santovito, E., Greco, D., Marquis, V., Raspoet, R., D'Ascanio, V., Logrieco, A. F., and Avantaggiato, G. (2019). Antimicrobial activity of yeast cell wall products against *Clostridium perfringens*. Foodborne Pathogens and Disease, 16(9), 638-647.

[16] Santovito, E., Greco, D., Logrieco, A. F., and Avantaggiato, G. (2018). Eubiotics for food security at farm level: yeast cell wall products and their antimicrobial potential against pathogenic bacteria. Foodborne Pathogens and Disease, 15(9), 531-537.

[17] Coutinho, J.O., Peixoto, T.S., de Menezes, G.C., Carvalho, C.R., Ogaki, M.B., Gomes, E.C. and Martins, F.S., (2021). *In vitro* and *in vivo* evaluation of the probiotic potential of Antarctic yeasts. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 13(5), 1338-1354.

[18] Liu, Y., Yao, S., Deng, L., Ming, J., and Zeng, K. (2019). Different mechanisms of action of isolated epiphytic yeasts against *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit. Postharvest Biology and Technology, 152, 100-110.

[19] Chen, K., Zhu, Y., Zhang, Y., Hamza, T., Yu, H., Saint Fleur, A and Feng, H. (2020). A probiotic yeast-based immunotherapy against *Clostridioides difficile* infection. Science Translational Medicine, 12(567), eaax4905.

[20] Elkhalifa, A. E. O., and Bernhardt, R. (2010). Influence of grain germination on functional properties of sorghum flour. Food Chemistry, 121(2), 387-392.

[21] AACC, International. (2010). Approved methods of the American association of cereal chemists. 11th Ed. The St. Paul.

[22] Aryashad, M., Sadeghi, A., Nouri, M., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., and Aalami, M. (2023). Use of fermented sprouted mung bean (*Vigna radiata*) containing protective starter culture LAB to produce clean-label fortified wheat bread. International Journal of Food Science and Technology, 58(6), 3310-3320.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

[23] White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., and Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, 18(1), 315-322.

[24] Deorukhkar, S. C., Saini, S., and Mathew, S. (2014). Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candida tropicalis* and its antifungal susceptibility profile. International Journal of Microbiology, 2014(1), 456878.

[25] Zarali, M., Sadeghi, A., Jafari, S. M., Ebrahimi, M., and Mahoonak, A. S. (2023). Enhanced viability and improved *in situ* antibacterial activity of the probiotic LAB microencapsulated layer-by-layer in alginate beads coated with nisin. Food Bioscience, 53, 102593.

[26] Tayel, A. A., El-Tras, W. F., Moussa, S. H., and El-Agamy, M. A. (2013). Antifungal action of *Pichia anomala* against aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and its application as a feed supplement. Journal of The Science of Food and Agriculture, 93(13), 3259-3263.

[27] Lama, S., and Tamang, J. P. (2022). Isolation of yeasts from some homemade fermented cow-milk products of Sikkim and their probiotic characteristics. Fermentation, 8(12), 664.

[28] Alkalbani, N. S., Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Obaid, R. S., Olaimat, A. N., Liu, S. Q., and Ayyash, M. M. (2022). *In vitro* characterization and identification of potential probiotic yeasts isolated from fermented dairy and non-dairy food products. Journal of Fungi, 8(5), 544.

[29] González-Orozco, B. D., García-Cano, I., Escobar-Zepeda, A., Jiménez-Flores, R., and Álvarez, V. B. (2023). Metagenomic analysis and antibacterial activity of kefir microorganisms. Journal of Food Science, 88(7), 2933-2949.

[30] Glushakova, A., Kachalkin, A., and Rodionova, E. (2023). Hydrolytic enzyme production and susceptibility to antifungal compounds of opportunistic *Candida parapsilosis* strains isolated from Cucurbitaceae and Rosaceae fruits. Applied Microbiology, 3(1), 199-211.

[31] Agarbati, A., Canonico, L., Marini, E., Zannini, E., Ciani, M., and Comitini, F. (2020). Potential probiotic yeasts sourced from natural environmental and spontaneous processed foods. Foods, 9(3), 287.

[32] Pahlavani, M., Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., and Moayedi, A. (2024). Application of the selected yeast isolate in type IV sourdough to produce enriched clean-label wheat bread supplemented with fermented sprouted barley. Journal of Agriculture and Food Research, 15, 101010.

[33] Pedersen, L. L., Owusu-Kwarteng, J., Thorsen, L., and Jespersen, L. (2012). Biodiversity and probiotic potential of yeasts isolated from Fura, a West African spontaneously fermented cereal. International Journal of Food Microbiology, 159(2), 144-151.

[34] Gut, A. M., Vasiljevic, T., Yeager, T., and Donkor, O. N. (2019). Characterization of yeasts isolated from traditional kefir grains for potential probiotic properties. Journal of Functional Foods, 58, 56-66.

[35] Menezes, A. G. T., Ramos, C. L., Cenzi, G., Melo, D. S., Dias, D. R., and Schwan, R. F. (2020). Probiotic potential, antioxidant activity, and phytase production of indigenous yeasts isolated from indigenous fermented foods. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 12, 280-288.

[36] Lara-Hidalgo, C. E., Dorantes-Álvarez, L., Hernández-Sánchez, H., Santoyo-Tepole, F., Martínez-Torres, A., Villa-Tanaca, L., and Hernández-Rodríguez, C. (2019). Isolation of yeasts from guajillo pepper (*Capsicum annuum* L.) fermentation and study of some probiotic characteristics. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 11, 748-764.

[37] Sun, H., Sun, Y., Tang, X., Cui, Y., Meng, D., Zhang, Y., and Yang, R. (2023). The interaction mechanism and the functionality of yeast protein with hydrophilic and hydrophobic bioactive molecules. Food Bioscience, 52, 102448.

[38] Qasim, Z. S. (2022). The antimycotic activity of rosuvastatin. Iraqi Journal of Pharmacy, 19(2), 84-92.

[39] Zheng, M., Zhang, R., Tian, X., Zhou, X., Pan, X., and Wong, A. (2017). Assessing the risk of probiotic dietary supplements in the context of antibiotic resistance. Frontiers in Microbiology, 8, 908.

[40] Helmy, E. A., Soliman, S. A., Abdel-Ghany, T. M., and Ganash, M. (2019). Evaluation of potentially probiotic attributes of certain dairy yeast isolated from buffalo sweetened Karish cheese. Heliyon, 5(5).

[41] Taheri, F., Sadeghi, A., Jafari, S. M., Shahryari, S., and Zarali, M. (2025). Evaluation of probiotic and antifungal properties of predominant yeast isolated from honey. Journal of Food Science and Technology (*Iran*), 22 (158), 185-200.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the probiotic and antimicrobial effects of the predominant yeast isolated from sprouted soybean sourdough

Sima Shams Shargh[1], Alireza Sadeghi[1]*, Mahmoud Shams Shargh[2], Fahimeh Hajinia[1], Ali Moayedi[1]

1-Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2- Department of Animal Science, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received:2024/2/24

Accepted:2024/5/11

Keywords:

Probiotic yeast,

sourdough,

sprouted soybean,

co-aggregation,

antimicrobial effect.

DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225.

*Corresponding Author E-sadeghi.gau@gmail.com

ABSTRACT

Recently, the investigation of probiotic yeasts isolated from fermented foods has received widespread attention due to their unique functional properties and health benefits. In the present study, the predominant yeast isolated from sprouted soybean sourdough was identified using PCR. Then the probiotic and antimicrobial properties of the yeast isolate were investigated. The survival of the isolated *Rhodotorula mucilaginosa* in the simulated conditions of the gastrointestinal tract was 49.61%. Moreover, its antibacterial and co-aggregation activity against *Escherichia coli* was significantly (p<0.05) higher than other studied foodborne bacteria, and in general, yeast isolate showed more inhibitory activity against Gram-negative bacteria than Gram-positive bacteria. The yeast isolate has no hemolytic activity and its auto-aggregation ability was 85.43%, and its hydrophobicity against xylene and hexane was equal to 93.69 and 56.32%, respectively. In addition, the yeast isolate showed sensitivity and relative sensitivity to fluconazole and natamycin, respectively, and it was resistant towards other antifungal compounds and antibiotics studied. Also, the yeast isolate prevented the growth and discoloration of Aspergillus flavus. Based on the mentioned findings, the predominant yeast isolated from the sprouted soybean sourdough has a suitable ability to be used as a protective probiotic culture in the food industry.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-06]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.225]