

## بررسی اثر تنوع نژادی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از مواد غذایی مختلف بر فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تجمع آن‌ها

دینا شهرام‌پور<sup>۱</sup>، مرتضی خمیری<sup>۲</sup>، سید محمد علی رضوی<sup>۳</sup>، محبوبه کشیری<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران  
پست الکترونیکی: khomeiri@gau.ac.ir

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۱۲

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۱۱

### چکیده

**سابقه و هدف:** باکتری‌های اسیدلاکتیک معمولاً در تهیه غذاهای تخمیری دخیل هستند و با توجه به نوع نژاد می‌توانند متابولیت‌های مختلف تولید نمایند. از این رو هدف از این مطالعه ارزیابی قابلیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تجمع ۱۰ نژاد مختلف لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از مواد غذایی تخمیری بومی شامل پنیر کوزه، زیتون تخمیری، خمیر ترش و شیر شتر بود.

**مواد و روش‌ها:** فعالیت ضد باکتریایی ۱۰ نژاد مختلف لاکتوباسیلوس پلانتاروم و رومانند فیلتر شده فاقد سلول آن‌ها علیه چهار باکتری بیماری-زای غذازاد به ترتیب توسط روش لکه‌گذاری بر روی آگار و نفوذ در چاهک ارزیابی شد. فعالیت ضد کپکی سویه‌های مورد مطالعه علیه دو کپک عامل فساد غذایی نیز توسط روش کشت دولایه بررسی گردید. علاوه بر این آزمون‌های ارزیابی قابلیت خوداتصال، تجمع و آبگریزی سطح سلول نیز به طور جداگانه انجام گرفت. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی سویه‌ها و رومانند حاصل از آنها توسط آزمون مهار رادیکال DPPH بررسی شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که همه سویه‌ها از فعالیت ضد باکتریایی و ضد کپکی خوبی علیه میکروارگانیسم‌های شاخص برخوردار بودند و میزان فعالیت بسته به نوع نژاد لاکتوباسیلوس پلانتاروم متفاوت بود. همچنین در میان باکتری‌های شاخص بیماری‌زا/شرشیاکلای و در بین کپک‌های عامل فساد آسپرژیلوس فلاووس بیشترین حساسیت را نشان دادند. نتایج آزمون‌های مربوط به ویژگی‌های سطحی سلول باکتری نیز حاکی از آن بود که نژادهای مختلف لاکتوباسیلوس پلانتاروم از نظر ویژگی‌های خوداتصال، آبگریزی سطح سلول و قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیار به یکدیگر شباهت دارند.

**نتیجه‌گیری:** نتایج این پژوهش نشان داد که نژادهای بومی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و متابولیت‌های تولیدی آن‌ها می‌توانند به عنوان نگهدارنده زیستی در صنعت غذا و مکمل دارویی به کار روند، اما باید آزمون‌های بیشتری در سطح *in-vitro* و *in-vivo* در این زمینه انجام گیرد.

**واژگان کلیدی:** لاکتوباسیلوس پلانتاروم، فعالیت ضد باکتریایی، فعالیت ضد کپکی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خاصیت تجمعی

### • مقدمه

تخمیری از گذشته‌های دور در اقصی نقاط کشور مرسوم بوده است. به طور کلی فراورده‌های غذایی تخمیری را می‌توان در پنج گروه شامل فراورده‌های لبنی، فراورده‌های گوشتی، فراورده‌های غلات، فراورده‌های گیاهی، نان و نوشیدنی‌های تخمیری طبقه‌بندی نمود (۱).

محصولات غذایی تخمیری از دیر باز با هدف افزایش زمان نگهداری مواد غذایی تولید می‌گردند. امروزه انواع مختلفی از محصولات غذایی تخمیر شده در سراسر جهان وجود دارد که بسته به نوع مواد خام و افزودنی‌های مورد استفاده و همچنین زمان و شرایط تخمیر دارای فلور میکروبی متفاوتی می‌باشند. در ایران نیز همانند سایر کشورهای آسیایی مصرف غذاهای

جهت تولید مواد غذایی تخمیری طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌های مفید از جمله باکتری‌های اسیدلاکتیک نقش دارند که یا به صورت کشت آغازگر اضافه می‌گردند و یا فلور طبیعی مواد خام اولیه را تشکیل می‌دهند. باکتری‌های اسیدلاکتیک جزء باکتری‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی و فاقد اسپور هستند که عمده محصول تولیدی آنها اسیدلاکتیک بوده و به طور کلی ایمن (GRAS Generally Recognized As Safe) شناخته شده اند. این گروه از باکتری‌ها به دلیل تولید ترکیبات ضد میکروبی مختلف مانند اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن، استون، دی استیل، اسیدهای چرب، پپتید و باکتریوسین‌ها در بحث نگهداری مواد غذایی و تولید فرآورده‌های دارویی بسیار مورد توجه هستند. بنابراین این میکروارگانیسم‌ها با کنترل میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا می‌توانند نقشی مهمی در افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی و کاهش عفونت‌های غذایی ایفا نمایند و همچنین باعث بهبود عطر و طعم و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی گردند (۴-۲). در سال‌های اخیر با افزایش تمایل به استفاده از باکتری‌های اسیدلاکتیک و متابولیت‌های آنها به عنوان "نگهدارنده زیستی (Biopreservation)" به دلیل آثار مخرب نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت کنندگان و از سوی دیگر افزایش آمار سویه‌های میکروبی بیماری‌زای مقاوم در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مواجه هستیم، از این رو پژوهش در زمینه بررسی ویژگی‌های مختلف باکتری‌های اسیدلاکتیک به منظور معرفی سویه‌های برتر همچنان ادامه دارد (۵).

گونه لاکتوباسیلوس یکی از گونه‌های مفید و مقاوم باکتری‌های اسیدلاکتیک است که به فراوانی در اکثر مناطق مختلف زیست محیطی و حتی در دستگاه گوارش انسان و حیوانات یافت می‌شود. پژوهش‌های محققان نشان داد که سازگاری بسیار زیاد این گروه از باکتری‌ها با محیط‌های مختلف به توانایی آنها در مقابله با شرایط استرس‌زا مربوط می‌شود (۶). همچنین در بسیاری از تحقیقات انجام شده در زمینه جداسازی و شناسایی فلورلاکتیکی مواد غذایی تخمیری بومی مانند چال (۷)، شیر شتر (۸)، آش کارده (۹)، زیتون تخمیری (۱۰)، خمیرترش (۱۱)، ترخینه (۱۲)، باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم به عنوان گونه غالب گزارش شده است. بنابراین شناخت ویژگی‌های مختلف سویه‌های بومی، می‌تواند گامی مؤثر در معرفی سویه‌های جدید میکروبی با پتانسیل بالقوه به عنوان کشت آغازگر جهت ایجاد بانک میکروبی و همچنین تولید محصولات غذایی سلامتی بخش برای تغذیه انسان و دام محسوب شود.

ویژگی ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در پژوهش‌های مختلف گزارش شده است. برای مثال، Essid و همکاران (۲۰۰۹) ویژگی‌های تکنولوژیکی و فعالیت ضد میکروبی ۱۷ سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از نوعی گوشت نمک سود شده سنتی تونسسی را علیه باکتری‌های بیماری‌زا / اشرشیا کلای، استافیلوکوکوس ارئوس، سالمونلا آریزونا و سودوموناس آئروژینوزا بررسی کردند و بیشترین فعالیت بازدارنده سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم را علیه باکتری استافیلوکوکوس ارئوس مشاهده نمودند (۱۳). در مطالعه‌ای دیگر Li و همکاران (۲۰۱۲) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقاومت سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از غذاهای تخمیری چین در برابر هیدروژن پراکسید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی، بسته به نوع نژاد و منشأ جداسازی متفاوت بود (۱۴). هاشمی و همکاران (۲۰۱۵) در پژوهشی فعالیت ضد میکروبی چهار جدایه لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از پنیر سنتی کردی را با سویه‌های تجاری مقایسه کردند، نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که سویه‌های بومی در بسیاری از موارد از قابلیت ضد باکتریایی بالاتری نسبت به سویه‌های تجاری برخوردار بودند (۱۵). Arena و همکاران (۲۰۱۶) نیز فعالیت ضد باکتریایی ۷۹ جدایه لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از شراب را مورد ارزیابی قرار دادند و ماهیت شیمیایی ترکیبات ضد میکروبی تولیدی آن‌ها را بررسی نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد که فعالیت ضد میکروبی بسته به نژاد باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم متفاوت بود (۱۶). Son و همکاران (۲۰۱۷) نیز فعالیت پروبیوتیکی و آنتی‌اکسیدانی دو سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از کیمچی را با سویه پروبیوتیک تجاری لاکتوباسیلوس رامنوسوس مقایسه نمودند. نتایج این پژوهش نشان داد که سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم علاوه بر داشتن ویژگی پروبیوتیک مطلوب از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری برخوردار است و می‌تواند به عنوان کشت آغازگر در صنعت مواد غذایی به کار گرفته شود (۱۷). با این حال در زمینه تأثیر نوع نژاد بر سایر ویژگی‌های باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم مانند فعالیت ضد کپکی و تجمع و ... اطلاعات اندکی موجود می‌باشد. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی فعالیت ضد باکتریایی و ضد کپکی ۱۰ سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از مواد غذایی تخمیری بومی ایران، علیه چهار باکتری شاخص بیماری‌زا و دو کپک عامل فساد مواد غذایی و همچنین ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و تجمع آن‌ها بود.

## • مواد و روش‌ها

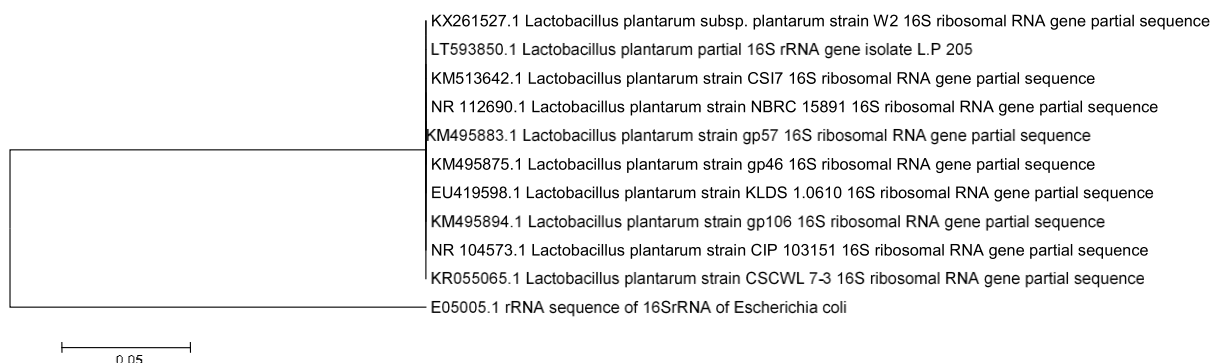
صنعتی ایران خریداری شدند. محیط کشت‌های MRS broth از شرکت لیوفیلکم ایتالیا، Muller Hinton Broth و Yeast extract glucose chloramphenicol agar از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

**آماده سازی کشت‌های میکروبی:** ابتدا کشت ذخیره هر یک از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم پس از خروج از فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد به منظور فعال‌سازی در ۱۰ میلی‌لیتر محیط کشت MRS broth تلقیح شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴-۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. فعال‌سازی باکتری‌های شاخص بیماری‌زا نیز در محیط کشت MHB به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت.

در این پژوهش ۱۰ جدایه لاکتوباسیلوس پلانتاروم از بانک میکروبی گروه علوم و صنایع غذایی- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه گردید (جدول ۱). صحت جنس و گونه این سویه‌ها به کمک روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی (توالی یابی ناحیه 16srRNA) در پژوهش‌های قبلی تایید شده بود (۱۸، ۱۰). باکتری‌های شاخص بیماری‌زا شامل *اشرشیا کلای* (PTCC 1399)، *لیستریا مونوسییتوزنز* (PTCC1298)، *استافیلوکوکوس ارئوس* (PTCC1431) و *سالمونلا اینتریتیدیس* (PTCC 1709)، همچنین کپک‌های عامل فساد شامل *آسپرژیلوس فلاووس* (PTCC 5004) و *آسپرژیلوس نایجر* (PTCC5012) از مرکز کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و

جدول ۱. لیست نژادهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از مواد غذایی مختلف مورد استفاده در این پژوهش.

| نام نژاد در پایگاه NCBI                                   | شماره دسترسی در پایگاه NCBI | منشاء        | کد جدایه |
|---|-----------------------------|--------------|----------|
| <i>Lactobacillus plantarum subsp. plantarum strain W2</i> | KX 261527.1                 | زیتون تخمیری | KAO ۱۷   |
| <i>Lactobacillus plantarum strain CSCWL 7-3</i>           | KR 055065.1                 | زیتون تخمیری | KAO ۸۰   |
| <i>Lactobacillus plantarum partial 16S rRNA gene</i>      | LT 593850.1                 | زیتون تخمیری | KAO ۲۱   |
| <i>Lactobacillus plantarum strain CSI 7</i>               | KM 513642.1                 | زیتون تخمیری | KAO ۴۱   |
| <i>Lactobacillus plantarum strain NBRC 15891</i>          | NR 112690.1                 | زیتون تخمیری | KAO ۶۴   |
| <i>Lactobacillus plantarum strain gp 57</i>               | KM 495883.1                 | پنیر کوزه    | KMC ۴۵   |
| <i>Lactobacillus plantarum strain gp 46</i>               | KM 495875.1                 | پنیر کوزه    | KMC ۶۱   |
| <i>Lactobacillus plantarum strain KLDS 610.1</i>          | EU 419598.1                 | پنیر کوزه    | KMC ۳۷   |
| <i>Lactobacillus plantarum strain gp106</i>               | KM 495894.1                 | شیر شتر      | KMM ۵    |
| <i>Lactobacillus plantarum strain CIP 103151</i>          | NR 104573.1                 | خمیر ترش     | KES ۱۰   |



شکل ۱. درخت فیلوژنتیک سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از مواد غذایی مختلف مربوط به این مطالعه.

پلیت حاوی محیط کشت MHA تلقیح و به کمک سوآپ استریل به خوبی پخش گردید. سپس چاهک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر به کمک چوب پنبه سوراخ کن در محیط کشت ایجاد شد و تزریق ۱۰۰ میکرولیتر از رومانند فیلتر شده در آن-ها انجام گرفت. جهت جذب و انتشار بهتر ترکیبات ضد میکروبی از چاهک‌ها، پلیت‌ها به مدت یک ساعت در یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند و پس از آن به گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مناسب برای رشد سویه‌های شاخص، منتقل شدند. پس از طی ۲۴ ساعت هاله عدم رشد ایجاد شده در اطراف چاهک‌ها به کمک خط‌کش اندازه‌گیری و برحسب میلی‌متر گزارش گردید (۲۰).

**ارزیابی خاصیت خوداتصالی (auto-aggregation) و تجمعی (Co-aggregation) سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانناروم:** جهت تعیین خاصیت خوداتصالی، ابتدا کشت ۲۴ ساعته هریک از باکتری‌های مورد آزمون شامل سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانناروم تحت سانتریفوژ (۴۰۰۰×g) برای ۱۰ دقیقه) قرار گرفت و پس از دو بار شست‌وشو با سرم فیزیولوژی استریل، سوسپانسیون سلولی با غلظت مشخص ( $10^8$  cfu/ml) تهیه و ۴ میلی‌لیتر از آن به لوله‌های شیشه‌ای استریل و تمیز منتقل شد. جهت ارزیابی خاصیت تجمعی نیز در هر لوله میزان مساوی از سوسپانسیون هر نژاد لاکتوباسیلوس پلانناروم (۲ میلی‌لیتر) و یک باکتری شاخص /شرشیاکلای یا لیستریا مونوسیتوژنز (۲ میلی‌لیتر) اضافه گردید. سپس تمامی لوله‌های حاوی نمونه بعد از مخلوط کردن با شیکر به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار گرفتند. در هر دو آزمون جذب هر یک از نمونه‌ها پس از برداشت از قسمت بالایی لوله به کمک سمپلر در لحظه صفر و متعاقباً پس از ۲۴ ساعت با کمک اسپکتروفتومتر (۶۰۰ نانومتر = OD) اندازه‌گیری شد، سپس از طریق فرمول‌های زیر درصد خاصیت خوداتصالی و تجمعی تعیین گردید (۲۱).

$$\text{رابطه ۱)} \quad (1 - A_t/A_0) \times 100 = \text{درصد خوداتصالی}$$

$A_0$  = جذب سوسپانسیون باکتریایی در زمان صفر

$A_t$  = جذب سوسپانسیون باکتریایی در زمان t

رابطه ۲)

$$100 \times [A_{\text{mix}} / (A_L + A_{\text{pat}}) - 1/2] / [(A_L + A_{\text{pat}}) / 2] = \text{درصد تجمعی}$$

$A_L$  = جذب سوسپانسیون باکتری لاکتوباسیلوس پلانناروم

$A_{\text{pat}}$  = جذب سوسپانسیون باکتری بیماری‌زا

$A_{\text{mix}}$  = جذب مخلوط سوسپانسیون دو باکتری

## ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانناروم

**ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی به روش لکه‌گذاری روی آگار:** جهت تعیین فعالیت ضد میکروبی سلول‌های باکتریایی لاکتوباسیلوس پلانناروم از روش لکه‌گذاری روی آگار بر طبق روش Tremonte و همکاران (۲۰۱۷) با اندکی تغییرات استفاده شد. به طور خلاصه، میزان ۱۰ میکرولیتر از کشت فعال ( $10^8$  cfu/ml) هر یک از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانناروم بر روی محیط کشت MRS agar لکه‌گذاری شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در گرمخانه قرار گرفت. سپس کشت فعال هریک از باکتری شاخص بیماری‌زا با غلظتی معادل  $10^7$  cfu/ml در محیط کشت نیمه جامد BHI (۰/۷ درصد آگار) تلقیح شد و در سطح پلیت‌های حاوی باکتری لاکتوباسیلوس پلانناروم ریخته شد و به گرمخانه منتقل گردید. پس از طی ۲۴ ساعت پلیت‌ها به منظور اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد ایجاد شده در اطراف نقاط بررسی شدند و میزان فعالیت بازدارنده هریک از سویه‌ها براساس قطر هاله عدم رشد به صورت زیر تعریف شد (۱۹): هاله بین ۵ و ۱۵ میلی‌متر (ضعیف)، هاله بین ۱۵ و ۲۵ میلی‌متر (متوسط)، هاله بین ۲۵ و ۳۵ میلی‌متر (قوی) و هاله < ۳۵ میلی‌متر (بسیار قوی).

**تهیه رومانند سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانناروم:** برای تهیه رومانند، ابتدا هریک از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانناروم در ۱۰ میلی‌لیتر محیط MRS broth تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. سپس کشت فعال آنها تحت سانتریفوژ ( $5000 \times g$ ) به مدت ۱۵ دقیقه) قرار گرفت و رومانند حاصل برای اطمینان از حذف کامل سلول‌های باکتریایی از فیلتر سرنگی با قطر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد. رومانند بدست آمده برای هریک از سویه‌ها تا زمان انجام آزمون در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۲۰).

## ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی به روش نفوذ در چاهک (Well diffusion method): جهت تعیین اثر ضدباکتریایی

رومانند فیلتر شده فاقد سلول (Cell-Free Supernatant) CFS سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانناروم علیه ۴ باکتری شاخص بیماری‌زا از روش نفوذ در چاهک استفاده شد. بدین منظور ابتدا باکتری‌های شاخص به مدت ۲۴ ساعت در محیط MHB کشت داده شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر از کشت فعال آن‌ها با رقتی معادل نیم مک فارلند ( $1/5 \times 10^8$  cfu/ml) در سطح

سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم توسط خط‌کش اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌متر گزارش شد (۲۳).

### ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم:

**ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط مهار رادیکال DPPH (1-diphenyl-2-picrylhydrazyl):** جهت بررسی قابلیت مهارکنندگی رادیکال DPPH توسط سلول‌های باکتریایی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و نیز رومانند فیلتر شده حاصل از کشت ۲۴ ساعت هریک از آنها از روش Li و همکاران (۲۰۱۲) استفاده شد. به طور خلاصه، میزان یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون سلولی هریک از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در آب مقطر استریل با جمعیتی معادل  $10^9$  cfu/ml به ۲ میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH با غلظت ۰/۰۵ میلی‌مولار اضافه شد. همچنین میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از رومانند فیلتر شده به ۳/۹ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی‌مولار از DPPH اضافه گردید و پس از مخلوط نمودن با شیکر در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک نگهداری شد. از مخلوط آب مقطر و محلول DPPH به عنوان کنترل استفاده شد. همچنین نمونه‌های شاهد تنها حاوی متانول و سلول‌های باکتریایی بودند. جذب هر یک از محلول‌های مورد آزمون پس از سانتریفوژ (g  $\times 8000$  به مدت ۱۰ دقیقه) در ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد و محاسبه درصد مهار رادیکال DPPH توسط سلول و رومانند به ترتیب از طریق رابطه ۴ و ۵ صورت گرفت (۱۴).

رابطه (۴)

$$100 \times (\text{کنترل} / \text{شاهد} - A_{\text{نمونه}}) / (1 - A_{\text{کنترل}}) = \text{درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH}$$

رابطه (۵)

$$100 \times (A_{\text{کنترل}} / A_{\text{نمونه}} - 1) = \text{درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH}$$

**آنالیز آماری:** در این پژوهش تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد. آنالیز و تجزیه تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ صورت گرفت و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد و نمودارها به کمک نرم افزار Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۱۰ رسم شدند.

### • یافته‌ها

**فعالیت ضد باکتریایی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم:** در این مطالعه فعالیت ضد میکروبی ۱۰ جدایه لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از منابع غذایی مختلف

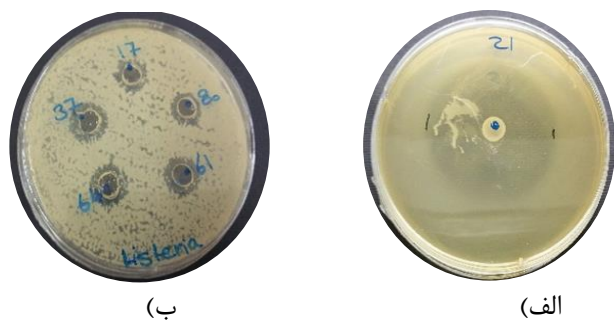
**ارزیابی آبگریزی سطحی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم:** در این آزمون ابتدا سوسپانسیون هریک از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در سرم فیزیولوژی با رقتی معادل نیم مک فارلند ( $10^8$  cfu/ml) تهیه گردید. سپس ۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده به لوله‌های تمیز و استریل منتقل و هم حجم آن حلال آلی اتیل استات یا دکان اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه توسط شیکر مخلوط گردید. سپس لوله‌ها تا زمان دو فاز شدن حدود یک ساعت بدون حرکت در دمای محیط نگهداری شدند. در نهایت فاز آبی بالایی به آرامی با کمک سمپلر برداشته شد و جذب آن در طول موج ۵۸۰ نانومتر تعیین گردید. درصد آبگریزی سطحی باکتری‌ها از طریق فرمول زیر محاسبه شد (۲۲).

$$\text{رابطه (۳)} \quad \text{جذب پس از یک ساعت} = A_2, \text{ جذب در لحظه صفر} = A_1$$

$$\text{درصد آبگریزی} = (1 - A_2/A_1) \times 100$$

### ارزیابی فعالیت ضد کپکی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم

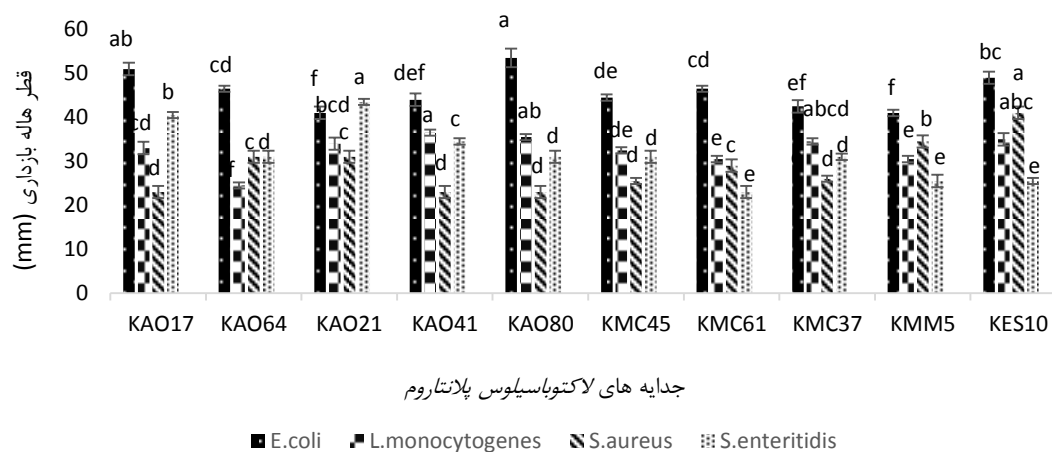
**ارزیابی فعالیت ضد کپکی به روش کشت دولایه (Agar spot assay):** جهت تعیین فعالیت ضد کپکی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم از روش Sangmanee و Hongpattarakere (۲۰۱۴) استفاده شد. در این روش دو لایه آگار متفاوت بکار گرفته می‌شود که لایه اول یا زیرین برای رشد باکتری و لایه دوم یا بالایی برای رشد کپک مناسب می‌باشد. ابتدا جهت تهیه سوسپانسیون اسپور هریک از کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر*، پلیت‌های کشت داده شده آنها در محیط YGC به مدت ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردید. سپس اسپورها با استفاده از آب مقطر از سطح پلیت جمع آوری شدند و به لوله‌های حاوی (v/v) ۰/۱ درصد توفین ۸۰ انتقال یافتند. شمارش اسپورها نیز با استفاده از لام هموسایتومتر انجام گرفت و محلول اسپوری تا رسیدن به  $10^5$  اسپور در هر میلی‌لیتر رقیق شد. از کشت فعال ۲۴ ساعته ( $10^8$  cfu/ml) هریک از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم به میزان ۱۰ میکرولیتر در سطح محیط کشت MRS agar لکه گذاری شد و پلیت‌ها به منظور رشد کافی لکه باکتری به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. سپس پلیت‌ها با ۵ میلی‌لیتر محیط کشت YGC حاوی اسپور کپک ( $10^5$  spore/ml) به صورت کشت دولایه پوشانده شدند و به مدت ۲۲-۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرارگرفتند. قطر هاله عدم رشد در اطراف لکه هر یک از



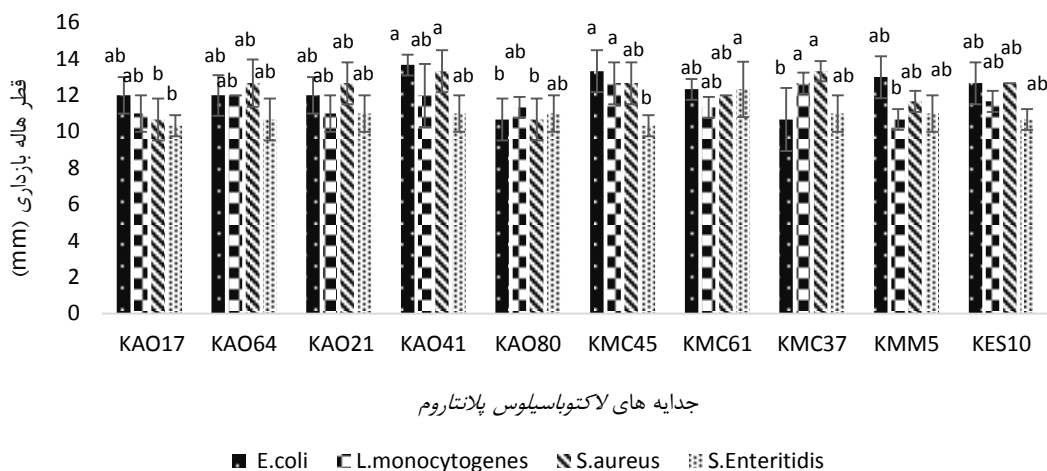
شکل ۲. ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم. الف) روش لکه گذاری بر روی آگار. ب) روش نفوذ در چاهک.

در شکل ۴، نتایج حاصل از آزمون نفوذ در چاهک نشان می‌دهد که روماند فیلتر شده فاقد سلول تمامی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از مواد غذایی مختلف از توانایی بازدارندگی خوبی علیه ۴ باکتری شاخص بیماری‌زا برخوردار بودند ولی به طور کلی در بسیاری از موارد اختلاف معنی‌داری از این نظر در بین آن‌ها مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). در این مطالعه قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط روماند فیلتر شده فاقد سلول سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در برابر باکتری‌های شاخص بیماری‌زا بین ۱۳/۶۷ - ۱۰/۳۳ میلی‌متر متغیر بود و بزرگترین هاله عدم رشد توسط روماند جدایه‌های KAO۴۱ و KAO۴۵ علیه باکتری *اشرشیا کلای* ایجاد شد.

شامل زیتون تخمیری، پنیرکوزه، شیر شتر و خمیرترش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمون لکه‌گذاری بر روی آگار نشان داد که تمامی سویه‌های مورد آزمون قابلیت بازدارندگی خوبی علیه باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی شاخص بیماری‌زایی داشتند. همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد، بین فعالیت ضدباکتریایی ۱۰ نژاد لاکتوباسیلوس پلانتاروم تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ) و این موضوع وابستگی فعالیت ضد میکروبی در سطح نژاد را نشان می‌دهد. همچنین در بین باکتری‌های شاخص بیماری‌زایی، باکتری *اشرشیا کلای* از حساسیت بیشتری در برابر نژادهای مختلف مورد مطالعه برخوردار بود و بزرگترین قطر هاله عدم رشد علیه این باکتری شاخص توسط جدایه KAO ۸۰ (۵۴ میلی‌متر) جدا شده از زیتون تخمیری و کوچکترین قطر هاله عدم رشد توسط جدایه ۵ KMM (۴۱ میلی‌متر) جدا شده از شیر شتر ایجاد شد. علاوه بر این بین فعالیت ضدباکتریایی هر یک از نژادهای لاکتوباسیلوس پلانتاروم علیه ۴ باکتری شاخص بیماری‌زا نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت ( $p < 0.05$ ) و فعالیت بازدارندگی آن‌ها بر اساس قطر هاله عدم رشد ایجاد شده علیه *اشرشیا کلای* به صورت بسیار قوی و علیه *لیستریا مونوسیتوژنز*، *استافیلوکوکوس ارئوس* و *سالمونلا اینتریتیدیس* به صورت متوسط تا بسیار قوی تعیین شد.



شکل ۳. فعالیت ضدباکتریایی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در روش لکه گذاری بر روی آگار (حروف کوچک نامحسمان نوشته شده بر روی هرستون تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).



شکل ۴. فعالیت ضدباکتریایی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در روش نفوذ در چاهک (حروف کوچک نامحسمان نوشته شده بر روی هر ستون تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

## جدول ۲. خاصیت خود اتصالی و تجمعی سویه‌های لاکتوباسیلوس

پلانتاروم در طی ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد.

| کد جدایه | خاصیت خود اتصالی (%)    |                         | لیستریا مونوسیتوژنز     |
|----------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|          | اشرشیا کلای             | لیستریا مونوسیتوژنز     |                         |
| KES ۱۰   | ۷,۱۳±۱,۴۹ <sup>e</sup>  | ۲۳,۰۱±۰,۷۸ <sup>d</sup> | ۴۷,۷۸±۰,۸۱ <sup>a</sup> |
| KMM ۵    | ۱۰,۴۵±۱,۷۰ <sup>e</sup> | ۱۸,۴۶±۱,۰۹ <sup>e</sup> | ۱۵,۴±۱,۴۹ <sup>e</sup>  |
| KAO ۶۴   | ۱۱,۱±۰,۹۳ <sup>e</sup>  | ۴۴,۲۷±۱,۳۳ <sup>a</sup> | ۹,۲۷±۱,۷۹ <sup>e</sup>  |
| KAO ۱۷   | ۱۰,۴۶±۱,۱۳ <sup>e</sup> | ۲۱,۸۳±۱,۰۳ <sup>d</sup> | ۱۷,۳±۱,۱۶ <sup>de</sup> |
| KAO ۲۱   | ۲۴,۳۴±۲,۱ <sup>d</sup>  | ۱۴,۲۱±۱,۳۶ <sup>f</sup> | ۷,۲۴±۱,۶۷ <sup>e</sup>  |
| KAO ۴۱   | ۴۴,۴۷±۲,۳ <sup>b</sup>  | ۳۱,۷۶±۰,۹۳ <sup>b</sup> | ۳۲,۶۹±۰,۷۷ <sup>b</sup> |
| KAO ۸۰   | ۳۶,۵۶±۲,۳ <sup>c</sup>  | ۵,۹۹±۰,۴۷ <sup>h</sup>  | ۱۸,۹۱±۰,۷۶ <sup>d</sup> |
| KMC ۳۷   | ۹,۹۶±۱,۶۹ <sup>e</sup>  | ۹,۳۷±۱,۱۷ <sup>e</sup>  | ۱۲,۷۷±۰,۶۵ <sup>f</sup> |
| KMC ۴۵   | ۵۸,۷۸±۲,۱۳ <sup>a</sup> | ۲۸,۹۵±۰,۴۱ <sup>c</sup> | ۱۲,۳۷±۰,۵۳ <sup>f</sup> |
| KMC ۶۱   | ۲۱,۵۴±۱,۳۵ <sup>d</sup> | ۳۱,۳۵±۱,۱۷ <sup>b</sup> | ۲۵±۰,۶۸ <sup>c</sup>    |

\*نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده است. حروف کوچک نامحسمان در هر ستون تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد.

## خاصیت خود اتصالی و تجمعی سویه‌های لاکتوباسیلوس

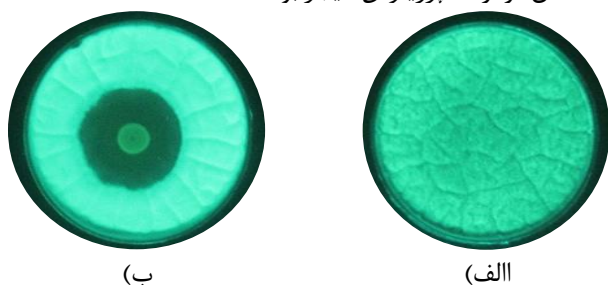
**پلانتاروم:** نتایج قابلیت خود اتصالی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در طی ۲۴ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در جدول ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه در میان ۱۰ نژاد مورد مطالعه کمترین و بیشترین خاصیت خود اتصالی به ترتیب به جدایه‌های KES ۱۰ ( $7/13 \pm 1/49$  درصد) و ۴۵ KMC ( $58/78 \pm 2/12$  درصد) تعلق داشت. اما به طور کلی بین ۵۰ درصد از سویه‌های مورد بررسی از نظر خاصیت خود اتصالی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

علاوه بر این خاصیت تجمعی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در حضور باکتری‌های شاخص بیماری‌زا گرم منفی و گرم مثبت شامل اشرشیا کلای و لیستریا مونوسیتوژنز مورد بررسی قرار گرفت. تمامی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم مورد آزمون قابلیت اتصال به سلول‌های باکتریایی بیماری‌زا را داشتند، اما درصد خاصیت تجمعی مشاهده شده بر اساس نوع نژاد متفاوت بود. بر طبق نتایج مندرج در جدول ۲ جدایه KAO ۶۴ بیشترین قابلیت اتصال به اشرشیا کلای و جدایه ۱۰ KES بیشترین قابلیت اتصال به لیستریا مونوسیتوژنز را داشتند. علاوه بر این، به جز جدایه‌های KMC ۳۷، KAO ۸۰ و ۱۰ KES توانایی اتصال اکثر سویه‌ها به باکتری اشرشیا کلای بیشتر از لیستریا مونوسیتوژنز بود.

## آبگریزی سطحی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم:

آبگریزی سطحی سلول‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم از طریق توانایی چسبیدن به حلال‌های اتیل استات و دکان مورد ارزیابی قرار گرفت. در این آزمون درصد کاهش جذب فاز آبی با سوسپانسیون اولیه مقایسه شد و به عنوان بخشی از سلول-های چسبیده به حلال آلی گزارش گردید. بر طبق جدول ۳، قابلیت اتصال نژادهای مختلف لاکتوباسیلوس پلانتاروم به دو حلال آلی متفاوت بود. تمایل بیشتر همه نژادهای مورد بررسی به اتصال به حلال غیرقطبی دکان در مقایسه با حلال بازی اتیل استات و ویژگی آبگریزی سطحی بالای این سلول‌ها را

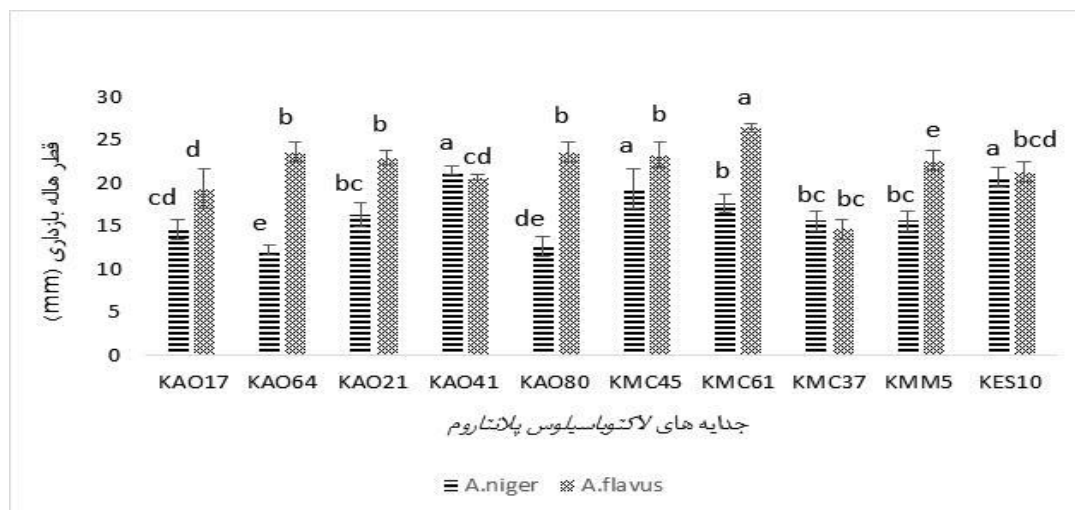
از پنیر کوزه (KMC۶۱) بود که با سایر سویه‌های مورد مطالعه از این نظر اختلاف معنی‌داری داشت ( $p < 0/05$ ). نتایج نشان داد که کپک آسپرژیلوس فلاووس در برابر متابولیت‌های تولیدی توسط ۸۰ درصد از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم حساس تر از آسپرژیلوس نایجر بود.



شکل ۵. ارزیابی فعالیت ضدکپکی به روش کشت دولایه. الف) تیمار کنترل رشد کپک آسپرژیلوس. ب) هاله عدم رشد کپک آسپرژیلوس در حضور نژادی از لاکتوباسیلوس پلانتاروم.

#### فعالیت آنتی‌اکسیدانی سویه‌های لاکتوباسیلوس

**پلانتاروم:** در شکل ۷ نتایج مربوط به قابلیت مهار رادیکال-های DPPH توسط سلول‌های باکتریایی لاکتوباسیلوس پلانتاروم نمایش داده شده‌است. همانطور که ملاحظه می‌گردد نژاد شماره ۶۴ KAO (۶۵٫۶۶ درصد) و ۳۷ KMC (۳۶٫۶ درصد) به ترتیب بیشترین و کمترین قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH را داشتند و در مجموع در میان ۷۰ درصد از سویه‌ها از این نظر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). همچنین در بین سویه‌های جدا شده از زیتون تخمیری جدایه KAO۶۴ و در بین سویه‌های جدا شده از پنیر کوزه جدایه KMC۳۷ به طور معنی‌داری با بقیه سویه‌ها از نظر توانایی مهار رادیکال‌های DPPH اختلاف داشتند ( $p < 0/05$ ).



شکل ۶. فعالیت ضدکپکی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در روش لکه گذاری بر روی آگار (حروف کوچک ناهمسان نوشته شده بر روی هرستون تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد).

نشان داد. همچنین در میان ۱۰ سویه مورد آزمون جدایه ۶۱ KMC بیشترین درصد آبگریزی سطحی را نشان داد. اما به طور کلی بین ۸۰ درصد از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم از نظر آبگریزی سطحی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ).

جدول ۳. درصد اتصال سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم به حلال‌های

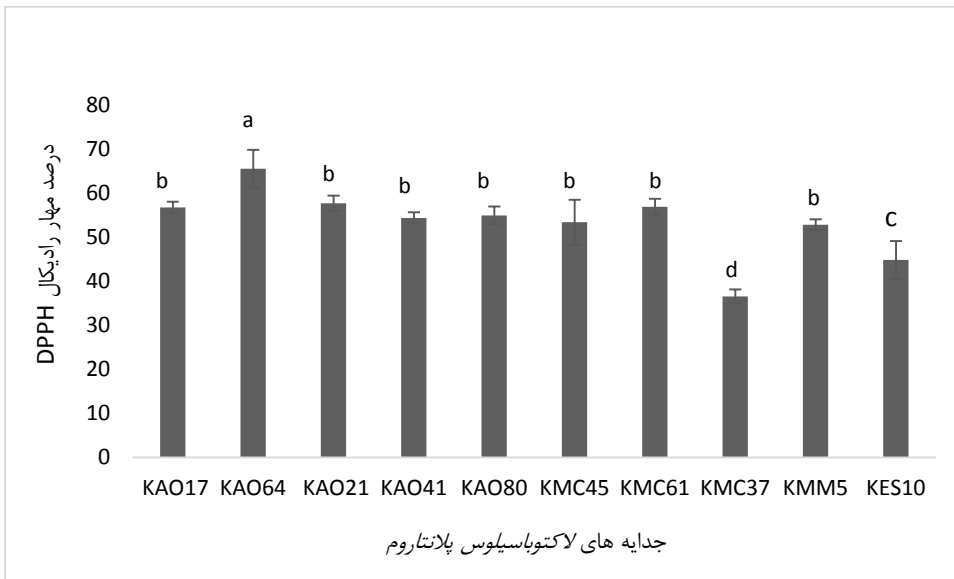
| کد جدایه | اتیل استات              | دکان                     |
|----------|-------------------------|--------------------------|
| KES ۱۰   | ۱۵٫۴۷±۱٫۰۵ <sup>d</sup> | ۷۴٫۳۳±۲٫۵۳ <sup>ab</sup> |
| KMM ۵    | ۱۲٫۷۷±۲٫۴۷ <sup>d</sup> | ۸۰٫۴۹±۲٫۳۸ <sup>a</sup>  |
| KAO ۶۴   | ۱۸٫۴±۱٫۲۷ <sup>d</sup>  | ۷۲٫۷۴±۸٫۶۷ <sup>ab</sup> |
| KAO ۱۷   | ۴۳٫۵۳±۱٫۵۳ <sup>b</sup> | ۸۵٫۹۴±۳٫۵۶ <sup>a</sup>  |
| KAO ۲۱   | ۹٫۵۲±۱٫۳۷ <sup>d</sup>  | ۴۲٫۳۳±۵٫۳۱ <sup>c</sup>  |
| KAO ۴۱   | ۳۴٫۶۸±۲٫۰۵ <sup>c</sup> | ۵۹٫۹۲±۷٫۵۴ <sup>b</sup>  |
| KAO ۸۰   | ۱۷٫۰۹±۲٫۴۹ <sup>d</sup> | ۴۱٫۷۵±۸٫۷۸ <sup>c</sup>  |
| KMC ۳۷   | ۴۶٫۱۹±۱٫۴۸ <sup>b</sup> | ۸۴٫۸۷±۷٫۳۱ <sup>a</sup>  |
| KMC ۴۵   | ۵۲٫۹۴±۲٫۲۸ <sup>a</sup> | ۷۱٫۷۲±۱٫۵۸ <sup>ab</sup> |
| KMC ۶۱   | ۳۳٫۷۳±۲٫۲۶ <sup>c</sup> | ۸۶٫۰۷±۳٫۷۲ <sup>a</sup>  |

\*نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار بیان شده است. حروف کوچک ناهمسان در هر ستون تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می‌دهد

#### فعالیت ضد کپکی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم:

طبق شکل ۶ طیف وسیعی از فعالیت بازدارندگی علیه هر دو کپک توسط ۱۰ سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم مشاهده شد و قطر هاله عدم رشد در مقابل آسپرژیلوس نایجر بین ۲۰/۶۷-۱۲/۳۳ میلی‌متر و در مقابل آسپرژیلوس فلاووس بین ۲۶/۵-۱۴/۶۷ متغیر بود. در این مطالعه بیشترین فعالیت ضدکپکی علیه آسپرژیلوس نایجر مربوط به ۳ سویه جدا شده از زیتون تخمیری (KAO ۴۱)، خمیر ترش (KES ۱۰) و پنیر کوزه (KMC ۴۵) بود که از این نظر اختلاف معنی‌داری در بین آنها مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ). علاوه بر این بیشترین فعالیت ضدکپکی علیه آسپرژیلوس فلاووس مربوط به سویه جدا شده

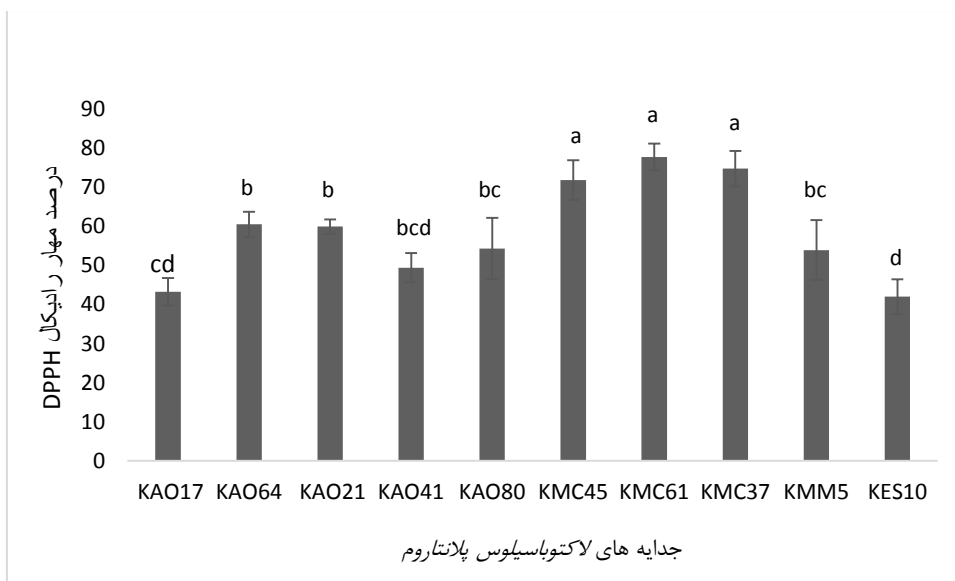




شکل ۷. قابلیت مهار رادیکال های DPPH توسط سلول های لاکتوباسیلوس پلانتروم (حروف کوچک ناهمسان نوشته شده بر روی هرستون تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد).

KMC (بیشترین قابلیت مهار رادیکال های آزاد را نشان دادند و از این نظر با بقیه سویه ها اختلاف معنی داری داشتند ( $p < 0.05$ ). همچنین رومانند حاصل از نژاد KES ۱۰ جدا شده از خمیر ترش کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را نشان داد.

فعالیت آنتی اکسیدانی رومانند سویه های لاکتوباسیلوس پلانتروم: درصد مهار رادیکال DPPH توسط رومانند حاصل از سویه های لاکتوباسیلوس پلانتروم در شکل ۸ نمایش داده شده است. همانطور که مشاهده می شود رومانند مربوط به هر ۳ سویه ی جدا شده از پنیر کوزه (KMC ۴۵، KMC ۶۱ و KMC ۳۷



شکل ۸. قابلیت مهار رادیکال های DPPH توسط رومانند حاصل از سویه های لاکتوباسیلوس پلانتروم (حروف کوچک ناهمسان نوشته شده بر روی هرستون تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ را نشان می دهد).

## • بحث

## فعالیت ضد باکتریایی سویه‌های لاکتوباسیلوس

**پلانتاروم:** حضور باکتری‌های اسیدلاکتیک در مواد غذایی تخمیری سابقه طولانی دارد و قابلیت مهار میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا توسط این گروه از باکتری‌ها به توانایی تولید ترکیبات ضد میکروبی شامل: اسیدهای آلی، اسیدهای چرب کوتاه زنجیره، باکتریوسین‌ها، هیدروژن پراکسید، کربن دی-اکسید و... مربوط می‌شود (۲). علاوه بر این ارتباط بین منشاء جداسازی سویه‌های میکروبی و شدت فعالیت ضد میکروبی توسط Tremonte و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شده است (۱۹). بر این اساس هر چه سابقه وجود شرایط استرس‌زا در محیطی که جداسازی از آن صورت گرفته است بیشتر باشد قابلیت تولید ترکیبات ضد میکروبی توسط سویه‌های لاکتوباسیلوس بیشتر است. از این رو با توجه به سابقه وجود شرایط سخت در محیط‌های غذایی مورد استفاده جهت جداسازی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در این پژوهش شامل pH اسیدی و حضور نمک در زیتون تخمیری، پنیر کوزه و خمیر ترش می‌توان قابلیت تولید ترکیبات ضد میکروبی توسط این سویه‌ها را تصدیق نمود. ابراهیمی و همکاران (۲۰۱۵) نیز در بررسی ویژگی‌های پروبیوتیکی جدایه‌های لاکتیکی زیتون تخمیری در آزمون انتشار از دیسک به قابلیت ضدباکتریایی رومانند فیلتر شده فاقد سلول دو نژاد لاکتوباسیلوس پلانتاروم علیه باسیلوس سرئوس، اشرشیاکلا، لیستریا مونوسیتوزنز و سالمونلا اینترتیدیس و عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین دو نژاد اشاره نمودند (۱۰). این در حالی است که در مطالعه Zago و همکارانش (۲۰۱۱) هیچ یک از ۹۸ نژاد لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از پنیرهای ایتالیایی و آرژانتینی فعالیت بازدارندگی علیه باکتری‌های بیماری‌زای مذکور نشان ندادند (۲۴). علاوه بر این، سویه‌های مورد مطالعه از قابلیت بازدارندگی بیشتری علیه باکتری اشرشیاکلا نسبت به سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از گوشت نمک سود شده توسط Essid و همکاران (۲۰۰۹) در آزمون مشابه نفوذ در چاهک برخوردار بودند (۱۳). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج مطالعه Oldak و همکارانش (۲۰۱۷) مطابقت داشت. براساس این مطالعه سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از یک نوع پنیر فعالیت ضد میکروبی بیشتری بر باکتری شاخص اشرشیاکلا نسبت به لیستریا مونوسیتوزنز داشتند (۲۰). این نتایج با مطالعات دیگر مبنی بر حساس بودن بیشتر باکتری‌های گرم مثبت در برابر ترکیبات ضد میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک مغایرت دارد (۲۶، ۱۶، ۹) و احتمالاً

به حضور بیشتر باکتری شاخص بیماری‌زای اشرشیاکلا در محیط غذایی مورد استفاده جهت جداسازی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم ارتباط داشت (۲۰).

در مطالعه حاضر نتایج حاصل از آزمون نفوذ در چاهک نیز نشان داد که بین پتانسیل بازدارندگی رومانند فیلتر شده فاقد سلول تمامی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم علیه ۴ باکتری شاخص بیماری‌زا در بسیاری از موارد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ( $p > 0.05$ ). این موضوع احتمالاً به شباهت ماهیت متابولیت‌های تولیدی آنها با توجه به یکسان بودن شرایط کشت آنها از نظر نوع محیط کشت، زمان و دما ارتباط دارد. همچنین دامنه بازدارندگی و فعالیت ضد میکروبی در روش نفوذ در چاهک با آنچه که در روش لکه‌گذاری بر روی آگار مشاهده شد، متفاوت بود. این موضوع با گزارشات سایر محققان مطابقت دارد بطوریکه فعالیت ضد میکروبی قوی مشاهده شده در روش لکه‌گذاری بر روی آگار همواره در مورد رومانند فیلتر شده در روش نفوذ در چاهک مشاهده نمی‌گردد. دلیل این امر وجود ترکیبات متابولیکی وابسته به کلنی با فعالیت ضد میکروبی شامل اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن و اسیدهای چرب است که در روش لکه‌گذاری موجودند و می‌توانند باعث ظهور هاله شفاف بازدارندگی بزرگتری شوند (۲۶، ۲۵).

## خاصیت خوداتصال و تجمعی و آگریزی سطحی سویه-

**های لاکتوباسیلوس پلانتاروم:** از جمله مهم‌ترین معیارهای انتخاب باکتری‌های اسیدلاکتیک به عنوان پروبیوتیک علاوه بر ایمن بودن و تحمل شرایط گوارشی (اسید و صفرا) می‌توان به توانایی اتصال به سلول‌های مخاطی و لانه‌گزینی در سطح روده اشاره نمود. در واقع پروبیوتیک‌ها با مهار جایگاه‌های اتصال باکتریایی بر روی سطوح سلول‌های اپیتلیال روده در محافظت از میزبان نقش مهمی دارند چرا که از اتصال و استقرار باکتری‌های بیماری‌زا که جهت ایجاد بیماری باید به سلول‌های روده متصل شوند، ممانعت می‌نمایند. ویژگی خوداتصال یک عامل مؤثر در افزایش میزان اتصال باکتری-های اسیدلاکتیک به یکدیگر به منظور لانه‌گزینی در سطح سلول‌های اپیتلیال روده می‌باشد در حالیکه قابلیت تجمعی، یک عامل مؤثر در جلوگیری از تجمع و لانه‌گزینی باکتری‌های بیماری‌زا است و نهایتاً هر دو ویژگی سبب تقویت سیستم ایمنی بدن می‌گردند (۲۷، ۲۲، ۲۱). خاصیت آگریزی دیواره سلولی باکتری‌های اسیدلاکتیک نیز به عنوان یک عامل فیزیکیوشیمیایی مؤثر در اتصال این باکتری‌ها به پوشش

سطح سلول‌های باکتری که خواص فیزیکوشیمیایی سلول‌ها را تعیین می‌نماید، ثابت نیست و به عوامل مختلف فیزیکی و شیمیایی که سلول را احاطه کرده بستگی دارد (۲۹). با توجه به پژوهش‌های انجام شده در زمینه شیمی سلول‌های باکتریایی به طور کلی آبگریزی سطحی سلول به حضور ترکیبات پروتئینی و ویژگی‌های هیدروفیل سطح به حضور پلی‌ساکاریدها مربوط می‌شود (۳۰). نتایج این مطالعه نشان داد که جدایه ۶۱ KMC بالاترین درصد آبگریزی سطحی را دارا بود، اما بین آبگریزی سطحی ۱۰ نژاد مورد بررسی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ( $p > 0.05$ ) که احتمالاً به بیوسنتز و آرایش مشابه ترکیبات پروتئینی و پلی‌ساکاریدی سطح سلول آن‌ها ارتباط دارد. همچنین سویه‌های این مطالعه نسبت به سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم در مطالعه مشابه Ng و همکاران (۲۰۱۵) از قابلیت آبگریزی سطحی بیشتری برخوردار بودند (۳۱).

#### فعالیت ضد کپکی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم:

نتایج حاصل از کشت دولایه نشان داد که تمامی نژادهای لاکتوباسیلوس پلانتروم مورد بررسی فعالیت ضدکپکی خوبی علیه کپک *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس نایجر* داشتند. این نتایج با گزارشات پیشین محققین در مورد قابلیت باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم در بازداری از رشد و تولید اسپور در بسیاری از کپک‌های عامل فساد غذایی مانند *آسپرژیلوس*، *پنی‌سیلیوم*، *فوزاریوم* و *کلادوسپوریم* مطابقت دارد (۳۲، ۳۳). با توجه به مطالعات پیشین Sangmanee و Hongpattarakere (۲۳) و ابراهیمی و همکاران (۱۸) احتمالاً فعالیت ضدکپکی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم در این پژوهش به قابلیت تولید ترکیباتی شامل اسیدهای آلی، ترکیبات پروتئینی، اسیدهای چرب هیدروکسیل (با وزن مولکولی ۲۴۴-۱۸۸)، فنیل لاکتیک اسید، ۴- هیدروکسی فنیل لاکتیک اسید، بنزوئیک اسید و تعداد بسیاری از دی‌پتیدهای حلقوی مربوط می‌شود که مطالعه بیشتر در این زمینه را می‌طلبد. همچنین قطر هاله عدم رشد مشاهده شده علیه کپک *آسپرژیلوس فلاووس* در این مطالعه بزرگتر از قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط نژاد لاکتوباسیلوس پلانتروم K35 در پژوهش Sangmanee و Hongpattarakere (۲۳) بود. علاوه بر این در مطالعه دیگر از نژاد لاکتوباسیلوس پلانتروم UFG 121 به عنوان کشت آغازگر به همراه مخمر ساکارومایسس استفاده شد نتایج نشان داد که توانایی این سویه باکتریایی در بازداری از رشد کپک *آسپرژیلوس نایجر* بر روی نان برخلاف سایر کپک‌ها مانند *فوزاریوم کولوموروم* و *آسپرژیلوس فلاووس*

دستگاه گوارش نقش اساسی ایفا می‌کند. البته این ویژگی‌ها در باکتری‌های اسیدلاکتیک کاملاً متغیر است و بسته به جنس و نژاد متفاوت می‌باشد (۲۸، ۲۱، ۱۵). نتایج این مطالعه نیز نشان داد که نژادهای مختلف لاکتوباسیلوس پلانتروم از قابلیت خوداتصال و تجمع‌ی متفاوتی برخوردار بودند. علاوه بر این توانایی اتصال اکثر سویه‌های مورد مطالعه به باکتری *اشرشیا کلای* بیشتر از *لیستریا مونوسیتوزنز* بود. Collado و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه خود باکتری‌های پروبیوتیک را از نظر خاصیت تجمع‌ی به سه دسته تقسیم کردند: گروه اول شامل باکتری‌هایی با خاصیت تجمع‌ی زیاد، گروه دوم شامل باکتری‌هایی با خاصیت تجمع‌ی کم و گروه سوم شامل باکتری‌هایی با خاصیت تجمع‌ی زیاد و خوداتصالی کم (۲۱). بر این اساس در این پژوهش نیز اکثر سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم از قابلیت خوداتصالی کم و خاصیت تجمع‌ی بالا برخوردار بودند که نشان‌دهنده فعالیت آنتاگونیستی مطلوب سویه‌های مورد آزمون علیه دو باکتری عامل عفونت روده بود. به علاوه نتایج خاصیت تجمع‌ی بسیاری از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم مورد مطالعه در حضور باکتری بیماری‌زایی مانند *اشرشیا کلای*، نسبت به سویه‌های مشابه گزارش شده در مطالعه تفنگسازان و همکاران (۲۰۱۳) (۲۸) بیشتر بود و با سویه‌های مشابه گزارش شده در مطالعه هاشمی و همکاران (۲۰۱۵) (۱۵) شباهت داشت. تحقیقات بسیاری در زمینه شناخت ترکیبات و عوامل دخیل در اتصالات بین سلولی باکتری‌ها و همچنین قابلیت اتصال آنها به سلول‌های اپیتelial روده صورت گرفته‌است. در اکثر موارد خاصیت تجمع‌ی سلول‌های باکتریایی به قابلیت چسبندگی سلول مربوط می‌شود که خود به برهمکنش‌های ویژه و حضور ترکیبات سطحی سلول مانند پروتئین‌ها، اسیدهای چرب و پلی‌ساکاریدها وابسته است (۲۲، ۲۱). بر این اساس برای درک اثر عوامل سطحی و محیطی بر قابلیت تجمع‌ی، مطالعه Polak و همکاران (۲۰۱۴) حاکی از این بود که حضور قند-های ساده، لیتیم کلرید، سدیم دو دسیل سولفات SDS (Sodium dodecyl sulfate) و تیمار آنزیمی دیواره سلول با آنزیم پروتئیناز K با تغییر ساختار پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها و سایر مولکول‌های سطح سلول، خاصیت تجمع‌ی سویه‌های لاکتوباسیلوس *رامنوسوس* را به طور معنی‌داری کاهش داد (۲۲). همانطور که ذکر شد آبگریزی سطحی سلول از دیگر ویژگی‌های مهم باکتری‌های پروبیوتیک جهت اتصال به سلول‌های اپیتelial روده می‌باشد. برطبق مطالعه خانقلی و همکاران (۲۰۱۶) ساختار و ماهیت گروه‌های شیمیایی روی

بیشتر مهار رادیکال‌های DPPH توسط رومانند حاصل از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به سایر باکتری‌ها در مطالعات پیشین مانند لاکتوباسیلوس برویس (۵۴/۳۵ درصد) (۳۷)، لاکتوکوکوس لاکتیس (۳۰/۲ درصد) و لاکتوباسیلوس پلانتاروم (۳۸/۴ درصد) (۴۱) را نشان داد. Uugantsetseg و Batjargal (۲۰۱۴) نیز خاصیت آنتی-اکسیدانی بیشتر سویه‌ای از باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و رومانند حاصل از آن را نسبت به دیگر باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از نوعی شیر تخمیری مانند لاکتوباسیلوس پاراکازئی، لاکتوباسیلوس برویس و لاکتوکوکوس لاکتیس را گزارش کردند (۴۱). همچنین سلیمانی (۲۰۱۸) در پژوهشی افزایش اثر آنتی‌اکسیدانی در محصول تخمیری دوغ شتر را به متابولیت‌های حاصل از فعالیت آغازگرهای لاکتیکی شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس فرمنتوم و لاکتوباسیلوس برویس مربوط دانستند (۴۲). بنابراین براساس مطالعات انجام شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی رومانند حاصل از باکتری‌های اسیدلاکتیک را احتمالاً می‌توان به فعالیت پروتئولیتیک آنها و تولید متابولیت‌های پروتئینی نسبت داد (۳۷).

به طور خلاصه، این مطالعه به بررسی اثر نژادهای مختلف باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم جدا شده از مواد غذایی سنتی (زیتون تخمیری، پنیر کوزه، خمیر ترش و شیر شتر) بر فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و تجمع آن‌ها پرداخت. تمامی ۱۰ نژاد مورد مطالعه علاوه بر اینکه از ویژگی آنتاگونیستی خوبی علیه باکتری‌های بیماری‌زا برخوردار بودند، فعالیت ضد کپکی قابل قبولی نیز در برابر کپک‌های عامل فساد غذایی نشان دادند. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل ملاحظه‌ای توسط سوسپانسیون سلولی و رومانند حاصل از سویه‌های مذکور از طریق مهار رادیکال DPPH مشاهده شد. نتایج آزمون‌های مربوط به ویژگی‌های سطحی سلول باکتری نشان داد که تمامی نژادهای مورد مطالعه از نظر خصوصیات سطح سلول بسیار به یکدیگر شباهت دارند و از این نظر اختلاف معنی‌داری میان اکثر آنها از نظر ویژگی آبگریزی سطحی و خوداتصال و قدرت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها مشاهده نشد. در بین ۱۰ نژاد مورد مطالعه سویه‌های جدا شده از پنیر کوزه علاوه بر خاصیت ضد میکروبی و آنتی-اکسیدانی مناسب، از قابلیت آبگریزی سطحی بالایی برخوردار بودند. که احتمالاً به ماهیت پروتئینی این ماده غذایی و اثر محافظت‌کنندگی بر ترکیبات سطح سلول‌های باکتری‌های آن در برابر استرس‌های مختلف محیطی مربوط می‌شود.

موفقیت آمیز نبود (۳۴). بنابراین این نتایج دارا بودن اثر ضدکپکی قوی‌تر سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم پژوهش حاضر را نسبت به سایر مطالعات نشان می‌دهد.

### فعالیت آنتی‌اکسیدانی سویه‌های لاکتوباسیلوس

**پلانتاروم:** گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) یا رادیکال‌های آزاد همواره در شرایط درون تنی در طی متابولیسم سلول‌ها تولید می‌شوند. هنگامی که این گونه‌های فعال بیش از حد تولید گردند و یا فرایند خنثی‌سازی سلول معیوب باشد، آنها می‌توانند باعث اکسیداسیون لیپید، پروتئین و نوکلئیک‌اسیدها و آسیب سلولی گردند و بدین طریق باعث بروز سرطان، سیروز، التهاب و بیماری‌های قلبی و عروقی می‌شوند (۳۵). بنابراین جهت کنترل رادیکال‌های آزاد انتخاب آنتی‌اکسیدان مناسب ضروری به نظر می‌رسد. در مطالعات بسیاری به نقش باکتری‌های اسیدلاکتیک و متابولیت‌های حاصل از آنها به عنوان آنتی‌اکسیدان در حفظ سلامت انسان و اجتناب از برخی بیماری‌ها اشاره شده است (۳۹-۱۴). در این مطالعه نیز تمامی سلول‌های نژادهای مختلف لاکتوباسیلوس پلانتاروم و رومانند فیلتر شده فاقد سلول حاصل از آنها از خاصیت آنتی‌اکسیدانی خوبی برخوردار بودند. Li و همکاران (۲۰۱۲) گزارش نمودند که افزایش جمعیت سلولی باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم از  $10^9$  به  $10^{10}$  باعث افزایش قابلیت مهار رادیکال‌های DPPH شد. آنها همچنین به منظور شناسایی ترکیبات دخیل در توانایی مهار رادیکال‌های DPPH در سطح سلول باکتری، از تیمارهای شیمیایی و آنزیمی استفاده کردند که نتایج حاکی از کاهش قابل ملاحظه فعالیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌های باکتریایی لاکتوباسیلوس پلانتاروم به دنبال اکسیداسیون کربوهیدرات‌ها و حذف پروتئین‌های سطح سلول بود (۱۴). علاوه بر این در مطالعات دیگر هم به نقش ترکیبات سطح سلول مثل پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی تولید شده توسط لاکتوکوکوس لاکتیس (۳۹) و لیپتویکوئیک اسید در سطح سلول بیفیدوباکتر (۴۰) در ایجاد خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیاری از سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک اشاره شده است. بنابراین شباهت بسیاری از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در این مطالعه احتمالاً به دلیل شباهت ترکیبات سطح سلول آنها مربوط می‌شود. علاوه بر این بیشترین درصد مهار رادیکال‌های DPPH (۶۵/۶۶ درصد) توسط سویه‌ای از لاکتوباسیلوس پلانتاروم ( $10^9$  cfu/ml) به دست آمد که از سویه‌های مشابه در مطالعات دیگر مانند Li و همکاران (۲۰۱۲) (۱۹ درصد) بیشتر بود (۱۴). به علاوه این نتایج قابلیت

جهت توسعه فراورده‌های دارویی و غذایی ارزشمند باشد. اما باید در این زمینه آزمایشات بیشتری در سطح *in-vitro* و *in-vivo* انجام گیرد.

براساس نتایج به دست آمده استفاده از سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم و متابولیت‌های تولیدی آنها با توجه به ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی مطلوب می‌تواند

## • References

- Rhee SJ, Lee JE, Lee CH. Importance of lactic acid bacteria in Asian fermented foods. In *Microbial Cell Factories*. 2011; 10(1): 1-13.
- Herreros MA, Sandoval H, González L, Castro JM, Fresno JM, Tornadijo ME. Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *Food Microbiol*. 2005; 1;22(5):455-9.
- EFSA (European Food Safety Authority). Definition and description of "emerging risks" within the EFSA's mandate. 2007.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2012 update). *EFSA Journal*. 2012 ;10(12): 3020.
- Šušković J, Kos B, Beganović J, Pavunc AL, Habjanič K, Matošić S. Antimicrobial Activity--The Most Important Property of Probiotic and Starter Lactic Acid Bacteria. *Food Technol & Biotechnol*. 2010; 1;48(3): 296-307.
- Dinev T, Beev G, Tzanova M, Denev S, Dermendzhieva D, Stoyanova A. Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* against pathogenic and food spoilage microorganisms: A review. *Bulgarian J of veterinary med*. 2017; 1;21(3): 1-16.
- Zarei Yam B, Kh M., Sa A, J S. Isolation and identification of lactic acid bacteria from chal in Golestan province. *J of Food Processing and Preservation*. 2013; 5(2): 131-148.
- Davati N, Tabataba i Yazdi F, Ziba i S, Shahidi F, Edalatian M R. Isolation and identification of *lactobacillus* bacteria from raw milk of iranian one humped camel (*Camelus dromedarius*) and evaluation of their technological properties. *FSCT*. 2015; 13 (56): 113-123.
- Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Mortazavi A, Tabatabaei Yazdi F. Diversity of Lactic Acid Bacteria communities in "Ash kardeh" with using 16s rRNA gene sequence analysis and antimicrobial activity evaluation of like-bacteriocin compounds. *Food Sci and Technol*. 2015; 13(53): 1-14.
- Ahmadi Z. Isolation and identification of predominant species of lactic acid bacteria from Fishemi and Yellow fermented olives and their application as starter in fermented olive production. *Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, M.C. Faculty of Food Sciences and Technology*; 2016 [in Persian].
- Sadeghi A, Ebrahimi M, Raeisi M. Evaluating the potential of *Lactobacillus* isolated from whole wheat sourdough in reduction of Aflatoxin B1. *J of Food Microbiol*. 2016; 2(4): 1-14.
- Vasiee AR, Mortazavi A, Tabatabaei-yazdi F, Edalatian Dovom MR. Detection, identification and phylogenetic analysis of lactic acid bacteria isolated from Tarkhineh, Iranian fermented cereal product, by amplifying the 16s rRNA gene with universal primers and differentiation using rep-PCR. *Int Food Res J*. 2018; 25(1): 423-432.
- Essid I, Medini M, Hassouna M. Technological and safety properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. *Meat Sci*. 2009; 81(1):203-8.
- Li S, Zhao Y, Zhang L, Zhang X, Huang L, Li D, Niu C, Yang Z, Wang Q. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food chemist*. 2012; 1;135(3):1914-9.
- Hashemi SM, Shahidi F, Mortazavi SA, Milani E, Eshaghi Z. Study of antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from traditional Kurdish cheese in comparison to reference strains against some pathogens. *Food Sci and Technol*. 2015; 15;13(55):103-13 [in Persian].
- Arena MP, Silvain A, Normanno G, Grieco F, Drider D, Spano G, Fiocco D. Use of *Lactobacillus plantarum* strains as a bio-control strategy against food-borne pathogenic microorganisms. *Frontiers in microbiology*. 2016; 13;7: 464-74.
- Son SH, Jeon HL, Jeon EB, Lee NK, Park YS, Kang DK, Paik HD. Potential probiotic *lactobacillus plantarum* Ln4 from kimchi: Evaluation of  $\beta$ -galactosidase and antioxidant activities. *LWT-Food Sci and Technol*. 2017; 1;85:181-6.
- Ebrahimi M, Khomeiri M, Masoudi-Nejad A, Sadeghi A, Sadeghi B, Kashaninejad M. Inhibitory effects of lactic acid bacteria isolated from traditional fermented foods against aflatoxigenic *Aspergillus* spp. *Comparative Clinical Pathol*. 2017; 5:1083-92.
- Tremonte P, Pannella G, Succi M, Tipaldi L, Sturchio M, Coppola R, Luongo D, Sorrentino E. Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from different environments: a preliminary study. *Int Food Res J*. 2017; 1;24(2): 852-859.
- Ołdak A, Zielińska D, Rzepkowska A, Kołożyn-Krajewska D. Comparison of antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from two different kinds of regional cheeses from Poland: Oscypek and Korycinski Cheese. *BioMed Res Int*. 2017; 1: 1-10.
- Collado MC, Meriluoto J, Salminen S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *European Food Res and Technol*. 2008; 1;226(5):1065-73.
- Polak-Berecka M, Waško A, Paduch R, Skrzypek T, Sroka-Bartnicka A. The effect of cell surface components on adhesion ability of *Lactobacillus rhamnosus*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014; 1;106(4):751-62.

23. Sangmanee P, Hongpattarakere T. Inhibitory of multiple antifungal components produced by *Lactobacillus plantarum* K35 on growth, aflatoxin production and ultrastructure alterations of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. *Food Control*. 2014; 1;40:224-33.
24. Zago M, Fornasari ME, Carminati D, Burns P, Suárez V, Vinderola G, Reinheimer J, Giraffa G. Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiol*. 2011; 1;28(5):1033-40.
25. Edalatian Dovom MR, Yavarmanesh M, Ghiamati Yazdi F, Khomeiri M, Nayyeri N. Evaluation of antimicrobial activities of lactic flora isolated from production stages of Maskeh against food indicator bacteria. *Iranian Food Sci and Technol Res J*. 2015; 3;12(4):438-52 [in Persian].
26. De Vuyst L, Leroy F. Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *J of molecular microbiol and biotechnol*. 2007;13(4):194-9.
27. Gómez NC, Ramiro JM, Quecan BX, de Melo Franco BD. Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, and *Escherichia coli* O157: H7 biofilms formation. *Frontiers in microbiol*. 2016; 10;7: 863-78.
28. Tofangzazan F, Shahidi F, Mortazavi S A, Milani E, Eshaghi Z. Investigation of antibacterial activity of Lactic Acid Bacteria isolated from traditional kordish cheese in comparison with commercial strains. *Iran J Med Microbiol*. 2013; 7 (3) :34-41 [in Persian].
29. Khangholi, M., & Jamalli, A. (2016). The effects of sugars on the biofilm formation of *Escherichia coli* 185p on stainless steel and polyethylene terephthalate surfaces in a laboratory model. *Jundishapur J of microbiol*, 9(9).
30. Rojas M, Conway PL. Colonization by lactobacilli of piglet small intestinal mucus. *J of Applied bacteriol*. 1996; 81(5):474-80.
31. Ng, S. Y., Koon, S. S., Padam, B. S., & Chye, F. Y. (2015). Evaluation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional Malaysian fermented Bambangan (*Mangifera pajang*). *Cyta J of food*, 13(4), 563-572.
32. Yang EJ, Chang HC. Purification of a new antifungal compound produced by *Lactobacillus plantarum* AF1 isolated from kimchi. *Int J Of Food Microbio*. 2010; 30;139(1-2):56-63.
33. Luz C, Saladino F, Luciano FB, Manes J, Meca G. In vitro antifungal activity of bioactive peptides produced by *Lactobacillus plantarum* against *Aspergillus parasiticus* and *Penicillium expansum*. *LWT-Food Sci and Technol*. 2017; 1;81:128-35.
34. Russo P, Fares C, Longo A, Spano G, Capozzi V. *Lactobacillus plantarum* with Broad Antifungal Activity as a Protective Starter Culture for Bread Production. *Foods*. 2017; 11;6(12):110-19.
35. Songisepp E, Kals J, Kullisaar T, Mändar R, Hütt P, Zilmer M, Mikelsaar M. Evaluation of the functional efficacy of an antioxidative probiotic in healthy volunteers. *Nutrition J*. 2005; 4(1):22: 1-10.
36. Zhang S, Liu L, Su Y, Li H, Sun Q, Liang X, Lv J. Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yogurt. *African J Of Microbiol Res*. 2011; 9;5(29):5194-201.
37. Aarti C, Khusro A, Varghese R, Arasu MV, Agastian P, Al-Dhabi NA, Ilavenil S, Choi KC. In vitro studies on probiotic and antioxidant properties of *Lactobacillus brevis* strain LAP2 isolated from Hentak, a fermented fish product of North-East India. *LWT-Food Sci and Technol*. 2017; 1;86:438-46.
38. Shakibaie M, Mohammadi-Khorsand T, Adeli-Sardou M, Jafari M, Amirpour-Rostami S, Ameri A, Forootanfar H. Probiotic and antioxidant properties of selenium-enriched *Lactobacillus brevis* LSe isolated from an Iranian traditional dairy product. *J Of Trace Elements In Med And Biol*. 2017; 1;40:1-9.
39. Pan D, Mei X. Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. *Carbohydrate Polymers*. 2010; 5;80(3):908-14.
40. Yi ZJ, Fu YR, Li M, Gao KS, Zhang XG. Effect of LTA isolated from bifidobacteria on D-galactose-induced aging. *Experimental gerontology*. 2009; 1;44(12):760-5.
41. Ugantsetseg E, Batjargal B. Antioxidant activity of probiotic lactic acid bacteria isolated from Mongolian airag. *Mongolian J of Chemist*. 2014; 12;15:73-8.
42. Soleimani B. Fermentation of camel milk with using commercial starter cultures and isolates derived from the chall and investigating product changes during storage. *Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, M.C. Faculty of Food Sciences and Technology*; 2018 [in Persian].

## Evaluating the Effect of Diversity of *Lactobacillus plantarum* Strains Isolated from Different on Their Antagonistic, Antioxidant and Aggregation Activities

Shahrampour D<sup>1</sup>, Khomeiri M<sup>\*2</sup>, Razavi M.A<sup>3</sup>, Kashiri M<sup>4</sup>

1- PH.D Student of Food microbiology, Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- \*Corresponding author: Associate Professor, Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. Email: khomeiri@gau.ac.ir

3- Prof., Dept. of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Received 1 Jun, 2018

Accepted 4 Oct, 2018

**Background and Objectives:** Lactic acid bacteria are usually involved in the preparation of fermented foods and can produce different metabolites according to their strain type. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial, antioxidant and aggregation activities of 10 different strains of *Lactobacillus plantarum* isolated from native fermented foods including Koozeh cheese, fermented olives, sourdough and camel milk.

**Materials & Methods:** In this study, the antibacterial activity of 10 different strains of *L. plantarum* and their cell free supernatants against four pathogens were evaluated by agar-spot and well diffusion methods, respectively. The antifungal activity of the studied strains against two molds was investigated by overlay method. Additionally, auto-aggregation, co-aggregation and hydrophobicity tests of different strains were performed separately. The antioxidant activity of the strains and the cell free supernatants was also evaluated by the DPPH radical scavenging assay.

**Results:** The results showed that all strains had antimicrobial and antifungal activities against the indicator microorganisms and their activity level was different depending on the *L. plantarum* strains. Also, among the indicator pathogenic bacteria and molds, *Escherichia coli* and *Aspergillus flavus*, respectively were the most susceptible. The results of tests related to the surface cellular characteristics of the bacteria showed that the *L. plantarum* strains are very similar in terms of auto-aggregation, hydrophobicity and antioxidant properties.

**Conclusion:** Indigenous *L. plantarum* strains and their metabolites can be suggested as a biopreservative in the food and drug industries, but more in-vitro and in-vivo tests should be carried out in this field.

**Keywords:** *L. plantarum* strains, Antibacterial activity, Antifungal activity, Antioxidant activity, Aggregation property