فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۴، شماره ۱، پیاپی ۶۷، بهار ۱۴۰۰، ص ۱۲۹-۱۴۷
نوع مقاله: مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۱

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.34, No.1, Sering.67, Spring2021, p. 129-147
Article type: Research paper

وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.34309.1398

جداسازی مخمر با ویژگی‌های پروبیوتیکی از پوست انسان

محدثه غفاری[۱]، فرشاد درویشی[۲و۳]، سنبل ناظری[۴*]

چکیده

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در پیشگیری و درمان از بیماری‌ها نقش مهمی دارند. با توجه به اهمیت مخمرهای پروبیوتیک، هدف این تحقیق جداسازی مخمر با ویژگی‌های پروبیوتیکی است. نمونه‌برداری از قسمت‌های مختلف پوست انسان انجام شد. توانایی رشد مخمر جدا شده در غلظت‌های ۰/۳، ۰/۵ و ۱درصد اکسگال، غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ درصد NaCl، pH های ۲، ۴، ۵/۸، ۹ و ۱۱ و دمای ۳۷، ۴۰ و ۴۲ درجه سلسیوس بررسی شدند. فعالیت آنزیم‌های آمیلاز، پروتئاز، پکتیناز، سلولاز، لیپاز، اوره‌آز، کاتالاز، سیتراتاز و همولیزین نمونه جداشده بررسی شد. این مخمر توانایی رشد در ۰/۳درصد اکسگال، غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ درصد NaCl، pH های۲، ۴، ۵/۸، ۹ و ۱۱ و همچنین دمای ۳۷ درجه سلسیوس را داشت. مخمر جدا شده ویژگی اولیه پروبیوتیک را دارد و می‌تواند در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، مخمر، اکسگال، تحمل نمکی، فعالیت آنزیمی

۱- کارشناسی ارشد زیست فناوری میکروبی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، آذربایجان شرقی، ایران
۲- استاد، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا، تهران، ایران
۳- استاد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مراغه، آذربایجان شرقی، ایران
۴- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
*(نویسنده مسئول: snazeri@basu.ac.ir)

مقدمه

استفاده اکوسیستم پوست به دلیل ساختار فیزیکی و در معرض عوامل محیطی قرار گرفتن، محیطی پیچیده محسوب می‌شود (Bojar & Holland., 2002). به همین دلیل جمعیت میکروبی متنوع و فراوانی روی پوست انسان ساکن است. پوست مواد مغذی به شکل لیپید و پروتئین را در اختیار میکروب‌ها قرار می‌دهد (Fredricks, 2001) و به روش‌های مختلف در بهینه سازی، حفظ و ترمیم میکروبیوتای پوست نقش دارد (Tester & Al-Ghazzewi., 2012). اولین مطالعات بالینی روی پروبیوتیک‌ها در دهه ۱۹۳۰ در مورد اثر بخشی بر یبوست انجام شد. بعد از آن تعداد این مطالعات روز به روز افزایش یافت و بسیاری از این مطالعات در اروپا و آسیا انجام گرفت. تعریف دقیق واژه پروبیوتیک به معنای "برای زندگی" از یک واژه یونانی مشتق شده است و برای اولین بار توسط Lilly و Stillwell در سال ۱۹۶۵ به منظور توضیح مواد ترشحی بوسیله یک میکروارگانیسم که رشد میکروارگانیسم دیگر را تحریک می‌کند بکار برده شد (Lilly & Stillwell., 1965). طبق تعریف سازمان غذا و کشاورزی و بهداشت جهانی (FAO/WHO) در سال ۲۰۰۲ پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که وقتی به مقدار کافی مصرف شوند سلامتی را به میزبان اعطا می‌کنند. این سازمان دستورالعمل‌های ارزیابی پروبیوتیک‌ها را منتشر کرد. این دستورالعمل‌ها مقاومت در برابر شرایط نامطلوب بدن انسان، توانایی اتصال به بافت اپی تلیال، فعالیت ضد میکروبی و ایمن بودن برای استفاده را شامل می‌شود (de Melo Pereira *et al*., 2018). در این رابطه مقاومت به اسید کلریدریک، ترکیبات صفراوی و آنزیم‌های گوارشی مهم‌ترین ویژگی پروبیوتیک‌ها هستند (Stadler et al, 2003). استفاده مدام و طولانی مدت داروهای ضد میکروبی به تدریج باعث ایجاد سویه‌های مقاوم عوامل بیماری زا نسبت به آنتی بیوتیک‌ها شده است. در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزین روش‌های درمان آنتی بیوتیکی مطرح گردیده و به نظر می‌رسد استفاده از آن می‌تواند بسیاری از مشکلات ناشی از درمان و یا کنترل بیماری را مرتفع سازد (Talebi *et al*., 2016). مطالعات مختلف نشان داده است که استفاده از پروبیوتیک‌ها از جمله مخمرها، می‌تواند در درمان بیماری‌های ناشی از میکروارگانیسم‌ها موثر واقع گردد. در مطالعات مختلف، اثر درمانی مخمرهای پروبیوتیک در التهاب و عفونت‌های دستگاه گوارش نشان داده شده است، از انواع این مخمرها می‌توان به *Torulaspora delbrueckii* ،*Debaryomyces hansenii* ،*Saccharomyces boulardii* ،*Saccharomyces serevisiae* ، *Kluyveromyces lodderae* ،*Yarrowia lipolytica* ،*Kluyveromyces marxianus* ،*Kluyveromyces lactis* اشاره کرد (Kumura *et al*., 2004; Chen *et al*., 2010 ;Kurugol & Koturoglu., 2005; Psani & Kotzekidou., 2006). مکانیسم اثر درمانی مخمرهای پروبیوتیک رقابت برای مواد غذایی، تغییرات pH در محیط با تولید اسید آلی، تولید غلظت بالای اتانول، ترشح ترکیبات ضدباکتریایی، آزادسازی ترکیبات ضد میکروبی مانند مایکوسین‌ها و تقویت سیستم ایمنی را شامل می‌شود (Golubev, 2006). همچنین استفاده از مخمرهای پروبیوتیک به عنوان عوامل ضد قارچ برای درمان عفونت قارچی انسان و حیوان بسیار

مورد توجه قرار گرفته است (Schmitt & Breinig, 2002). مطالعات نشان داده‌اند که مخمرهای پروبیوتیک توانایی از بین بردن یا دفع میکروارگانیسم های بیماریزای از جمله مخمرهایی مانند *Candida tropicalis, Candida krusei, Candida glabrata, and Candida parapsilosisas* را دارند (lew & liong, 2013). بررسی‌های دیگر نشان داده است که استفاده از مخمرها می‌تواند در درمان یا توقف رشد سرطان‌هایی مانند سرطان سینه موثر باشد. در چند مطالعه مختلف نشان داده شد که استفاده از مخمر *Saccharomyces serevisiae*، بصورت زنده و یا کشته شده توسط حرارت، در القا مرگ سلولی در سلول‌های سرطانی و کاهش حجم تومور موثر بود (Ghoneum *et al*., 2008). برخی بررسی‌های انجام گرفته نشان می‌دهد که ترکیبات استخراج شده از دیواره سلولی مخمر *Saccharomyces serevisiae* می‌توانند پاسخ‌های ایمنی را در شرایط *in vivo* و *in vitro* تنظیم کنند (Estrada *et al*., 1997). مطالعات اخیر نشان داده است که سویه‌های پروبیوتیکی خوراکی می‌توانند میزان بروز و شدت عفونت های ویروسی دستگاه تنفسی ناشی از *COVID-19* را نیزکاهش دهند (Baud *et al*., 2020). علاوه بر کاربردهای بالینی، مخمرهای پروبیوتیکی در زمینه دامپروری و دامپزشکی سابقه‌ای طولانی دارد. مزیت استفاده از مخمرهای پروبیوتیکی به عنوان مکمل برای خوراک حیوانات مانند ماکیان، گوسفندان، نشخوارکنندگان و ماهی‌ها به اثبات رسیده است، از جمله حضور مخمرها در جیره غذایی باعث افزایش وزن و کیفیت بهترگوشت می‌شود (Sauerwein *et al*., 2007). *Saccharomyces cerevisiae* در بسیاری از داروهای پروبیوتیکی استفاده می‌شود (Edens, 2003).

هرچند مطالعه روی پروبیوتیک‌ها قدمت طولانی دارد، اما پروبیوتیک‌های یوکاریوتی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. این در حالی است که توانایی آنها به عنوان یوکاریوت به ویژه در تغییرات پس از ترجمه که قادر به بیان انواع مختلف پروتئین‌های درمانی در ترکیبات سازگار با میزبان هستند، یکی از مزیت‌های عمده در استفاده از مخمرهای پروبیوتیک است (Ragavan & Das, 2017). ویژگی مخمرها در سلامت و محافظت از پوست نیز به اثبات رسیده است (Kunyeit et al., 2019). با توجه به موارد ذکر گردیده، هدف این پژوهش بررسی حضور مخمر با ویژگی پروبیوتیک پروبیوتیکی از پوست انسان بود. تاکنون آزمایشات متعددی از جداسازی باکتری‌های پروبیوتیک از پوست و جداسازی مخمر با ویژگی پروبیوتیکی از منابع مختلف انجام شده است، تا زمان انجام این پژوهش مطالعه ای از جداسازی مخمر با ویژگی‌های پروبیوتیکی از پوست انسان مشاهده نگردید.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری بطور تصادفی از پنج ناحیه از قسمت‌های مختلف پوست بدن انسان توسط سواپ های استریل، سه بار، انجام شد. نمونه‌ها بر روی محیط کشت YGC (Yeast Glucose chloramphenicol) کشت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به

مدت ۲۴-۴۸ ساعت انکوبه شدند. از محیط کشت MRS، برای جداسازی مخمر پروبیوتیک و نیز جهت خالص سازی استفاده شد. از محیط YPD مورب همراه با گلیسرول استریل ۵۰ درصد در دمای چهار درجه سلسیوس برای نگه‌داری طولانی مدت استفاده شد (Qvirist *et al*., 2016).

بررسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی نمونه‌ها

رشد نمونه‌های کشت داده شده بصورت روزانه بررسی شدند. کلنی‌های ظاهرشده روی پلیت ها از نظر مورفولوژی، شکل، رنگ و قوام بررسی شدند. کلنی‌های با ویژگی مخمر، عموما سفید، کرم رنگ، حالت خامه ای بوده و یا سطحی صاف دارند (Kurtzma & Fell, 2011). به منظور بررسی اشکال میکروسکوپی مخمر توسط متیلن بلو رنگ آمیزی شد و توسط میکروسکوپ نوری (عدسی×۴۰ و ×۱۰۰) مشاهده شد (Vakhlu, 2006).

ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی

در اولین مرحله ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی، توانایی رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط اسیدی و قلیایی بررسی شد. توانایی رشد مخمر در محیط YPD مایع با pH ۲، ۴، ۵/۸، ۹ و ۱۱ مورد آزمایش قرار گرفت. pH معده بعد از صرف غذا به سه تا شش می‌رسد، و رشد مخمر در شرایط اسیدی و قلیایی به عنوان معیاری برای غلبه بر شرایط استرسی استفاده می‌شود (Perricone *et al*., 2014). برای انجام این آزمایش، ابتدا از جدایه در محیط YPD مایع در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت کشت فعال تهیه شد و به نسبت یک درصد از این محیط به محیط‌های کشت مایع با pH های ذکر شده اضافه شد. لوله‌های کشت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در شیکر انکوباتور گرماگذاری شدند. در ابتدا، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تلقیح، رشد میکروارگانیسم مورد بررسی قرار گرفت. میزان رشد با اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گردید و از محیط فاقد مخمر به عنوان شاهد استفاده شد (Ragavan & Das, 2017). برای ارزیابی توانایی رشد مخمر در محیط حاوی صفرا، از محیط MRS جامد حاوی ۰/۳، ۰/۵ یا ۱ درصد اکسگال استفاده شد. بعد از کشت مخمر در محیط، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شدند (Kumura *et al*., 2004). برای ارزیابی توانایی رشد مخمر در محیط نمکی، از محیط YPD آگار حاوی غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ درصد نمک NaCl براساس مطالعه Zeng و همکاران استفاده شد. مخمر پس از کشت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت گرماگذاری و سپس هر روز پلیت‌ها بررسی شدند (Zeng *et al*., 2019).

یکی از ویژگی‌های میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک توانایی رشد آنها در دمای فیزیولوژی بدن (۳۷ درجه سلسیوس) است و دمای ۴۲ درجه سلسیوس دمای محدودکننده برای مخمرها می‌باشد (Hu *et al*., 2019). پس از کشت مخمر بر روی محیط YPD آگار، در دمای ۳۷، ۴۰ و ۴۲ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت گرماگذاری شدند (Fernandes *et al*., 2019).

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی

آنزیم آمیلاز: برای بررسی کیفی فعالیت آنزیم آمیلاز از محیط‌های نشاسته آگار حاوی یک درصد نشاسته و محیط YPD آگار حاوی یک درصد نشاسته با pH هفت استفاده شد. از سوبستراهای مختلفی مانند نشاسته ذرت، نشاسته گندم، آرد برنج، سبوس گندم استفاده شد. پس از کشت، نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند. از معرف لوگول (۰/۱ درصد ید و ۰/۲ درصد پتاسیم یدید) استفاده شد. ایجاد هاله شفاف اطراف کلنی‌ها نشان دهنده فعالیت آنزیم آمیلاز و هاله بنفش اطراف آنها عدم فعالیت آنزیم آمیلاز است (Sathish *et al*., 2012).

آنزیم پروتئاز: برای بررسی کیفی فعالیت آنزیم پروتئاز از محیط‌های ژلاتین آگار (۱ درصد ژلاتین)، کازئین آگار (۱ درصد کازئین)، YPD آگار (۱ درصد ژلاتین) و YPD آگار (۱ درصد کازئین) استفاده شد. این آزمایش در pH های ۵/۸، ۷، ۹ و ۱۱ (برای بررسی پروتئازهای قلیایی) انجام شد. پس از کشت، نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸-۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. از معرف کلرید جیوه (۱۵ گرم کلرید جیوه در ۲۰ میلی لیتر HCl حل شده و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ رسید) استفاده شد. در صورت فعالیت پروتئازی مخمر، اطراف آنها هاله شفاف و درصورت حضور پروتئین رسوب سفید رنگ دیده می‌شود (Hasan *et al*., 2013).

آنزیم سلولاز: فعالیت آنزیم سلولاز، در محیط حاوی ۱ درصد عصاره مخمر، ۲ درصد پپتون، ۱ درصد کربوکسی متیل سلولز و ۱/۵ درصد آگار بررسی شد. پس از کشت لکه‌ای، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت سه روز گرماگذاری شدند. برای بررسی فعالیت آنزیم سلولاز از معرف ۰/۵ درصد کنگو رد استفاده گردید، بدین ترتیب که ابتدا کنگو رد به پلیت ها اضافه و پس از ۱۵ دقیقه با محلول NaCl یک مولار شسته شد. وجود هاله زرد رنگ اطراف کلنی‌ها نشان دهنده فعالیت آنزیم سلولاز و عدم تغییر رنگ به عنوان عدم فعالیت آنزیم سلولاز است (Kaur *et al*., 2011).

آنزیم پکتیناز: برای بررسی کیفی فعالیت آنزیم پکتیناز، از محیط YPD آگار حاوی یک درصد پکتین استفاده شد. پس از کشت، در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت سه روز گرماگذاری شدند. برای بررسی فعالیت آنزیم پکتیناز همانطور که برای فعالیت سلولاز شرح داده شد، از معرف کنگو رد ۰/۵ درصد و محلول یک مولار NaCl استفاده شد (Yadav *et al*., 2015).

آنزیم لیپاز: برای بررسی کیفی فعالیت آنزیم لیپاز، از محیط YPD آگار حاوی یک درصد سوبسترای آنزیم لیپاز استفاده شد. سوبستراهای مورد استفاده در این آزمایش شامل روغن زیتون، توئین ۲۰، روغن آفتابگردان و همچنین نفت خام بودند. بعد از کشت، نمونه ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت دو روز گرماگذاری شدند. از معرف فنل رد ۰/۰۱ درصد استفاده شد که در صورت فعالیت آنزیم لیپاز، معرف فنل رد از رنگ قرمز به رنگ زرد تبدیل می‌شود. (Amara *et al*., 2009).

آنزیم کاتالاز: برخی از میکروارگانیسم‌ها می توانند با تولید آنزیم کاتالاز خود را در برابر هیدروژن پراکسید محافظت نموده و آن را به آب و O_2 تبدیل کنند. به همین علت تشکیل حباب گاز O_2 نشان دهنده عمل کاتالاز است (Dye, 1986). برای بررسی کیفی فعالیت آنزیم کاتالاز از آب اکسیژنه (سه درصد حجمی) استفاده شد. تشکیل یا عدم تشکیل حباب در مدت دو دقیقه مورد بررسی قرار گرفت (Al-Kobaisi, 2007).

آنزیم اوره‌آز: برای بررسی کیفی فعالیت آنزیم اوره‌آز از محیط اوره کریستنسن آگار با معرف فنل رد استفاده شد. بعد ازکشت، نمونه ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت دو الی هفت روز گرماگذاری شد. زمانی که اوره هیدرولیز می‌شود، CO_2 و آمونیاک تولید می‌کند. تولید آمونیاک باعث قلیایی شدن محیط و تغییر رنگ فنل رد می‌شود. ایجاد رنگ قرمز در محیط کشت، نشان دهنده واکنش قلیایی و هیدرولیز اوره است (Cappucino *et al*., 1996).

آنزیم سیتراتاز: برای این آزمون از محیط سیمون سیترات آگار استفاده شد که تنها منبع کربن، سیترات و تنها منبع نیتروژن، نمک‌های آمونیوم می‌باشد. پس از کشت مخمر روی سطح شیبدار، لوله کشت به مدت ۷۲-۲۴ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرماگذاری شد. رنگ آبی نشان دهنده وجود آنزیم سیتراتاز در نظر گرفته شد (Schaad *et al*., 2001).

تست همولیز: عدم فعالیت همولیتیک از جمله معیارهای *in vitro* میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک است که توسط (FAO/WHO, 2000) برای ارزیابی پروبیوتیک پیشنهاد شده است. برای انجام این آزمایش از محیط بلاد آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند استفاده شد. نمونه مخمر بر روی محیط به‌صورت خطی در مرکز محیط، کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرماگذاری شد (Manns *et al*., 1994).

تجزیه و تحلیل آماری

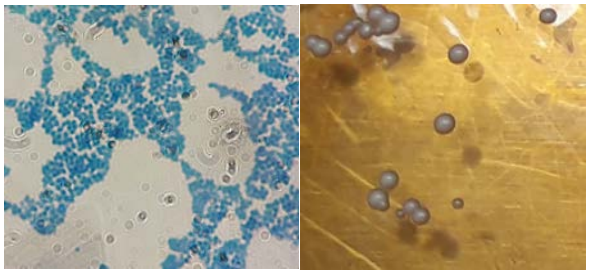
نتایج آزمایش‌ها از لحاظ آماری حداقل با دو تکرار با استفاده از نرم افزار SPSS 16.1 تجزیه وتحلیل شدند.

نتایج و بحث

جداسازی مخمر

پوست انسان بدلیل شرایط فیزیکی و در معرض عوامل محیطی قرار گرفتن، دارای جمعیت میکروبی متنوع و فراوانی است، که ویژگی های منحصر به فردی، از جمله غیر بیماریزایی و مفید بودن برای میزبان را، دارا هستند. در این میان، مخمرها به دلیل عدم حساسیت به ترکیبات ضد باکتریایی و ویژگی‌های بیوشیمیایی خود می‌توانند جمعیت میکروبی پوست را کنترل کنند (Fredricks, 2001; Bojar & Holland., 2002; Grice & Segre, 2011). از طرف دیگر مخمرهای به دلیل ویژگی‌های

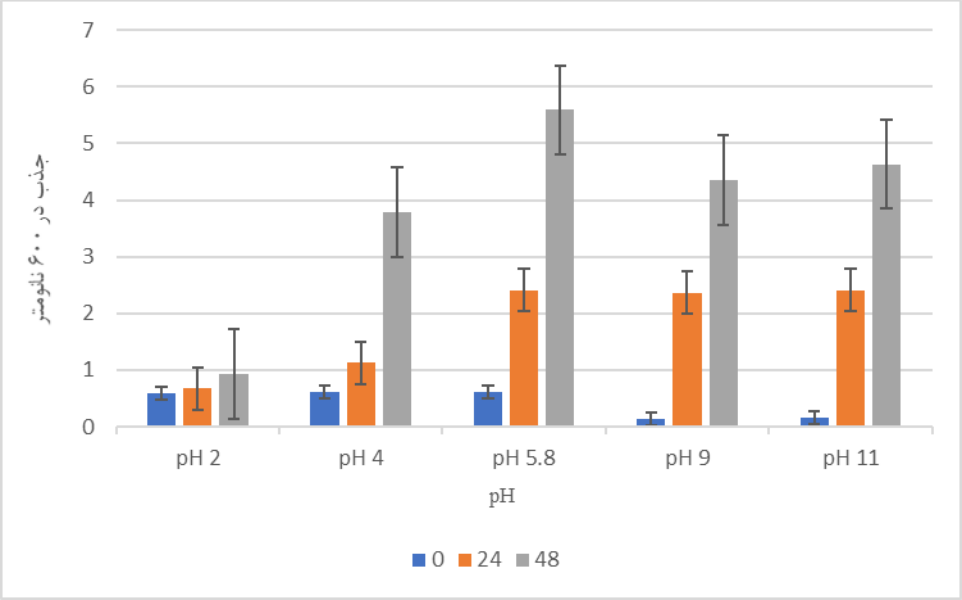
منحصر به فرد ازجمله، اندازه بزرگتر از باکتری ها و نیز بویژه توانایی آنها در تغییرات پس از ترجمه مناسب برای بیان انواع مختلف پروتئین‌های درمانی، ابزارهایی مناسب برای مطالعه هستند (Agarbati et al., 2020; Moslehijenabian et al., 2010; Ragavan & Das, 2017). در این مطالعه پس از نمونه‌برداری از پوست، پلیت‌های کشت داده شده برای تشکیل کلنی‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. از مجموعه میکروارگانیسم‌های رشد یافته، تنها یک کلنی که از نظر مورفولوژی با ویژگی مخمر شباهت داشت، جداسازی شد. کلنی جدا شده از پوست انسان، سفید رنگ، کوچک و صاف بودند. در مشاهدات میکروسکوپی جدایه به شکل کروی بود (شکل-۱). گزارشاتی از جداسازی مخمرها از بدن انسان وجود دارد، ولی در تعداد کمی از آنها، به جداسازی مخمر پروبیوتیک اشاره کرده‌اند. طی مطالعه‌ای روی میکروارگانیسم‌های مدفوع نوزاد انسان، به حضور مخمرهای پروبیوتیک اشاره کردند (Psomas *et al*., 2001). در تحقیق Boix-Amoros و همکاران، مخمرهای *Saccharomyces*، *Candida* و *Malassezia* از شیر انسان جداسازی شدند (Boix-Amoros *et al*., 2017). جداسازی این مخمرها از حیوانات یا محصولات آنها در چند تحقیق اشاره شده است، از جمله در دستگاه گوارش اردک، ماهی، محتویات روده بز، شکمبه گاو و شیر بز، حضور مخمرهای پروبیوتیک نیز گزارش شده است (Ragavan & Das, 2017; Hu et al., 2018; Fernandes *et al*., 2019). در تحقیق Saber و همکاران مخمرهای پروبیوتیک از ماست و پنیر محلی جداسازی شدند (Saber *et al*., 2019). این اولین گزارش از جداسازی مخمر با ویژگی پروبیوتیکی از پوست انسان است.



شکل ۱: کلنی‌ها و شکل میکروسکوپی مخمر جداشده از پوست انسان در محیط MRS

ویژگی پروبیوتیکی

انتخاب مخمرهای پروبیوتیک معمولا با انجام آزمایش‌های مبتنی بر رشد در محیط‌های اسیدی، قلیایی و حاوی صفراوی صورت می‌گیرد (Zeng *et al*., 2019). در اولین مرحله از ارزیابی خصوصیات پروبیوتیکی، مخمرها از نظر توانایی رشد و مقاومت به اسید در محیط YPD مایع، در pH اسیدی ۲ ، ۴ و ۵/۸ و محیط قلیایی با pH ۹ و ۱۱ سنجیده شدند. جذب نوری در ۶۰۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتری در زمان تلقیح و زمان های ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تلقیح اندازه‌گیری شدند (شکل-۲).



شکل ۲: رشد مخمر جدا شده از پوست انسان در pH های مختلف در زمان صفر، ۲۴ و ۴۸ ساعت (ERROR BAR انحراف استاندارد را نشان می‌دهد).

با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول-۱)، اختلاف معنی داری بین رشد مخمر در pH های مختلف وجود دارد زیرا مقدار P<۰,۰۵ است. اثر زمان، اثر pH و اثر متقابل آنها در سطح ۹۹ درصد معنی دار است. می توان نتیجه گرفت زمان و pH بر رشد مخمر تاثیر دارد.

جدول ۱: تغییرات واریانس رشد مخمر در pH های مختلف

منابع تغییرات	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F
زمان	۲۹/۱۵	۲	۱۴/۵۷	۳۷۲/۷۶**
pH	۲۲/۱۶	۴	۵/۵۴	۱۴۱/۶۸**
pH*زمان	۱۴/۴۴	۸	۱/۸۰	۴۶/۱۵**
خطا	۰/۵۸	۱۵	۰/۰۳۹	
کل	۱۲۳/۶۲	۳۰		

رشد جدایه مخمر، ۴۸ ساعت بعد از تلقیح در pH های اسیدی و قلیایی افزایش داشت. مخمر در محیط های قلیایی ۹ و ۱۱ از رشد بهتری برخوردار بود. طی مطالعه انجام شده مخمرها در برابر تغییرات pH قلیایی روده مقاوم هستند (Psomas et al., 2001). در محیط‌های اسیدی در pH ۵/۸ و ۴ نسبت به pH ۲ رشد و بقا بهتری داشت. مطالعات صورت گرفته بر مخمرها، نتایج متفاوت از توانایی رشد و زنده مانی را در pH های مختلف ذکر کرده اند. Hu و همکاران درصد زنده ماندن جدایه‌های مخمر را در pH های ۲، ۳، ۴ و ۵/۵ بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون سنجیدند و گزارش کردند که هفت مخمر پروبیوتیک جدا شده توانایی

رشد در pH ۳، ۴، ۵/۵ را داشتند ولی فقط دو مخمر توانستند در pH ۲ زنده بمانند (Hu *et al*., 2018). Pennacchia و همکاران از ۲۲ مخمر جدا شده از مواد غذایی، ۱۹ جدایه در pH ۲/۵ بعد از ۲/۵ ساعت بیش از ۹۰ درصد زنده ماندند (Pennacchia *et al*., 2007). Zeng و همکاران توانایی زنده ماندن مخمرهای جدا شده از ماهی تخمیرشده در نمک را در pH ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴، ۹ و ۹/۵ بررسی کردند که نه جدایه بیش از ۹۵ درصد در pH ۹و ۱۸ سویه بیش از ۷۵ درصد در pH ۲/۵ زنده ماندند (Zeng et al., 2018). Ragavan و Das رشد مخمرهای جدا شده از میوه، سبزیجات، حیوانات و پسماند کارخانه‌ها را در pHهای ۱ تا ۱۲ بررسی کردند (Ragavan & Das, 2017). اولین سدی که میکروارگانیسم‌ها پس از مصرف با آن روبرو می‌شوند، شیره معده است که اثر بازدارندگی آن با pH و غلظت اسیدکلریدریک مرتبط است. pH اسید معده ۰/۹ است که با حضور غذا به ۳ می رسد. میکروارگانیسم‌ها باید بتوانند از شرایط اسیدی معده عبور کنند. برای غربالگری پروبیوتیک‌ها بقای آنها در pH ۲/۵- ۳/۵ مورد بررسی قرار می‌گیرد (Erkkila & Petaja, 2000).

مخمر جدا شده توانایی رشد در غلظت ۰/۳ درصد اکسگال را داشت، ولی در غلظت های بالاتر ۰/۵ و یک درصد اکسگال رشد ضعیفی داشت. براساس روش Gilliland و Walker رشد در محیط MRS حاوی ۰/۳ درصد اکسگال در دمای ۳۷ درجه سلسیوس می‌تواند به عنوان شاخص پروبیوتیکی باشد (Gilliland & Walker, 1990). Van der Aa Kuhle و همکاران گزارش کردند بقای مخمر در ۰/۳ درصد نمک صفرا، یک مرحله مهم برای غربالگری مخمرهای پروبیوتیک می باشد و مخمر جدا شده آنها از خمیرترش توانایی رشد در ۰/۳ درصد اکسگال را داشت و در نهایت به عنوان یک پروبیوتیک شناخته شد (Van der Aa Kuhle *et al*., 2005). Kumura و همکاران مخمرهای پروبیوتیک جدا شده از لبنیات را در ۰/۳ و ۰/۵ درصد صفرا مورد آزمایش قرار دادند، که همگی توانایی رشد در ۰/۳ درصد صفرا را داشتند و دارای خاصیت پروبیوتیکی می‌باشند (Kumura *et al*., 2004). Hu و همکاران مخمرهای جدا شده از دستگاه گوارش اردک را در ۰/۳ و ۰/۶ درصد نمک صفرا بررسی کردند و گزارش کردند، بیشتر مخمرها در غلظت ۰/۳ درصد اکسگال قادر به رشد بودند و فقط چهار مخمر در ۰/۶ درصد قادر به زندگی بودند (Hu *et al*., 2019). صفرا موثرترین ترکیب بازدارنده رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها و عامل کنترل فلور میکروبی موجود در روده است زیرا صفرا از طریق بهم ریختن ساختمان دیواره سلولی باعث مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌گردد، بنابراین مقاومت به صفرا و رشد در روده یکی از ضروری ترین ویژگی پروبیوتیک‌ها می باشد (Pennacchia *et al*., 2008).

به منظور بررسی توانایی مخمرها برای تحمل فشارهای اسمزی متفاوت، از محیط حاوی درصدهای ۲، ۴ و ۶ درصد NaCl استفاده شد. این مخمر رشد بسیار خوبی در هر سه غلظت NaCl داشت. Zeng و همکاران سویه‌های مخمر جدا شده از ماهی تخمیر شده در نمک را در غلظت‌های ۲، ۴ و ۶ درصد NaCl بررسی کردند، در تحقیق آنها مخمرها قادر بودند رشد ۶۷ درصدی در محیط ۶ درصد نمک از خود نشان دهند و همچنین مخمرها در غلظت‌های نمکی بالا مقاومت بالاتری نسبت به

باکتری‌ها نشان دادند (Zeng *et al*., 2019). در مطالعات دیگر گزارش شده که جدایه‌های مخمر در برابر غلظت‌های بالای نمک مقاوم هستند (Ogunremi *et al*., 2015). نمک NaCl با اثر بر ویژگی‌های اسمزی محیط یکی از عوامل جلوگیری از تکثیر میکروارگانیسم‌ها بشمار می‌رود و تحمل غلظت نمکی یکی از عوامل مهم غربالگری پروبیوتیک‌ها است (Sanchez-Ortiz *et al*., 2015).

رشد نمونه ها در دمای ۳۷، ۴۰ و ۴۲ درجه سلسیوس در محیط کشت جامد بررسی شد. مخمر جدا شده در دمای فیزیولوژی بدن (دمای ۳۷ درجه سلسیوس) رشد خوبی داشت ولی در دمای ۴۰ و ۴۲ درجه سلسیوس رشد ضعیفی داشت. Fernandes و همکاران جدایه‌های مخمر جدا شده از شکمبه گاو را در دماهای ۳۷، ۳۹ و ۴۱ درجه سلسیوس بررسی کردند. تمامی جدایه‌ها توانایی رشد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس را داشتند اما در دماهای بالاتر تعداد کمتری قادر به رشد بودند که با نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر مشابه است (Fernandes *et al*., 2019). Psomas و همکاران طی مطالعه ای بر رشد مخمرهای پروبیوتیک جدا شده از مدفوع نوزاد انسان در دماهای۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس دریافتند که همه جدایه‌ها توانایی رشد در هر سه دما را داشتند ولی میزان رشد در دمای ۳۷ درجه سلسیوس بیشتر بود (Psomas *et al*., 2001). Hu و همکاران طی مطالعه ای رشد مخمرهای جدا شده از دستگاه گوارش اردک را در دماهای ۳۷ و ۴۲ درجه سلسیوس، به نتیجه مشابه رسیدند (Hu *et al*., 2019). Ogunremi و همکاران نیز دمای ۳۷ درجه سلسیوس، دمای بهینه برای مخمرهای پروبیوتیک جدا شده از مواد غذایی دانستند. دمای بهینه برای رشد مخمرها ۲۸ تا ۳۰ درجه سلسیوس است ولی مخمرهای پروبیوتیک باید توانایی زنده ماندن در دمای بدن (۳۷ درجه سلسیوس) را داشته باشند (Ogunremi *et al*., 2015). مخمر جدا شده از پوست انسان این ویژگی پروبیوتیکی را دارا بود.

مخمر جداشده قادر به رشد در محیط بلاد آگار بود ولی توانایی همولیز را نداشت (گاما همولیتیک). این ویژگی در جهت تایید ایمنی مصرف این سویه به عنوان پروبیوتیک حائز اهمیت است (Maragkoudakis *et al*., 2006). مخمرهای جدا شده از منابع مختلف می توانند الفا همولیز، بتا همولیز و یا گاما همولیز باشند. Ragavan و Das گزارش کردند مخمرهای پروبیوتیک جدا شده از منابع مختلف: غذایی (لبنیات، میوه و سبزیجات)، حیوانی (بز و ماهی) و گیاهی همگی همولیز منفی (گاما همولیتیک) بودند (Ragavan & Das, 2018)، که با نتایج بدست آمده در این تحقیق مشابه است. Gut و همکاران گزارش کردند مخمرهای جدا شده از کفیر، در سطح پایینی الفا همولیتیک و بتا همولیتیک بودند (Gut *et al*., 2019).

خصوصیات بیوشیمیایی

فعالیت‌های آنزیم‌های خارج سلولی، از جمله لیپاز، یکی از عوامل موثر در زنده مانی و نقش حفاظتی پروبیوتیک‌ها است. مطالعات نشان داده است که این آنزیم‌ها همچنین به پروبیوتیک امکان استفاده از مواد مغذی بدن، مانند روده، را می‌دهد (Syal & Vohra, 2013؛ Buzzini & Martini, 2002). نتایج فعالیت آنزیمی مخمر جدا شده از پوست انسان نشان داد که این جدایه دارای فعالیت لیپاز، سیتراتاز و کاتالاز بود. لیپازهای میکروبی از مهم ترین انواع آنزیم‌ها هستند که به علت پایداری بالا در حلال‌های آلی، توانایی کاتالیز واکنش‌های هیدرولیزی، سهولت در تولید و هزینه‌های نسبتا پایین آن یکی از منابع مهم تولید در صنعت محسوب می‌شود (Esteban-Torres *et al*, 2015). مخمر جدا شده در این تحقیق دارای فعالیت لیپازی قوی در محیط حاوی روغن زیتون، روغن آفتابگردان، توئین ۲۰ بودند. فعالیت لیپازی در محیط حاوی نفت خام نیز مشاهده گردید. Mahdhi و همکاران در بررسی مخمر *Candida famata* دریافتند که مخمر در محیط حاوی توئین ۸۰ دارای فعالیت لیپازی بود (Mahdhi *et al*., 2011). Psomas و همکاران گزارش کردند تمامی مخمرهای جدا شده از مدفوع نوزاد انسان دارای فعالیت لیپازی بودند (Psomas *et al*., 2001).

مخمر جداشده دارای فعالیت کاتالازی بود. Bajwa و Sharma طی بررسی ویژگی‌های پروبیوتیکی مخمرهای جدا شده از غذای سیدرا (ماهی تخمیر شده) گزارش کردند از ۱۳ مخمر جداشده، شش مخمر کاتالاز مثبت بودند (Bajwa & Sharma, 2018). مخمر مورد مطالعه در این تحقیق دارای فعالیت سیتراتازی بود. امینی و همکاران طی مطالعه بر روی مخمرهای از جنس *Pseudozyma*، گزارش کردند که مخمرها توانایی استفاده از سیترات به عنوان منبع کربن را دارند (Amini *et al*., 2014).

در این مطالعه هر چند مخمر توانایی رشد در محیط حاوی یک درصد پکتین را داشت، ولی تجزیه پکتین (توسط آنزیم پکتیناز) مشاهده نشد. امینی و همکاران گزارش کردند مخمرهای جدا شده از شالیزار متعلق به جنس *Pseudozyma* فاقد فعالیت پکتینازی بودند (Amini et al., 2013). جدایه مخمر دارای فعالیت آمیلازی نبود. Reed و Nagodawithana گزارش کردند قدرت مخمرها در تولید انواع آمیلازها محدود بوده و تنها چند جنس معروف، نظیر گونه های جنس *Choiromyces*، *Cryptococcus* و *Lipomyces* دارای فعالیت آمیلازی هستند (Reed & Nagodawithana, 1991). Syal و Vohra گزارش کردند مخمرهای پروبیوتیک جدا شده از میوه های تخمیری، همگی فاقد فعالیت آمیلازی بودند (Syal & Vohra, 2013). Psomas و همکاران گزارش کردند مخمرهای پروبیوتیکی جدا شده از مدفوع نوزاد انسان نیز فاقد فعالیت آمیلازی بودند (Psomas *et al*., 2001).

همچنین مخمر جدا شده فاقد فعالیت پروتئازی در حضور سوبستراهای مورد استفاده بود. عدم تجزیه ژلاتین عدم حضور آنزیم ژلاتیناز را نشان داد. ژلاتیناز معمولا توسط میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا تولید می‌شود و عدم حضور این آنزیم یکی از موارد ایمن بودن میکروارگانیسم به عنوان پروبیوتیک محسوب می گردد (Zhao *et al*., 2011). طی تحقیقی که توسط سجادی

بروی غربالگری آنزیم های هیدرولیتیک مخمرهای خانواده *Zygoascus* انجام شد، فعالیت پروتئازی مشاهده نشد (Sajadi., 2018). در گزارش Syal و Vohra از ۲۰ مخمر پروبیوتیک جدا شده از میوه های تخمیری، ۱۸ مخمر فاقد فعالیت پروتئازی بودند (Syal & Vohra, 2013).

مخمر جدا شده در این مطالعه فاقد فعالیت سلولازی در محیط حاوی یک درصد کربوکسی متیل سلولز بود. نتیجه بدست آمده مشابه با نتایج امینی و همکاران در بررسی مخمرهای جنس *Pseudozyma* جدا شده از شالیزارهای برنج بود (Amini *et al*., 2013). در این مطالعه مخمر مورد مطالعه اوره آز منفی بود. در پژوهشی که Zeng و همکاران انجام دادند از ۲۱ مخمر جدا شده، هشت مخمر فاقد فعالیت اوره‌آزی بودند. برخی مطالعات نشان داده است که مخمرهای آسکومیست توانایی هیدرولیز اوره را ندارند (Zeng *et al*., 2019). Perricone و همکاران در بررسی مخمرهای پروبیوتیک جدا شده از خمیر ترش، از ۵۰ جدایه، ۳۹ جدایه اوره آز منفی بودند (Perricone *et al*., 2013).

مطالعات نشان داده است که مخمرها می‌توانند آنزیم‌هایی را ترشح کنند و ترکیبات خارج سلولی را تجزیه و جذب کنند اما به دلیل اندازه بزرگ مولکول‌های آنزیم و کوچک بودن منافذ دیواره سلولی قارچ، امکان ترشح از طریق انتشار وجود ندارد و آنزیم‌ها توسط وزیکول‌ها به محل جوانه زنی مخمر منتقل می‌شوند و یا به سطح سلول ترشح می‌شوند (Kavanagh, 2011). ماکرومولکول‌ها جز سوبستراهای رایج مخمرها نیستند و تنها تعداد محدودی از مخمرها آنزیم‌های هیدرولیتیک خارج سلولی تولید می‌کنند (Rosa & Peter, 2006).

نتیجه‌گیری

تا کنون مخمرهای پروبیوتیک از منابع مختلف نظیر لبنیات (شیر، پنیر، دوغ، کفیر، ماست)، میوه‌ها، سبزیجات، گیاهان (چای سبز، ریشه گندم، گل آفتابگردان)، حیوانات (محتویات روده بز، ماهی، دستگاه گوارش اردک، شکمبه گاو) و پسماند کارخانجات (کارخانه قند، کارخانه مشروب سازی) جداسازی شده‌اند، ولی تعداد گزارشات از مخمرهای پروبیوتیک جدا شده از منابع انسانی محدود است (مدفوع نوزاد و شیر مادر). در این تحقیق مخمر از پوست جدا سازی شد و مطالعات اولیه ویژگی‌های پروبیوتیکی این مخمر را نشان داد. آزمایشات بیشتر بر روی ویژگی این مخمر در حال انجام است. با توجه به مطالعات انجام شده در مورد خواص مخمرهای پروبیوتیک، این تحقیق می تواند گامی در بررسی های بعدی این مخمر در حفاظت در پوست و یا در استفاده در موارد دیگر در انسان و حیوان داشته باشد.

منابع

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): 287-312.

Al-Ghazzewi, F. H., Tester, R. F. and Alvani, K. (2012). The synbiotic effects of konjac glucomannan hydrolysates (GMH) and *lactobacilli* on the growth of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium*. Journal of Nutrition & Food Science, 42(2): 97-10.

Al-Ghazzewi, F. H. andTester, R. F. (2014). Impact of prebiotics and probiotics on skin health. Journal of Beneficial microbes, 5(2): 99-107.

Al-Kobaisi, M. F. (2007). Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology 24th Edition. Sultan Qaboos University Medical Journal, 7(3): 273-275.

Amini, L., Soudi, M. and Nasr, Sh. (2013). Isolation of yeasts from rice farms and study of secretory enzyme profile in two species of the genus *Pseudozyma*. Journal of Biological Science, 28(1): 23-24.

Amara, A. A., Salem, S. R. and Shabeb, M. S. (2009). The possibility to use bacterial protease and lipase as biodetergent. Global Journal of Biotechnology & Biochemistry, 4(2): 104-114.

Baud, D., Agri, V. D., Gibson, G. R., Reid, G. and Giannoni, E. (2020). Using Probiotics to Flatten the Curve of *Coronavirus* Disease *COVID-2019* Pandemic. Journal of Frontiers in Public Health, 8(186): 1-5.

Bateup, J. M., McConnell, M. A., Jenkinson, H. F. and Tannock, G. W. (1995). Comparison of *Lactobacillus* strains with respect to bile salt hydrolase activity, colonization of the gastrointestinal tract, and growth rate of the murine host. Journal of Applied & Environmental Microbiology, 61(3): 1147-1149.

Bajwa, J. and Sharma, N. (2018). Evaluation of probiotic properties of yeasts isolated from Sidra–An ethnic fermented fish product of North East India. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7(2): 2632-2643.

Bojar, R. A. and Holland, K. T. (2002). The human cutaneous microflora and factors controlling colonisation. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 18(9): 889-903.

Boix-Amorós, A., Martinez-Costa, C., Querol, A., Collado, M. C. and Mira, A. (2017). Multiple approaches detect the presence of fungi in human breastmilk samples from healthy mothers. Journal of Scientific reports, 7(1): 1-13.

Buzzini, P., and Martini, A. (2002). Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains isolated from tropical environments. Journal of applied microbiology, 93(6): 1020-1025.

Carrasco, M., Villarreal, P., Barahona, S., Alcaíno, J., Cifuentes, V. and Baeza, M. (2016). Screening and characterization of amylase and cellulase activities in psychrotolerant yeasts. Journal of BMC microbiology, 16(1), 1-9.

Chen, L. S., Ma, Y., Maubois, J. L., He, S. H., Chen, L. J. and Li, H. M. (2010). Screening for the potential probiotic yeast strains from raw milk to assimilate cholesterol. Journal of Dairy Science & Technology, 90(5): 537-548.

Cappuccino, J. G. and Sherman, N. (1996). Microbiology: A Laboratory Manual. Pages 129-182, The Benjamin/Cummings Publishing Company New York.

Dye, D. W. (1968). A taxonomic study of the genus Erwinia I. The" amylovora" group. New Zealand Journal of Science, 11: 590-607.

de Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V. and Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. Journal of Biotechnology advances, 36(8): 2060-2076.

Edens, F. W. (2003). An alternative for antibiotic se in poultry: probiotics. Brazilian Journal of Poultry Science, 5(2): 75-97.

Erkkila, S. and Petaja, E. (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. Journal of Meat science, 55(3): 297-300.

Estrada, A., Yun, C. H., Kessel, A. V., Li, B., Hauta, S. and Laarveld, B. (1997). Immunomodulatory activities of oat β-glucan in vitro and in vivo. Journal of Microbiology & Immunology, 41(12): 991-998.

Esteban-Torres, M., Mancheno, J. M., de las Rivas, B. and Munoz, R. (2015). Characterization of a halotolerant lipase from the lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* useful in food fermentations. Journal of Food Science & Technology, 60(1): 246-252.

Fernandes, T., Carvalho, B. F., Mantovani, H. C., Schwan, R. F. and Ávila, C. L. S. (2019). Identification and characterization of yeasts from bovine rumen for potential use as probiotics. Journal of Applied Microbiology, 127(3): 845-855.

Fredricks, D. N. (2001). Microbial ecology of human skin in health and disease. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings, 6(3): 167-169.

Ghoneum, M., Matsuura, M., Braga, M. and Gollapudi, S. (2008). *Saccharomyces cerevisiae* induces apoptosis in human metastatic breast cancer cells by altering intracellular Ca2+ and the ratio of Bax and Bcl-2. International Journal of Oncology, 33(3): 533-539.

Gonzalez-Lopez, C. I., Szabo, R., Blanchin-Roland, S. and Gaillardin, C. (2002). Genetic control of extracellular protease synthesis in the yeast *Yarrowia lipolytica*. Journal of Genetics, 160(2): 417-427.

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.

Golubev, W. I. (2006). Antagonistic interactions among yeasts. In Biodiversity and ecophysiology of yeasts, Springer, 197-219 Pp. Berlin, Heidelberg.

Gilliland, S. E. and Walker, D. K. (1990). Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus* acidophilus as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. Journal of dairy science, 73(4): 905-911.

Hasan, S., Ahmad, A., Purwar, A., Khan, N., Kundan, R. and Gupta, G. (2013). Production of extracellular enzymes in the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii.* Bioinformation, 9(5): 238-242.

Hu, X. Q., Liu, Q., Hu, J. P., Zhou, J. J., Zhang, X., Peng, S. Y. and Wang, X. D. (2018). Identification and characterization of probiotic yeast isolated from digestive tract of ducks. Journal of Poultry Science, 97(8): 2902-2908.

Kurtzman, C., Fell, J. W. and Boekhout, T. (2011). The yeasts: a taxonomic study. Pages 2354, Elsevier.

Kaur, A., Mahajan, R., Singh, A., Garg, G. and Sharma, J. (2010). Application of cellulase-free xylano-pectinolytic enzymes from the same bacterial isolate in biobleaching of kraft pulp. Journal of Bioresource Technology, 101(23): 9150-9155.

Kurugol, Z. and Koturoğlu, G. (2005). Effects of *Saccharomyces boulardii* in children with acute diarrhoea. Journal of Acta Paediatrica, 94(1): 44-47.

Kumura, H., Tanoue, Y., Tsukahara, M., Tanaka, T. and Shimazaki, K. (2004). Screening of dairy yeast strains for probiotic applications. Journal of Dairy Science, 87(12): 4050-4056.

Kunyeit, L., Kurrey, N. K., Anu-Appaiah, K. A., and Rao, R. P. (2019). Probiotic yeasts inhibit virulence of non-*albicans Candida* species. Journal of MBio, 10(5): e02307-19.

Kavanagh, K. (2005). Biology and Applications, John Wiley and Sons Ltd, 267 Pp. New York, USA.

Lew, L. C., and Liong, M. T. (2013). Bioactives from probiotics for dermal health: functions and benefits. Journal of applied microbiology, 114(5): 1241-1253.

Lilly, D. M. and Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. Journal of Science, 147(3659): 747-748.

Manns, J. M., Mosser, D. M. and Buckley, H. R. (1994). Production of a hemolytic factor by *Candida albicans*. Journal of Infection & Immunity, 62(11): 5154-5156.

Maragkoudakis, P. A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B. and Tsakalidou, E. (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. International Dairy Journal, 16(3): 189-199.

Mahdhi, A., Hmila, Z., Behi, A. and Bakhrouf, A. (2011). Preliminary characterization of the probiotic properties of *Candida famata* and *Geobacillus thermoleovorans*. Iranian journal of microbiology, 3(3): 129-134.

Moslehi-Jenabian, S., Lindegaard, L., and Jespersen, L. (2010). Beneficial effects of probiotic and food borne yeasts on human health. Nutrients, 2(4): 449-473.

Ogunremi, O. R., Sanni, A. I. and Agrawal, R. (2015). Probiotic potentials of yeasts isolated from some cereal-based Nigerian traditional fermented food products. Journal of Applied Microbiology, 119(3), 797-808.

Pennacchia, C., Blaiotta, G., Pepe, O. and Villani, F. (2008). Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different food matrices and their preliminary selection for a potential use as probiotics. Journal of Applied Microbiology, 105(6): 1919-1928.

Perricone, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R. and Sinigaglia, M. (2014). Technological characterization and probiotic traits of yeasts isolated from Altamura sourdough to select promising microorganisms as functional starter cultures for cereal-based products. Journal of Food Microbiology, 38: 26-35..

Psomas, E., Andrighetto, C., Litopoulou-Tzanetaki, E., Lombardi, A. and Tzanetakis, N. (2001). Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and Feta cheese. International Journal of Food Microbiology, 69(1-2): 125-133.

Psani, M. and Kotzekidou, P. (2006). Technological characteristics of yeast strains and their potential as starter adjuncts in Greek-style black olive fermentation. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 22: 1329–1336.

Qvirist, L. A., De Filippo, C., Strati, F., Stefanini, I., Sordo, M., Andlid, T. and Cavalieri, D. (2016). Isolation, identification and characterization of yeasts from fermented goat milk of the Yaghnob Valley in Tajikistan. Journal of Frontiers in Microbiology, 7(1690): 1-17.

Rosa, C. A. and Peter, G. (2006). The yeast handbook: biodiversity and ecophysiology of yeasts, Springer-Verlag, 559 Pp. Berlín, Alemania.

Reed, G. and Nagodawithana, T. W. (1991). Baker’s yeast production. In Yeast technology. Pages 261-314. Springer, Dordrecht.

Ragavan, M. L. and Das, N. (2017). Isolation and characterization of potential probiotic yeasts from different sources. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 10(4): 451-455.

Saber, A., Khosroushahi, A. Y., Faghfoori, Z., Seyyedi, M. and Alipour, B. (2019). Molecular identification and probiotic characterization of isolated yeasts from Iranian traditional dairies. Journal of progress in nutrition, 21: 445-457.

Sauerwein, H., Schmitz, S., and Hiss, S. (2007). Effects of a dietary application of a yeast cell wall extract on innate and acquired immunity, on oxidative status and growth performance in weanling piglets and on the ileal epithelium in fattened pigs. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 91(9-10): 369 -380.

Schmitt, M. J. and Breinig, F. (2002). The viral killer system in yeast: from molecular biology to application. Journal of Microbiology Reviews, 26(3): 257-276.

Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. (2001). Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria. Pages 373, American Phytopathological Society: APS Press.

Sajadi, F. (2018). Screening of *zygoascus hellenicus* yeast hydrolytic enzymes and optimization of temperature and pH of growth and activity of its hydrolytic enzymes. Tabriz university of medical sciences Pp 112.

Stadler, M. and Viernstein, H. (2003). Optimization of a formulation containing viable lactic acid bacteria. International Journal of Pharmaceutics, 256(1-2): 117-122.

Sathish, L., Pavithra, N. and Ananda, K. (2012). Antimicrobial activity and biodegrading enzymes of endophytic fungi from *eucalyptus*. International Journal of Pharmaceutical Sciences & Research, 3(8): 25-74.

Syal, P. and Vohra, A. (2013). Probiotic potential of yeasts isolated from traditional Indian fermented foods. International Journal of Microbiology Research, 5(2): 390-398.

Sánchez-Ortiz, A. C., Luna-González, A., Campa-Córdova, Á. I., Escamilla-Montes, R., del Carmen Flores-Miranda, M. and Mazón-Suástegui, J. M. (2015). Isolation and characterization of potential probiotic bacteria from pustulose ark (Anadara tuberculosa) suitable for shrimp farming. Latin American Journal of Aquatic Research, 43(1): 123-136.

Talebi, F., Manaffar, R., Esmaeili Fereidouni, A. and Abdi, J. (2016). Comparative effects of manipulated beaker's yeast and Lansy PZ on fatty acid composition of adults in *Artemia urmiana* and *A. franciscana*. Journal of Marine Science & Technology, 15(2): 51-65.

Van der Aa Kühle, A., Skovgaard, K. and Jespersen, L. (2005). In vitro screening of probiotic properties of *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii* and food-borne *Saccharomyces cerevisiae* strains. International journal of food microbiology, 101(1): 29-39.

Vakhlu, J. (2006). Yeast lipases: enzyme purification, biochemical properties and gene cloning. Electronic Journal of Biotechnology, 9(1):69-85.

Yadav, R., Singh, A. V., Joshi, S. and Kumar, M. (2015). Antifungal and enzyme activity of endophytic fungi isolated from *Ocimum sanctum* and *Aloe vera*. African Journal of Microbiology Research, 9(29): 1783-1788.

Zeng, X., Fan, J., He, L., Duan, Z. and Xia, W. (2019). Technological properties and probiotic potential of yeasts isolated from traditional low-salt fermented Chinese fish Suan yu. Journal of Food Biochemistry, 43(8): 1 - 14.

Zhao, Q., Liu, Z. D., Xue, Y., Wang, J. F., Li, H., Tang, Q. J., and Xue, C. H. (2011). Ds-echinoside A, a new triterpene glycoside derived from sea cucumber, exhibits antimetastatic activity via the inhibition of NF-κB-dependent MMP-9 and VEGF expressions. Journal of Zhejiang University Science B, 12(7): 534-544.

Isolation of yeast with probiotic properties from human skin

M. Ghaffari[1], F. Darvishi[2,3], S. Nazeri[4*]

Received:2020.9.17
Accepted:2020.11.21

Abstract

Probiotics are living microorganisms that have an important role in prevention and treatment of diseases. The aim of this study was isolate yeast with probiotic properties due to the importance of probiotic yeasts. Sampling was performed from different parts of human skin. Growth ability of isolated yeast at concentrations of 0.3, 0.5 and 1% oxgall, 2, 4 and 6% NaCl, pHs of 2, 4, 5.8, 9 and 11 and temperature 37, 40 and 42°C were investigated. The activity of amylase, protease, pectinase, cellulase, lipase, urease, catalase, citratase and hemolysin was investigated. The yeast was able to grow in 0.3% oxgall, concentrations of 2, 4 and 6% NaCl, pHs of 2, 4, 5.8, 9 and 11 and also at a temperature of 37°C. The isolated yeast has the primary properties of probiotics and can be used in future studies.

Keywords: *Probiotic, Yeast, Enzyme activity, Oxgall, Salt tolerance*

1- Master of Microbial Biotechnology, Faculty of Sciences, University of Maragheh, East Azarbaijan, Iran
2- Professor, Faculty of Biological Sciences, Alzahra University, Tehran, Iran
3- Professor, Faculty of Sciences, University of Maragheh, East Azarbaijan, Iran
4- Associate professor, Faculty of Agriculture, University of Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran
*(Corresponding author: snazeri@basu.ac.ir)