نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۰ ص.۲۴۲-۲۳۳

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 2, June. July. 2021, p. 233- 242

مقاله پژوهشی

ارزیابی ویژگی‌های پروبیوتیکی و ضدباکتریایی *Lactobacillus fermentum* SL163-4

سارا مومن‌زاده[۱]- حسین جوینده[۲*]- بهروز علیزاده بهبهانی[۳]- حسن برزگر[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۰۳

چکیده

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی غیربیماری‌زایی هستند که از طریق تعادل میکروبی (نسبت باکتری‌های مفید و بیماری‌زا) در روده انسان می‌توانند باعث سلامتی و ایمنی گردند. این مطالعه با هدف بررسی پتانسیل پروبیوتیکی سویه *Lactobacillus fermentum* جدا شده از غذای تخمیری انجام شد. در این پژوهش، ویژگی‌های پروبیوتیکی *Lactobacillus fermentum* شامل: مقاومت به اسید (pH ۲/۵، ۳/۵ و ۵)، مقاومت به صفرا (۰/۲، ۰/۵، ۰/۸، ۱/۲ و ۳ درصد)، فعالیت ضدمیکروبی (به روش نقطه‌گذاری بر باکتری‌های *Listeria innocua*، *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa*) و مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی (کلرامفنیکل، تتراسایکلین، پنی‌سیلین و جنتامایسین) بررسی شد. نتایج نشان داد که سویه *Lactobacillus fermentum* در pH=۲/۵ توانایی رشد را ندارد اما در pH=۳/۵ و pH=۵/۵ به‌ترتیب ۹۲ و ۹۹ درصد زنده‌مانی مشاهده شد. *Lactobacillus fermentum* توانست در تمامی غلظت‌های نمک‌های صفراوی رشد کند؛ هرچند با افزایش درصد غلظت نمک صفراوی، رشد باکتری کاهش یافت. میانگین قطر هاله عدم رشد برای *Listeria innocua*، *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* به‌ترتیب ۱۲/۶۰، ۲۰ و ۱۱/۱۰ میلی‌متر تعیین شد. *Lactobacillus fermentum* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، تتراسایکلین، پنی‌سیلین حساس و نسبت به جنتامایسین نیمه‌حساس بود (مقایسه با جداول CLSI). با توجه به نتایج پژوهش حاضر، *Lactobacillus fermentum* دارای قابلیت پروبیوتیکی قابل قبولی بود و می‌توان از آن به‌عنوان یک باکتری پروبیوتیک در محصولات غذایی بهره برد.

واژه‌های کلیدی: *Lactobacillus fermentum*، مقاومت به اسید، مقاومت به نمک‌های صفراوی، آنتی بیوتیک‌های رایج درمانی، روش نقطه‌گذاری.

مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به مقدار کافی مصرف شوند با بهبود تعادل میکروبیوتای روده، اثرات مفیدی بر سلامت جسمی و روحی انسان دارند. این مسئله تأکید روزافزون رژیم غذایی مبتنی بر پروبیوتیک‌ها را برای درمان و پیشگیری از بیماری‌های مزمن مختلف، به‌ویژه مرتبط با استرس و التهاب را نشان می‌دهد (Kumar *et al*., 2019; Sharma *et al*., 2019). باکتری‌های پروبیوتیک علاوه بر تأثیر بر فلور میکروبی روده و در نتیجه جلوگیری از بروز بیماری‌های عفونی دستگاه گوارش، قادرند نقش‌های مهمی نظیر کنترل کلسترول سرم خون، کنترل سرطان و کمک به هضم لاکتوز در فراورده‌های لبنی ایفا کنند (خمیریان و همکاران، ۱۳۹۶). این میکروارگانیسم‌ها به‌طور کلی از میکروبیوتای بومی میزبان (معده، روده یا پوست) جدا شده و برای به‌دست آوردن برخی از مزایا استفاده می‌شوند. با این حال، برخی از پروبیوتیک‌ها به میکروبیوتای بومی میزبان تعلق ندارند و از منابع دیگری مانند میوه (ساکارومایسس) یا غذاهای تخمیر شده (لاکتوباسیلوس، لاکتوکوکوس، ویسلا و پدیوکوکوس) استخراج شده‌اند. مزیت این پروبیوتیک‌های جدید در روش استفاده از آن‌هاست که می‌توان به صورت مواد غذایی تخمیر شده یا مکمل مورد استفاده قرار گیرند. علاوه بر این، آن‌ها می‌توانند یک عمل محافظت کننده مضاعف را از طریق مقابله با عوامل بیماری‌زا در منابع غذایی و پاتوژن‌های دستگاه گوارش میزبان پس از مصرف انجام دهند (Oliveira *et al*., 2018). هنگام انتخاب یک سویه به‌عنوان پروبیوتیک معیارهای مختلفی باید مورد توجه قرار گیرد. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در مواد غذایی باید یتوانند در شرایط دستگاه گوارش زنده بمانند. پروبیوتیک‌ها باید ایمن و مفید باشند. آن‌ها باید در طول تولید و نگهداری محصول غذایی کارایی خود را حفظ کنند (Saad *et al*., 2013). باکتری‌های اسید لاکتیک رایج‌ترین میکروارگانیسم‌هایی هستند که به‌عنوان پروبیوتیک به‌کار

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران.

(*-نویسنده مسئول: (Email: hosjooy@asnrukh.ac.ir
DOI: 10.22067/ifstrj.v17i2.84842

می‌روند. آن‌ها عضو مطلوبی از میکروبیوتای دستگاه گوارش هستند و در دسته میکروارگانیسم‌های قرار دارند که ایمن (GRAS[1]) شناخته می‌شوند. مزایای بی‌شمار باکتری‌های اسید لاکتیک باعث شده است که پتانسیل پروبیوتیکی گونه‌های مختلف این گروه از باکتری‌ها به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گیرد (Ruiz-Moyano *et al*., 2019; de Almeida Junior *et al*., 2015). معیارهای متعددی برای در نظر گرفتن جدایه‌های جدید به‌عنوان پروبیوتیک از جمله تحمل به شرایط اسید و صفرا، پتانسیل کاهش کلسترول، توانایی هیدرولیز نمک صفراوی، غیرهمولیتیک، توانایی داشتن خواص ضدمیکروبی و قادر به زنده ماندن در طول فرآیند تخمیر، مورد بررسی قرار می‌گیرند (Abushelaibi *et al*., 2017). جنس لاکتوباسیلوس گروهی مهم و متنوع از باکتری‌های اسید لاکتیک است. لاکتوباسیل‌ها از نقاط مختلف زیست محیطی جدا شده و پژوهش‌های مختلف، تفاوت‌های آن‌ها را در سطح ژنتیکی و فیزیولوژیکی نشان می‌دهند (Seddik *et al*., 2017). لاکتوباسیلوس‌ها باکتری‌هایی گرم مثبت، بی‌هوازی و میله‌ای شکل هستند. برخی از گونه‌های لاکتوباسیلوس‌ها دارای خواص درمانی می‌باشند. گزارش شده *Lactobacillus fermentum* ME-3 دارای فعالیت ضدمیکروبی در برابر پاتوژن‌های روده و فعالیت آنتی اکسیدانی است (Aoudia *et al*., 2016). لاکتوباسیلوس‌ها در سراسر دستگاه گوارش پراکنده هستند و حدود ۱ تا ۶ درصد از فلور میکروبی روده را تشکیل می‌دهند. حضور آن‌ها برای حفظ سلامت انسان، عملکردهای متابولیکی، تغذیه‌ای و محافظتی ضروری است. *Lactobacillus fermentum* و *Lactobacillus acidophilus*، لاکتوباسیلوس‌های غالب در روده انسان هستند (Chen *et al*., 2009). *Lactobacillus fermentum* مهمترین گونه هتروفرمانتیو لاکتوباسیلوس‌ها است که به‌طور گسترده در تخمیرهای صنعتی و کشت‌های آغازگر در صنایع لبنی استفاده می‌شود (El-Ghaish *et al*., 2010). حره یا آش‌کارده به‌عنوان یک غذای تخمیری در منطقه جنوب غرب زاگرس شناخته شده است که با استفاده از گیاه محلی کاردین، آرد گندم، دوغ و برنج تهیه می‌شود (Vasiee *et al*., 2018). *Lactobacillus fermentum* در محصولات لبنی، فاضلاب، کود، سبزی‌های تخمیر شده، دهان و مدفوع انسان یافت می‌شود. در سال ۲۰۱۳ به‌عنوان یک ارگانیسم ایمن و GRAS توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA) معرفی شد. این میکروارگانیسم معمولا از تمام قسمت‌های دستگاه گوارش انسان‌های سالم جدا می‌شود. مطالعات اخیر گزارش داده‌اند که *Lactobacillus fermentum* یکی از پروبیوتیک‌هایی است که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته، در حالی که اثرات سودمند بسیاری بر سلامتی انسان دارد (Zhao *et al*., 2019).

اگرچه گونه‌های تجاری بسیاری از پروبیوتیک‌ها در بازار وجود دارد، اما مشخص نمودن گونه‌های جدید، که بتواند خواص منحصر به فردی را ارائه دهد مطلوب است. با توجه به اهمیت توصیف سویه‌های جدید پروبیوتیکی، هدف از این پژوهش بررسی پتانسیل پروبیوتیکی و ضدمیکروبی *Lactobacillus fermentum* جدا شده از غذای تخمیری حره بود.

مواد و روش‌ها

شناسایی باکتری *Lactobacillus fermentum* SL163-4 با استفاده از تکثیر ژن 16S rRNA

در این پژوهش از سویه *Lactobacillus fermentum* ایزوله شده از غذای تخمیری حره استفاده شد (Vasiee *et al*., 2018). روش جداسازی و شناسایی *Lactobacillus fermentum* مطابق با مطالعه طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۵) انجام شد. استخراج DNA با استفاده از کیت های استخراج Genomic DNA isolation VI (دنا زیست آسیا، ایران) انجام پذیرفت. پس از ایجاد رسوب در میکروتیوب‌های حاوی سوسپانسیون میکروبی و حل نمودن در ۲۰۰ میکرولیتر بافر فسفات و افزودن محلول آنزیمی مناسب جهت رسیدن به حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر، طبق پروتکل شرکت سازنده، عمل گردید. از پرایمرهای Universal که بر اساس نواحی حفظ شده ژن ۱۶S rRNA طراحی شده‌اند استفاده شد. واکنش PCR در کیت تر PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت. میکروتیوب حاوی مخلوط واکنش‌دهنده‌های PCR داخل دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت و برنامه دمایی مطابق با مطالعه (طباطبایی یزدی و همکاران، ۱۳۹۵)، تنظیم شد. این برنامه دمایی شامل:

۱. فعال‌سازی: ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، یک سیکل

۲. گسترش که خود شامل سه مرحله واسرشته‌سازی (۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد)، اتصال پرایمر[2](۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد) و توسعه[3] (۲ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد)، ۳۵ سیکل

۳. گسترش نهایی: ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، یک سیکل

الکتروفورز در ولتاژ ۹۵ ولت و زمان ۴۵ دقیقه انجام پذیرفت. سپس ژل در دستگاه ژل داک رویت شد.

آزمون مقاومت به اسید

آزمون مقاومت به اسید مطابق با روش صادقی و ابراهیمی (۱۳۹۵)، با اندکی تغییر انجام شد. جهت بررسی مقاومت به اسید، ابتدا

1 Generally Recognized as Safe
2 Annealing
3 Extension

Lactobacillus fermentum در محیط MRS Broth تلقیح شد و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شد. بعد از ۲۴ ساعت ۲۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی به لوله فالکون استریل انتقال داده شد. سلول‌های باکتری به وسیله سانتریفیوژ یخچال‌دار مدل (Hermle) ساخت کشور آلمان به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۹۰۰۰g از محیط کشت جدا شدند. به‌منظور حذف کامل محیط کشت، رسوب باکتری توسط محلول بافر فسفات استریل (شرکت Bioidea) شست و شو گردید. مجدداً محتویات فالکون سانتریفیوژ شده و مایع رویی دور ریخته شد. رسوب تشکیل شده توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Wp ، Biowave II، انگلستان) به‌میزانی که در طول موج ۶۰۰ نانومتر، دارای جذب ۰/۶ باشد در بافر فسفات استریل حل گردید. سپس ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده در ۴ میکروتیوپ حاوی ۴۵۰ میکرولیتر بافر فسفات اسیدی استریل دارای pHهای مختلف (۲/۵، ۳/۵ و ۵) تلقیح شد و بعد از ۲/۵ ساعت گرمخانه‌گذاری در شرایط بی‌هوازی و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، برای هر کدام از نمونه‌ها رقت‌های سریالی با استفاده از بافر فسفات استریل تا 10^{-10} تهیه شد. از رقت‌های به‌دست آمده، روی محیط کشت MRS Agarکشت سطحی داده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شدند و بعد از ۲۴ ساعت کلنی‌های تشکیل شده بر سطح محیط کشت توسط کلنی‌کانتر شمارش گردیده و با مقایسه با نمونه کنترل درصد زنده‌مانی سویه *Lactobacillus fermentum* محاسبه شد.

آزمون مقاومت به صفرا

در این روش پس از فعال‌سازی سویه مورد آزمایش در محیط MRS Broth (گرمخانه‌گذاری به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) سوسپانسیون میکروبی مورد نظر به‌مدت ۵ دقیقه با دور g ۹۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید. با حذف محیط کشت، رسوب باقی مانده با محلول بافر فسفات استریل شست و شو و دوباره سانتریفوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده بر محیط‌های MRS Agar حاوی ۰/۲، ۰/۵، ۰/۸، ۱/۲ و ۳ درصد از نمک صفراوی کشت داده شد. پلیت‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. پس از اتمام مدت زمان گرمخانه‌گذاری، نتایج به‌صورت چشمی مشاهده شد (Leite *et al*., 2015).

آزمون حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها

به‌منظور بررسی حساسیت *Lactobacillus fermentum* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی، ابتدا از کشت جامد ۲۴ ساعت میکروارگانیسم، سوسپانسیونی معادل استاندارد نیم مک فارلند تهیه و ۱۰۰ میکرو لیتر از آن روی محیط MRS Agar کشت سطحی داده شد. بعد از این مرحله دیسک‌های آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۰µg)، تتراسایکلین (۳۰µg)، پنی‌سیلین (۱۰µg) و کلرامفنیکل (۱۰µg)، توسط پنس استریل روی محیط کشت قرار داده شد و با کمی فشار ثابت گردیدند. پلیت‌ها در جار بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و بعد از گذشت ۲۴ ساعت قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با خط‌کش اندازه‌گیری شده و نتایج بر حسب میلی‌متر گزارش شد (Anisimova and Yarullina, 2019).

آزمون ضدمیکروبی

برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی سویه *Lactobacillus fermentum* از روش نقطه‌گذاری (Lawn on the spot) استفاده شد. ابتدا سویه موردآزمایش بر محیط MRS Agar کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در جار بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری گردید. سپس از کلنی‌های که در محیط MRS Agar رشد یافته به محیط MRS Broth تلقیح گردید و در جار بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۲۴ ساعت انکوبه‌گذاری شد. ۵ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی روی سطح محیط کشت نقطه گذاری گردید و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در جار بی‌هوازی به‌مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. پس از رشد سویه، سطح محیط کشت توسط یک لایه آگار نرم (حدود ۱۰ سی‌سی که به میزان ۲۵/ درصد با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شاخص تلقیح شده بود) پوشانده شد. در ادامه پلیت‌ها در دمای رشد میکروارگانیسم‌های شاخص به‌مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. وجود هاله‌های شفاف در اطراف نقاط تلقیح شده با *Lactobacillus fermentum* نشان‌دهنده عدم رشد میکروارگانیسم‌های شاخص و در نتیجه فعالیت ضدمیکروبی ایزوله بود (Yin and Zheng, 2005).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها به روش تجزیه واریانس یک طرفه و با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج بررسی pHهای مختلف بر درصد زنده‌مانی *Lactobacillus fermentum* در جدول ۱، آورده شده است. نتایج نشان داد که این باکتری در pH=۲/۵ توانایی بقا را ندارد ولی توانست در pH=۳/۵ و pH=۵/۵ به‌ترتیب به میزان ۹۲٪ و ۹۹٪ زنده‌مانی داشته

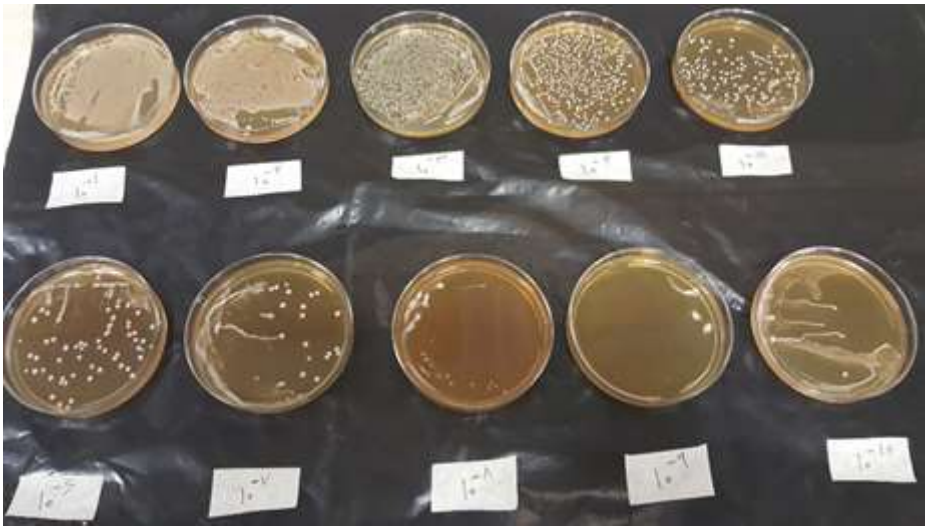
باشد. در شکل ۱، نمایی از رشد *Lactobacillus fermentum* در رقت‌های مختلف (10^{-1} تا 10^{-10}) نشان داده شده است.

نتایج بررسی مقاومت به نمک صفراوی در جدول ۲، آورده شده است. نتایج نشان داد که *Lactobacillus fermentum* نسبت به غلظت‌های مختلف نمک‌های صفراوی مقاومت خوبی دارد. در این پژوهش رشد سویه مورد آزمایش با افزایش درصد نمک صفراوی، به صورت تدریجی کاهش یافت. به صورتی که در غلظت ۰/۲درصد بیشترین رشد و در غلظت ۳ درصد کمترین رشد باکتری مشاهده شد.

نتایج مربوط به اثر آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، جنتامایسین، تتراسایکلین و پنی‌سیلین بر میزان رشد باکتری *Lactobacillus fermentum* در جدول ۳، آورده شده است. نتایج این پژوهش نشان داد که *Lactobacillus fermentum* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، تتراسایکلین و پنی سیلین حساس و نسبت به جنتامایسین نیمه‌حساس بود (مقایسه با جدول CLSI[1]). نمایی از اثر آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بر باکتری *Lactobacillus fermentum* در شکل ۲، نشان داده شده است.

جدول ۱- اثر pHهای مختلف (۲/۵، ۳/۵ و ۵) بر درصد زنده مانی سویه *Lactobacillus fermentum*

باکتری/ pH	۲/۵	۳/۵	۵
Lactobacillus fermentum	–	۹۲ درصد	۹۹ درصد



شکل ۱- نمایی از رشد *Lactobacillus fermentum* در رقت‌های مختلف (10^{-1} تا 10^{-10}).

جدول ۲- اثر غلظت های مختلف نمک صفراوی بر زنده مانی سویه *Lactobacillus fermentum*

باکتری/ درصد نمک صفراوی	۰/۲	۰/۵	۰/۸	۱/۲	۳
Lactobacillus fermentum	+++++	++++	+++	++	+

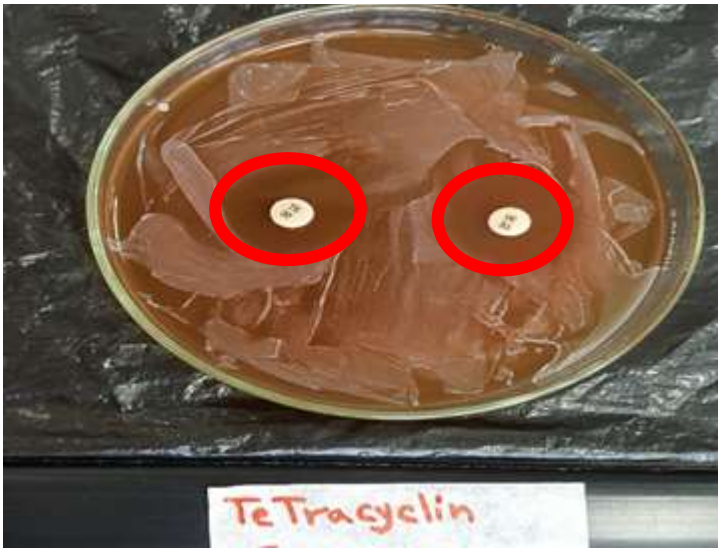
- +++++: بسیار زیاد، ++++: زیاد، +++: نسبتا زیاد، ++: متوسط، +: کم

جدول ۳- اثر آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی بر رشد *Lactobacillus fermentum* (بر حسب میلی‌متر)

باکتری/ آنتی بیوتیک	کلرامفنیکل	جنتامایسین	تتراسایکلین	پنی سیلین
Lactobacillus fermentum	۲۵/۵۰±۰/۴۱^{a}	۱۳/۵۰±۰/۵۵^{b}	۲۱/۰۰±۰/۵۰^{c}	۲۵/۵۰±۰/۶۸^{a}

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می باشد.

[1] Clinical and laboratory standards institute



شکل ۲- نمایی از اثر آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین بر باکتری *Lactobacillus fermentum*.

نتایج حاصل از بررسی اثر ضدمیکروبی سویه *Lactobacillus fermentum* بر باکتری‌های *Listeria innocua*، *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* به روش نقطه‌گذاری یا lawn on the spot در جدول ۴، آورده شده است. نتایج نشان داد که سویه مورد نظر بر باکتری‌های بیماری‌زا اثر بازدارندگی قابل قبولی داشت. قطر هاله بازدارندگی برای *Listeria innocua*، *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* به ترتیب ۱۲/۶۰، ۲۰ و ۱۱/۱۰ میلی‌متر بود. بیشترین قطر هاله عدم رشد بر باکتری گرم مثبت *Staphylococcus aureus* مشاهده شد.

جدول ٤- قطر هاله بازدارندگی *Lactobacillus fermentum* بر باکتری‌های بیماری‌زای *Listeria innocua*، *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* بر حسب میلی‌متر

باکتری	*Listeria innocua*	*Staphylococcus aureus*	*Pseudomonas aeruginosa*
Lactobacillus fermentum	۱۲/۶۰±۰/۶۱^{b}	۲۰/۰۰±۰/۵۰^{a}	۱۱/۱۰±۰/۳۵^{b}

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می باشد.

تعیین میزان زنده بودن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی در مواد غذایی و دستگاه گوارش یک ویژگی اساسی در انتخاب گونه‌هایی است که در تولید غذاهای پروبیوتیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Soares *et al*., 2019; Alizadeh Behbahani *et al*., 2019). به همین دلیل این میکروارگانیسم‌ها باید اسیدیته، نمک‌های صفراوی و فشار اسمزی بالا را تحمل کنند تا در معده و روده کوچک دوام بیاورند (Reale *et al*., 2015). چندین مکانیسم در تنظیم مقاومت به اسید در باکتری‌های اسید لاکتیک وجود دارد که شامل: مسیرهای متابولیک مرکزی، پمپ پروتون، تغییرات ترکیب غشای سلولی و تراکم سلولی، ترمیم آسیب DNA و پروتئین و همچنین فرآیندهای خنثی‌سازی دخیل است (Wang *et al*., 2018). نمک‌های صفراوی با اختلال در دیواره سلولی باعث نابودی میکروارگانیسم‌ها می‌شوند. از این رو مقاومت به نمک‌های صفراوی یکی از ویژگی‌های مهم پروبیوتیک‌ها می‌باشد. این میکروارگانیسم‌ها با هیدرولیز نمک‌های صفراوی از طریق آنزیم‌های آبکافت کننده خود اثرات نامطلوب آن‌ها را کاهش می‌دهند (توکلی و همکاران، ۱۳۹۵؛ طباطبایی یزدی و همکاران، ۱۳۹۴). Paniker و همکاران (۲۰۱۸) اثر pHهای مختلف (۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۶/۵) و نمک های صفراوی را بر سویه‌های مختلف *Lactobacillus fermentum* مورد بررسی قرار دادند. این پژوهشگران گزارش کردند که سویه‌های مختلف می‌توانند pH کم و همچنین غلظت صفرا را با حداقل از دست دادن تعداد سلول تحمل کنند. García و همکاران (۲۰۱۷)، مشاهده کردند سویه *Lactobacillus fermentum* UCO-979C در pH=۳ رشد کرده و بعد از ۲۴ ساعت به میزان ۱۰^{۶} × ۴/۵ زنده مانی داشت اما در pH=۲ هیچ رشدی مشاهده نشد. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت. این پژوهشگران همچنین گزارش دادند که سویه‌ها نسبت به ۲ درصد نمک‌های صفراوی مقاوم بودند. Han و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی ویژگی‌های پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از سوسیس‌های خشک پرداختند. یکی از سویه‌های

ایزوله شده *Lactobacillus fermentum* بود. این باکتری در غلظت ۰/۳ درصد نمک صفرا و pHهای ۳ و ۸ قادر به زنده ماندن بود. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت داشت. Tulumoglu و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای، سویه‌های *Lactobacillus fermentum* جدا شده از پنیر را درpHهای مختلف (۲، ۲/۵ و ۳) مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهش نشان داد سویه‌ها درpH=۲ قادر به زنده ماندن نبودند ولی تمام سویه‌ها توانایی رشد در pH=۳ را داشتند. همچنین دو گونه از ۷ گونه مورد بررسی شده در pH=۲/۵ مقاوم بودند. آن‌ها مشاهده کردند همه سویه‌های مورد آزمایش در غلظت ۰/۲۵ درصد نمک صفراوی رشد کرده ولی با افزایش غلظت نمک صفراوی، رشد باکتری های مورد نظر به صورت تدریجی کاهش یافت. مقایسه نتایج این پژوهشگران تا حدودی مشابه به مطالعه حاضر بود. Bao و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که سویه‌های مختلف *Lactobacillus fermentum* جدا شده از فرآورده‌های لبنی سنتی قادر به زنده ماندن در غلظت‌های مختلف صفرا هستند و با افزایش غلظت نمک صفرا رشد سویه‌ها به صورت تدریجی کاهش یافت. همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که بیشتر گونه ها در شرایط اسیدی pH=۳ رشد خوبی داشتند. در حالی که درpH= ۲ تنها یک گونه توانست به‌میزان ۵۳/۷ درصد زنده بماند. نتایج این پژوهشگران مشابه با یافته‌های مطالعه حاضر بود.

توانایی ضدمیکروبی برای پروبیوتیک‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا سویه پروبیوتیک باید توانایی سرکوب رشد باکتری‌های بیماری‌زای احتمالی را داشته باشد (Mallappa *et al*., 2019). اثر ضدباکتریایی باکتری‌های اسید لاکتیک بیشتر مربوط به متابولیت‌هایی نظیر اسیدهای آلی (عمدتاً اسیدهای لاکتیک، استیک، پروپیونیک، سوربیک و بنزوئیک)، پراکسید هیدروژن، دی‌استیل، اتانول، فنول‌ها و ترکیبات پروتئینی است که در هنگام رشد تولید می‌کنند. علاوه بر این، برخی از سویه‌های باکتری‌های اسید لاکتیک قادر به تولید باکتریوسین‌ها هستند که فعالیت ضدباکتریایی قابل توجهی دارند (Yang *et al*., 2018). در شرایط بدن سویه‌های پروبیوتیک با یک مکانیسم حذف رقابتی با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا برای محل‌های اتصال و مواد مغذی رقابت می‌کنند و از تکثیر باکتری‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند (Cui *et al*., 2018). ابراهیمی و همکاران (۱۳۹۷)، گزارش دادند ترکیبات شبه باکتریوسینی تولید شده توسط *Lactobacillus fermentum* جدا شده از چال (فرآورده تخمیری سنتی شیر شتر) دارای فعالیت ضدمیکروبی قابل قبولی بود. جلالوند و همکاران (۱۳۹۵)، در مطالعه‌ای که به‌تعیین برخی ویژگی‌های پروبیوتیکی جدایه‌های لاکتیکی سالاد زمستانی پرداخته بودند گزارش دادند قطر هاله‌های بازدارندگی از رشد *Lactobacillus fermentum* در برابر *Listeria innocua* و*Staphylococcus aureus* به‌ترتیب ۱۳ و ۱۲ میلی‌متر بود. نتایج این پژوهشگران با یافته‌های مطالعه حاضر تا حدودی هم‌خوانی داشت. طباطبایی یزدی و همکاران (۱۳۹۴)، بیان کردند که باکتری‌های اسید لاکتیک استخراج شده از کیمچی از جمله *Lactobacillus fermentum* فعالیت ضدباکتری خوبی در برابر باکتری‌های بیماری‌زا نشان داد. قطر هاله عدم رشد برای *Listeria innocua* و*Staphylococcus aureus* به‌ترتیب ۱۱/۱۰ و ۱۸/۲۰ بود که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر با یافته‌های پژوهش (Falah *et al*., 2019) مطابقت داشت. این پژوهشگران نشان دادند که سویه *Lactobacillus fermentum* دارای فعالیت بازدارندگی از رشد باکتری‌های بیماری‌زا گرم منفی و گرم مثبت از جمله *Pseudomonas aeruginosa* و*Staphylococcus aureus* بود. اثر ضدمیکروبی این سویه در مقابل *Staphylococcus aureus* نسبت به *Pseudomonas aeruginosa* بیشتر بود. این نتیجه را می‌توان با این واقعیت توضیح داد که مکانیسم‌های فعالیت ضدمیکروبی بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت متفاوت هستند. در باکتری‌های گرم منفی، مکانیسم نابودی باکتریایی بر اساس تولید اسیدهای آلی، پر اکسید هیدروژن، دی اکسید کربن و اسیدهای چرب هیدروکسی است. در باکتری‌های گرم مثبت مربوط به باکتریوسین‌های حساس به پروتئاز است. Shokri و همکاران (۲۰۱۸) لاکتوباسیلوس‌های مختلف از لبنیات محلی را جمع آوری کرده و اثر ضدمیکروبی و آنتی‌بیوتیکی آن‌ها را بر سویه‌های مختلف *Pseudomonas aeruginosa* بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند دو سویه *Lactobacillus fermentum* بیشترین اثر ضدمیکروبی را در برابر تمامی سویه‌های *Pseudomonas aeruginosa* داشت.

مقاومت آنتی‌بیوتیکی با سرعت نگران کننده‌ای در حال توسعه است و به یک نگرانی رو به رشد در زمینه بهداشت عمومی تبدیل شده است. برخی از باکتری‌های اسید لاکتیک در برابر یک یا چند آنتی‌بیوتیک مقاوم هستند. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ممکن است به‌طور طبیعی اتفاق بیفتد یا توسط مکانیسم‌های ژنتیکی مانند انتقال ژن از طریق پلاسمیدها یا ترانسپوزون‌ها حاصل شود (Alizadeh Behbahani *et al*., 2019). انتقال ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک بین گونه‌های مختلف باکتری‌های اسید لاکتیک گزارش شده است. از این جهت نگرانی‌هایی برای استفاده از این باکتری‌ها در مواد غذایی وجود دارد (Guo *et al*., 2017). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که *Lactobacillus fermentum* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های کلرامفنیکل، تتراسایکلین، پنی سیلین حساس و نسبت به جنتامایسین نیمه حساس بود. de Souza و همکاران (۲۰۱۹)، پتانسیل پروبیوتیکی سویه‌های *Lactobacillus casei* و *Lactobacillus fermentum* از پنیر موزارلا را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این پژوهشگران نشان داد همه سویه‌ها حساس به آمپی‌سیلین، اریترومایسین، کلیندامایسین، تتراسایکلین و کلرامفنیکل بودند. با این حال، همه سویه‌ها در برابر ونکومایسین مقاوم بودند. درصد مقاومت *Lactobacillus casei*

نسبت به کانامایسین قابل ملاحظه (۸۵ درصد) بود و فقط دو گونه حساسیت نسبی نشان دادند. ۲۹ ٪ از سویه‌های *Lactobacillus fermentum* به کانامایسین مقاوم بوده و بقیه نیز نسبتا حساس بوده اند. نتایج این پژوهشگران تا حدود زیادی با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت. در مطالعه‌ای که توسط Palaniyandi و همکاران (۲۰۱۹)، بر ویژگی‌های پروبیوتیکی *Lactobacillus fermentum* MJM60397 انجام گرفت مشخص شد این گونه نسبت به همه آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده به جز جنتامایسین و کانامایسین حساس بود. Asan-Ozusaglam و Gunyakti (۲۰۱۹) گزارش دادند که گونه‌های *Lactobacillus fermentum* جدا شده از شیر مادر به آموکسی‌سیلین، اریترومایسین، آمپی‌سیلین و پنی‌سیلین حساس بودند و نسبت به کلرامفنیکول حساسیت نسبی داشتند. همچنین این پژوهشگران گزارش کردند که سویه‌های ایزوله شده در برابر آمیکاسین، جنتامایسین، کانامایسین، نالیدیکسیک اسید، افلوکاسین و کلوکساسیلین مقاومت نشان دادند. Boricha و همکاران (۲۰۱۹) مقاومت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های *Lactobacillus fermentum* با منشاء غذایی و انسانی را با روش انتشار دیسک مورد بررسی قرار دادند و به نتایج مشابهی رسیدند. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر با یافته‌های مطالعه Vasieeو همکاران (۲۰۱۸)، مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های به‌دست آمده از این پژوهش می‌توان بیان کرد که *Lactobacillus fermentum* توانایی تحمل pHهای کم و غلظت‌های مختلف نمک صفراوی را داشت. این باکتری قابلیت خوبی در مهار باکتری‌های بیماری‌زا از خود نشان داد. همچنین نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های رایج درمانی دارای حساسیت بود و از این رو نگرانی از جهت انتقال ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک به باکتری‌های بیماری‌زا وجود ندارد. در ادامه لازم است آزمون‌های بیشتری در شرایط برون‌تنی و درون‌تنی شامل چسبیدن به سلول‌های اپیتلیال روده، تولید باکتریوسین، بررسی اثر سویه بر سطوح کلسترول و قند خون در مدل حیوانی و غیره نیز انجام گردد تا بتوان از این باکتری به‌عنوان یک پروبیوتیک و یک نگهدارنده طبیعی در تولید فرآورده‌های غذایی فراسودمند استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

ابراهیمی، م.، خمیری، م.، مسعودی‌نژاد، ع.، صادقی، ع.، صادقی.، ب. کاشانی‌نژاد، م.، ۱۳۹۷. ارزیابی خواص ضد میکروبی ترکیبات شبه باکتریوسینی لاکتوباسیلوس فرمنتوم جداه شده از چال. فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی، ۴(۱)، ۱-۱۳.

توکلی، م.، حمیدی اصفهانی، ز.، حجازی، م.ا.، عزیزی، م.ح.، عباسی، س.، ۱۳۹۵. توانایی پروبیوتیکی سویه‌های لاکتوباسیلوس جدا شده از پنیر محلی مازندران. فصلنامه علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۱۱(۴)، ۸۷-۹۶.

جلالوند، ر.، شهیدی، ف.، مرتضوی، س.ع.، سعیدی، م.، طباطبایی یزدی، ف.، میلانی، ا.، ۱۳۹۵. بررسی اثر سطوح مختلف شلغم فرنگی در فرمولاسیون سالاد زمستانی (شوری) بر تنوع باکتری‌های اسید لاکتیک فرآورده و تعیین برخی ویژگی‌های پروبیوتیکی جدایه‌های لاکتیکی. مجله میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی، ۲(۳)، ۱-۱۸.

خمیریان، ر.ا.، جوینده، ح.، حصاری، ج.، برزگر، ح.، ۱۳۹۶. بهینه‌سازی و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی نوشیدنی پروبیوتیک لیمویی تولید شده بر پایه تراوه. مجله پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۳(۵)، ۸۳۰-۸۴۳.

صادقی، ع.، ابراهیمی، م.، ۱۳۹۵. جداسازی، شناسایی مولکولی و ارزیابی ویژگی‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس‌های غالب در خمیر ترش آرد کامل گندم. مجله دنیای میکروب ها، ۹(۲)، ۱۳۳-۱۴۴.

طباطبایی یزدی، ف.، وسیعی، ع.، علیزاده بهبهانی، ب.، مرتضوی، س.ع.، ۱۳۹۴. بررسی پتانسیل پروبیوتیکی باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از کیمچی تولید شده در ایران. مجله دانشگاه علوم پزشکی قم، ۹(۵)، ۱۱-۲۲.

طباطبایی یزدی، ف.، وسیعی، ع.، علیزاده بهبهانی، ب.، ۱۳۹۵. جداسازی و شناسایی فلور لاکتیکی کیمچی تولید شده در ایران بر پایه روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی، مجله علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۳(۵)، ۱-۱۴.

Abushelaibi, A., Al-Mahadin, S., El-Tarabily, K., Shah, N. P., & Ayyash, M., 2017, Characterization of potential probiotic lactic acid bacteria isolated from camel milk. *LWT-Food Science and Technology*, *79*, 316-325.

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.

Anisimova, E. A., & Yarullina, D. R., 2019, Antibiotic Resistance of *Lactobacillus* Strains. *Current Microbiology*, *76*(12), 1407-1416.

Aoudia, N., Rieu, A., Briandet, R., Deschamps, J., Chluba, J., Jego, G., & Guzzo, J., 2016, Biofilms of Lactobacillus plantarum and Lactobacillus fermentum: Effect on stress responses, antagonistic effects on pathogen growth and immunomodulatory properties. *Food Microbiology*, *53*, 51-59.

Asan-Ozusaglam, M., & Gunyakti, A., 2019, Lactobacillus fermentum strains from human breast milk with probiotic properties and cholesterol-lowering effects. *Food Science and Biotechnology*, 28(2), 501-509.

Bao, Y., Zhang, Y., Zhang, Y., Liu, Y., Wang, S., Dong, X., & Zhang, H., 2010, Screening of potential probiotic properties of Lactobacillus fermentum isolated from traditional dairy products. *Food Control*, 21(5), 695-701.

Boricha, A. A., Shekh, S. L., Pithva, S. P., Ambalam, P. S., & Vyas, B. R. M., 2019, In vitro evaluation of probiotic properties of Lactobacillus species of food and human origin. *LWT-Food Science and Technology*, *106*, 201-208.

Chen, H., Xu, H., Heinze, T. M., & Cerniglia, C. E., 2009, Decolorization of water and oil-soluble azo dyes by Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus fermentum. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, *36*(12), 1459.

Cui, X., Shi, Y., Gu, S., Yan, X., Chen, H., & Ge, J., 2018, Antibacterial and antibiofilm activity of lactic acid bacteria isolated from traditional artisanal milk cheese from Northeast China against enteropathogenic bacteria. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *10*(4), 601-610.

de Almeida Júnior, W. L. G., da Silva Ferrari, Í., de Souza, J. V., da Silva, C. D. A., da Costa, M. M., & Dias, F. S., 2015, Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. *Food Control*, *53*, 96-103.

de Souza, B. M. S., Borgonovi, T. F., Casarotti, S. N., Todorov, S. D., & Penna, A. L. B., 2019, Lactobacillus casei and Lactobacillus fermentum strains isolated from mozzarella cheese: probiotic potential, safety, acidifying kinetic parameters and viability under gastrointestinal tract conditions. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *11*(2), 382-396.

El-Ghaish, S., Dalgalarrondo, M., Choiset, Y., Sitohy, M., Ivanova, I., Haertlé, T., & Chobert, J. M., 2010, Characterization of a new isolate of Lactobacillus fermentum IFO 3956 from Egyptian Ras cheese with proteolytic activity. *European Food Research and Technology*, *230*(4), 635-643.

Falah, F., Vasiee, A., Behbahani, B. A., Yazdi, F. T., 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.

García, A., Navarro, K., Sanhueza, E., Pineda, S., Pastene, E., Quezada, M., & González, C., 2017, Characterization of Lactobacillus fermentum UCO-979C, a probiotic strain with a potent anti-Helicobacter pylori activity. *Electronic Journal of Biotechnology*, 25, 75-83.

Guo, H., Pan, L., Li, L., Lu, J., Kwok, L., Menghe, B., ... & Zhang, W., 2017, Characterization of antibiotic resistance genes from Lactobacillus isolated from traditional dairy products. *Journal of Food Science*, *82*(3), 724-730.

Han, Q., Kong, B., Chen, Q., Sun, F., & Zhang, H., 2017, In vitro comparison of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Harbin dry sausages and selected probiotics. *Journal of Functional Foods*, 32, 391-400.

Kumar, R., Sharma, A., Gupta, M., Padwad, Y., & Sharma, R., 2019, Cell-Free Culture Supernatant of Probiotic Lactobacillus fermentum Protects Against H 2 O 2-Induced Premature Senescence by Suppressing ROS-Akt-mTOR Axis in Murine Preadipocytes. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 1-14.

Leite, A. M., Miguel, M., Peixoto, R., Ruas-Madiedo, P., Paschoalin, V., Mayo, B., & Delgado, S., 2015. Probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains isolated from Brazilian kefir grains. *Journal of Dairy Science*, *98*(6), 3622-3632.

Mallappa, R. H., Singh, D. K., Rokana, N., Pradhan, D., Batish, V. K., & Grover, S., 2019, Screening and selection of probiotic Lactobacillus strains of Indian gut origin based on assessment of desired probiotic attributes combined with principal component and heatmap analysis. *LWT-Food Science and Technology*, *105*, 272-281.

Oliveira, J. S., Costa, K., Acurcio, L. B., Sandes, S. H. C., Cassali, G. D., Uetanabaro, A. P. T., & Porto, A. L. F., 2018, In vitro and in vivo evaluation of two potential probiotic lactobacilli isolated from cocoa fermentation (Theobroma cacao L.). *Journal of Functional Foods*, *47*, 184-191.

Palaniyandi, S. A., Damodharan, K., Suh, J. W., & Yang, S. H., 2019, Probiotic Characterization of Cholesterol-Lowering Lactobacillus fermentum MJM60397. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-12.

Panicker, A. S., Ali, S. A., Anand, S., Panjagari, N. R., Kumar, S., Mohanty, A. K., & Behare, P. V., 2018, Evaluation of some in vitro probiotic properties of Lactobacillus fermentum Strains. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2801-2807.

Reale, A., Di Renzo, T., Rossi, F., Zotta, T., Iacumin, L., Preziuso, M., & Coppola, R., 2015, Tolerance of Lactobacillus casei, Lactobacillus paracasei and Lactobacillus rhamnosus strains to stress factors encountered in food processing and in the gastro-intestinal tract. *LWT-Food Science and Technology*, *60*(2), 721-728.

Ruiz-Moyano, S., dos Santos, M. T. P. G., Galván, A. I., Merchán, A. V., González, E., de Guía Córdoba, M., & Benito, M. J., 2019, Screening of autochthonous lactic acid bacteria strains from artisanal soft cheese: probiotic characteristics and prebiotic metabolism. *LWT-Food Science and Technology*, *114*, 108388.

Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., & Bressollier, P., 2013, An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*, *50*(1), 1-16.

Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D., 2017, Lactobacillus plantarum and its probiotic and food potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *9*(2), 111-122.

Sharma, R., Kumari, M., Kumari, A., Sharma, A., Gulati, A., Gupta, M., & Padwad, Y., 2019, Diet supplemented with phytochemical epigallocatechin gallate and probiotic Lactobacillus fermentum confers second generation synbiotic effects by modulating cellular immune responses and antioxidant capacity in aging mice. *European Journal of Nutrition*, 1-15.

Shokri, D., Khorasgani, M. R., Mohkam, M., Fatemi, S. M., Ghasemi, Y., & Taheri-Kafrani, A., (2018), The inhibition effect of lactobacilli against growth and biofilm formation of Pseudomonas aeruginosa. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *10*(1), 34-42.

Soares, M. B., Martinez, R. C., Pereira, E. P., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Ranadheera, C. S., & Sant'Ana, A. S., 2019, The resistance of Bacillus, Bifidobacterium, and Lactobacillus strains with claimed probiotic properties in different food matrices exposed to simulated gastrointestinal tract conditions. *Food Research International*, *125*, 108542.

Tulumoğlu, Ş., Kaya, H. İ., & Şimşek, Ö., 2014, Probiotic characteristics of Lactobacillus fermentum strains isolated from tulum cheese. *Anaerobe*, 30, 120-125.

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.

Wang, C., Cui, Y., & Qu, X., 2018, Mechanisms and improvement of acid resistance in lactic acid bacteria. *Archives of microbiology*, *200*(2), 195-201.

Yang, J., Wang, J., Yang, K., Liu, M., Qi, Y., Zhang, T., & Wei, X., 2018, Antibacterial activity of selenium-enriched lactic acid bacteria against common food-borne pathogens in vitro. *Journal of Dairy Science*, *101*(3), 1930-1942.

Yin, Q. and Zheng, Q., 2005, Isolation and identification of the dominant Lactobacillus in gut and faeces of pigs using carbohydrate fermentation and 16S rDNA analysis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *99*(1), pp.68-71.

Zhao, Y., Hong, K., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W., 2019, Lactobacillus fermentum and its potential immunomodulatory properties. *Journal of Functional Foods*, *56*, 21-32.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 2, June. July. 2021, p. 233- 242

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۰ ص.۲۴۲-۲۳۳

Evaluation of probiotic and antibacterial properties of *Lactobacillus fermentum* SL163-4

S. Momenzadeh[1], H. Jooyandeh[*2], B. Alizadeh Behbahani[3], H. Barzegar[2]

Received: 2019.12.29
Accepted: 2020.02.22

Introduction: Probiotics are live microorganisms, if consumed in enough quantity, they exert beneficial effects on human health owing to improvement of intestinal microbiota balance. In addition to the impact on gut microbiota, probiotics have important role on human physical and mental health. This matter demonstrates the increasing emphasis on the consumption of diet based on probiotics in order to treat and prevent of different chronic diseases, particularly those related to stress and inflammation cases. Lactic acid bacteria (LAB) are the most common strains used as probiotics. They are useful member of gut microbiota and belong to generally regarded as safe (GRAS) microorganisms. Because of the numerous benefits of LAB, the probiotic potential of different strains of this group of bacteria has been assessed broadly. Although various commercial species of probiotics are available in the market, determination of new strains with individual properties is noteworthy. Therefore, this research was aimed to investigate the probiotic and antimicrobial potential of *Lactobacillus fermentum* isolated from fermented food.

Materials and methods: In the study, the probiotic potential of *Lactobacillus fermentum* including its resistance to acid (pH 2.5, 3.5 and 5.5) and bile salts (0.2, 0.5, 0.8, 1.2 and 3%) was studied. To evaluate the bile salts resistance, 100 µl of prepared microbial suspension was cultured on MRS Agar media containing bile salts. Plates were incubated at 37 ^{o}C for 24 hrs under anaerobic condition. After incubation period, the plates were inspected for bacterial colonies observed by naked eyes. The antimicrobial activity was measured using "Lawn on the spot" method against *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The resistance of *Lactobacillus fermentum* was also assessed against commonly used antibiotic drugs (*chloramphenicol*, tetracycline, penicillin and gentamycin).

Results and discussions: Results shown that although *Lactobacillus fermentum* was not able to grow at pH 2.5, its viability in the pH 3.5 and 5.5 was 92 and 99%, respectively. This strain had also adequate resistance against different bile salt concentrations. In the present research, the growth rate of the examined strains was gradually reduced as the bile salt concentration was increased; so that the higher and the lower growth rate was observed at 0.2 and 3% bile salt concentrations, respectively. Results shown that the tested *Lactobacillus fermentum* had acceptable bacteriostatic effect on the selected pathogenic bacteria. The inhibition zone diameter for *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* was 12.6, 20 and 11.1 mm, respectively. The maximum diameter of inhibition zone was found on gram positive *Staphylococcus aureus*. *Lactobacillus fermentum* was susceptible to *chloramphenicol*, tetracycline and penicillin and was semi-resistant to gentamycin (comparison with table CLSI).

Based on the obtained results in this study, it may be illustrated that *Lactobacillus fermentum* had capability to tolerate the lower pH and different bile salt concentrations. This strain showed the proper proficiency to inhibit pathogenic bacteria. Furthermore, it was susceptible to commonly used antibiotic drugs and therefore there is no concern about the transfer of antibiotic resistant gens into pathogenic bacteria. Consequently, this strain may be used as a probiotic and a natural preservative in production of functional food products.

Keywords: *Lactobacillus fermentum*, Acid resistance, Bile salt resistance, Commonly antibiotic drugs, Lawn on the spot method.

1. M.Sc. student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

2. 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.

3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

(* Corresponding author: hosjooy@asnrukh.ac.ir)