

Preparing extract from baker's yeast and investigating the ability of bacteria to grow on it

Yeganeh Derakhshan¹, Ebrahim Babapoor^{2*}, Hosein Jamalifar³

1. Department of Microbiology, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2. Biotechnology Research Center, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

3. Department of Drug and Food Control, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Background and Aim: *Saccharomyces cerevisiae*, known as baker's yeast, is used to produce yeast extract. The mentioned extract has wide applications in medicine, food industry, and most importantly as one of the main sources of food for microbiology cultures because it contains vitamins and substances needed for growth. The aim of this study was to develop a simple and profitable process for the production of yeast extract to prepare bacterial culture medium.

Material and Methods: First, yeast extract was prepared from baker's yeast based on a simple protocol and as a result of changing temperature and high pressure, and after centrifugation, its liquid phase was converted into a solid form by means of a spray dryer, and then with a certain amount of agar from that microbial culture medium. It was prepared and then Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922) were used to check the ability and quality of bacteria to grow on it. To compare the growth rate of bacteria, standard culture media prepared from Merck (Germany) yeast extract and Mirmedia (Iran) yeast extract, Merck (Germany) tryptic soy agar was used.

Results: The obtained results indicate that the yeast extract from this study, as the only nutrient source for bacterial growth, is sufficiently available and the microorganisms are able to grow in that environment. Also, competitive competition with commercial yeast extracts can be used in the preparation of culture medium.

Conclusion: Considering the quality and rate of bacterial growth on the culture medium prepared in this study, and considering the wide application of yeast extract in the industry, and considering that no chemicals and enzymes were used in its preparation, the preparation of yeast extract in this way is of acceptable quality and affordable.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, Yeast extract, Laboratory culture environment, Bacterial growth.

تهیه عصاره‌ی مخمر نانوائی (Baker's yeast) و بررسی توانایی

رشد باکتری‌ها بر روی آن

یگانه درخشان^۱، ابراهیم باباپور^{۲*}، حسین جمالیفر^۳

۱. گروه میکروبیولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲. مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۳. گروه کنترل دارو و غذا، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*)، معروف به مخمر نانوائی، مهم‌ترین مخمر صنعتی برای تولید محصولات بیوشیمیایی، پروتئین‌های نو ترکیب و پروتئین تک‌سلولی هست. عصاره‌ی مخمر دارای کاربردهای وسیعی در پزشکی، صنایع غذایی و یکی از منابع اصلی غذایی در تولید محیط‌های کشت میکروبی است چراکه حاوی تمام مواد ضروری برای رشد باکتری‌ها هست. هدف از این مطالعه توسعه‌ی یک‌روند ساده و سودآور برای تولید عصاره‌ی مخمر جهت تهیه محیط کشت باکتریایی بود.

مواد و روش‌ها: ابتدا عصاره مخمر از مخمر نانوائی بر اساس یک پروتکل ساده و در اثر تغییر دما و فشار بالا تهیه و پس از سانتریفیوژ، فاز مایع آن به‌وسیله اسپری خشک‌کن به حالت جامد تبدیل شد و سپس با مقدار مشخصی آگار از آن محیط کشت میکروبی تهیه و سپس برای بررسی توانایی و کیفیت رشد باکتری‌ها بر روی آن از باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC 25923) و از باکتری‌های گرم منفی (*شریشیا کلی* ATCC 25922) استفاده شد. برای مقایسه میزان رشد باکتری‌ها نیز از محیط‌های کشت استاندارد تهیه‌شده از عصاره مخمر شرکت مرک (آلمان) و عصاره مخمر شرکت میرمدیا (ایران) و تریپتیک سوی آگار شرکت مرک (آلمان) استفاده گردید.

یافته‌ها: نتایج حاصل از کشت باکتری‌ها، بر روی محیط کشت حاصل از عصاره مخمر تهیه‌شده نشان داد که عصاره مخمر به‌عنوان تنها منبع مغذی جهت رشد باکتری، به‌اندازه‌ی کافی غنی بوده و میکروارگانیسم‌ها قادر به رشد در آن هستند. همچنین مقایسه این محیط، با سایر محیط‌های مورد استفاده نشان داد که این محیط، توانایی رقابت با عصاره‌های مخمر تجاری را دارا بوده و می‌توان از آن در تهیه محیط کشت بهره برد.

نتیجه‌گیری: با توجه به کیفیت و میزان رشد باکتری بر روی محیط کشت تهیه‌شده و با توجه به کاربردهای وسیع عصاره مخمر، تهیه عصاره مخمر به این روش هم از کیفیت قابل قبول و هم از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است.

واژگان کلیدی: ساکارومایسس سرویزیه، عصاره مخمر، محیط کشت آزمایشگاهی، رشد باکتری.

مقدمه

امروزه با بهبود استانداردهای زندگی در اکثر کشورها، تقاضای مصرف‌کنندگان برای مواد غذایی سالم، مغذی و ایمن به‌طور پیوسته رو به افزایش است. عصاره مخمر که محصولی ایمن و مغذی است، اکنون به‌عنوان یک محصول طبیعی و باکیفیت بالا در نظر گرفته می‌شود که قادر به برآورده کردن نیازهای مختلف از جمله، طعم‌دهنده متنوع

غذا و تأمین‌کننده مواد مغذی غذایی ضروری است (۱،۲). عصاره مخمر معمولاً به‌عنوان عصاره محلول در آب از مواد زائد مخمر مانند مخمر نانوائی (baker's yeast)، مخمر آبجو (brewer's yeast)، کاندیدا یوتیلیس (*Candida utilis*)، کاندیدا تروپیکالیس (*Candida tropicalis*) و کلویورومایسس مارکسیانوس (*Kluyveromyces marxianus*) به دنبال اختلال در غشای سلولی به روش‌های مختلف تولید می‌شود (۳، ۴). همچنین عصاره مخمر به‌طور کلی به‌عنوان یک محصول ایمن Generally Recognized as Safe (GRAS) در صنایع غذایی، توسط اکثر سازمان‌های صدور گواهی‌نامه ایمنی مواد غذایی در سراسر جهان شناخته می‌شود (۵). به‌طور خاص، عصاره مخمر به دلیل هزینه تولید پائین، طیف گسترده‌ای از منابع و محتوای بالای ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و مواد معدنی

نویسنده مسئول:

مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی،

کرج، ایران

پست الکترونیکی: e_babapoor@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۲۵

مورد نیاز صنایع غذایی بوده و در حال حاضر توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۶، ۷).

عصاره مخمر محصولی است که عمدتاً از مخمر آبجو و مخمر نانویی تهیه می‌شود که سرشار از نوکلتوتیدی‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، قندها و انواع عناصر کمیاب است و از مزایای هزینه تولید پایین و تأمین فراوان مواد اولیه برخوردار است. در نتیجه، عصاره‌های مخمر به‌طور گسترده‌ای در زمینه‌های مختلف به‌عنوان افزودنی‌های خوراک دام، عوامل طعم‌دهنده و افزودنی‌های غذایی مفید و طبیعی، مکمل‌های آرایشی و بهداشتی و محیط‌های تخمیر میکروبی استفاده می‌شود. با این حال، پتانسیل کامل آن‌ها هنوز کاملاً شناخته نشده است. امروزه از عصاره مخمر به‌طور گسترده‌ای در تهیه محیط‌های کشت آزمایشگاهی استفاده می‌شود (۶، ۷). مخمر به‌عنوان یک میکروارگانیسم تولیدکننده پروتئین و مواد مغذی از سالیان دور مورد استفاده انسان بوده و عصاره حاصل از آن، به‌عنوان یک ماده مفید و مغذی برای رشد سلول‌های مختلف از باکتری و سلول‌های حیوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۸). از ترکیبات موجود در عصاره مخمر می‌توان به آمینواسیدها، ویتامین‌ها و مواد معدنی مختلف اشاره نمود که توسط این مخمر تولید می‌گردد (۹، ۱۰). عمده ترکیبات مؤثره در عصاره مخمر ویتامین‌های گروه B شامل تیامین^۱ (B1)، ریبوفلاوین^۲ (B2)، نیاسین^۳ (B3)، پانتوتنیک اسید^۴ (B5)، پیریدوکسین^۵ (B6)، فولیک اسید^۶ یا فولات^۷ (B9) و بیوتین^۸ (H) است (۱۱). به عبارتی تمام ویتامین‌های گروه B به‌غیر از ویتامین B12 در عصاره مخمر موجود است، مگر اینکه مخمر آبجو با ویتامین (B12) نیز غنی شده باشد (۱۱-۱۳). به همین دلیل عصاره مخمر به‌عنوان بهترین منبع ویتامین‌های طبیعی توجه زیادی را به خود جلب نموده است. در عصاره مخمر مواد معدنی ارزشمند، به‌ویژه کروم، فسفر و سلنیوم، روی، آهن، مس، منیزیم، منگنز و پتاسیم یافت می‌شود. همچنین مخمر حاوی فیبر و یک ماده ارزشمند دیگر یعنی بتاگلوکان هست. بتاگلوکان نیز یک آنتی‌اکسیدان قوی بوده و در تقویت سیستم ایمنی بدن بسیار مؤثر است (۱۴-۱۱). در حال حاضر از عصاره مخمر در صنایع غذایی برای تهیه ماکارونی، سوپ‌های آماده، غنی‌سازی آرد و نان و موارد مشابه، مکمل دام و طیور استفاده می‌شود (۱۵). همچنین از مواد موجود در عصاره

مخمر در تقویت و افزایش اشتها حیوان و تأمین مواد مورد نیاز حیوانات استفاده می‌شود و در علوم آزمایشگاهی و صنایع دارویی به‌منظور تهیه محیط‌های کشت باکتریایی، تولید قرص‌های تقویتی و اشتهاآور، مصارف آرایشی و موارد مشابه نیز کاربرد دارد (۱۶). از طرفی، به دلیل حضور طیف وسیعی از مواد مغذی و معدنی و مواد ضروری بدن، عصاره مخمر در تقویت کلی بدن، ایجاد اشتها، کاهش مرگ سلولی به دلیل پیری سلول‌ها، تنظیم جذب مواد مورد نیاز سلول‌ها، کاهش تری‌گلیسیرید خون، کاهش سطح کلسترول بد و افزایش سطح کلسترول خوب، کمک به ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده، تقویت سیستم ایمنی و عصبی، حفظ و بهبود سلامتی پوست و موارد مشابه تأثیر دارد. امروزه از عصاره مخمر قرص طبیعی و بدون عوارض و افزودنی تولید می‌شود و به‌عنوان یک مولتی‌ویتامین و محرک رشد به کار می‌رود و می‌تواند جایگزین خوبی برای قرص آهن باشد که زنان مصرف می‌کنند (۱۷). عصاره‌ی مخمر از اسیدهای آمینه، لیپید، ویتامین‌ها، مواد معدنی و سایر اجزای محلول تشکیل شده است که برای تهیه محیط کشت میکروبی، تحقیقاتی یا صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در پزشکی، آبجوسازی، در صنایع غذایی کاربرد وسیعی دارد (۱۸، ۱۹). یکی از مهم‌ترین کاربردهای مخمر مغذی بودن عصاره‌ی مخمر است به‌طوری‌که می‌توان از آن در تهیه محیط‌های کشت آزمایشگاهی از جمله؛ عصاره مخمر آگار (Potato Dextrose Agar)، (Yeast Extract Agar)، Corn، Fungi Agar Base، Sabouraud Dextrose Agar، Oxytetracycline Glucose Yeast Agar، Meal Agar، Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar استفاده کرد (۲۰، ۱). با در نظر داشتن این نکته و با توجه به اینکه واردات عصاره مخمر هزینه اقتصادی زیادی را به کشور وارد می‌کند، این مطالعه با هدف تهیه عصاره مخمر با روش مکانیکی ساده و سریع برای تولید محیط کشت باکتریایی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

۱-۲- نوع مطالعه

این مطالعه از نوع آزمایشگاهی بود که طی بازه زمانی ۶ ماهه از اسفند ۱۴۰۰ تا مرداد ۱۴۰۱ در آزمایشگاه

¹ Niacin

² Pantothenic acid

³ Pyridoxine

⁴ Folic acid

⁵ Folate

⁶ Biotin

¹ Thiamine

² Riboflavin

تحقیقاتی میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام شد.

عصاره گیری مخمر نانوائی و تهیه پودر مخمر

۱۰۰ گرم مخمر نانوائی و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به ارلن اضافه و به‌خوبی هم زده شد و سپس درب ارلن با پنبه و فویل به‌خوبی بسته و در اتوکلاو دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید و سپس به سرعت در ظرف حاوی یخ به‌سرعت سرد شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه و با سرعت ۱۴۳۴ xg در دقیقه سانتریفیوژ گردید، محلول رویی جداسازی گردید و مجدداً اعمال فوق یک‌بار دیگر تکرار شد و نهایتاً در دمای ۲۰- درجه سلسیوس ذخیره و سپس به کمک دستگاه اسپری خشک‌کن به‌صورت پودر درآمد (۲۰).

سوش‌های میکروبی مورد مطالعه

سویه‌های /شریشیا کلی به شماره ATCC۲۵۹۲۲^۱ (گرم منفی) و /ستافیلوکوکوس/اورئوس به شماره ATCC۲۵۹۲۳ (گرم مثبت) از کلکسیون میکروبی ایران خریداری شد. برای اطمینان از فعال و خالص بودن سویه‌های خریداری‌شده این باکتری‌ها بر روی محیط تربیتیکاز سوی آگار (شرکت مرک آلمان) کشت و از فعال و خالص بودن آن‌ها اطمینان حاصل شد.

تهیه محیط کشت جامد از عصاره مخمر

۲/۳۲ گرم از پودر عصاره مخمر تهیه‌شده حاصل از این مطالعه به همراه ۲۹۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۴/۳۵ گرم آگار به ارلن اضافه شد و پس از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس فشار یک اتمسفر استریل و سپس در پلیت‌های استریل توزیع گردید از عصاره مخمرهای تهیه‌شده از شرکت میر مدیا و شرکت مرک نیز دقیقاً به با همین دستورالعمل محیط کشت ساخته و در داخل پلیت‌های استریل توزیع گردید. البته از محیط تربیتیکاز سوی آگار نیز بر اساس دستورالعمل شرکت به‌اندازه موردنیاز تهیه شد و سپس از دو باکتری مورد مطالعه بر روی محیط‌های تهیه‌شده کشت گردید و پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس میزان و کیفیت رشد آن‌ها بر روی چهار محیط تهیه‌شده با یکدیگر مقایسه گردید. از هر نوع محیط کشت یک کنترل منفی فاقد میکروارگانیسم جهت بررسی استریل بودن محیط تهیه شد.

تهیه محیط کشت مایع از عصاره‌های مخمر و محیط کشت تربیتیکاز سوی برات

به ۲ گرم پودر عصاره مخمر تهیه‌شده از مخمر نانوائی یا ساکارومایسس سرویزیه و عصاره مخمر تهیه‌شده از شرکت میر مدیا و شرکت مرک آلمان را به طور جداگانه ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد. پس از خوب حل شدن پودر در آب، درب ارلن‌ها را پنبه و فویل به‌خوبی بسته و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس، فشار ۱ اتمسفر و مدت‌زمان ۱۵ دقیقه درون اتوکلاو قرار گرفت. البته از محیط تربیتیکاز سوی برات نیز بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده، به‌اندازه موردنیاز تهیه شد.

مقایسه رشد باکتری‌ها در محیط‌های کشت مایع

به‌منظور بررسی میزان رشد باکتری‌ها در محیط کشت حاصل از عصاره مخمر تهیه‌شده در این مطالعه و عصاره مخمر خریداری‌شده از شرکت میر مدیا و شرکت مرک آلمان، از کشت ۲۴ ساعته باکتری‌های مورد مطالعه بر روی محیط تربیتیکاز سوی برات رقت ۰/۵ مک فارلند ($10^8 \times 1/5$) تهیه و پس از تهیه رقت‌های مختلف از رقت ۰/۵ مک فارلند، ۱ میلی‌لیتر از آن، به هریک از محیط‌های کشت برات تهیه‌شده استریل، تلقیح و سپس، در شیکر انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس، ۱۰۰ دور در دقیقه به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردید. پس از گرم‌خانه‌گذاری و به منظور بررسی میزان رشد باکتری‌ها و مقایسه آن با محیط‌های دیگر خوانش OD در ۶۰۰ nm انجام شد و در ادامه به‌منظور شمارش تعداد کلنی‌ها، رقت‌های مختلف تهیه و از آن‌ها کشت پور پلیت انجام شد و تعداد کلنی باکتری‌ها، در سه محیط مختلف با یکدیگر مقایسه گردید. برای اطمینان از نتایج حاصل هر آزمایش سه بار تکرار گردید.

یافته‌ها

میزان پودر حاصل از ۱۰۰ گرم عصاره مخمر نانوائی

ساکارومایسس سرویزیه

میزان عصاره حاصل از مخمر نانوائی یا ساکارومایسس سرویزیه، بسیار خوب بود و از ۱۰۰ گرم مخمر نانوائی ۲۵۰ میلی‌لیتر عصاره‌ی مخمر و نهایتاً ۱۱/۷۴ گرم پودر عصاره‌ی مخمر حاصل گردید؛ و سپس با استفاده از پودر عصاره‌ی مخمر تهیه‌شده، محیط‌های کشت میکروبی تهیه و کشت میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه انجام شد.

از این مطالعه، عصاره مخمرهای تجاری و تریپتیکاز سوی
آگار، به شرح زیر (جدول و نمودار ۱) است:

نتایج حاصل از کشت جامد

نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی‌های/شریشیا کلی رشد
یافته در محیط‌های کشت جامد حاوی عصاره مخمر حاصل

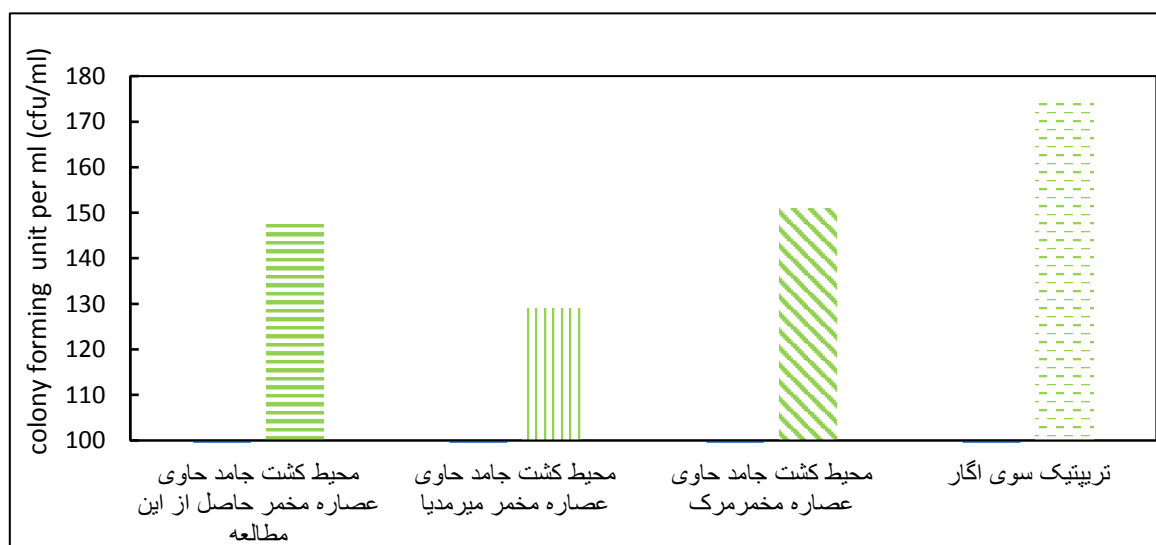
جدول ۱- نتایج شمارش تعداد کلنی‌های/شریشیا کلی ATCC۲۵۹۲۲ در محیط‌های جامد در رقت‌های مختلف (cfu/mL)

محیط‌های کشت مورد مطالعه	۱۰ ^{-۲}	۱۰ ^{-۵}	۱۰ ^{-۶}	۱۰ ^{-۷}	۱۰ ^{-۸}	Total count/mL
محیط جامد حاوی عصاره حاصل از این مطالعه	غیرقابل شمارش	فراتر از ۳۰۰	۱۴۸	۳۰	کمتر از ۳۰	۱۴/۸×۱۰ ^۷
محیط جامد حاوی عصاره میرمدیا	غیرقابل شمارش	فراتر از ۳۰۰	۱۲۹	۲۱	کمتر از ۲۰	۱۲/۹×۱۰ ^۷
محیط جامد حاوی عصاره مرک	غیرقابل شمارش	فراتر از ۳۰۰	۱۵۱	۱۸	کمتر از ۱۰	۱۵/۱×۱۰ ^۷
تریپتیکاز سوی آگار	غیرقابل شمارش	فراتر از ۳۰۰	۱۷۴	۲۲	کمتر از ۲۰	۱۷/۴×۱۰ ^۷

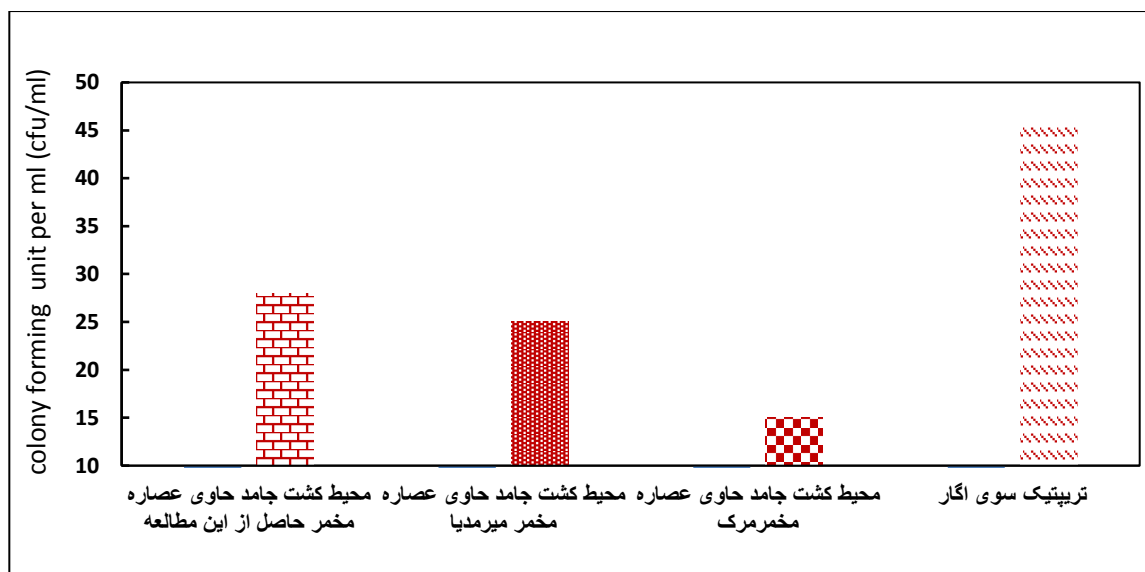
نتایج حاصل از شمارش تعداد کلنی‌های/استافیلوکوکوس/اورئوس رشد یافته در محیط‌های کشت جامد حاوی عصاره مخمر
حاصل از این مطالعه، عصاره مخمرهای تجاری و تریپتیکاز سوی آگار، به شرح زیر (جدول شماره ۲ و نمودار ۲) است:

جدول ۲- نتایج شمارش تعداد کلنی‌های/استافیلوکوکوس/اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ در محیط‌های جامد در رقت‌های مختلف (cfu/mL)

محیط‌های کشت مورد مطالعه	۱۰ ^{-۲}	۱۰ ^{-۵}	۱۰ ^{-۶}	۱۰ ^{-۷}	۱۰ ^{-۸}	Total count/mL
محیط جامد حاوی عصاره حاصل از این مطالعه	غیرقابل شمارش	فراتر از ۳۰۰	۲۸	۱	عدم رشد	۲/۸×۱۰ ^۷
محیط جامد حاوی عصاره مرک	غیرقابل شمارش	فراتر از ۳۰۰	۲۵	۳	عدم رشد	۲/۵×۱۰ ^۷
محیط جامد حاوی عصاره میرمدیا	غیرقابل شمارش	فراتر از ۳۰۰	۱۵	۷	عدم رشد	۱/۵×۱۰ ^۷
تریپتیکاز سوی آگار	غیرقابل شمارش	فراتر از ۳۰۰	۴۶	۴	عدم رشد	۴/۶×۱۰ ^۷



نمودار ۱- مقایسه تعداد کلنی‌های حاصل از/شریشیا کلی ATCC۲۵۹۲۲ در محیط‌های کشت جامد متفاوت در رقت ۱۰^{-۶}



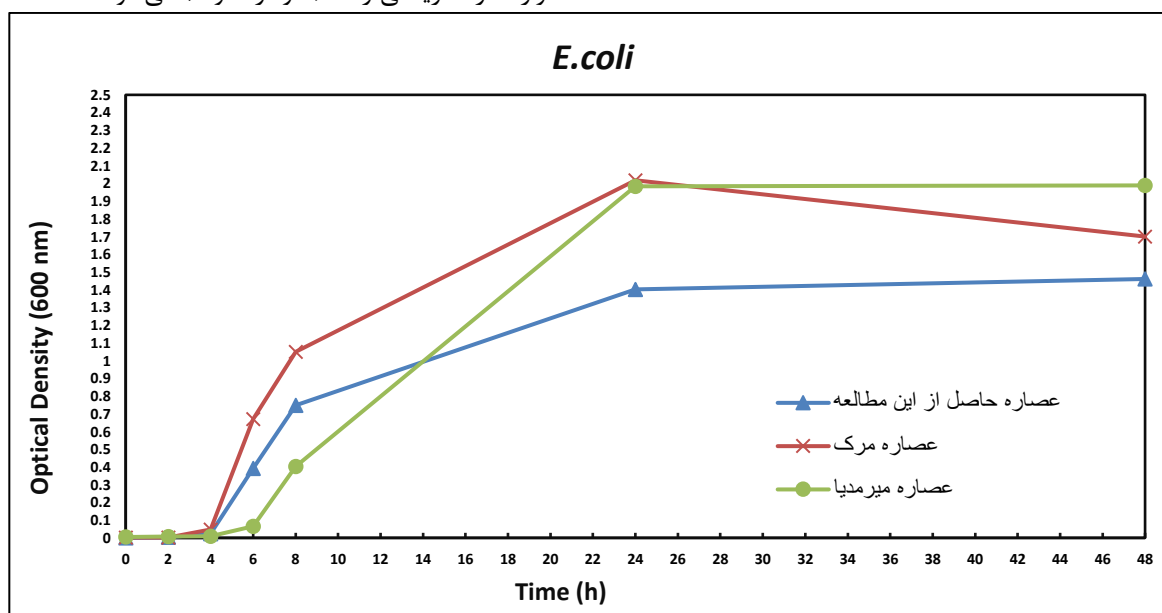
نمودار ۲- مقایسه رشد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC۲۵۹۲۳ در محیط‌های کشت جامد مختلف در رقت 10^{-6}

ساعات مختلف توسط دستگاه اسپکتروفتومتری تک پرتو UV در 600nm خوانده شد. نتایج حاصل نشان‌دهنده کیفیت خوب عصاره تهیه‌شده از مخمر ساکارومایسس سرویزیه داشت به‌طوری‌که باکتری‌های کشت در این محیط بعد عصاره تهیه‌شده از شرکت مرک سریع‌تر از باکتری‌های کشت‌شده در عصاره مخمر تهیه‌شده از شرکت میرمدیا وارد فاز لگاریتمی رشد (نمودار ۳ و ۴) می‌شوند.

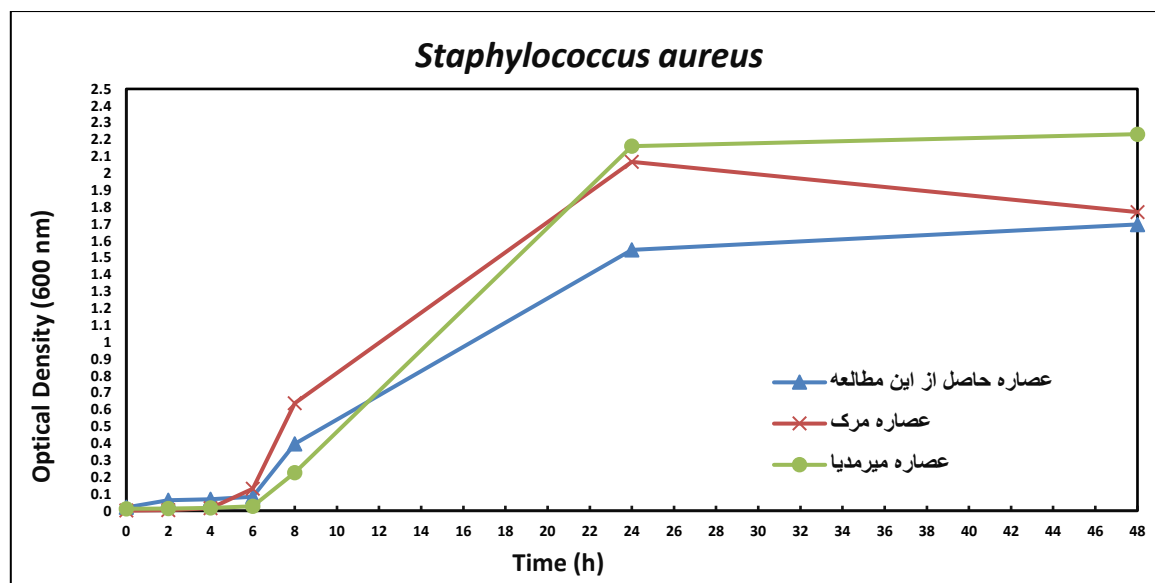
نتایج حاصل از کشت در محیط مایع و بررسی میزان

جذب نوری

پس از بررسی تعداد کلنی‌های محیط‌های جامد، محیط‌های کشت مایع حاوی عصاره مخمر حاصل از این مطالعه و عصاره مخمرهای تجاری تهیه و میزان جذب نوری حاصل از رشد باکتری/شریشیا کلی و استافیلوکوکوس اورئوس در



نمودار ۳- مقایسه رشد/شریشیا کلی ATCC۲۵۹۲۲ در محیط‌های مایع حاوی عصاره مخمر در رقت 10^{-2}



نمودار ۴- مقایسه رشد/استافیلوکوکوس/اورئوس ATCC۲۵۹۲۳ در محیط‌های مایع حاوی عصاره مخمر در رقت ۱۰^{-۲}

نتایج شمارش کلنی‌های محیط جامد حاصل از محیط

کشت مایع در فواصل زمانی معین

هم‌زمان با خوانش میزان جذب نوری از محیط‌های مایع، برای شمارش تعداد کلنی‌ها از این محیط‌ها مقدار معینی نمونه برداشته نموده و در محیط تریپتیکاز سوی آگار به‌صورت پور پلیت کشت می‌شد و بعد ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس کشت تعداد کلنی‌ها شمارش گردید. تعداد کلنی‌های رشد یافته از باکتری استافیلوکوکوس/اورئوس و/شریشیا کلی در ساعات و رقت‌های مختلف نشان کیفیت بالای عصاره تهیه‌شده داشت و تعداد کلنی رشد نموده در نمونه‌های برداشته‌شده از محیط مایع تهیه‌شده از عصاره از سارکارومایسیس سرویزیه از عصاره مخمر میرمدیا بهتر و با عصاره مخمر شرکت مرک قابل رقابت بود.

بحث

عصاره مخمر محصولی است که عمدتاً از ضایعات مخمر آبجو یا مخمر نانوائی تهیه می‌شود که سرشار از نوکلئوتیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، قندها و انواع عناصر کمیاب است و از مزایای آن، هزینه تولید پائین و تأمین فراوان مواد اولیه است (۱). درنتیجه، عصاره‌های مخمر به‌طور گسترده‌ای در زمینه‌های مختلف به‌عنوان افزودنی‌های خوراک دام، عوامل طعم‌دهنده و افزودنی‌های غذا، مکمل‌های آرایشی و بهداشتی و محیط‌های تخمیر میکروبی استفاده می‌شود (۱،۶). امروزه از روش‌های مختلفی برای تولید عصاره مخمر استفاده می‌شود که ازجمله می‌توان به؛ اتولیز (Autolysis)، پلاسمولیز (Plasmolysis)، تخریب آنزیمی (Enzymatic degradation) و شکستن فیزیکی (Physical Disruption)

اشاره نمود (۲۱-۲۵). هرکدام از این روش‌ها از معایب و مزایایی برخوردارند. از مزایای روش اتولیز، می‌توان به عملیات ساده، هزینه تولید پائین، محتوای زیاد پلی پپتیدها و انواع آمینواسیدها و مناسب بودن به‌عنوان طعم‌دهنده اشاره کرد. در روش پلاسمولیز، می‌توان میزان محصول جامد بالا، اثر آنتی باکتریال قوی، کاهش محتوای نمک در پودر عصاره مخمر و مواد مغذی موجود در مواد خام مخمر کاملاً آزاد و حفظ‌شده را نام برد. در روش آنزیماتیک می‌توان به سرعت تخریب سریع، مواد کاملاً محلول، محتوای پلی پپتید بالا، محتوای نمک کم و بوی کم و از مزایای روش فیزیکی نیز می‌توان به عملیات ساده جداسازی عصاره، اجتناب از تخریب مواد مغذی توسط حلال‌ها و نمک‌های آلی، محصولات جانبی کم و حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد به‌دست‌آمده اشاره کرد. البته معایبی نیز هرکدام از روش‌های ذکرشده دارند، به‌عنوان مثال می‌توان به معایبی مانند عملکرد کم، مشکل در جداسازی فاز جامد از مایع، طعم ضعیف، احتمال آلودگی میکروبی، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش مواد مغذی در روش اتولیز و یا تولید محصول جانبی ناکارآمد و حل‌کننده‌ها ممکن است سبب ایجاد طعم بد محصولات در روش پلاسمولیز شوند. در روش آنزیمی، هزینه هیدرولیز بالا، هیدرولیز ناقص، نیاز به آنزیم‌های متعدد، زمان طولانی هیدرولیز، آسیب زیاد به مواد درشت مولکولی مانند پروتئین‌ها و در روش فیزیکی، مشکلات ناشی از فراهم کردن محیط کار مناسب، مصرف انرژی، محتوای کم پلی پپتیدها و اسیدهای آمینه و مناسب نبودن محصول به‌عنوان چاشنی را اشاره نمود (۲۱-۲۵). در این مطالعه، با استفاده از روش مکانیکی سریع و تغییر دما و فشار بالا و سپس سرد کردن سریع، عصاره مخمر از مخمر نانوائی تهیه گردید.

بودند عصاره‌ی مخمر تولیدشده همه نیازهای مربوط به رشد و تکثیر این باکتری‌ها را فراهم می‌کرد. نتایج زارعی و همکاران (۲۰۱۶)، نیز مشابه با نتایج حاصل از این مطالعه است (۲۰). با این تفاوت نتایج حاصل این مطالعه در بعضی مواقع از نتایج حاصل از زارعی و همکاران بهتر بود که با توجه به روش مشابه مورد استفاده به نظر می‌رسد، نوع سویه و یا دقت بیشتر در مطالعه می‌تواند از دلایل محتمل آن باشد. پس از مقایسه عصاره مخمر حاصل از این تحقیق با سایر عصاره‌های مخمر تجاری مورد مطالعه، مشخص گردید عصاره مخمر حاصل از این تحقیق قادر به رقابت با عصاره‌های مخمر تجاری‌سازی شده ایرانی و آلمانی از نظر کیفیت رشد میکروبی است. از مزایای دیگر تهیه عصاره مخمر به این روش می‌توان به کاهش زمان تولید، کاهش نیاز به تجهیزات پیشرفته و عدم استفاده از آنزیم اشاره کرد. از طرف دیگر، در فرآیند استخراج از هیچ‌گونه مواد شیمیایی مانند اسید، قلیا یا نمک استفاده نشده است که به نوبه خود عوارض ناشی از حذف معرف‌های اضافه شده در فرآیندهای پایین‌دستی را از بین می‌برد و در نتیجه منجر به کاهش هزینه تولید آن شده و سبب گردید تا تولید عصاره مخمر از نظر اقتصادی نیز مقرون به صرفه گردد و ضمن جلوگیری از خروج ارز از کشور استفاده زیادی در تهیه محیط‌های کشت آزمایشگاهی و دیگر زمینه‌ها، داشته باشد.

نتیجه‌گیری

مغذی بودن یکی از مهم‌ترین ویژگی عصاره‌ی مخمر است، به‌طوری‌که می‌توان از آن در محیط‌های کشت آزمایشگاهی به‌عنوان تنها منبع انرژی و کربن استفاده کرد. تهیه عصاره مخمر به روش ذکر شده در این تحقیق، اقتصادی و مقرون به صرفه بوده و کاملاً قابل رقابت با نمونه‌های موجود در بازار است.

ملاحظات اخلاقی

ندارد.

سپاسگزاری

در پایان نویسندگان این مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و کادر خدوم و زحمت‌کش آزمایشگاه تحصیلات تکمیلی گروه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج که شرایط لازم برای انجام این تحقیق را فراهم نمودند را ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

بین نویسندگان این مقاله هیچ‌گونه تضاد منافی وجود ندارد.

در واقع با القای شوک حرارتی و سپس سرد کردن سریع می‌توان یکپارچگی غشای سلولی را از بین برد و از آن عصاره تهیه نمود (۲۰). انواع زیادی از تجهیزات و روش‌های مختلف فیزیکی برای تولید عصاره مخمر در مقیاس صنعتی وجود دارد. روش‌های تخریب فیزیکی مخمر، با وجود نیاز به تجهیزات و شرایط آزمایشگاهی خاص، به‌طور گسترده استفاده می‌شوند. چراکه روشی مؤثر، نسبتاً ارزان برای بهره‌برداری و تولید بازده بالایی از مواد مغذی است (۴). اختلال مکانیکی از جهات مختلفی نسبت به اتولیز برتری دارد. میزان اسید چرب با زنجیره بلند موجود در عصاره مخمر که به روش فیزیکی تهیه می‌گردند، بیشتر از اتولیز است که احتمالاً به دلیل تجزیه اسیدهای چرب توسط حلال مورد استفاده برای اتولیز می‌باشد (۶). همچنین در روش فیزیکی در اثر ازم‌گسیختگی سلولی تولید ترهالوز توسط مخمر، نسبت به روش اتولیز بیشتر است (۲۶). اتولیز سلول‌های مخمر منجر به از دست دادن بیشتر بسیاری از ویتامین‌ها، به‌ویژه اسیدفولیک و آنتی‌اکسیدان‌ها، مانند فنولیک‌ها و گلوکاتینون می‌شود (۲۷). روش مکانیکی که به نظر می‌رسد بهترین انتخاب برای تولید محتوای مواد مغذی زیست فعال بالا هست (۷). اختلال مکانیکی باعث افزایش پروتئولیز نمی‌شود ولی عصاره‌هایی که به این روش‌ها، تولید می‌شوند حاوی مقدار کمی پپتید یا اسیدآمینه آزاد هستند، به این معنی که برای تولید عصاره‌های سرشار از ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها مناسب است؛ اما نه برای طعم‌دهنده‌ها که به محتوای بالایی از اسیدآمینه نیاز دارند (۲۸). در مطالعه حاضر، پس از تهیه عصاره مخمر، از پودر حاصل از آن برای تهیه محیط کشت باکتریایی به دو شکل جامد و مایع استفاده شد و برای بررسی کیفیت و مقایسه آن با نمونه‌های موجود در بازار از دو عصاره مخمر شرکت میر مدیا و مرک آلمان و محیط کشت تریپتیکاز سوی آگار و برات (مرک آلمان) استفاده گردید. بررسی نتایج نشان داد، الگوی رشد سلول‌های باکتریایی در محیط‌های کشت حاصل از عصاره تهیه‌شده در مطالعه حاضر، در مقایسه با محیط‌های صنعتی مورد مطالعه بسیار امیدوارکننده است. لازم به ذکر است که عصاره مخمر تولیدشده می‌تواند توسط باکتری‌ها به‌عنوان تنها منبع انرژی، بدون هیچ ماده‌ی اضافه شونده‌ای، در محیط‌های جامد و مایع استفاده شود. در این مطالعه از دو باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* ATCC۲۵۹۲۲ و *شریشیا کلی* ATCC۲۵۹۲۳ استفاده شد. نتایج نشان داد که این باکتری‌ها قادر به رشد در محیط‌های کشت مایع و جامد حاوی عصاره‌ی مخمر حاصل از این مطالعه به‌عنوان تنها ماده مغذی در این محیط‌ها

1. Tao Z, Yuan H, Liu M, Liu Q, Zhang S, Liu H, Jiang Y, Huang D, Wang T. Yeast extract: characteristics, production, applications and future perspectives. *Journal of microbiology and biotechnology*. 2023 Feb 2;33(2):151. doi: 10.4014/jmb.2207.07057
2. Podpora B, Swiderski FJJ. *FP Technology*, author. Spent brewer's yeast autolysates as a new and valuable component of functional food and dietary supplements. *J. Food Process Technol*. 2018;6:1000526 [Google Scholar]
3. Demirgul F, Simsek O, Bozkurt F, Dertli E, Sagdic O. Production and characterization of yeast extracts produced by *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii* and *Kluyveromyces marxianus*. *Prep. Biochem. Biotechnol*. 2022; 52:657–667. doi: 10.1080/10826068.2021.1983833.
4. Jacob FF, Striegel L, Rychlik M, Hutzler M, Methner F-J. Yeast extract production using spent yeast from beer manufacture: influence of industrially applicable disruption methods on selected substance groups with biotechnological relevance. *Eur. Food Res. Technol*. 2019; 245:1169–82. doi: 10.1007/s00217-019-03237-9.
5. Alim A, Song H, Yang C, Liu Y, Zou T, Zhang Y, et al. The changes of the perception of bitter constituents in thermally treated yeast extract. *J. Food Agric*. 2019; 99:4651–4658. doi: 10.1002/jsfa.9705.
6. Vieira EF, Carvalho J, Pinto E, Cunha S, Almeida AA, Ferreira IMPLVO. Nutritive value, antioxidant activity and phenolic compounds profile of brewer's spent yeast extract. *J. Food Compos. Anal*. 2016;52:44–51. doi: 10.1016/j.jfca.2016.07.006.
7. Gao F, Li Q, Wei W, Wang Y, Song W, Yang X, Ji H, Zhou J, Xin Y, Tan Z, Pei J. Preparation of Yeast Extract from Brewer's Yeast Waste and Its Potential Application as a Medium Constituent. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2024 Feb 22:1-6. DOI: 10.1007/s12010-024-04885-8
8. Jacob FF, Striegel L, Rychlik M, Hutzler M, Methner F-J. Spent yeast from brewing processes: a biodiverse starting material for yeast extract production. *Fermentation*. 2019;5 doi: 10.3390/fermentation5020051. doi.org/10.3390/fermentation5020051.
9. Takaloo Z, Nikkhah M, Nemati R, Jalilian N, Sajedi RH. Autolysis, plasmolysis and enzymatic hydrolysis of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): a comparative study. *World J. Microbiol. Biotechnol*. 2020; 36:68. doi: 10.1007/s11274-020-02840-3.
10. Bashir KM, Choi JS. Clinical and physiological perspectives of β -glucans: the past, present, and future. *International journal of molecular sciences*. 2017 Sep 5;18(9): 1906. doi: 10.3390/ijms18091906.
11. Liu D, Ding L, Sun J, Boussetta N, Vorobiev E. Yeast cell disruption strategies for recovery of intracellular bio-active compounds—A review. *Innov Food Sci Emerg Technol*. 2016; 36:181–92.
12. Yun CH, Estrada A, Kessel AV, Park BC, Laarveld B. β -Glucan, extracted from oat, enhances disease resistance against bacterial and parasitic infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*. 2003; 35:67–75. doi: 10.1016/S0928-8244(02)00460-1.
13. Robatjazi R, Azin M, Sohraby N. Optimization of a Culture Medium for the Production of *Saccharomyces cerevisiae* using Glucose Syrup and Corn Steep Liquor. *Biol J Microorg*. 2020;9(35):29–39.
14. Rakowska R, Sadowska A, Dybkowska E, Swiderski F. Spent yeast as natural source of functional food additives. *Roczniki Państwowego Zakadu Higieny*. 2017; 68:115–121
15. Kaelle GCB, Souza CMM, Bastos TS, Vasconcellos RS, de Oliveira SG, Felix AP. Diet digestibility and palatability and intestinal fermentative products in dogs fed yeast extract. *Ital. J. Anim. Sci*. 2022;21:802–810. doi: 10.1080/1828051X.2022.2054733.
16. Oliveira RL, Oliveira RJ, Bezerra LR, Nascimento TV, de Pellegrini CB, de Freitas Neto MD, et al. Substitution of corn meal with dry brewer's yeast in the diet of sheep. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 2016;29(2):99–107.
17. Gao F, Li Q, Wei W, Wang Y, Song W, Yang X, Ji H, Zhou J, Xin Y, Tan Z, Pei J. Preparation of Yeast Extract from Brewer's Yeast Waste and Its Potential Application as a Medium Constituent. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2024 Feb 22:1-6.
18. Yamal G, Sharmila P, Rao KS, Pardha-Saradhi P. Yeast Extract Mannitol medium and its constituents promote synthesis of Au nanoparticles. *Process Biochem*. 2013;48(3):532–8.
19. Darah I, Nor-hawani S, Hong L, Rosma A, Haritharan W. Pomelo peels as alternative substrate for extracellular pectinase production by *Aspergillus niger* HFM-8. *Malays J Microbiol*. 2013;9(4):308–16.
20. Zarei O, Dastmalchi S, Hamzeh-Mivehroud M. A simple and rapid protocol for producing yeast extract from *Saccharomyces cerevisiae* suitable for preparing bacterial culture media. *Iran J Pharm Res IJPR*. 2016;15(4):907.
21. Boonyeon P, Shotipruk A, Prommuak C, Supphantharika M, Muangnapoh C. Enhancement of amino acid production by twostep autolysis of spent brewer's yeast. *Chem. Eng. Commun*. 2011;198:1594–1602. doi: 10.1080/00986445.2011.560219.
22. Saksinchai S, Supphantharika M, Verduyn C. Application of a simple yeast extract from spent brewer's yeast for growth and sporulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*: a physiological study. *World J. Microbiol Biotechnol*. 2001;17:307–316. doi: 10.1023/A:1016717428583.
23. Amorim M, Pereira JO, Gomes D, Pereira CD, Pinheiro H, Pintado M. Nutritional ingredients from spent brewer's yeast obtained by hydrolysis and selective membrane filtration integrated in a pilot process. *J. Food Eng*. 2016;185:42–47. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2016.03.032.
24. Pejini J, Radosavljevic M, KocićTanackov S, Markovic R, DjukicVukovic A, Mojovic L. Use of spent brewer's yeast in L - (+) lactic acid fermentation. *J. Inst. Brewing*. 2019;125:357–363. doi: 10.1002/jib.572.

25. Marson GV, Castro R, Belleville MP, Hubinger M. Spent brewer's yeast as a source of high added value molecules: a systematic review on its characteristics, processing and potential applications. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2020;36:95. doi: 10.1007/s11274-020-02866-7.
26. Liu M, Zhang M, Lin S, Liu J, Yang Y, Jin Y. Optimization of extraction parameters for protein from beer waste brewing yeast treated by pulsed electric fields (PEF) *Afr. J. Microbiol. Res.* 2012;6:4739–4746. doi: 10.5897/AJMR12.117.
27. Vieira EF, Melo A, Ferreira IMPLVO. Autolysis of intracellular content of Brewer's spent yeast to maximize ACE-inhibitory and antioxidant activities. *LWT Food Sci. Technol.* 2017;82:255–259. doi: 10.1016/j.lwt.2017.04.046.
28. Felix JF, Mathias H, Frank-Jürgen M. Comparison of various industrially applicable disruption methods to produce yeast extract using spent yeast from top-fermenting beer production: influence on amino acid and protein content. *Eur. Food Res. Technol.* 2018;245:95–109. doi: 10.1007/s00217-018-3143-z.