

## اثر ضد میکروبی و ضد قارچی کفیر در محیط *Invitro*

دکتر روحا کسری کرمانشاهی<sup>۱\*</sup>، دکتر فریبرز معطر<sup>۲</sup>، دکتر شهلا شادزی<sup>۳</sup>، دکتر محبوبه السادات مهدوی<sup>۴</sup>

۱- دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۲- دانشیار گروه فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۳- دانشیار گروه قارچ شناسی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۴- دکتری داروساز

**سابقه و هدف:** کفیر از جمله محصولات شیرترش می باشد که مبدأ آن شمال قفقاز است. ماهیت میکروبی دانه های کفیر مورد بحث بوده و تاکنون بطور دقیق مشخص نشده است. بطور کلی دانه های کفیر دارای میکروارگانیسم های زیر است: استرپتوکوکسی های اسیدلاکتیک و لاکتوباسیل های مزوفیل اسیدلاکتیک، مخمرهای تخمیر کننده و غیرتخمیرکننده لاکتوز و باکتریهای اسیداستیک که در بعضی مطالعات به اثرات درمانی آن اشاره شده است. این مطالعه به منظور مشخص کردن بعضی از این اثرات انجام شده است.

**مواد و روشها:** این مطالعه بر روی باکتریهای استافیلوکوکوس آرنوس، اشرشیاکلی، سودوموناس آئروژینوزا، سالمونلاتیفی، قارچ مخمری کاندیدا آلبیکنس و دو گونه درماتوفیت تریکوفیتون منتاگروفیتس و میکروسپورم کانیس انجام شده که با استفاده از محیطهای کشت میکروبیولوژیکی و قارچی با روش های چاهک پلیت و رقت لوله ای اثرات ضد میکروبی هشت نوع از عصاره های ماست معمولی و عصاره حاصله از ماست کفیر در دو دمای ۲۰ و ۳۷ درجه سانتیگراد در دو زمان تخمیر ۲۴ و ۴۸ ساعته به صورت *invitro* بر روی چهارگونه باکتری و سه گونه قارچ مزبور مورد مطالعه قرار گرفت.

**یافته ها:** از عصاره های بکار رفته ماست معمولی و ماست کفیر در دو دمای ۲۰ و ۳۷ درجه سانتیگراد و در دو زمان تخمیر ۲۴ و ۴۸ ساعته، بیشترین اثر را ماست کفیر در ۳۷ درجه با ۴۸ ساعت زمان تخمیر و با غلظت ۷۵ میلی گرم در میلی لیتر بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا نشان داد. کفیر بر روی سه قارچ بکار رفته اثر ضد قارچی نشان داد.

**نتیجه گیری:** ماست کفیر دارای اثرات ضد میکروبی بر روی برخی از باکتریهای بیماریزا از جمله سودوموناس آئروژینوزا می باشد.

**واژه های کلیدی:** اثرات ضد میکروبی، ماست معمولی، ماست کفیر، باکتریهای بیماریزا، قارچ.

### مقدمه

ماست، کره، سرشیر و ... از آن استفاده می کنند، این فعالیت خود سبب غلبه بر میکروبهایی با سرعت فعالیت بالا و مقاوم نسبت به تغییرات محیطی مانند اسیدیته و pH و .. می شود. در این میان کفیر از جمله قدیمی ترین محصولات تخمیری شیر است که منشاء تهیه و تولید آنرا کوههای قفقاز دانسته اند. سالیان درازی این نوشیدنی در قفقاز تولید و مصرف می شده و عمر ساکنان قفقاز که از این ماده

صنایع شیر و فرآورده های آن دارای نقش بزرگی در تغذیه و سلامت انسان در تمام مراحل زندگی می باشند. انسان همواره با مسئله نگهداری شیر مواجه بوده است، چرا که شیر مایعی مغذی بوده و به عنوان محیط کشت غنی شده باکتریها به شمار می رود و به سرعت فاسد می گردد. از این رو در بسیاری از کارخانجات تولید لبنیات عمداً این محصول را تحت اثر تخمیر قرار داده و در تهیه

### تهیه ماست حاصل از کفیر

جهت تهیه نوشیدنی کفیر، شیر کامل که حاوی ۲ تا ۳ درصد چربی است را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد حرارت داده سپس اجازه داده شد که تا دمای ۲۰ درجه سانتیگراد سرد گردد. دانه‌های کفیر را در این شیر ریخته و روز بعد دلمه ملایمی در شیر ایجاد شد. شیر دلمه‌دار از یک صافی تمیز عبور داده شده و دانه‌های کفیر جهت تخمیر بعدی به ظرف دیگری منتقل گردید. شیر کفیر مناسب حباب دار بوده و کف می‌کند (۱ و ۷).

### تهیه عصاره کفیر و ماست معمولی جهت بررسی اثر ضد میکروبی و ضد قارچی آن

برای بررسی اثر ضد میکروبی و ضد قارچی کفیر، عصاره‌های مختلف از نظر دمای نگهداری و مدت تخمیر مطالعه شد. در این مقایسه از ماست معمولی هم در همین شرایط استفاده و در دو دمای ۲۰ و ۳۷ درجه سانتیگراد بررسی انجام شد. جهت زمان تخمیر، عمل تخمیر در دو زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت، بررسی گردید. غلظت نهایی عصاره برای ماست و کفیر هر دو معادل ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. بعد از زمان تخمیر مواد موجود در هر ظرف را هم زده تا محصول یکنواختی به دست آید. سپس محصول حاصله از تخمیر یکبار بدون استریلیزاسیون و یکبار با استریل کردن و گذراندن از فیلترهای غشایی (۰/۴۵ میکرون) و در روش چاهک پلیت بکار برده شد.

### بررسی اثر ضد میکروبی

جهت بررسی اثر ضد میکروبی و ضد قارچی کفیر از سه روش انتشار، کدورت سنجی و رقت لوله‌ای جهت تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) و حداقل غلظت کشنده رشد (MBC) استفاده شد (۸-۱۲). جهت مقایسه از سولفات جنتامایسین و اثر آن بر روی سودوموناس آئروژینوزا با روش رقت لوله‌ای استفاده شد (۱۳). اسیدیته براساس Turner (درجه T)، نیتروژن توتال براساس میکرومتر Kjeldahl's، آمینواسیدها با روش کروماتوگرافی تعویض یونی و ارزش بیولوژی بر اساس میزان اسیدهای آمینه اندازه‌گیری شد (۱۴). تعیین اسیدیته با سود دسی نرمال و طبق فرمول اسیدیته =  $10 \div 100 \times 0.09 \times n$  بوده است، که ۷۱ میلی‌لیتر سود دسی نرمال برای خنثی کردن اسیدیته شیر برحسب گرم

استفاده می‌کنند، معمولاً ۱۱۰ تا ۱۵۰ سال گزارش شده است و در این اواخر در آنها امراض سل، سرطان و ناراحتیهای گوارشی نیز بندرت دیده شده است (۱).

کفیر نوشابه‌ای الکلی - لاکتیکی است. عامل تخمیر کننده شیر کفیر دانه‌های کفیر است، که شامل کازئین و گونه‌هایی از لاکتوباسیلوس، ساکارومیسس، استریپتوکوکوس و بعضی دیگر از جنس‌های میکروبی می‌باشند. این میکروارگانیسم‌ها بصورت کلونی‌های ژلاتین مانند و به حالت همزیستی در کنار هم قرار گرفته‌اند. کفیر یک روزه ۰/۲ درصد، دو روزه ۰/۴ درصد و سه روزه ۰/۶ درصد الکل دارد (۲).

دانه‌های کفیر به رنگ زرد، سفید و نامرتب، به اندازه فندق یا گندم می‌باشد. در آب و محلولهای معمولی غیرمحلول بوده و پس از اختلاط با شیر متورم شده و به رنگ سفید در می‌آید و در نهایت تخمیر دوگانه اسید و الکل را شروع می‌کند (۳). بطوریکه بیان می‌کنند، دانه‌ها اولیه کفیر توسط پیامبر اسلام به مسیحیان اورتودکس هدیه شده و سفارش شده است که این دانه‌ها را دور نیاندازند (۴). نوشیدنی کفیر گازدار بوده و علاوه بر آن دارای چربی و لاکتوز پائینی می‌باشد که می‌توان آنرا در رژیم‌های غذایی خاص بکار برد (۵). علت گازدار بودن این آشامیدنی وجود گاز CO<sub>2</sub> می‌باشد و از آنجائیکه این نوشیدنی دارای خواص درمانی خوبی می‌باشد، این مطالعه بمنظور آگاهی از اثر ضد میکروبی و ضد قارچی کفیر و مقایسه اثرات درمانی آن با یک آنتی‌بیوتیک رایج صورت گرفته است.

### مواد و روشها

**مواد لازم:** محیطهای کشت میکروبی نظیر محیط مولر هیتون آگار (M.H) محیط کشت تریپتیکاز سوی برات (T.S.B) - محیط میکروبیوتیک آگار (S.C.C)، محیط کشت ساپورد دکستروز برات (S.D.B) دانه‌های کفیر، شیر و ماست معمولی، استاندارد ۰/۵ مک فارلند و قارچهای مورد بررسی از ذخیره آزمایشگاه قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی اصفهان و باکتریها از ذخیره آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه اصفهان بوده است که از نمونه‌های بالینی جداسازی و شناسایی شده‌اند.

متعاقب آن حداقل غلظت کشنده باکتری (MBC) نشان داد که عصاره‌های کفیر و ماست ۲۰ درجه سانتیگراد و ماست ۳۷ درجه سانتیگراد در زمان تخمیر ۲۴ ساعته هیچگونه اثر ضد میکروبی با غلظت بکار رفته بر روی باکتریهای مورد آزمایش نداشته است. ولی در همین آزمایش کفیر ۳۷ درجه سانتیگراد با ۲۴ ساعت زمان تخمیر، MIC برابر ۱۵۰ میلی گرم در میلی لیتر برای هر چهار نوع باکتری بوده است. ولی MBC آن برای اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس آرتوس ۳۰۰ میلی گرم در میلی لیتر و برای سالمونلاتیفی و سودوموناس آروژینوزا ۱۵۰ میلی گرم در میلی لیتر بوده است.

اسیدلاکتیک در لیتر است. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس و آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans multiple range test) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند (۱۵).

## یافته‌ها

میزان اسیدلاکتیک و دانسیته عصاره‌ها بررسی شد (جدول ۱). میزان جذب عصاره سانتریفوژ شده کفیر و ماست پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت از زمان تخمیر بر روی باکتریهای مختلف در روش کدورت سنجی با طول موج ۵۳۰ نانومتر نیز بررسی شد (جدول ۲). نتایج مربوط به اندازه‌گیری حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) و

جدول ۱. نتایج بررسی میزان PH برحسب اسیدیته لاکتیک و دانسیته عصاره‌ها

عصاره	انحراف معیار + میانگین PH	دانسیته $g/(cm)^3$
عصاره ماست معمولی در دمای $20^{\circ}C$ و زمان تخمیر ۲۴ ساعت	$0.48 \pm 0.021$	۱/۰۱
عصاره ماست معمولی در دمای $37^{\circ}C$ و زمان تخمیر ۲۴ ساعت	$1.08 \pm 0.023$	۱/۱۸
عصاره ماست معمولی در دمای $20^{\circ}C$ و زمان تخمیر ۴۸ ساعت	$1.15 \pm 0.031$	۱/۲۸
عصاره ماست معمولی در دمای $37^{\circ}C$ و زمان تخمیر ۴۸ ساعت	$1.75 \pm 0.022$	۱/۵
عصاره ماست کفیر در دمای $20^{\circ}C$ و زمان تخمیر ۲۴ ساعت	$0.57 \pm 0.031$	۱/۰۴
عصاره ماست کفیر در دمای $37^{\circ}C$ و زمان تخمیر ۲۴ ساعت	$1.15 \pm 0.042$	۱/۲۵
عصاره ماست کفیر در دمای $20^{\circ}C$ و زمان تخمیر ۴۸ ساعت	$1.17 \pm 0.031$	۱/۵
عصاره ماست کفیر در دمای $37^{\circ}C$ و زمان تخمیر ۴۸ ساعت	$1.67 \pm 0.025$	۱/۸

جدول ۲. میزان جذب عصاره سانتریفوژ شده کفیر و ماست پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت بر روی باکتریهای مختلف در روش کدورت سنجی با طول موج ۵۳۰ نانومتر

نوع باکتری	کفیر $20^{\circ}C$		ماست $20^{\circ}C$		کفیر $37^{\circ}C$		ماست $37^{\circ}C$	
	۴۸ h	۲۴ h	۴۸ h	۲۴ h	۴۸ h	۲۴ h	۴۸ h	۲۴ h
اشرشیاکلی	۰/۵۶	۰/۵	۰/۶۰	۰/۵۱	۰/۵۲	۰/۴۸	۰/۵۵	۰/۴۹
استافیلوکوکوس آرتوس	۰/۵۷	۰/۵۲	۰/۶۲	۰/۵۳	۰/۵۳	۰/۵۱	۰/۵۹	۰/۵۳
سالمونلاتیفی	۰/۵۴	۰/۵۰	۰/۵۷	۰/۵۱	۰/۴۹	۰/۴۳	۰/۵۳	۰/۴۴
سودوموناس آروژینوزا	۰/۴۹	۰/۴۵	۰/۵۰	۰/۵۰	۰/۴۲	۰/۳۸	۰/۴۶	۰/۴۹

میزان جذب نوری سوسپانسیون میکربی در طول موج ۵۳۰ nm برابر با ۰/۶۵ است

## بحث

عصاره‌های بکار رفته به صورت غیراستریل نتایج دقیقی نشان ندادند که به دلیل رشد باکتریهای موجود در ماستها بود، لذا این نتایج مورد بحث قرار نمی‌گیرد. عصاره‌های استریل شده توسط میلی‌پور که با روش کدورت سنجی مورد بررسی قرار گرفت، نتایج خوبی نشان داد.

بر اساس داده‌های جدول ۲ چنانچه زمان تخمیر، ۲۴ ساعت باشد برای هر چهار نوع باکتری بکار رفته در طول موج ۵۳۰ نانومتر، میزان جذب ماست معمولی بیش از ماست کفیر است، همچنین با افزایش دمای تخمیر، هم در مورد ماست معمولی و هم ماست کفیر، میزان جذب کاهش داشت. بنابراین می‌توان به این نتیجه رسید که هرچه دمای تخمیر افزایش یابد محصول متابولیت ماستها اثر ضد میکروبی بیشتری نشان می‌دهند، بطوریکه میزان جذب در همه موارد کاهش یافته بیانگر کاهش میکروارگانیسم‌های بیماریزا در محیط است. در دمای ثابت و با افزایش زمان تخمیر میزان جذب تمام عصاره‌ها کاهش می‌یابد. بدون توجه به نوع باکتریها با افزایش زمان و دمای تخمیر اثرات ضد میکروبی عصاره‌ها بیشتر شد، بطوریکه در همه موارد کاهش جذب و به عبارتی کاهش میزان میکروارگانیسم‌ها به وضوح مشاهده گردید. از طرفی در دمای ثابت و زمان تخمیر مشابه در همه جا اثرات ضد باکتریایی عصاره‌های ماست کفیر بیشتر از ماست معمولی به دست آمد. در تمامی آزمایشات غلظت ماست معمولی و ماست کفیر یکسان و معادل ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. با آزمایشات انجام شده توسط Webb در سال ۱۹۷۰ مشخص شد که اسید بیشتر و  $\text{CO}_2$  بیشتر در دمای پائین‌تر حاصل می‌گردد. افزایش زمان تخمیر اسیدیته حاصل در کفیر را افزایش می‌دهد. از طرفی افزایش دما و زمان تخمیر قوام و ویسکوزیته ماست‌های حاصله را هم افزایش می‌دهد(۱).

با توجه به یافته‌های این مطالعه که با افزایش دما و زمان تخمیر، جذب نوری عصاره برای سودوموناس حداقل ۰/۳۸ بوده به ترتیب برای سالمونلا و اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس برابر با ۰/۴۳، ۰/۴۸ و ۰/۵۱ بوده که علت آن می‌تواند افزایش اسیدیته حاصل در کفیر باشد که سبب افزایش اثرات ضد میکروبی آن شده و کاهش جذب را نشان دهد.

مقدار MIC و MBC عصاره‌ها با زمان تخمیر ۴۸ ساعت برای باکتریهای مورد آزمایش نشان داد که در دماهای ۲۰ و ۳۷ درجه سانتیگراد مقدار این دو عامل بر روی چهار باکتری مورد آزمایش برابر بوده و مقدار آن ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد. برای عصاره کفیر ۲۰ درجه سانتیگراد و برای سه باکتری بکار رفته میزان MIC و MBC ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است. در حالیکه برای سودوموناس آئروژینوزا این غلظت‌ها میزان ۱۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر را نشان داده است (MIC=MBC). برای سه باکتری مورد آزمایش عصاره کفیر ۳۷ درجه سانتیگراد با زمان تخمیر ۴۸ ساعت میزان MIC برابر ۱۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر ولی برای سودوموناس آئروژینوزا برابر با ۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است و MBC به دست آمده برای عصاره مزبور با ۴۸ ساعت زمان تخمیر برای اشرشیاکلی ۳۰۰، استافیلوکوکوس آئروس و سالمونلاتیفی ۱۵۰ و برای سودوموناس آئروژینوزا ۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به دست آمده است. اثر ضد میکروبی عصاره‌های فیلتر شده در روش چاهک پلیت بر روی سه باکتری بکار رفته اثری را نشان نداده و فقط بر روی سودوموناس آئروژینوزا عصاره کفیر ۳۷ درجه سانتیگراد با تخمیر ۴۸ ساعته دارای قطر هاله عدم رشد برابر با  $14\text{mm} \pm 0/2$  بوده است و همین عصاره که با نسبت ۱ به ۵ و ۱ به ۱ با سرم فیزیولوژی استریل رقیق شده بود به ترتیب قطر هاله عدم رشدی برابر با  $11\text{mm} \pm 0/2$  و  $9\text{mm} \pm 0/1$  را نشان داد، از عصاره کفیر ۲۰ درجه سانتیگراد با زمان تخمیر ۴۸ ساعت قطر هاله عدم رشدی برابر با  $9\text{mm} \pm 1$  بدست آمده و قطر چاهک شاهد و ماست معمولی در شرایط فوق‌الذکر معادل ۶ میلی‌متر بوده است. قطر هاله عدم رشد به ترتیب اثر ۹ و ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر سولفات جنتامایسین بر روی سودوموناس آئروژینوزا برابر  $9\text{mm} \pm 0/5$  و  $4\text{mm} \pm 0/3$  بوده است. MBC این آنتی‌بیوتیک بر روی باکتری مزبور ۷/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است. در ادامه کار اثر ضدقارچی عصاره‌های سانتریفوژ و فیلتر شده هم بررسی شد و با استفاده از غلظت اولیه ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر برای تمام عصاره‌ها، رقت لوله‌ای تهیه شد و روی سه نوع قارچ کاندیدا آلبیکانس، تریکوفیتون متاگروفیش و میکروسپوروم کانیس بررسی شد، ولی در هیچ‌یک از عصاره‌ها اثر ضدقارچی رویت نگردید.

سولفات جنتامایسین می‌باشد. قطر عصاره ۳۷ درجه سانتیگراد و زمان تخمیر ۴۸ ساعت برابر ۱۴ میلی‌متر بود که تقریباً معادل ۹ میکروگرم در میلی‌لیتر سولفات جنتامایسین می‌باشد.

میزان MBC سولفات جنتامایسین برای باکتری سودوناس ۷/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای عصاره کفیر ۳۷ درجه سانتیگراد و زمان تخمیر ۴۸ ساعت برابر ۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد. محققین دیگر نیز بررسی‌هایی در مورد اثرات ضد میکروبی شیرهای تخمیر شده در محیط *in vitro* انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که ماست، رشد سالمونلا و شیگلا را، مخصوصاً وقتی که به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفته باشد، بطور مؤثری مهار می‌کند (۱۶). تحقیقات دیگری با آغازگرهای مختلف در تهیه ماست کفیر بکار رفت و خواص ضد میکروبی متنوع‌تری را نشان داد. بطوریکه باکتری لاکتوباسیلوس پلاننتاروم ایجاد ماده ضد میکروبی لاکتین کرده و در جهت کنترل رشد اشرشیاکلی و میکوباکتریوم توبرکلوزیس و باسیلوس سوبتیلیس بکار می‌رود (۱۷). در قسمتی از آزمایشات بجای شیر معدی، سرم فیزیولوژی استفاده شد، که هاله عدم رشد در محیط جامد بر اثر رقت، کاهش پیدا کرد. نتایج مشابهی که طبق آزمایشات Evenshtein در سال ۱۹۷۸ به دست آمد، مصرف کفیر در محیط معدی - روده‌ای، غلظت کل اسید معدی را افزایش می‌دهد و اثرات ضد میکروبی بیشتری بر روی میکروارگانیزم‌های بیمارزا دارد و چنانچه بجای شیر معدی، سرم فیزیولوژی بکار رود این اثر کم می‌شود (۱۸). لذا با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه می‌توان از خاصیت ضد میکروبی ماست کفیر جهت از بین بردن میکروبهای بیمارزا استفاده کرد.

در بررسی اثر ضد میکروبی عصاره‌های سانتی‌فیوژ و فیلتر شده که در نتایج آمده است، مشخص شد که با روش چاهک پلیت فقط عصاره کفیر فیلتر شده ۳۷ درجه سانتیگراد و زمان تخمیر ۴۸ ساعت دارای قطر هاله عدم رشدی معادل ۱۴ میلی‌متر بوده و این مقدار برای عصاره ۲۰ درجه سانتیگراد ۹ میلی‌متر بوده است. همچنین در زمان تخمیر ثابت هرچه دما افزایش یابد اثر ضد میکروبی بخصوص روی باکتری سودوموناس زیاد می‌شود. در تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد عصاره فیلتر شده کفیر ۳۷ درجه سانتیگراد و زمان تخمیر ۴۸ ساعت بیشترین اثر، علیه سودوموناس (۷۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) مشاهده شد. هرچه دما و زمان تخمیر افزایش یابد، عدم کدورت لوله‌ها و شفافیت آنها بهتر دیده می‌شود. برای مثال عصاره کفیر ۳۷ درجه سانتیگراد و زمان تخمیر ۴۸ ساعت برای باکتری سالمونلاتیفی بکار رفت و لوله شماره ۲ که غلظت عصاره کفیر در آن ۱۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود کاملاً شفاف دیده شد و حال آنکه در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد این شفافیت که نشانه عدم رشد میکروب و تأثیر ضد میکروبی عصاره بکار رفته است، مشاهده نشد. میزان M.B.C نیز تعیین شد که در اکثر موارد برابر با MIC بود و کمترین مقدار MBC مربوط به عصاره فیلتر شده ماست کفیر در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و زمان تخمیر ۴۸ ساعت بوده است.

در مقایسه‌ای که بین عصاره‌های مختلف کفیر و آنتی بیوتیک جنتامایسین صورت گرفت، دیده شد که قطر ناحیه عدم رشد عصاره کفیر ۲۰ درجه سانتیگراد و زمان تخمیر ۴۸ ساعت (با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا برابر ۹ میلی‌متر بود که تقریباً معادل ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر

\*\*\*\*\*

## References

1. Webb H. By products from milk. The AVI pub Co 1970; pp: 34-6.
2. Mukai T, et al. Gel forming characteristics and rheological properties of keffiran. Food Science 1991; 56(4): 1017-26.
3. Mukai T, et al. Carboxy methyl keffiran preparation and viscometric properties. Food Science 1990; 55(5): 1483-4.
4. Margulise L. Sex and death and keffir. Scientific American, 1994; 88:448-52.

5. Marshall V, Alevie ME. New developments in the biochemistry of the starter culture in fermented milks. *Biochem Soc Trans* 1984; 12(6): 50-2.
6. Viess M, Keller B. Enhancement of intestinal hydrolysis of lactose by microbial beta galactosidase of keffir. *Br J Utr* 1992; 67(1): 67-75.
7. کورنیکوسکی ف. پنیر و فرآورده های شیری ، ترجمه: حکمتی م. مؤسسه انتشارات چاپ دانشگاه تهران، ۱۳۵۳؛ ص: ۵۲.
8. جواهری ر. پایان نامه دکترای داروسازی . بررسی اثر ضدمیکروبی برگ و میوه گیاه گردو. دانشگاه علوم پزشکی ، دانشکده داروسازی اصفهان: ۱۳۶۸؛ ۸-۴۶.
9. The United States pharmacopeia, 21 rev. Official from january 1985;
10. هوگو و ب، راسل آ د. میکروب شناسی دارویی، ترجمه فضلای بزان، چاپ چهارم، انتشارات علوم پزشکی مشهد ۱۳۶۷؛ ص: ۴۶، ۴۷، ۴۸، ۳۱۴ و ۹۰۸.
11. Lansing M, Prescott J, Harly P, Kein PA. *Microbiology* WCB 1990; p: 850.
12. Evans E, Richardson M. *Medical mycology* IRL. Press Oxford 1989; p: 325.
13. Eugene W, Nester C, Evans Roberts N, Pearsal D, et al. *Microbiology human prespective* , red, WCB Mcgraw. Hill Boston 1998; pp:453-64.
14. Urbisinov Z, Serventnik C, Ospanova M. Amino acid composition and biological value of koumis leaven. *Vopr Piton* 1985; 5: 68-71.
15. Moxwell EA. *Introduction to statistical thinking* prentic hall Inc. New gersey 1993; p: 397.
16. Alm L. Survival rate of salmonella in fermented milk products with and without added human gastric juice an invitro study. *Prog Food Nutr Sci* 1983; 7(3-4).
17. Wong N. *Fundamental of dairy chemistry*, 3<sup>rd</sup> ed. The AVI pub. Co 1988; 49: 673- 92.
18. Evenshtein E. Use of keffir for stimulation of gastric secretion , *Probl Tuberk* 1978; 2: 82-4.