مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره 2، تابستان 1392، صفحات 58-51

ارزیابی کارآیی روش طیف‌نگار فروسرخ تبدیل فوریه در تشخیص مخمرهای مولد شیرین‌کننده‌های کم‌کالری

غلامرضا قزلباش[1]، ایرج نحوی[2]

1- نویسنده مسئول: دانشجوی دکترای میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، پست الکترونیکی: gh.r.ghezelbash@gmail.com
2- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

تاریخ دریافت: 91/9/15 تاریخ پذیرش: 92/12/21

چکیده

سابقه و هدف: جداسازی و نگهداری مخمرها با قابلیت استفاده در صنایعی نظیر غذا و دارو به روش‌های شناسایی دقیق و سریع نیاز دارد. سیستم‌های قدیمی شناسایی مخمرها دارای معایب زیادی است و روش‌های جدید ملکولی با وجود کارایی و قابلیت شناسایی وسیع مخمرها بسیار گران و غیر قابل کاربرد در آزمایش‌های روزانه هستند. هدف از این بررسی دست‌یابی به روشی ساده و سریع در جهت شناسایی مخمرها بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش هفت سویه‌ی مخمری شامل دو سویه استاندارد مولد شیرین‌کننده‌ی فاقد کالری، دو سویه‌ی استاندارد غیرمولد و سه سویه محیطی مولد به منظور مقایسه‌ی کارآیی روش طیف‌نگار فروسرخ تبدیل فوریه و تکنیک ملکولی در شناسایی مخمرها بررسی شدند.

یافته‌ها: مخمرهای مشابه و غیرمشابه (از لحاظ جنس و گونه) به ترتیب طیف‌های مشابه و متفاوتی نشان دادند. ارزیابی کمّی این سویه‌های مخمری با استفاده از تشابه طیف‌ها در نواحی پلی‌ساکاریدی، پروتئینی و اسیدهای چرب انجام شد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که از طیف‌نگار فروسرخ تبدیل فوریه می‌توان به عنوان یک تکنیک سریع و مؤثر در شناسایی مخمرها استفاده کرد. مزایای این روش به عنوان یک روش جدید شناسایی مخمرها در سادگی آماده‌سازی نمونه‌ها، زمان کوتاه انجام آنالیز و اعتبار آن است.

واژگان کلیدی: FT-IR، شیرین‌کننده‌های کم کالری، RNA ریبوزومی، مخمرها

• مقدمه

مخمرها در تولید محصولاتی مانند پروتئین‌های تک-یاخته، آنزیم‌ها و محصولات تخمیری کاربرد دارند. بعضی مخمرها نیز در فساد غذایی و ایجاد بیماری‌ها نقش بسیار مهمی دارند. بنابراین، وجود یک روش قابل اطمینان و سریع برای شناسایی مخمرها ارزشمند است. از آنجا که تا به حال زیست‌گاه‌های کمی مطالعه شده است، احتمالاً سویه‌ها و گونه‌های بسیاری از مخمرها در آینده کشف خواهند شد (1). کشف یک سویه‌ی مخمری جدید شامل شناسایی تعداد زیادی از ایزوله‌ها و مقایسه‌ی آن‌ها با سایر سویه‌هاست. بنابراین، یک روش شناسایی سریع، ساده و ارزان، مورد نیاز است. سیستم‌های تمایزی (conventional differentiation) مرسوم نظیر استفاده از ویژگی‌های مورفولوژیکی و همین طور الگوهای جذب و تخمیر منابع کربنی به طور کامل نمی‌تواند این نیازمندی را بر طرف کند؛ زیرا این روش‌ها زمان‌بر هستند. به علاوه، توانایی روش‌های مرسوم محدود است، زیرا برای تمایز گونه‌ای از سایر گونه‌ها یک واکنش فیزیولوژیک منفرد مورد نیاز است که آن هم توسط یک شاخص قابل جهش (mutable) کنترل می‌شود (2).

طیف‌نگار فروسرخ تبدیل فوریه FT-IR (Fourier-Transform Infrared) در آنالیزهای شیمیایی برای شناسایی مواد به کار می‌رود. طول موج فروسرخ از یک میکرون تا یک میلی‌متر است. عموماً عدد موج (wave number) یا v به عنوان واحد فیزیکی طیف سنجی FT-IR به‌کار می‌رود. طیف‌های فروسرخ به

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-03]

سه ناحیه‌ی نزدیک (v:12500-4000 cm^{-1})، متوسط (v: 200-4000 cm^{-1}) و دور (v: 200-10cm^{-1}) تقسیم می‌شوند. طیف‌سنجی FT-IR شامل مشاهده‌ی ارتعاش ملکول‌هاست که توسط اشعه فروسرخ برانگیخته شدند. ملکول‌ها می‌توانند انرژی طیف تابانده شده را جذب و شروع به حرکت جنبشی یا چرخش دورانی کنند. مشخص شده است که یک طیف فروسرخ معرف اثر انگشت خاص یک ماده‌ی شیمیایی است (4، 3).

Naumann و همکاران در سال 1985 توانستند با استفاده از روش FT-IR میکروارگانیسم‌ها را شناسایی کنند (5). متداول است که در ابتدا باید یک کتابخانه‌ی FT-IR از سویه‌ها و گونه‌های شناخته شده ساخته شود و سپس طیف FT-IR یک ایزوله‌ی ناشناخته در همان شرایط، با طیف‌های موجود در کتابخانه مقایسه شود تا بتوان ویژگی‌ها را مشخص کرد. موفقیت این روش به دلیل غنی بودن کتابخانه‌ی FT-IR از سویه‌های مختلف مشابه یا غیرمشابه است (3). طیف‌سنجی FT-IR برای شناسایی بعضی از گونه‌های جنس *لاکتوباسیلوس* (6)، *اکتینومایسس* (7)، *لیستریا* (8)، *استرپتوکوکوس* (9) و *کلستریدیوم* (10) انجام شده است. نتایج این گزارش‌ها نشان دادند که با استفاده از این تکنیک می‌توان میکروارگانیسم‌ها را در سطوح متفاوت رده‌بندی (taxonomy) و حتی در سطح سویه شناسایی کرد. تا به حال، گزارشات محدودی از شناسایی سلول‌های یوکاریوت مانند مخمرها توسط FT-IR ارائه شده است (11).

امروزه، شیرین‌کننده‌های کم کالری میکروبی به دلیل نداشتن اثرات جانبی، جایگزین شیرین‌کننده‌های شیمیایی شده‌اند. زایلیتول، سوربیتول و اریتریتول از این دسته از شیرین‌کننده‌ها هستند. اریتریتول یک پلی‌الکل چهارکربنه است که در مقایسه با دیگر پلی‌الکل‌ها کمترین انرژی را دارد و در تهیه‌ی محصولات کم کالری و دارویی به کار می‌رود. در این بررسی با استفاده از چندین سویه‌ی مخمری متفاوت و مقایسه‌ی طیف FT-IR آن‌ها کارایی این تکنیک در شناسایی مخمرها به طور کامل بررسی شد.

• مواد و روش‌ها

مواد: همه‌ی مواد شیمیایی، محیط‌های کشت، دانه‌های شیشه‌ای مخصوص لیز مخمر و حلال‌های به کار رفته در این پژوهش از شرکت مرک آلمان و *سیگما* آمریکا تهیه شدند. در این بررسی از دستگاه‌های FT-IR (مدل JASCO-6300 ، ساخت ژاپن)، ترموسایکلر Ependorph (آلمان)، ژل Syngene Gel Doc (آمریکا) و سانتریفوژ Ependorph (مدل 5415D ، ساخت آلمان) استفاده شد.

سویه‌های مخمری: در این بررسی به منظور مقایسه بهتر الگوی FT-IR سویه‌های مخمری بر اساس درجه‌ی تشابه و تفاوت انتخاب شدند. *یاروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی DSM70562، *کندیدا مگنولیا* سویه‌ی DSM70638 از کلکسیون میکروبی DSMZ آلمان، *ساکارومایسس سروزیه* سویه‌ی PTCC5052 از کلکسیون میکروبی ایران و *کندیدا گالی* از کلکسیون میکروبی *دانشگاه اصفهان* تهیه شدند. سویه‌های مولد شیرین‌کننده با استفاده از محیط غربالگری (40v/w% گلوکز، 1% عصاره مخمر، pH=5) و نمونه‌های محیطی مانند عسل، گل‌های گیاهان، انواع مربا و آب میوه جدا شدند.

شناسایی مخمرها توسط تعیین توالی RNA ریبوزومی: مخمرهای مولد شیرین‌کننده‌ی کم‌کالری جدا شده از طبیعت که به عنوان مخمرهای مجهول در این بررسی مورد استفاده قرار گرفتند، ابتدا توسط تعیین توالی قطعه‌ای از ژنوم ریبوزومی شناسایی شدند. پرایمرهای به کار رفته در این پژوهش از نوع فضاساز نسخه‌برداری ITS (Internal Transcribed Spacer) بودند. به همین دلیل، طول قطعه در مخمرهای مختلف متفاوت بود. برای استخراج DNA مخمرها ابتدا مخمر مورد نظر در محیط مایع عصاره‌ی مخمر- پپتون- گلوکز YPD (Yeast Extract Peptone Glucose) کشت داده شد. سلول‌ها جداسازی و با استفاده از آب مقطر شسته شدند. سپس سلول‌ها با بافر لیزکننده، دانه‌های شیشه‌ای (425 تا 600 میکرون)، محلول فنل-کلروفرم- ایزوآمیل الکل (1:24:25) مخلوط و طی مخلوط‌سازی (Vortex) شدید به مدت 3 تا 5 دقیقه شکسته شدند. بافر لیزکننده حاوی تریتون X-100، سدیم دودسیل سولفات SDS (Sodium Dodesil Sulphate) ، کلرید سدیم، تریس-اسید کلریدریک و اتیلن‌دی‌آمین‌تترا استیک اسید (EDTA) بود. سپس به این محتویات بافر TE (Tris-EDTA buffer) اضافه شد و به منظور انحلال DNA در بافر TE عمل مخلوط‌سازی به آرامی انجام شد. بعد از سانتریفوژ با سرعت 10000 دور در دقیقه به مدت 10 دقیقه، به محلول فوقانیِ جدا شده به میزان دو برابر حجم آن ایزوپروپانول سرد اضافه شد. مخلوط فوق چند مرتبه به آرامی معکوس شد. حرکت

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-03]

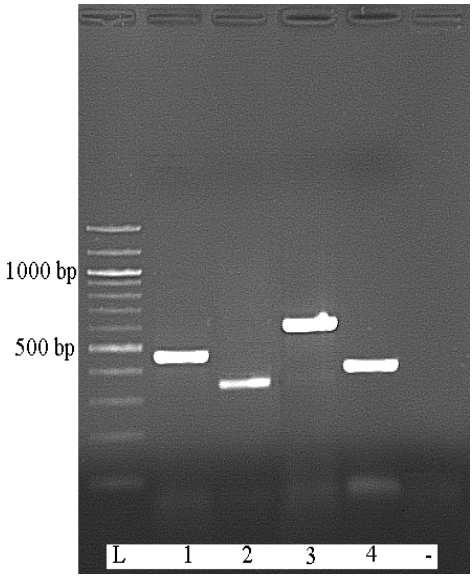
سریع یا ورتکس در این مرحله موجب قطعه‌قطعه شدن DNA می‌شود. بعد از سانتریفوژ، محلول فوقانی دور ریخته شد و بعد از تبخیر ایزوپروپانول در زیر هود به رسوب‌باقی مانده 100 میکرولیتر بافر TE اضافه شد و بعد از ورتکس آرام و میکروسانتریفوژ در دمای 20°C- نگهداری شد تا برای PCR مورد استفاده قرار گیرد (12). PCR قطعه مورد نظر با استفاده از پرایمرهای ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG3') به‌عنوان پرایمر رو به جلو و ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') به عنوان پرایمر برگشتی انجام شد (13). ابتدا درجه‌ی خلوص و اندازه‌ی نسبی محصول PCR به دست آمده روی ژل آگارز (1/5 درصد) تعیین شد و سپس توسط شرکت *فزا* پژوه تعیین توالی شد. توالی به دست آمده در سایت NCBI جستجو شد تا نام جنس و گونه مخمری مورد نظر مشخص شد. واکنش زنجیری پلیمرازی حاوی سه مرحله‌ی واسرشت اولیه (initial denaturation) (95°C ، 5 دقیقه)، دوره‌ی سی‌گانه (Cycle) که شامل 95°C به مدت 30 ثانیه، 55°C به مدت 30 ثانیه و 72°C به مدت 1 دقیقه و در نهایت بسط نهایی (final extension) (72 °C ، 10 دقیقه) بود.

آماده‌سازی نمونه برای FT-IR: ابتدا یک کلنی از هر کدام از مخمرهای مورد مطالعه به صورت جداگانه روی محیط کشت عصاره مخمر- گلوکز- کلرامفنیکل (YGC) حاوی عصاره‌ی مخمر 5 g/l، گلوکز 20 g/l، کلرامفنیکل 0/1 g/l و آگار 15 g/l کشت داده شد. سپس کشت‌های فوق به مدت 24 ساعت در 30°C گرمخانه‌گذاری شدند. سپس یک لوپ کامل از این مخمرهای فعال شده به 100 میکرولیتر آب مقطر انتقال داده شد تا خشک شوند. برای این منظور محلول‌های مخمری به طور جداگانه روی لام‌های تمیز گسترش یافتند و به مدت 60 دقیقه در دمای 42°C قرار داده شدند. سلول‌های خشک شده از روی لام تراشیده شده و بعد از آماده سازی روی صفحات مخصوص، طیف‌های FT-IR آن‌ها مطالعه شد (14).

طیف‌سنجی FT-IR: همه‌ی طیف‌ها توسط دستگاه FT-IR در محدوده‌ی $4000\ cm^{-1}$ به دست آمدند. اصولاً 5 پنجره‌ی طیفی اطلاعات اساسی دارند. در این میان ناحیه‌ی W1 ناحیه‌ی اسیدهای چرب (3050-2800)، ناحیه‌ی W2 ناحیه پروتئین‌ها و پیوندهای پپتیدی (1500 تا1750)، ناحیه‌ی W3 ناحیه‌ی اسیدهای چرب، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها (1200 تا1500)، ناحیه‌ی W4 ناحیه‌ی پلی‌ساکاریدها (900 و 1200) و ناحیه‌ی W5 ناحیه‌ی اثر انگشت (Fingerprint region) (700 تا900) بود. ناحیه‌ی اثر انگشت پیوندهایی دارد که مشخصه‌ی میکروارگانیسم‌ها در سطوح گونه است (16، 15). در این پژوهش، آزمون‌های FT-IR همه‌ی نمونه‌ها دو بار تکرار شدند. مقایسه‌ی تشابه و عدم تشابه طیف‌ها توسط نرم افزار SPSS16 تأیید شد.

• یافته‌ها

شناسایی مخمرها توسط تعیین توالی RNA ریبوزومی: قطعات به دست آمده از هر مخمر بعد از PCR روی ژل آگارز برده شد تا خالص بودن و اندازه‌ی نسبی آن‌ها مشخص شود. طول قطعات به دست آمده با پرایمرهای ITS1 و ITS2 در مخمرهای مختلف متفاوت و شامل "قسمتی از 18srRNA-ITS1-5.8srRNA-ITS2 و قسمتی از 28srRNA" است. شکل 1 ژل آگارز محصول PCR چند مخمر مطالعه شده در این بررسی را نشان می‌دهد که بعد از تعیین توالی و تطابق در سایت NCBI جنس و گونه آن‌ها مشخص شد. ایزوله‌ی شماره‌ی 7 *یاروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی ISF7، ایزوله‌ی شماره‌ی 57 *کندیدا* گونه‌ی ISF57 و ایزوله‌ی 143 *آئروبازیدیوم پلولانس* سویه‌ی ISF143 بودند که توالی آن‌ها در سایت NCBI ثبت شد.

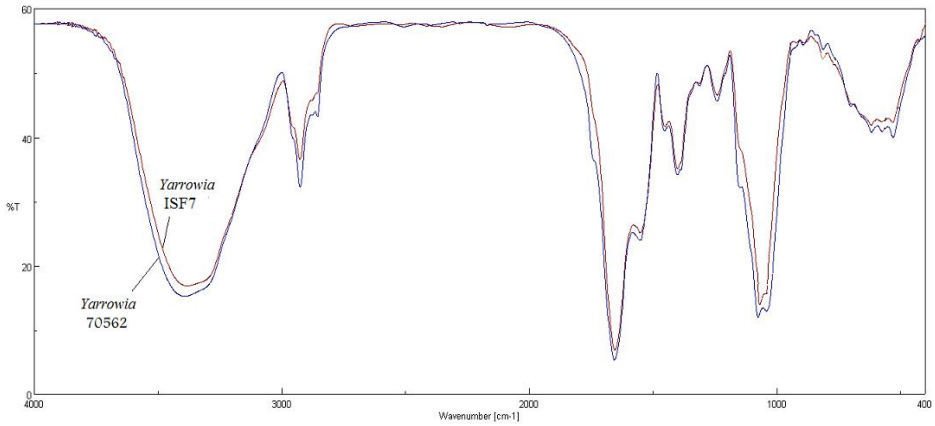


شکل 1. تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR سویه‌های جدا شده

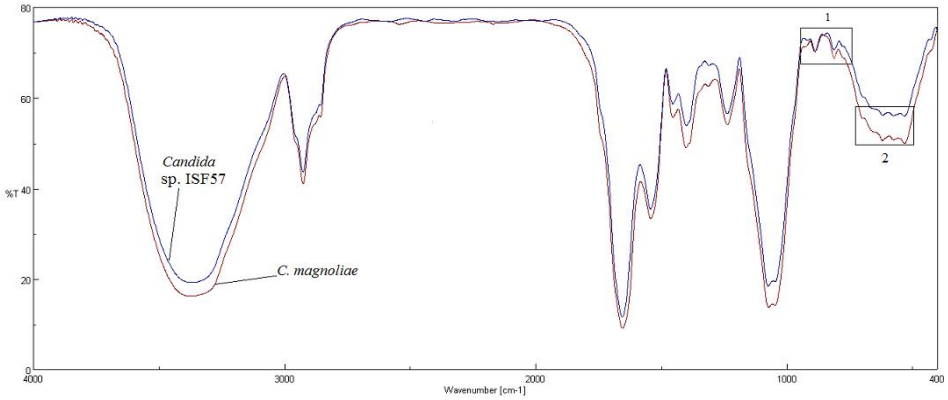
L: Ladder (فرمنتاز، 100 بازی)، -: کنترل منفی (آب مقطر)، 1. *کندیدا* گونه‌ی ISF57، 2. *یاروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی ISF7، 3. *آئروبازیدیوم پلولانس* سویه‌ی ISF143، 4. *کندیدا گالی*

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-03]

طیف‌سنجی FT-IR: طیف‌های توده‌های مختلف مخمری گرفته شد و سویه‌های استاندارد به عنوان مرجع و سویه‌های جدا شده از طبیعت به عنوان سویه‌های مجهول بررسی شدند. طیف‌های به دست آمده از سویه‌های مخمری مربوط به یک جنس و گونه‌ی مشابه کاملاً مشابه بودند و طیف‌های سویه‌های مخمری که در سطح جنس یا حتی گونه متفاوت بودند، بسته به درجه‌ی تفاوت الگوهای FT-IR متفاوتی از خود نشان دادند. نکته‌ی مهم در مقایسه‌ی الگوی FTIR دو مخمر، مقایسه‌ی طول موج طیف‌های آن‌هاست که تشابه و تفاوت این طول موج‌ها در شناسایی گونه و سویه اهمیت پیدا می‌کند. شکل 2 طیف‌های دو مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی DSM70562 و *یاروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی ISF7 را نشان می‌دهد که از یک جنس و گونه بودند و به همین دلیل در تمام نواحی تشابه بالایی را نشان دادند. در شکل 3 طیف‌های FT-IR دو مخمر *کندیدا* گونه ISF57 و *کندیدا مگنولیا* سویه DSM70638 مقایسه شده‌اند که از یک جنس بودند و به همین دلیل تشابه زیادی در نواحی ساختاری خود داشتند، ولی چون از دو گونه‌ی متفاوت هستند در نواحی نشان داده شده تفاوت داشتند. شکل 4 نیز تشابه طیف‌های FT-IR در دو مخمر *کندیدا گالی* و *کندیدا* گونه‌ی ISF57 را نشان می‌دهد. شکل 5 مقایسه‌ی عدم تشابه طیف‌های FT-IR *ساکارومایسس سروزیه* سویه‌ی PTCC5052 و *آئروبازیدیوم پلولانس* سویه‌ی ISF143 را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود، هر چه تفاوت فیلوژنی بیشتر باشد، تفاوت FT-IR یا به عبارتی تفاوت گروه‌های عاملی روی سطوح مخمرها بیشتر می‌شود. شکل 6 تفاوت مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* از *کندیدا* را که دو جنس بسیار نزدیک به هم هستند، توسط تکنیک FT-IR نشان می‌دهد. تفاوت طول موج منحنی‌ها در نواحی 1، 2، 3، 4 و 6 نشان‌دهنده‌ی تفاوت الگوی FT-IR در این دو مخمر است. در ناحیه‌ی 5 نیز تنها مخمر *یاروویا* در طول موج 1146/47 دارای طیف است.

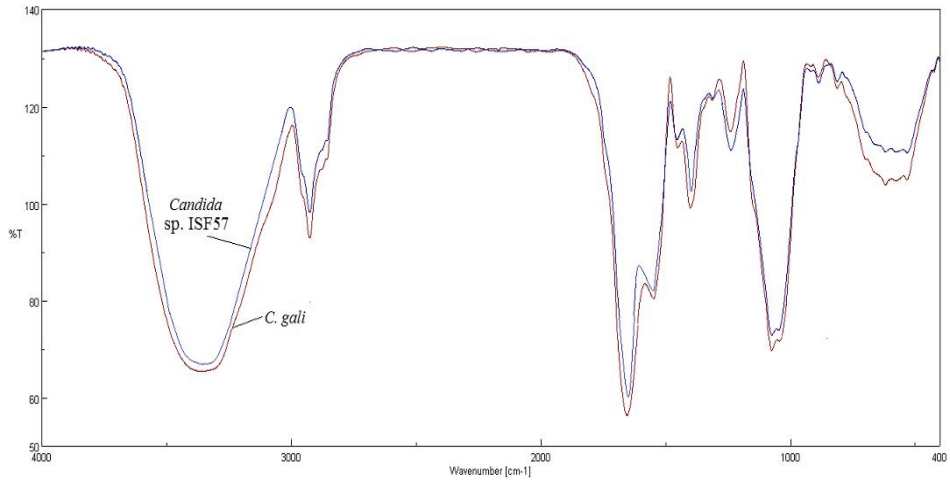


شکل 2. تشابه طیف‌های FT-IR در دو مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی DSM70562 و *یاروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی ISF7

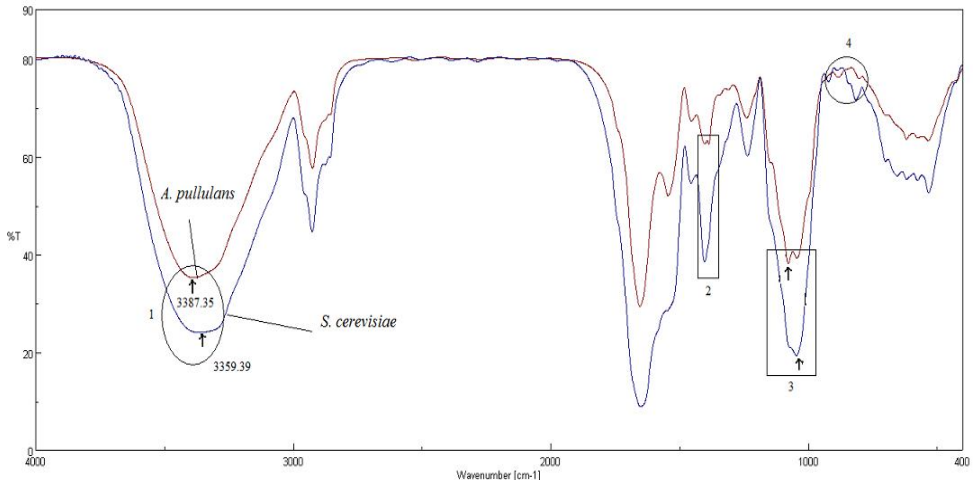


شکل 3. تشابه طیف‌های FT-IR در دو مخمر *کندیدا* گونه‌ی ISF57 و *کندیدا مگنولیا* سویه‌ی DSM70638

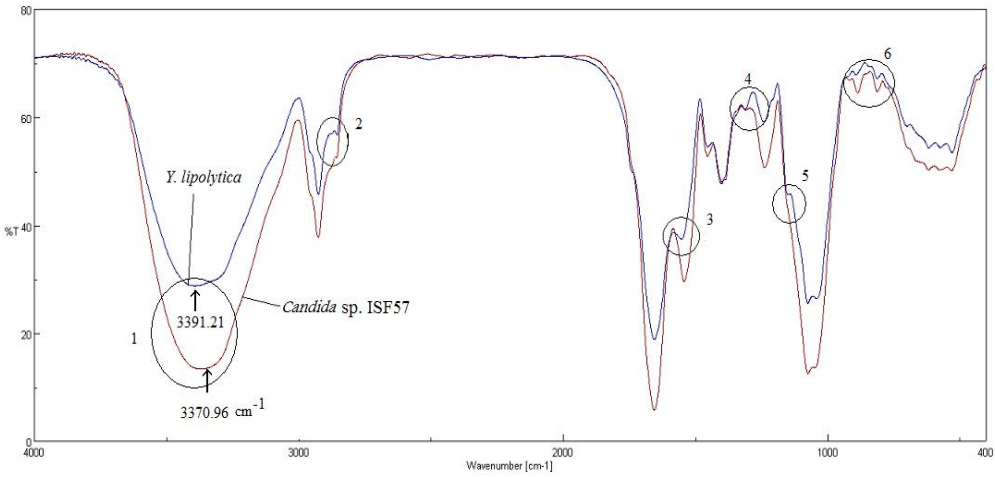
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-03]



شکل 4. تشابه طیف‌های FT-IR در دو مخمر *کندیدا* گونه‌ی ISF57 و *کندیدا گالی*



شکل 5. عدم تشابه طیف‌های FT-IR در دو مخمر *ساکارومایسس سروزیه* سویه‌ی PTCC505 و *آئروبازیدیوم پلولانس* سویه‌ی ISF143



شکل 6. عدم تشابه طیف‌های FT-IR در دو مخمر *یاروویا لیپولیتیکا* سویه‌ی DSM70562 و *کندیدا* گونه‌ی ISF57

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-03]

• بحث

گزارش‌های فراوانی درباره‌ی درصد فراوانی مخمرهای شیرین‌کننده در طبیعت وجود دارد. برای مثال، تحقیقات *Park* و همکاران مبنی بر آن است که تنها 11 سویه از 1753 مخمر اسموفیل جدا شده از عسل و گرده‌های گیاهی می‌توانستند شیرین‌کننده‌ی اریتریتول را تولید کنند به بیان دیگر فقط 0/6 درصد از مخمرهای اسموفیل قادر به تولید این شیرین‌کننده هستند. در این بررسی نیز از 460 ایزوله‌ی جدا شده تنها 3 مورد آن قادر به تولید این ترکیبات بودند که خود معرف نسبت 0/65 درصدی آن‌هاست (17). مطالعه‌ی تولید یا عدم تولید این شیرین‌کننده‌ها ابتدا توسط TLC و سپس توسط HPLC مورد مطالعه قرار گرفت (18). سویه‌های استاندارد *کندیدا مگنولیا* و *یاروویا لیپولیتیکا* در این بررسی نیز مولد این شیرین‌کننده‌ها بودند که ایزوله‌ی ISF7 در مقایسه با سویه‌های استاندارد سویه‌ی بهتری بود و سه برابر سویه استاندارد اریتریتول تولید کرد. *ساکارومایسس سروزیه* سویه‌ی PTCC5052 و *کندیدا گالی* نیز برای مقایسه و بررسی شناسایی مخمرها توسط FT-IR مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

FT-IR یک تکنیک قوی برای تشخیص ترکیب شیمیایی ترکیبات بسیار پیچیده مانند میکروارگانیسم‌ها است (9-3). مطالعات انجام شده همگی مؤید آن است که از FT-IR می‌توان در شناسای مخمرها و قارچ‌های رشته‌ای استفاده کرد (5-3). شناسایی مخمرها توسط روش‌های مرسوم ریختی (phenotypic) سخت و در بعضی موارد غیرممکن است (20، 19)، اما شناسایی مخمرها توسط تکنیک FT-IR روشی سریع، مؤثر و فاقد نیازمندی به عوامل واکنش‌گر است (21). به علاوه، این روش برای همه‌ی میکروارگانیسم‌ها قابل انجام است و به مقدار بسیار کمی توده‌ی سلولی نیاز دارد. طیف‌های FT-IR توسط عواملی مانند دمای رشد، روش کشت و حتی روش خشک کردن نمونه‌ی میکروارگانیسمی تحت تأثیر قرار می‌گیرد و بر همین اساس، روش آماده‌سازی نمونه‌ها بسیار اهمیت پیدا می‌کند (22). تنها محدودیت این تکنیک در شناسایی مخمرها نیازمندی به یک کتابخانه‌ی وسیع از طیف‌های مرجع است که این خود نیازمند استفاده‌ی بیشتر از این تکنیک برای شناسایی مخمرهاست. تشکیل چنین بانک اطلاعاتی نیازمند به کار بردن شرایط کشت و رشد مشابه برای همه‌ی مخمرهای مورد مطالعه است. به عبارت دیگر، سن کشت، ترکیب محیط کشت، pH محیط و دما باید برای همه‌ی مخمرهای مطالعه شده یکسان باشد تا بتوان طیف‌های آن‌ها را مقایسه کرد.

مقدار بالای تطابق بین طیف‌های دو یا چند مخمر مشابه نشان می‌دهد که تکنیک FT-IR یک تکنیک ساده و مطمئن با تکرارپذیری خوب برای شناسایی مخمرهاست. این مطالعه اولین نمونه‌ی عملکردی کاربرد FT-IR در شناسای مخمرها در ایران بود. امید است که با افزایش مطالعات و انجام این تکنیک برای مخمرهای مختلف، بانکی از طیف‌های مخمرهای مختلف تشکیل شود که بتوان با استفاده از آن به شناسایی مخمرها مبادرت ورزید. به علاوه، جدا از آن می‌توان از این روش در مطالعاتی که تنوع سویه‌های جدا شده مطرح است، استفاده کرد و به کمک آن از شناسایی سویه‌های مشابه با تکنیک‌های ملکولی پرهیز کرد. به عبارت دیگر حداقل کاربرد این روش این است که می‌توان از آن به عنوان یک روش غربالگری سویه‌ها قبل از شناسایی با تکنیک ملکولی استفاده کرد تا هم در وقت و هم در هزینه صرفه جویی شود.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی *دانشگاه اصفهان* به دلیل حمایت از این تحقیق، آقای *مهدی ربیعی* به دلیل کمک در انجام کارهای آماری و همین‌طور از زحمات خانم هوشمند کارشناس آزمایشگاه FT-IR دانشگاه اصفهان تشکر و قدردانی می‌شود.

• References

1. Jakobsen M, Narvhus J. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. Int Dairy J 1996; 6: 755-68.

2. James SA, Cai J, Roberts IN, Collins MD. A phylogenetic analysis of the genus *Saccharomyces* based on 18S rRNA gene sequences: description of *Saccharomyces kunashirensis* sp. nov. and *Saccharomyces martiniae* sp. nov. Int J Sys Evol Microbiol 1997; 47: 453-60.

3. Naumann A, Navarro-Gonzalez M, Peddireddi S, Kues U, Polle A. Fourier transform infrared

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-03]

microscopy and imaging: detection of fungi in wood. Fungal Genet Biol 2005; 42: 829-35.

4.Adt I, Toubas D, Pinon JM, Manfait M, Sockalingum GD. FTIR spectroscopy as a potential tool to analyse structural modifications during morphogenesis of *Candida albicans*. Arch Microbiol 2006; 185: 277-85.

5.Naumann D. The ultra rapid differentiation and identification of pathogenic bacteria using FT-IR techniques. SPIE Fourier Comput Infrared Spectrosc 1985; 553: 268-9.

6. Curk MC, Peladan F, Hubert JC. Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy for identifying *Lactobacillus* species. FEMS Microbiol Lett 1994; 123: 241-8.

7. Haag H, Gremlich HG, Bergmann R, Sanglier JJ. Characterization and identification of actinomycetes by FT-IR spectroscopy. J Microbiol Meth1996; 27: 157-63.

8. Holt C, Hirst D, Sutherland A, MacDonald F. Discrimination of species in the genus *Listeria* by Fourier transform infrared spectroscopy and canonical variate analysis. Appl Environmen Microbiol 1995; 61: 377-8.

9. Goodacre R, Timmins EM, Rooney PJ, Rowland JJ, Kell D. Rapid identification of *Streptomyces* species using diffuse reflectance-absorbance Fourier-transform infrared spectroscopy and artificial neural networks. FEMS Microbiol Lett 1996; 140: 233-9.

10. Franz M. Identifizierung von Clostridien mittels FT-IR-Spektroskopie. Dtsch Milchwirtsch 1994; 3:130-32.

11. Kummerle M, Scherer S, Seiler H. Rapid and reliable identification of food-borne yeasts by fourier-transform infrared spectroscopy. Appl Environmen Microbiol 1998; 64: 2207-14.

12. Hoffman CS. Current protocols in molecular biology. New York: John Wiley and Sons;1997.

13. Deak T, Chen J, Beuchat LR. Molecular characterization of *Yarrowia lipolytica* and *Candida zeylanoides* isolated from poultry. Appl Environ Microbiol 2000; 66: 4340-44.

14. Praphailong W, Van Gestel M, Fleet GH, Heard GM. Evaluation of the biology system for identification of food and beverage yeasts. Lett Appl Microbiol 1997; 24:455-59.

15.Totok T, AD King JR. Comparative study on the identification of food-borne yeasts. Appl Environ Microbiol 1991; 57: 1207-12.

16. Orsini F, Ami D, Villa AM, Sala G, Bellotti MG, Doglia SM. FT-IR microspectroscopy for microbiological studies. J Microbiol Meth 2000; 42: 17-27.

17. Park, YC, Lee DY, Lee DH, Kim HJ, Ryu YW, et al. Proteomics and physiology of erythritol-producing strains. Journal of Chromatography 2005; 815: 251-60.

18. Ghezelbash GR, Nahvi I, Rabbani M. Study of polyols production by *Yarrowia Lipolytica* in batch culture and optimization of growth condition for maximum production. JJM 2012; 5: 494-7.

19. Timmins EM, Quain DE, Goodacre R. Differentiation of brewing yeast strains by pyrolysis mass spectrometry and Fourier transform infrared spectroscopy. 1998; Yeast 14: 885-93.

20. Erukhimovitch V, Pavlov V, Talyshinsky M, Souprun Y, Huleihel M. FTIR microscopy as a method for identification of bacterial and fungal infections. J Pharm Biomed Anal 2005; 37: 1105-8.

21. Burattini E, Cavagna M, Dell Anna R, Campeggi FM, Monti F, Rossi F. A FTIR microspectroscopy study of autolysis in cells of the wine yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Vib Spectrosc 2008; 47: 139-47.

22.Toubas D, Essendoubi M, Adt I, Pinon JM, Manfait M, Sockalingum GD. FTIR spectroscopy in medical mycology: applications to the differentiation and typing of *Candida*. Anal Bioanal Chem 2007; 387: 1729-7.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-03]

Assessing the efficiency of FT-IR for identification of low-calorie-sweetener-producing yeast strains

Ghezelbash GR[1], Nahvi I[2]*

*1- *Corresponding author: Ph.D Student in Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran*
Email: gh.r.ghezelbash@gmail.com

2-Prof, Dept. of Biology, Faculty of Science, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received 5 Dec, 2012 **Accepted 11 Mar, 2013**

Background and Objective: Isolation of yeasts and keeping them for use in the food and drug industries need rapid and precise methods. Traditional methods of identification of yeasts and fungi have many defects, and new molecular methods, despite their widespread application and high efficiency, are expensive and not appropriate for routine use. The aim of this study was to find a simple and rapid method for yeast identification.

Materials and Methods: Seven yeast strains, including two standard zero-caloric-sweetener-producing strains, two non-producing strains and three strains naturally producing non-caloric-sweeteners were examined in order to compare efficiency of FT-IR and molecular technique in yeast identification.

Results: This study showed that similar and dissimilar yeast species (as regards species and genera) have identical and different spectrua, respectively. Quantitative evaluation of the yeast strains was performed using curve fittings of the polysaccharide, protein, and fatty acids regions.

Conclusion: Based on the findings, it can be concluded that FT-IR is a fast and effective method for identification of yeast strains. The advantages of this new method are simplicity of sample preparation, short analysis time, and high validity.

Keywords: FT-IR, Low-calorie sweetener, Ribosomal RNA, Yeasts

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-06-03]