مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

قابلیت زنده‌مانی *Lactiplantibacillus pentosus* v390 در شرایط اسیدی و صفراوی، و ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی و ایمنی آن

بهروز علیزاده بهبهانی*[۱]، حسین جوینده[۲]، پگاه نمازی[۳]

۱-دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

۲-استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

۳-دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱/۲۱

کلمات کلیدی:

آمین‌های بیوژنیک،

جذب کلسترول،

فعالیت ضدباکتریایی،

هیدروفوبیسیتی

DOI:10.22034/FSCT.21.153.192.

* مسئول مکاتبات:

B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

چکیده

در این پژوهش، شناسایی مولکولی *Lactiplantibacillus pentosus* v390 توسط تجزیه و تحلیل ژن S rRNA ۱۶ به‌کمک پرایمرهای ۲۷FYM و ۱۴۹۲R انجام شد. قابلیت زنده مانی سویه در شرایط اسیدی در pHهای ۲/۵، ۳/۵ و ۴/۵، و مقاومت به صفرا در غلظت های صفر، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ درصد بررسی شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی، جذب کلسترول، هیدروفوبیسیتی، پتانسیل تولید آنزیم DNase و آمین‌های بیوژنیک، فعالیت همولیتیک، و مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی ارزیابی شد. اثر ضدمیکروبی سویه علیه باکتری‌های بیماری‌زا (*Shigella dysenteriae*، *Salmonella enterica serovar Typhimurium*، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* ، *Listeria monocytogenes* و *Bacillus subtilis*) به روش انتشار در آگار به کمک چاهک و دیسک بررسی گردید. نتایج نشان داد سویه *L. pentosus* v390 توانایی زنده‌مانی در pHهای مختلف را داشت اما با گذشت سه ساعت از نگهداری در pH ۲/۵ تعداد باکتری کاهش یافت. سویه مذکور قابلیت رشد در غلظت‌های مختلف نمک صفراوی را از خود نشان داد. *L. pentosus* v390 نسبت به آنتی‌بیوتیک Nitrofurazone نیمه‌حساس، نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های Nalidixic و Imipenem مقاوم و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های Vancocin، Gentamicin، Chloramphenical، Penicillin و Ciprofloxacin حساس بود. هیدروفوبیسیتی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH و ABTS)و میزان جذب کلسترول سویه به‌ترتیب ۰/۳۸ ± ۴۶/۵۰، ۰/۴۰ ± ۳۷/۲۰، ۰/۴۵ ± ۳۹/۹۰ و ۰/۴۷ ± ۳۶/۵۰ درصد بود. تولید آنزیم DNase، آمین‌های بیوژنیک و فعالیت همولیتیک از سویه مشاهده نشد. *L. pentosus* v390 دارای اثر ضدمیکروبی بیشتری بر باکتری‌های گرم مثبت بود. نتایج نشان داد که *L. pentosus* v390 دارای ویژگی‌های پروبیوتیکی مطلوبی است که پژوهش‌های بیشتر به منظور تأیید قابلیت کاربرد آن در تولید محصولات غذایی ضروری است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

۱-مقدمه

امروزه میکروارگانیسم‌های مختلفی تحت عنوان باکتری‌های پروبیوتیک معرفی شده‌اند. باکتری‌های اسید لاکتیک از جمله رایج‌ترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی هستند که به‌عنوان یک نگهدارنده ایمن (GRAS[1])، مورد تأیید سازمان غذا و دارو آمریکا و سازمان ایمنی غذایی اروپا هستند. این میکروارگانیسم‌ها هم‌چنین دارای پتانسیل عملکردی مؤثر در دستگاه گوارشی انسان می‌باشند [۱ و ۲]. مصرف باکتری‌های اسید لاکتیک به‌میزان کافی (10^7 CFU/mL[2]) موجب جلوگیری از ایجاد عفونت، پیشگیری از بروز انواع سرطان و تومورها، تقویت سیستم ایمنی، کاهش کلسترول، کمک به هضم لاکتوز، کاهش آلرژی و ... می‌شود [۳ و ٤]. باکتری‌های اسید لاکتیک پس از مصرف کربوهیدارت منجر به تولید ترکیباتی نظیر باکتریوسین‌ها، دی استیل، اسیدهای آلی و پراکسید هیدروژن می‌شوند، به‌همین دلیل دارای فعالیت ضدمیکروبی علیه باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشند [۵]. علت مکانیسم عمل باکتری‌های اسید لاکتیک را دفع رقابتی عوامل بیماری‌زا عنوان کرده‌اند، زیرا میکروارگانیسم‌های مذکور به‌دلیل رقابت به‌منظور دستیابی به مواد مغذی و جایگاه‌های اتصال، تغییر متابولیسم سایر عوامل بیماری‌زا و تحریک سیستم ایمنی بدن قادرند موجب جلوگیری از تشکیل کلونی‌های پاتوژنی در دستگاه گوارش نیز شوند [٦]. از مهم‌ترین باکتری‌های اسید لاکتیک که امروزه به‌عنوان میکروارگانیسم پروبیوتیکی در تهیه محصولات غذایی فراسودمند به‌صورت تجاری استفاده می‌شوند، *Lactiplantibacillus*ها هستند. *Lactiplantibacillus*ها باکتری‌های گرم مثبت، بی‌هوازی، بدون اسپور، کاتالاز منفی، میله‌ای شکل و میکروآئروفیلیک[3] هستند [۳]. بر اساس پژوهش‌های پیشین، pH بهینه برای رشد *Lactiplantibacillus*ها حدود ۵/۵ تا ۵/۸ است. در برخی از مطالعات گزارش شده است باکتری‌های مذکور قادر هستند در pH کمتر از ۵ نیز به‌خوبی رشد کنند. هم‌چنین گزارش شده است باکتری‌های اسید لاکتیک قابلیت رشد در دماهای مختلف (۵۳-۲ درجه سانتی‌گراد) را دارند [۷]. برخی از گونه‌های *Lactiplantibacillus*ها به‌دلیل توانایی جلوگیری از کلونی‌شدن پاتوژن‌های بیماری‌زا ضمن خواص درمانی دارای فعالیت ضدمیکروبی نیز هستند. *Lactiplantibacillus*ها در سراسر دستگاه گوارش انسان گسترده و ۱ تا ٦ درصد از فلور میکروبی روده را تشکیل می‌دهند [٤]. به‌همین علت این باکتری‌ها ضمن قابلیت زنده‌مانی لازم است توانایی عملکردی خود را نیز در دستگاه گوارش حفظ نمایند. از این رو به‌منظور ارزیابی خواص و پتانسیل پروبیوتیکی آن‌ها از آزمون‌های مختلفی نظیر تحمل شرایط اسید و صفرا، پتانسیل کاهش کلسترول، توانایی هیدرولیز نمک‌های صفراوی، غیرهمولیتیک بودن، پتانسیل فعالیت ضدمیکروبی و ... استفاده می‌شود [۸].

هدف از این مطالعه بررسی ویژگی‌های پروبیوتیکی، فعالیت ضدمیکروبی و میزان ایمنی باکتری اسید لاکتیک *Lactiplantibacillus pentosus* بود. بر اساس اطلاعات موجود در گذشته *Lactiplantibacillus pentosus* با نام *Lactobacillus pentosus* شناخته می‌شد [۹]. به‌منظور ارزیابی ویژگی‌های باکتری مورد نظر از آزمون‌های مقاومت به اسید و نمک صفرا، میزان حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، میزان کاهش کلسترول، مقدار تولید آنزیم DNase و آمین‌های بیوژنیک، پتانسیل آب‌گریزی سویه، پتانسیل همولیتیکی و فعالیت ضدمیکروبی باکتری *Lactiplantibacillus pentosus* v390 علیه باکتری‌های بیماری‌زا استفاده شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- جداسازی و شناسایی سویه *L. pentosus* v390

1. Generally Recognized as Safe
2. Colony Forming Unit
3. Microaerophilic

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

پس از جمع‌آوری نمونه‌های ماست محلی به‌صورت تصادفی، تحت شرایط تبرید به آزمایشگاه منتقل شدند. ml ٤٥ آب پپتونه ۰/۱ درصد به ۵ گرم از نمونه‌ها، افزوده شد. پس از هموژن شدن نمونه‌ها توسط هموژنایزر (Seaward، ساخت آلمان) و آماده‌سازی رقت‌ها 10^{-1} تا 10^{-6} به‌صورت سریالی، بر محیط MRS[4] Agar کشت داده شدند. سویه از محیط کشت جداسازی شد. سپس رنگ آمیزی گرم و تست کاتالاز انجام شد. پرایمرهای عمومی FYM ۲۷ (5′-AGA GTT TGATYMTGG CTC AG-3′) و R ۱٤۹۲ (5′- GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3′) بر اساس تکثیر ناحیه محافظت‌شده قطعه ١٦S rRNA در این پژوهش استفاده شدند [۱۰].نتایج نشان داد که ایزوله با خواص کاتالاز منفی و گرم مثبت با میزان شباهت ۹۸ درصد متعلق به سویه *L. pentosus* v390 است.

۲-۲- آزمون مقاومت به اسید

جهت بررسی مقاومت به اسید، باکتری موردنظر با گذشت ۱۸ تا ٢٤ ساعت از تلقیح و گرمخانه‌گذاری باکتری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار مدل (Hermle، ساخت کشور آلمان) سلول‌های باکتری از محیط کشت جداسازی شدند. پس از جداسازی رسوب به‌دست آمده با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر (Wp، Biowave II، ساخت انگلستان) با طول‌موج ٦۰۰ نانومتر، دارای جذب ۰/٦ در بافر فسفات استریل حل شد. ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه‌شده در ٤ میکروتیوپ حاوی ٤۵۰ میکرولیتر بافر فسفات اسیدی استریل دارای pHهای مختلف ۲/۵، ۳/۵ و ٤/۵ تلقیح و در شرایط بی‌هوازی و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد .پس از گذشت صفر، ۱، ۲ و ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری هر کدام از نمونه‌ها، رقت‌های متوالی از بافر فسفات استریل تا 10^{-9} تهیه و کشت سطحی روی محیط کشت MRS Agar، انجام شد. با اتمام گرمخانه‌گذاری به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلنی‌های تشکیل‌شده بر سطح محیط کشت توسط کلنی کانتر شمارش و زنده‌مانی باکتری *L. pentosus* v390 با نمونه کنترل مقایسه و ارزیابی شد [۱۱].

۲-۳- آزمون مقاومت به صفرا

میزان مقاومت باکتری *L. pentosus* v390 به نمک‌های صفراوی مطابق با روش وسیعی و همکاران (۲۰۱۸)، مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۲]. پس از فعالسازی باکتری، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون بر محیط‌های کشت MRS Agar حاوی صفر، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ درصد از نمک‌های صفراوی کشت داده شد. پس از اتمام گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤٨ ساعت، نتایج به‌صورت چشمی مشاهده شد.

۲-٤- آزمون حساسیت به آنتی‌بیوتیک

میزان حساسیت سویه باکتریایی نظر نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی نظیر Vancocin، Gentamicin، Nitrofurazone، Chloramphenical، Nalidixic، Penicillin، Imipenem، Ciprofloxacin مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور از کشت سویه *L. pentosus* v390، سوسپانسیونی معادل استاندارد نیم مک فارلند تهیه و از آن بر محیط MRS Agar کشت سطحی داده شد. دیسک‌های آنتی‌بیوتیک به‌کمک پنس استریل روی محیط کشت قرار گرفتند. پس از اتمام گرمخانه‌گذاری به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم‌رشد در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج به‌صورت مقاوم، نیمه‌حساس و حساس گزارش شد [۱۳].

۲-۵- آزمون قابلیت حذف کلسترول

باکتری *L. pentosus* v390 پس از تلقیح در محیط کشت MRS Broth همراه با محلول استوک کلسترول (سیگماآلدریچ) و ۰/۳ درصد نمک صفراوی در دمای ۳۷

4. De Man, Rogosa and Sharpe

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. محیط کشت MRS Broth تلقیح نشده به‌عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. محیط تلقیح‌شده در سانتریفیوژ با دور ٦۰۰۰ rpm در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ دقیقه قرار گرفت. سپس ۰/۳ mL از اتانول ۹۵ درصد (مرک، ساخت آلمان) و ۲ mL از KOH (مرک، ساخت آلمان) به ۰/۵ mL از سوپرناتانت نمونه‌ها، افزوده شد. ۵ mL هگزان (مرک، ساخت آلمان) و ۳ mL آب‌مقطر به نمونه‌ها افزوده شد. مخلوط به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط به‌منظور جداسازی فاز، نگهداری شد. جذب نمونه تلقیح‌شده و تلقیح‌نشده در طول‌موج ۵۷۰ نانومتر خوانده و منحنی استاندارد جذب غلظت‌های مختلف کلسترول (صفر، ۳/۹۱، ۷/۸۱، ۱۵/٦۳، ۳۱/۲۵، ٦۲/۵، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ µg/ mL) رسم شد [۱٤]. جذب کلسترول از رابطه (۱) به‌دست آمد:

$$\text{درصد جذب کلسترول} = \frac{C-T}{C} \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

C: غلظت کلسترول (µg/ml) در محیط کشت تلقیح‌نشده و T غلظت کلسترول (µg/ml) در محیط کشت تلقیح‌شده.

۲-٦- آزمون سنجش آب‌گریزی سطح سلول[5]

در این روش باکتری مورد نظر در سانتریفیوژ با دور g ٦۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. به‌منظور رسیدن چگالی نوری سویه‌ها در ٦۰۰ نانومتر به ۰/٦ تا ۰/۷ (OD_0)، سویه‌ها در بافر غوطه‌ور شدند. سپس ۳ میلی‌لیتر از آن‌ها به ۱ میلی‌لیتر ان-هگزادکان[6] (مرک، آلمان) افزوده و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. لوله آزمایش حاوی سویه در ورتکس به‌مدت ۳ دقیقه قرار گرفت. پس از نگهداری در دمای اتاق، در نهایت جذب فاز آبی (OD) آن از طریق رابطه (۲) اندازه‌گیری شد [۱۱].

رابطه (۲)

$$\text{درصد آب‌گریزی} = \left[\frac{OD_0-OD}{OD_0}\right] \times 100$$

۲-۷- آزمون بررسی فعالیت همولیتیک

میزان فعالیت همولیتیک باکتری *L. pentosus* v390 پس از کشت خطی روی محیط کشت آگار خوندار با ۷ درصد حجمی-حجمی خون گوسفند مورد بررسی قرار گرفت [۱۰]. محیط کشت تلقیح‌شده در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و تغییرات رنگی ایجادشده مورد بررسی قرار گرفتند. تشکیل هاله شفاف، هاله سبز رنگ یا عدم تشکیل هاله در اطراف کلنی‌ها به‌ترتیب نشان‌دهنده β –hemolysis، α-hemolysis و γ – hemolysis بود. در این آزمون از باکتری های *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* به‌عنوان نمونه کنترل برای β-hemolysis و α-hemolysis استفاده شد.

۲-۸- آزمون ارزیابی تولید آنزیم DNase

این آزمون مطابق با روش وسیعی و همکاران (۲۰۲۰)، انجام شد [۱٤].

۲-۹- آزمون بررسی تولید آمین بیوژنیک[7] (BA)

توانایی تولید آمین‌های بیوژنیک توسط باکتری *L. pentosus* v390 به‌وسیله دکربوکسیلاسیون اسیدهای آمینه بر محیط کشت حاوی پیش‌سازهای اسیدهای آمینه نظیر ال-هیستیدین[8]، مونو هیدروکلرید[9]، نمک تیروزین دی‌سدیم[10]، ال- اورنیتین[11] و ال-لیزین[12] مطابق با روش برزگر و همکاران (۲۰۲۱)، انجام شد [۱۱]. یک بار باکتری در محیط کشت MRS Broth با پیش‌سازهای اسید آمینه ذکرشده و پیریدوکسال۵- فسفات[13] تلقیح و بار دیگر در محیط کشت بدون پیش‌سازهای اسید آمینه و حاوی بروموکرزول بنفش (سیگماآلدریچ) تلقیح شد. با اتمام گرمخانه‌گذاری به‌مدت ۲

5. Hydrophobicity
6. n- hexadecane
7. Biogenic amine
8. L-histidine
9. Monohydrochloride
10. Tyrosine di-Sodium Salt
11. L.ornithine
12. L. lysine
13. Pyridoxal 5-phosphate

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

تا ۵ ساعت، تشکیل رنگ ارغوانی در محیط کشت نشان‌دهنده تولید آمین‌های بیوژنیک بود.

۲-۱۰- آزمون ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی باکتری *L. pentosus* v390 مطابق با روش کیم و همکاران (۲۰۲۲)، انجام شد [۱۵]. پس از تلقیح باکتری مورد نظر و شستشو دو مرحله‌ای با بافر فسفات استریل در سانتریفیوژ قرار گرفت. محلول DPPH[14] ۰/۲ میلی‌مولار (سیگماآلدریچ) به نمونه افزوده و در دمای اتاق به‌مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد. ۳۰۰ میلی‌لیتر از نمونه و ۶۰۰ میلی‌لیتر از محلول ABTS (سیگماآلدریچ) به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر برای DPPH و طول‌موج ۷۳۴ نانومتر برای ABTS خوانده شد. از محلول اسید آسکوربیک به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد توسط سویه مورد نظر از طریق رابطه (۳) محاسبه شد:

$$(A - A_{sample} / A) \times 100 \quad \text{رابطه (۳)}$$

۱) = میزان درصد مهار رادیکال‌های آزاد

در این فرمول، A_{sample} میزان جذب نمونه مورد آزمایش، A میزان جذب نمونه کنترل.

۲-۱۱- آزمون ضدمیکروبی

به‌منظور ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی باکتری *L. pentosus* v390 علیه پاتوژن‌های بیماری‌زا از دو روش انتشار به‌کمک چاهک آگار (Well Diffusion Agar) و دیسک دیفیوژن آگار (Disk Diffusion Agar) استفاده شد.

به‌منظور ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی باکتری *L. pentosus* v390 به‌روش چاهک آگار مطابق با روش نوشاد و همکاران (۲۰۲۱)، از ۳ سویه بیماری‌زا گرم منفی نظیر PTCC ۱۱۸۸ *Salmonella enterica serovar Typhimurium* ATCC ۱۴۰۲۸، *Shigella dysenteriae* ATCC ۲۵۹۲۲ و *Escherichia coli* و ۳ سویه بیماری‌زا گرم مثبت نظیر *Staphylococcus aureus* ATCC ۲۵۹۲۳، ۱۹۱۱۵ *Listeria monocytogenes* ATCC و ۱۰۲۳ PTCC *Bacillus subtilis* استفاده شد [۳]. پس از فعال‌سازی سویه‌های بیماری‌زا، سوسپانسیون بر اساس استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد و روی محیط کشت MHA[15] (مرک، ساخت آلمان) کشت داده شدند. در محیط‌های کشت داده‌شده چاهک‌هایی به قطر ۶ mm به‌کمک انتهای پیپت استریل ایجاد شد. باکتری *L. pentosus* v390 فعال‌شده در محیط کشت MRS Broth در دستگاه سانتریفیوژ (Hermle، ساخت کشور آلمان) با دور ۵۰۰۰g، به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. به‌منظور تهیه سوپرناتانت فاقد سلول جامد از مایع رویی برداشته و از فیلتر سر سرنگی به‌قطر ۰/۲۲ mm عبور داده شد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوپرناتانت فاقد سلول اسیدی و خنثی در چاهک‌های حفرشده ریخته شد. پس از اتمام گرمخانه‌گذاری به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله عدم‌رشد در اطراف چاهک به‌کمک خط‌کش اندازه‌گیری و به mm گزارش شد.

مطابق با روش علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۲۲)، فعالیت ضدمیکروبی باکتری *L. pentosus* v390 به‌روش انتشار در آگار به‌کمک دیسک علیه باکتری‌های پاتوژن مذکور مورد ارزیابی قرار گرفت [۷]. سوسپانسیون تهیه شده از باکتری‌های پاتوژن مطابق با استاندارد نیم مک فارلند بر محیط کشت MHA کشت داده شدند. پس از غوطه‌ور شدن دیسک‌های کاغذی با قطر ۶ mm به‌مدت ۱۵ دقیقه در سوپرناتانت فاقد سلول تهیه‌شده از باکتری *L. pentosus* v390، به‌کمک پنس استریل روی محیط کشت MHA کشت داده‌شده قرار گرفتند. پس از اتمام گرمخانه‌گذاری به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد هاله عدم‌رشد اطراف دیسک به‌کمک خط‌کش اندازه‌گیری و به mm گزارش شد.

14. 2.2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

15. Muller Hinton Agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

۳- نتایج و بحث

در پژوهش حاضر، پس از جداسازی و شناسایی مولکولی، درصد زندمانی باکتری *L. pentosus* v390 در pHهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت. نتایج میزان زنده‌مانی *L. pentosus* v390 در pHهای مختلف در شکل ۱، نشان داده شده است. نتایج نشان داد باکتری مذکور قابلیت زنده‌مانی در pHهای مختلف را داشت، در حالیکه با گذشت زمان، زنده‌مانی باکتری مورد نظر در pHهای مختلف کاهش یافت. با کاهش pH میزان زنده‌مانی باکتری کاهش یافت. به‌صورتیکه تعداد *L. pentosus* v390 در pH ۲/۵ پس از گذشت ۳ ساعت ماندگاری، به‌صورت چشمگیری کاهش یافت و از مقدار Log CFU/ml ۰/۱۶ ± ۸/۲۰ به مقدار Log CFU/ml ۰/۲۳ ± ۶/۹۰ رسید که بیشترین میزان کاهش لگاریتمی نسبت به سایر pHها بود.

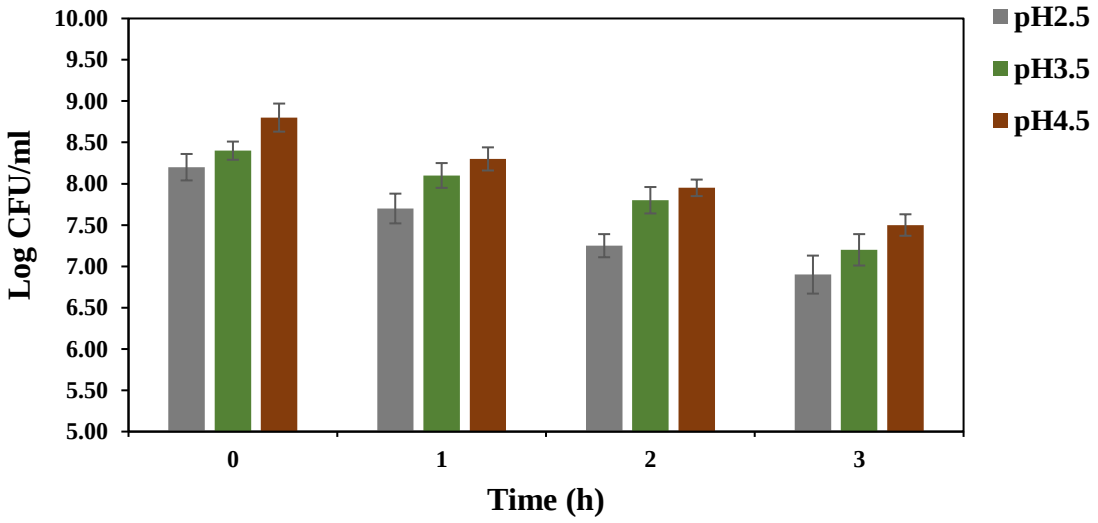

Fig. 1. The capacity of *Lactiplantibacillus pentosus* v390 to endure in an acidic pH environment.

در پژوهش حاضر باکتری *L. pentosus* v390 نسبت به غلظت‌های مختلف نمک صفراوی مقاومت خوبی داشت، به‌صورتیکه با افزایش غلظت نمک صفراوی تا ۰/۷ ٪ باکتری مورد نظر قابلیت رشد خود را حفظ کرد. نتایج آزمون بررسی مقاومت باکتری *L. pentosus* v390 به غلظت‌های مختلف نمک صفراوی در جدول ۱، گزارش شده است.

Table 1. The ability *Lactiplantibacillus pentosus* v390 to endure varying concentrations of bile salts

Survivability	0.3%	0.5%	0.7%	Control
	Growth	Growth	Growth	Growth

در پژوهش حاضر، میزان ایمنی باکتری *L. pentosus* v390 با آزمون‌های ارزیابی میزان فعالیت همولیتیکی، قابلیت تولید آنزیم DNase و آمین‌های بیوژنیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود باکتری مورد نظر فاقد فعالیت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

همولیتیکی، قابلیت تولید آنزیم DNase، آمین‌های بیوژنیک و در نتیجه دارای ایمنی به‌جهت تولید محصولات غذایی پروبیوتیکی بود. هم‌چنین نتایج بررسی میزان حساسیت *L. pentosus* v390 به آنتی‌بیوتیک‌های رایج نشان داد *L. pentosus* v390 نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های Nalidixic و Imipenem مقاوم، نسبت به آنتی‌بیوتیک Nitrofurazone نیمه‌حساس و نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بود (مقایسه با جدول CLSI[16]). نتایج مربوط به بررسی میزان حساسیت *L. pentosus* v390 نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در جدول ۲، گزارش شده است.

Table 2. Effect of common therapeutic antibiotics on *Lactiplantibacillus pentosus* v390

Antibiotic	*L. pentosus v390*
Nitrofurazone	Intermediate
Vancocin	Sensitive
Gentamicin	Sensitive
Chloramphenicol	Sensitive
Ciprofloxacin	Sensitive
Penicillin	Sensitive
Nalidixic	Resistant
Imipenem	Resistant

در پژوهش حاضر، نتیجه آزمون بررسی میزان قابلیت جذب کلسترول و میزان آب‌گریزی سطح سلول توسط *L. pentosus* v390 به‌ترتیب ۰/٤۷ ± ۳٦/۵۰ و ۰/۳۸ ± ٤٦/۵۰ درصد بود. *L. pentosus* v390 دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود (شکل ۲). در پژوهش حاضر میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS توسط سویه به‌ترتیب ۰/٤۰ ± ۳۷/۲۰ و ۰/٤۵ ± ۳۹/۹۰ درصد گزارش شد.

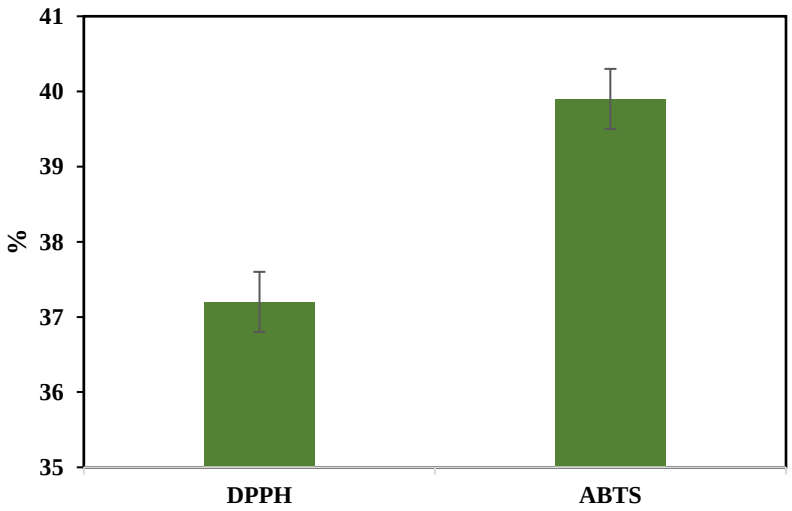

Fig. 2. The antioxidant activity (DPPH & ABTS) of *Lactiplantibacillus pentosus* v390

نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول اسیدی و غیراسیدی (خنثی) *L. pentosus* v390 بر باکتری‌های پاتوژن بیماری‌زا به‌روش انتشار به‌کمک چاهک آگار و دیسک دیفیوژن به‌ترتیب در شکل ۳ و ٤ گزارش شده است. نتایج حاکی از آن است که سویه دارای اثر مهارکنندگی قابل قبولی بر باکتری‌های بیماری‌زا بود. هم‌چنین سوپرناتانت

16. Clinical and laboratory standards institute

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

فاقد سلول اسیدی دارای اثر ضدمیکروبی بیشتری بر پاتوژن‌ها بود.

اثر ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول خنثی *L. pentosus* v390 به‌روش انتشار به‌کمک چاهک آگار بر باکتری‌های بیماری‌زا گرم مثبت *Staphylococcus aureus* با قطر هاله عدم‌رشد ۰/۲۰ ± ۸/۲۰ میلی‌متر، *Bacillus subtilis* با قطر هاله عدم‌رشد ۰/۲۲ ± ۸/۱۰ میلی‌متر، *Listeria monocytogenes* با قطر هاله عدم‌رشد ۰/۲۷ ± ۷/۹۰ میلی‌متر و باکتری گرم منفی *Salmonella enterica serovar Typhimurium* با قطر هاله عدم‌رشد ۰/۲٤ ± ٦/۹۰ میلی‌متر بود. اثر ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول اسیدی *L. pentosus* v390 باکتری‌های بیماری‌زا *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis* و *Salmonella enterica*، *Listeria monocytogenes*، *Escherichia coli*، *serovar Typhimurium* و *Shigella dysenteriae* با قطر هاله عدم‌رشد به‌ترتیب ۰/۳۵ ± ۹/۹۰، ۰/۲۰ ± ۹/۵۰، ۰/٤٦ ± ۹، ۰/۲۹ ± ۷/٤۰، ۰/۱۳ ± ۷/۱۰ و ۰/۲٤ ± ۷ میلی‌متر بود.

حساس‌ترین باکتری پاتوژن در برابر اثر ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول خنثی و اسیدی مورد نظر، *Staphylococcus aureus* بود. سوپرناتانت فاقد سلول خنثی اثر ضدمیکروبی بر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Shigella dysenteriae* نداشت، درحالیکه سوپرناتانت فاقد سلول اسیدی دارای اثر ضدمیکروبی بر باکتری‌های *Escherichia coli* و *Shigella dysenteriae* بود که مقاوم‌ترین باکتری‌های پاتوژن در برابر اثر ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول خنثی و اسیدی مورد نظر بودند (شکل ۳).

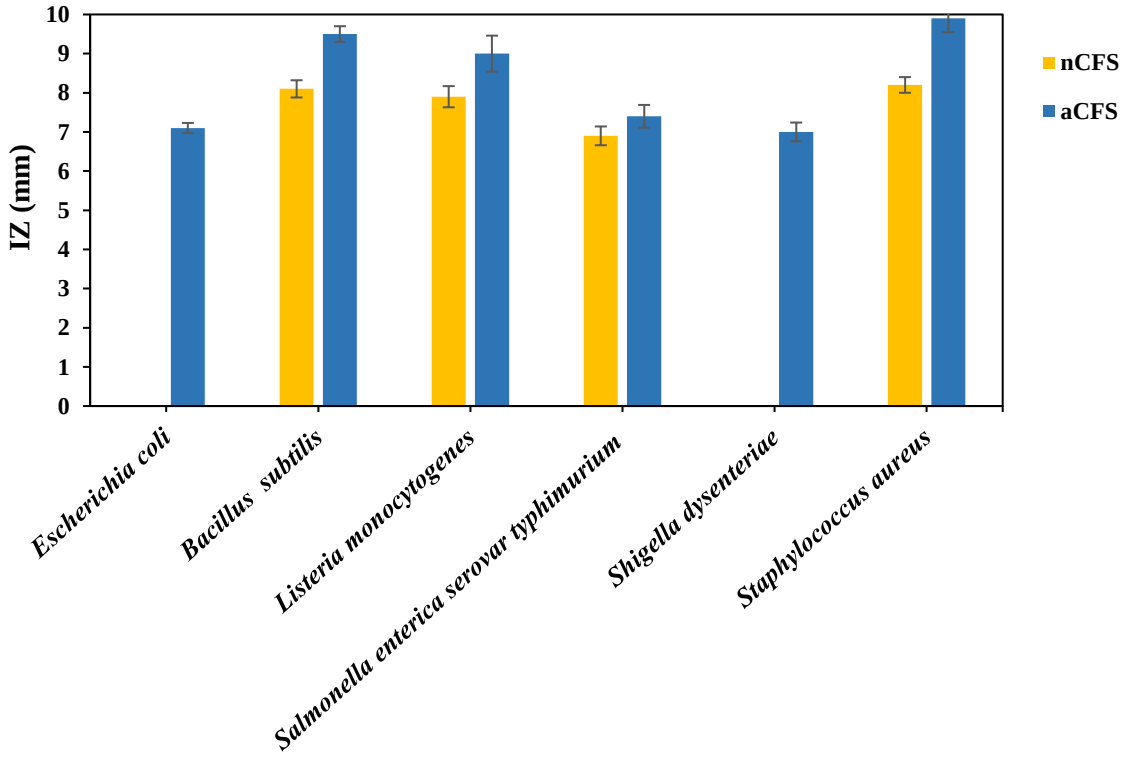

Fig. 3. The antimicrobial potency of *Lactiplantibacillus pentosus* v390 using well diffusion agar. The abbreviations aCFS and nCFS stand for acid cell-free supernatants and neutralized cell-free supernatants, respectively.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

اثر ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول خنثی *L. pentosus* v390، به‌روش انتشار به‌کمک دیسک دیفیوژن بر باکتری‌های گرم مثبت *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis* و *Listeria monocytogenes* به‌ترتیب با قطر هاله عدم‌رشد ۰/۱۵ ± ۸/۱۰، ۰/۴۰ ± ۷/۷۰ و ۰/۳۲ ± ۶/۹۰ میلی‌متر بودند. قطر هاله عدم‌رشد باکتری‌های پاتوژن *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis*، *Listeria monocytogenes*، *Salmonella enterica serovar typhimurium*، *Escherichia coli* و *Shigella dysenteriae* نسبت به اثر ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول اسیدی *L. pentosus* v390، به‌ترتیب ۰/۲۵ ± ۹/۲۰، ۰/۱۸ ± ۸/۹۰، ۰/۲۷ ± ۸/۱۰، ۰/۲۰ ± ۷، ۰/۱۷ ± ۶/۹۰ و ۰/۳۶ ± ۶/۸۰ میلی‌متر بود. سوپرناتانت فاقد سلول خنثی *L. pentosus v390* تأثیر ضدمیکروبی بر باکتری‌های *Escherichia coli*، *Salmonella enterica serovar typhimurium* و *Shigella dysenteriae* نداشت. در اثر فعالیت ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول اسیدی *L. pentosus* v390 به این روش، دارای اثر ضدمیکروبی بر تمامی باکتری‌های پاتوژن مذکور بود. حساس‌ترین باکتری پاتوژن در برابر اثر فعالیت ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول خنثی و اسیدی مورد نظر *Staphylococcus aureus* و مقاوم‌ترین باکتری پاتوژن در برابر اثر فعالیت ضدمیکروبی سوپرناتانت فاقد سلول خنثی و اسیدی مورد نظر به‌ترتیب *Shigella dysenteriae* و *Escherichia coli* و *Salmonella enterica serovar typhimurium* بود (شکل ٤).

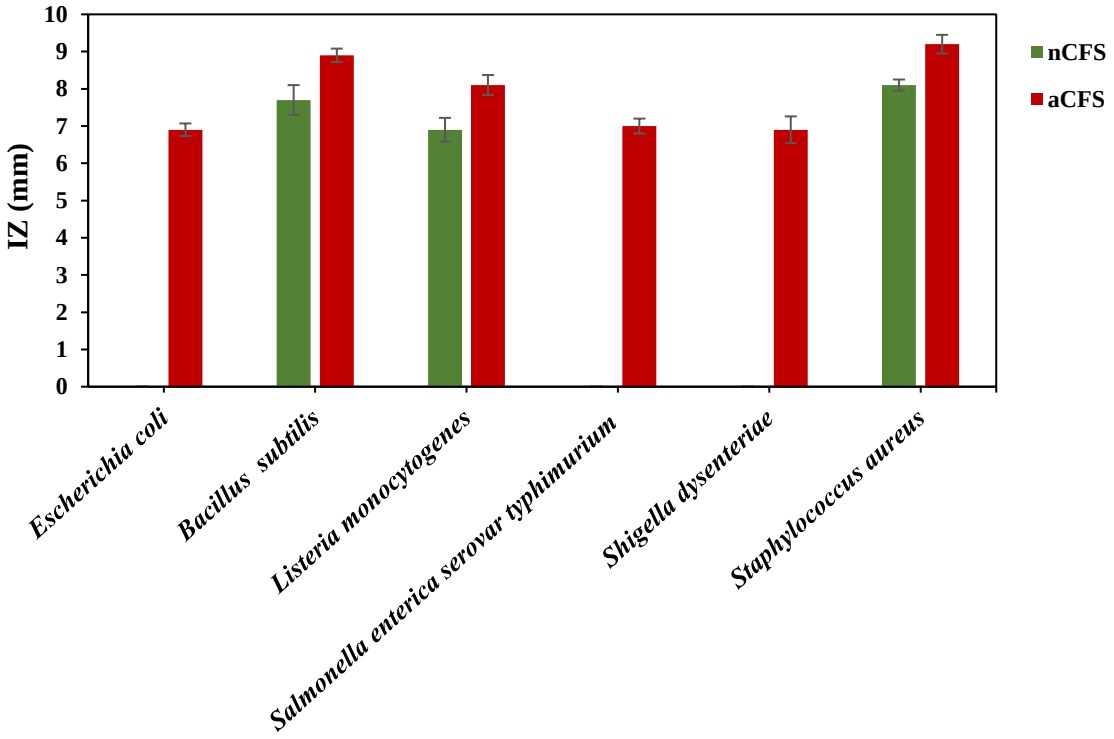

Fig. 4. The antimicrobial potency of *Lactiplantibacillus pentosus* v390 using disk diffusion agar. The abbreviations aCFS and nCFS stand for acid cell-free supernatants and neutralized cell-free supernatants, respectively.

با ارزیابی میزان مقاومت باکتری پروبیوتیک در برابر شرایط اسیدی و حضور نمک‌های صفراوی می‌توان میزان زنده‌مانی و بقا آن‌ها را بررسی نمود [١٦]. در پژوهش حاضر، سویه *L. pentosus* v390 قابلیت زنده‌مانی پس از گذشت ۳

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

ساعت در pH های ۲/۵، ۳/۵ و ٤/٥ و هم‌چنین قابلیت رشد در غلظت‌های ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ نمک‌های صفراوی را داشت. بر اساس مطالعات در باکتری‌های گرم مثبت نظیر باکتری‌های اسید لاکتیک ترکیب F1F0 – ATPase موجب مقاومت و زنده‌ماندن آن‌ها در شرایط اسیدی می‌شود [١٦]. هم‌چنین حضور ترکیباتی نظیر پلی‌ساکاریدها موجب محافظت از باکتری‌های اسید لاکتیک در برابر اسید معده می‌شوند [١٧]. بر اساس نتایج تحقیقات، میانگین غلظت نمک صفراوی در دستگاه گوارش انسان ۰/۳ درصد وزنی- حجمی می‌باشد. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی برای رسیدن به روده باریک، بایستی توانایی زنده‌مانی و عبور از معده با pH کمتر از ۳ و قابلیت عبور از دوازدهه با مقدار نمک صفراوی تا ۰/۷ درصد را داشته باشند [٦ و ١٨]. از طرفی گزارش شده است باکتری‌های اسید لاکتیک قابلیت تبدیل نمک‌های صفراوی به کلسترول و اسید آمینه را نیز دارند از این رو می‌توانند در حضور نمک‌های صفراوی به بقا و رشد خود ادامه دهند [١٩]. حسینی و همکاران (۲۰۱۸)، قابلیت زنده‌مانی باکتری *L. plantarum* ریزپوشانی‌شده را در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده را مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند میزان زنده‌مانی باکتری مذکور پس از گذشت ۲ ساعت CFU/g ۰/۰٦ ± ۲/۰۳ بود [٦]. فاطمی‌زاده و همکاران (۲۰۲۳)، میزان زنده‌مانی *Lactiplantibacillus plantarum* M17 را در شرایط اسیدی و غلظت نمک صفراوی مشابه معده انسان به‌ترتیب ۹۱ و ۸۹ درصد گزارش نمودند [۲۰]. محققان مذکور این نتایج را تأییدی بر مقاومت مناسب سویه *L. plantarum* M17 نسبت به شرایط دستگاه گوارش انسان گزارش کردند. وسیعی و همکاران (۲۰۲۰)، گزارش نمودند سویه *Pediococcus acidilactici* به‌خوبی در غلظت ۰/۳ درصد نمک صفراوی رشد کرد که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی داشت [١٤].

در پژوهش حاضر میزان آب‌گریزی سویه *L. pentosus* v390، ۰/۳۸ ± ٤٦/٥٠ درصد بود. میزان آبگریزی سطوح باکتری‌های اسید لاکتیک می‌تواند در اتصال آن‌ها به سلول‌های اپی‌تلیال روده تأثیرگذار باشد. در برخی از مطالعات گزارش شده است ویژگی آبگریزی باکتری‌های اسیدلاکتیک در ممانعت از تشکیل کلونی توسط پاتوژن‌های بیماری‌زا نیز مؤثر است زیرا پاتوژن‌ها با اتصال به سلول‌های روده به فعالیت خود ادامه می‌دهند، از این رو باکتری‌های اسید لاکتیک با اتصال به سلول‌های روده مانع اتصال پاتوژن‌ها می‌شوند [١٦]. برخی ترکیبات نظیر فسفات دهیدروژناز[17]، لیپوتیکوئیک اسید[18]، S-layer و پروتئین‌های شبه لکتین[19] در اتصال باکتری‌های اسید لاکتیک به سلول‌های روده نقش مؤثری دارند [١٠]. در مطالعه‌ای توسط فلاح و همکاران (۲۰۱۹)، میزان آب‌گریزی سویه *L. fermentum 4-17* را ٤٣ درصد گزارش دادند [١٧]. در پژوهشی میزان آب‌گریزی سویه *L. acidophilus* B 14، ٦٥/٩ درصد گزارش شد [١١]. دلیل تفاوت در میزان آب‌گریزی سویه‌های پروبیوتیکی مختلف می‌تواند به نوع سویه، نوع اسید آمینه‌های آب‌گریز، ناهمگونی ساختار شیمیایی، پروتئین‌ها و لیپیدها غشای سیتوپلاسمی، فاز رشد سلولی، عوامل محیطی و درجه پلئومورفیسم[20]، نیروی واندروالسی، حرکت براونی[21]، بار الکتریکی سطح و نیروی گرانش مرتبط باشد [٣ و ١١].

نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن بود که باکتری *L. pentosus* v390 نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های Vancocin، Chloramphenicol، Ciprofloxacin، Gentamicin و Penicillin حساس و نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های Nalidixic و Imipenem مقاوم و نسبت به آنتی‌بیوتیک Nitrofurazone نیمه‌حساس بود. باکتری‌های اسید لاکتیک ممکن است به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت داشته باشند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ممکن است به‌صورت طبیعی در باکتری‌ها اتفاق بیفتد، درحالیکه گاهی ممکن است در اثر مکانیسم‌های ژنتیکی مختلف از جمله انتقال ژن از طریق پلاسمیدها، جهش‌های کروموزومی و ... نیز ایجاد شود [٢١

17. phosphate dehydrogenase
18. lipoteichoic acid
19. lectin-like proteins
20. Pleomorphism
21. Brownian movement

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

و ۲۲]. عوامل دیگری در مقاومت باکتری‌های اسید لاکتیک نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها نقش دارند که می‌توان به عواملی نظیر عدم‌وجود محل هدف آنتی‌بیوتیک در باکتری پروبیوتیک، نفوذپذیری کم، غیرفعال بودن آنتی‌بیوتیک و ... اشاره نمود [۲۲]. در مطالعه‌ای، سویه‌های مختلف *Lactobacillus* از غذاهای تخمیری جدا و میزان مقاومت آن‌ها نسبت به دوازده آنتی‌بیوتیک بررسی شد. در این مطالعه سویه‌های جداسازی‌شده نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های Amikacin، Ampiclox، Ciprofloxacin، Clarithromycin، Cefotaxime، Levofloxacin، Cefoperazone، Cefuroxime، Gentamycin، Roxithromycin، Cotrimoxazole و Azithromycin حساس گزارش شدند [۲۳]. فاطمی‌زاده و همکاران (۲۰۲۳)، گزارش نمودند که سویه *L. plantarum* M17 نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های Ampicilline، Erythromycine و Chloramphenicol حساس و نسبت Kanamycine و Clindamycine مقاوم بود [۲۰].

در پژوهش حاضر میزان جذب کلسترول سویه *L. pentosus* v390 ۰/٤۷ ± ۳٦/۵۰ درصد بود. باکتری‌های اسید لاکتیک قابلیت جذب کلسترول و حذف رادیکال‌های هیدروکسیل را دارند. میزان جذب کلسترول توسط پروبیوتیک‌ها به نوع سویه، میزان تولید ترکیباتی که منجر به مهار آنزیم ۳- هیدروکسی ۳- متیل گلوتاریل کوآنزیم A^{22} می‌شوند، مرتبط است [۱٤].

در پژوهش حاضر از سویه *L. pentosus* v390 فعالیت همولیتیک و تولید آنزیم DNase و ایجاد محدوده شفاف در اطراف کلنی‌ها در محیط کشت بلاد آگار مشاهده نشد. هم‌چنین هیچگونه پتانسیلی در تولید آمین‌های بیوژنیک در سویه *L. pentosus* v390 مشاهده نشد. از این رو این سویه دارای کاربرد ایمن به‌منظور تولید محصولات غذایی پروبیوتیکی می‌باشد. به‌دلیل اینکه در صورت استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات غذایی عدم هیدرولیز اسید آمینه‌های ضروری بسیار حائز اهمیت است، برای ارزیابی میزان ایمن بودن کاربرد و مصرف سویه‌های پروبیوتیک در محصولات غذایی از آزمون‌های ارزیابی ویژگی همولیتیک و میزان تولید آنزیم DNase یا دئوکسی ریبونوکلئاز[۲۳] که باعث آبکافت پیوندهای فسفو دی استر در ساختار DNA می‌شود، استفاده می‌گردد [۲۰]. باکتری‌های اسید لاکتیک به‌ویژه *Enterococcus*ها و *Lactobacillus*ها توانایی تولید متابولیت‌های نامطلوب نظیر آمین‌های بیوژنیک را دارند که در محصولات غذایی حاوی پروتئین و اسید آمینه‌های آزاد که تحت فرآیندهای بیوشیمیایی نظیر تخمیر قرار گرفته‌اند، به‌وجود می‌آیند [۱۱]. فاطمی‌زاده و همکاران (۲۰۲۳) گزارش دادند که باکتری *L. plantarum* M17 فاقد پتانسیل تولید آمین‌های بیوژنیک هستند [۲۰]. در پژوهشی علیزاده بهبهانی و همکاران (۲۰۲۳) گزارش نمودند باکتری *Limosilactobacillus fermentum* IMAU70160 جداسازی شده از ماست محلی فاقد تولید آنزیم DNase، آمین‌های بیوژنیک و فعالیت همولیتیک بودند [۱٦]. نتایج پژوهش حاضر با نتایج محققین مذکور مطابقت داشت.

به‌منظور ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سویه *L. pentosus* v390 از آزمون مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS استفاده شد. مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS توسط سویه مورد نظر به‌ترتیب ۰/٤۰ ± ۳۷/۲۰ و ۰/٤۵ ± ۳۹/۹۰ درصد بود. باکتری‌های اسید لاکتیک با داشتن یون‌های آهن و مس، اسیدهای آلی، باکتریوسین‌ها، اگزو پلی‌ساکاریدهای باکتریایی، منگنز، گلوتاتیون[۲٤] (GSH)، بوتیرات[۲۵]، فولات[۲٦] و آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز[۲۷] دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند به‌همین علت از آن‌ها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان با قابلیت کاهش استرس اکسیداتیو در محصولات غذایی استفاده می‌شود [۲٤ و ۲۵].

یکی از معیارهای انتخاب باکتری‌های اسید لاکتیک، میزان فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها علیه پاتوژن‌های بیماری‌زاست. در

22. 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A
23. Deoxyribonuclease
24. Glutathione
25. Butyrate
26. Folate
27. Super Oxide Dismotase

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

پژوهش حاضر نتایج ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی حاکی از آن بود که سوپرناتانت فاقد سلول اسیدی *L. pentosus* v390، دارای اثر ضدمیکروبی بیشتری بر باکتری‌های پاتوژن بود. باکتری‌های اسید لاکتیک به‌علت رقابت با پاتوژن‌ها بر سر مواد غذایی و جایگاه اتصال به سلول‌های اپی‌تلیال روده و نیز تولید ترکیباتی نظیر اسیدهای آلی (اسید استیک، اسید لاکتیک، اسید پروپیونیک، اسید سوربیک و ..)، دی استیل، اتانول، پراکسید هیدروژن، آمونیاک و پروتئین با وزن مولکولی کم که به باکتریوسین‌ها مشهورند، دارای فعالیت ضدمیکروبی هستند [۲۵ و ۲۶]. در پژوهش حاضر سویه *L. pentosus* v390 اثر ضدمیکروبی بیشتری بر باکتری‌های پاتوژن گرم مثبت داشت. مکانیسم فعالیت ضدمیکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت متفاوت است. بر اساس پژوهش‌های مختلف، باکتری‌های اسید لاکتیک به‌علت قابلیت تولید پراکسید هیدروژن، دی‌اکسید کربن و اسیدهای آلی مختلف موجب مهار رشد و مرگ باکتری‌های گرم منفی می‌شوند. از طرفی گزارش شده است که تولید باکتریوسین توسط آن‌ها منجر به نابودی باکتری‌های گرم مثبت می‌گردد [۲۷-۳۵]. در مطالعه‌ای اثر ضدمیکروبی سویه *L. plantarum* M17 بر باکتری *Cronobacter sakazakii* گزارش شد [۲۰]. در مطالعه‌ای توسط آلبوریکان و آلشاهرانی (۲۰۲۴)، اثر ضدمیکروبی سویه‌های مختلف *Lactiplantibacillus* بررسی شد. آن‌ها گزارش نمودند سویه‌های مختلف دارای توانایی مهار رشد پاتوژن‌های *Escherichia coli*، *Salmonella typhimurium* و *Listeria monocytogenes* بودند. در این مطالعه بیشترین میزان مهار رشد پاتوژن‌ها مربوط به سوپرناتانت فاقد سلول اسیدی بود و گزارش شد باکتری پروبیوتیکی *L. pentosus* با تولید باکتریوسین به‌نام Pentocin MQ1 موجب مهار رشد پاتوژن‌های مذکور شده است [۵].

٤ - نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر باکتری *L. pentosus* v390، قابلیت تحمل و زنده‌مانی در pHهای مختلف اسیدی و غلظت‌های متفاوت نمک صفراوی را داشت. *L. pentosus* v390 دارای خاصیت هیدروفوبیسیتی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، قابلیت جذب کلسترول و پتانسیل ضدمیکروبی مطلوب علیه پاتوژن‌های بیماری‌زا مختلف، عدم تولید متابولیت‌های نامطلوب نظیر آنزیم DNase، آمین‌های بیوژنیک و فاقد فعالیت همولیتیکی بود. باکتری پروبیوتیکی مورد نظر به اکثر آنتی‌بیوتیک‌های رایج مورد آزمایش حساسیت نشان داد. از این رو با تأیید ویژگی‌های پروبیوتیکی، ضدمیکروبی و ایمنی باکتری *L. pentosus* v390 ضروری است به‌منظور بررسی دقیق‌تر ویژگی‌های عملکردی و تولید محصولات غذایی پروبیوتیکی مطالعات بیشتری در این زمینه انجام شود.

٥- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی به‌شماره ۱۴۰۲/۴۰ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

٦- منابع

[1] Ghazanfari, N., Fallah, S., Vasiee, A., & Yazdi, F. T. (2023). Optimization of fermentation culture medium containing food waste for l-glutamate production using native lactic acid bacteria and comparison with industrial strain. LWT, *184*, 114871.
[2] Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H. Vasiee, A. & Zeraatpisheh, F. (2023). Evaluation of anti-yeast metabolites produced by *Lactobacillus* strains and their potential application as bio-preservatives in traditional yogurt drink. LWT. 188: 115428.
[3] Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B. & Hojjati, M. (2021). Investigation of probiotic and technological characteristics of lactic acid bacteria isolated from Behbahan local Dough. *Journal of Food Industry Research*, 21(4): 169-186. [Full text in persian].
[4] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., Vasiee, A., & Brück, W. M. (2024). Probiotic Bacillus strains inhibit growth, biofilm formation, and virulence gene expression of Listeria monocytogenes. LWT, 191, 115596.
[5] Vasiee, A., Mortazavi, S. A., Sankian, M., Yazdi, F. T., Mahmoudi, M., & Shahidi, F. (2019). Antagonistic activity of recombinant Lactococcus lactis NZ1330 on the adhesion properties of Escherichia coli causing urinary tract infection. Microbial Pathogenesis, 133, 103547.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]
[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

[6] Vasiee, A., Falah, F., Sankian, M., Tabatabaei-Yazdi, F., & Mortazavi, S. A. (2020). Oral Immunotherapy Using Probiotic Ice Cream Containing Recombinant Food-Grade Which Inhibited Allergic Responses in a BALB/c Mouse Model. Journal of Immunology Research.
[7] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. & Jovandeh, H. (2022). Evaluating the activity and investigating the characteristics of bacteriocin produced by lactobacillus bacteria isolated from local yogurt of Behbahan city. *Iranian Journal of Food Science and Industry*, 16 (2): 111-120. [Full text in persian].
[8] Vasiee, A., Falah, F., & Mortazavi, S. A. (2022). Evaluation of probiotic potential of autochthonous lactobacilli strains isolated from Zabuli yellow kashk, an Iranian dairy product. Journal of Applied Microbiology, 133(5), 3201-3214.
[9] López-García, E., Benítez-Cabello, A., Ramiro-García, J., Ladero, V. & Arroyo-López, F.N. (2023). in silico evidence of the multifunctional features of lactiplantibacillus pentosus lpg1, a natural fermenting agent isolated from table olive biofilms. *Foods*. 12, 938.
[10] Saboktakin-Rizi, M., Alizadeh Behbahani, B., Mohammad Hojjati, M. & Noshad, M. (2021). Identification of *Lactobacillus plantarum* TW29-1 isolated from Iranian fermented cereal-dairy product (Yellow Zabol Kashk): probiotic characteristics, antimicrobial activity and safety evaluation, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15: 2615–2624.
[11] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B. & Fereshteh Falah, F. (2021). Safety, probiotic properties, antimicrobial activity, and technological performance of *Lactobacillus* strains isolated from Iranian raw milk cheeses. *Food Science & Nutrition*, 00: 1-14.
[12] Vasiee, A., Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. & Noorbakhsh, H. (2018). Diversity and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from horreh, a traditional Iranian fermented food. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 10 (2): 258–268.
[13] Tabatabai Yazdi, F., Vasiee, A., Alizadeh Behbahani, b. & Mortazavi, S. A. (2016). Evaluation of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from kimchi produced in Iran. *Journal of Qom University of Medical Sciences*. 11-22. [Full text in persian].
[14] Vasiee, A., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B. & Tabatabaee-yazdi, F. (2020). Probiotic characterization of *Pediococcus* strains isolated from Iranian cereal-dairy fermented product:Interaction with pathogenic bacteria and the enteric cell line Caco-2. *Journal of Bioscience and Bioengineering*.
[15] Kim, S., Lee, J. Y., Jeong, Y. & Kang, C. (2022). Antioxidant Activity and Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria. *Fermentation*, 8 (29).
[16] Alizadeh Behbahani, B., Barzegar, H., Mehrnia, M. A. & Ghodsi Sheikhjan, M. (2023). Probiotic Characterization of *Limosilactobacillus fermentum* Isolated from Local Yogurt: Interaction with Pathogenic Bacteria and Caco-2 Enteric Cell Line. Nutrition and Food Sciences Research. 10 (1): 37-45.
[17] Falah, F., Vasieea, A., Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaee Yazdia,, F., Moradi, S., Mortazavi, S. A. & Roshanak, S. (2019). Evaluation of adherence and anti-infective properties of probiotic *Lactobacillus fermentum* strain 4-17 against *Escherichia coli* causing urinary tract infection in humans. *Microbial Pathogenesis*. 131: 246–253.
[18] Jafari, b., Manadi, A., Rezaei, A., Alizadeh, S., Ahmadizadeh, Ch., Barzegari, A., Pashazadeh, M., & Jafarzadeh, H. (2013). Evaluation of the probiotic potential of *enterococci* isolated from traditional dairy products of Moghan and Meshgin Shahr region. *Veterinary Journal of Islamic Azad University, Tabriz Branch*, 6 (1): 1505-1513. [Full text in persian].
[19] Pavlović, N., Stankov, K., & Mikov, M. (2012). Probiotics—interactions with bile acids and impact on cholesterol metabolism. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 168:1880-95.
[20] Fatemizadeh, S. S., Habibi Najafi, M. B. & Nielsen, D. S. (2023). Effect of *Bacillus plantarum* lactiplanta of mutal cheese on the adhesion of cronobacter sakazakii to intestinal cells. *Iran Journal of Food Science and Industry Research*, 19 (4): 557-575. [Full text in persian].
[21] Hojjati, M., Alizadeh Behbahani, b. & Falah, F. (2020). Investigation of technological and antimicrobial properties of *Lactobacillus brevis* gp104 strain isolated from Khiki cheese. *Quarterly Journal of Applied Microbiology in Food Industry*, 7 (3): 14-26. [Full text in persian].
[22] Hajinia, F., Sadeghi, A., Sadeghi Mahonek, A., Khamiri, M., Maqsoodlou, Y. & Muayidi, A. (2021). Evaluation of probiotic and antifungal properties of dominant lactic acid bacteria isolated from oat sour dough, *Journal of Food Health*, 10(1): 45-59. [Full text in persian].
[23] Shamsuddin, B. & Mazharuddin Khan, M. (2019). Antimicrobial activity and antibiotic sensitivity of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and a commercial probiotic: a comparative in vitro study. *International Journal of Environment, Ecology, Family and Urban Studies (IJEEFUS)*, 9 (4): 59-66.
[24] Pieniz, S., Andreazza, R., Anghinoni, T., Camargo, F. & Brandelli, A. (2014). Probiotic potential, antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus durans* strain LAB18s. *Food Control*. 37: 251e256.
[25] Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Xu, H., Mei, X., Yu, D., Wang, Y. & Li, W. (2017). Antioxidant properties of probiotic bacteria. *Nutrients*, 9 (521).
[26] Momenzadeh, S., Jovandeh, H., Alizadeh Behbahani, b. & Barzegar, H. (2021). Evaluation of probiotic and antibacterial properties of *Lactobacillus fermentum* SL163-4. *Journal of Iranian Food Science*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

and Industry Research, 17 (3): 233-242. [Full text in persian].
[27] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. & Falah, F. (2019). Inhibition of *Escherichia coli* adhesion to human intestinal Caco-2 cells by probiotic candidate *Lactobacillus plantarum* strain L15. *Microbial Pathogenesis*, 136: 1-7.
[28] Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Hojjati, M. & Ghodsi Sheikhjan, M. (2024). Evaluation of probiotic, safety, and anti-pathogenic properties of *Levilactobacillus brevis* HL6, and its potential application as bio-preservatives in peach juice. *LWT*. 191: 115601.
[29] Zibaei-Rad, A., Rahmati-Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B., & Taki, M. (2024). Probiotic-loaded seed mucilage-based edible coatings for fresh pistachio fruit preservation: an experimental and modeling study. *Scientific Reports, 14*(1), 509.
[30] Zibaei-Rad, A., Rahmati-Joneidabad, M., Alizadeh Behbahani, B., & Taki, M. (2023). Assessing the protection mechanisms on Enterobacter aerogenes ATCC 13048 by potentially probiotic strain Lacticaseibacillus casei XN18: An experimental and modeling study. *Microbial pathogenesis, 181*, 106177.
[31] Kardooni, Z., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., & Noshad, M. (2023b). Assessing Protection Mechanisms against Escherichia coli by Analyzing Auto-and Co-Aggregation, Adhesion Ability, Antagonistic Activity and Safety Characteristics of Potentially Probiotic Lactobacillus acidophilus B103. *Nutrition and Food Sciences Research, 10*(1), 11-21.
[32] Falah, F., Vasiee, A., Tabatabaei-Yazdi, F., Moradi, S., & Sabahi, S. (2022). Optimization of γ-aminobutyric acid (GABA) production by Lactobacillus spp. from agro-food waste. *Biomass Conversion and Biorefinery*. doi:10.1007/s13399-022-02361-z
[33] Falah, F., Vasiee, A., Yazdi, F. T., & Alizadeh Behbahani, B., (2021). Preparation and Functional Properties of Synbiotic Yogurt Fermented with Lactobacillus brevis PML1 Derived from a Fermented Cereal-Dairy Product. *BioMed Research International, 2021*, 1057531. doi:10.1155/2021/1057531
[34] Falah, F., Zareie, Z., Vasiee, A., Tabatabaee Yazdi, F., Mortazavi, S. A., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Production of synbiotic ice-creams with Lactobacillus brevis PML1 and inulin: functional characteristics, probiotic viability, and sensory properties. *Journal of Food Measurement and Characterization, 15*(6), 5537-5546. doi:10.1007/s11694-021-01119-x
[35] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., Mirzaei, A., & Ghodsi Sheikhjan, M. (2023). Assessing the protection mechanisms against Enterobacter aerogenes by analyzing aggregation, adherence, antagonistic activity, and safety properties of potentially probiotic strain Lactobacillus brevis G145. *Microbial Pathogenesis, 181*, 106175. doi:https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106175

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

The viability of *Lactiplantibacillus pentosus* v390 under acidic and bile conditions, and evaluation of its antimicrobial activity and safety

Behrooz Alizadeh Behbahani[*1], Hossein Jooyandeh [2], Pegah Namazi[3]

1-Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2-Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3-PhD. student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:
Received:2024/3/4
Accepted:2024/4/9

Keywords:
Biogenic amines,
Cholesterol adsorption,
Antibacterial activity,
Hydrophobicity.

DOI: **10.22034/FSCT.21.153.192.**

*Corresponding Author E-B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

ABSTRACT

In this study, molecular identification of *Lactiplantibacillus pentosus* v390 was performed using 16S rRNA gene analysis with FYM27 and R1492 primers. The viability of the strain was assessed under acidic conditions at pH 2.5, 3.5 and 4.5, and resistance to bile at concentrations of 0%, 0.3%, 0.5%, and 0.7% was investigated. Antioxidant activity, cholesterol absorption, hydrophobicity, potential for DNase enzyme production, biogenic amines, hemolytic activity, and resistance to common therapeutic antibiotics were evaluated. The antimicrobial effect of the strain against pathogenic bacteria (*Shigella dysenteriae*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, and *Bacillus subtilis*) was examined using the well and disk diffusion method. The results showed that the *L. pentosus* v390 strain had the ability to survive at different pH levels, but after three hours of storage at pH 2.5, the bacterial count decreased. The strain demonstrated growth capability at various bile salt concentrations. *L. pentosus* v390 was intermediate to the antibiotic Nitrofurazone, resistant to Nalidixic and Imipenem antibiotics, and sensitive to Vancocin, Gentamicin, Chloramphenicol, Penicillin, and Ciprofloxacin antibiotics. The hydrophobicity, antioxidant activity (DPPH and ABTS), and cholesterol absorption of the strain were 46.50 ± 0.38%, 37.20 ± 0.40%, 39.90 ± 0.45%, and 36.50 ± 0.47%, respectively. No DNase enzyme production, biogenic amines, or hemolytic activity were observed from the strain. *L. pentosus* v390 exhibited stronger antimicrobial effects against Gram-positive bacteria. The results indicated that *L. pentosus* v390 has desirable probiotic properties that require further research to confirm its application potential in food product development.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.22034/FSCT.21.153.192]