



مطالعه مقایسه‌ای اثرات ضدقارچی پالیده‌ی عاری از سلول گونه‌های لاکتوباسیلوس (لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، پلانتاروم، کازئی و هلوتیکوس) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بر روی آسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم اکسیانوسوم در شرایط آزمایشگاهی

حسین کاظم خانی^۱، مسلم نیریز نقدهی^{۲*}، وحید تنهایی مرنده^۳

۱- دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۲- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۳- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

* نویسنده مسوول: تخصص و مدرک تحصیلی: دامپزشکی - بهداشت مواد غذایی آدرس: دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی. تلفن تماس: ۰۴۴۳۱۸۰۳۱۶۰ - ۰۹۳۵۲۱۱۲۱۲۳ - ایمیل: Mo.Neyriz@iau.ac.ir

دریافت مقاله: ۲۰ شهریور ۱۴۰۴، بازنگری: ۲۴ خرداد ۱۴۰۵، پذیرش نهایی: ۱۹ تیر ۱۴۰۵



10.22034/nfvm.2026.546448.1299

چکیده

کپک‌های آسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم اکسیانوسوم از مهم‌ترین قارچ‌های مولد مایکوتوکسین هستند که موجب فساد مواد غذایی و بروز مشکلات جدی بهداشتی می‌شوند. در سال‌های اخیر، بهره‌گیری از پست‌بیوتیک‌ها به‌عنوان رویکردی ایمن و طبیعی در کنترل عوامل قارچی مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش با هدف مقایسه‌ی اثرات ضدقارچی پالیده‌ی عاری از سلول (CFS) گونه‌های لاکتوباسیلوس (لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، پلانتاروم، کازئی و هلوتیکوس) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بر رشد کپک‌های آسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم اکسیانوسوم در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. ابتدا باکتریای‌ها در آب‌گوشت MRS کشت‌داده شده و CFS آن‌ها پس از سانتریفیوژ و فیلتراسیون استخراج گردید. سپس غلظت‌های مختلف CFS (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) به‌صورت حجمی/حجمی به محیط PDA افزوده و قطر پرگنه‌های کپکی در روزهای سوم، هفتم و دهم گرم‌خانه‌گذاری، اندازه‌گیری و درصد مهاری محاسبه گردید. نتایج نشان داد که تمام CFS‌ها در سطوح مختلف باعث کاهش رشد کپک‌ها شدند؛ و این اثر به‌صورت وابسته به غلظت و زمان مشاهده گردید. بیش‌ترین اثر مهاری در غلظت ۲ درصد و در روز سوم گرم‌خانه‌گذاری مشاهده شد. هم‌چنین CFS لاکتوباسیلوس کازئی و پلانتاروم به‌ترتیب بیش‌ترین اثر مهاری را بر روی آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم نشان دادند. از سویی، CFS بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس به‌ترتیب کم‌ترین درصد مهاری را بر روی آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم نشان دادند. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که CFS لاکتوباسیلوس کازئی و پلانتاروم دارای فعالیت ضدقارچی قابل توجه در شرایط محیط کشت می‌باشد و پیشنهاد می‌گردد مطالعات بیش‌تر در زمینه‌ی جایگزینی آن‌ها با ترکیبات ضدقارچ شیمیایی در صنایع غذایی انجام گردد.

واژگان کلیدی: اثر ضدقارچی، پالیده‌ی عاری از سلول (CFS)، لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتریوم، آسپرژیلوس فلاووس،

پنی‌سیلیوم اکسیانوسوم

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه قارچی، یکی از مهم‌ترین تهدیدات ایمنی مواد غذایی محسوب می‌شوند که اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان و حیوانات دارند (۱). در میان قارچ‌های مولد مایکوتوکسین، آسپرژیلوس فلاووس به‌دلیل تولید آفلاتوکسین‌ها و پنی‌سیلیوم اکسپانسونم به‌واسطه‌ی تولید پاتولین، اهمیت ویژه‌ای در ایمنی غذایی و بهداشت عمومی دارند (۲). آلودگی مواد غذایی به این قارچ‌ها، علاوه‌بر کاهش کیفیت و ماندگاری محصولات، می‌توانند منجر به بروز بیماری‌های کبدی، سرطان‌زایی و اختلالات ایمنی در مصرف‌کنندگان شود (۳). روش‌های شیمیایی کنترل قارچ‌ها مانند استفاده از قارچ‌کش‌ها و نگه‌دارنده‌های شیمیایی، هرچند تا حدودی مؤثر هستند، اما با محدودیت‌های متعددی همراه‌اند؛ از جمله‌ی این محدودیت‌ها، می‌توان به باقی‌ماندن ترکیبات سمی در مواد غذایی، ایجاد مقاومت قارچی و اثرات زیست‌محیطی نامطلوب اشاره کرد. بنابراین، یافتن راه‌کارهای ایمن، طبیعی و پایدار برای کنترل آلودگی‌های قارچی ضرورت دارد (۴). پروبیوتیک‌ها علاوه‌بر اثرات سودمند بر سلامت روده، قادر به تولید متابولیت‌هایی نظیر اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها هستند که اثرات ضدباکتریایی و ضدقارچی قابل‌توجهی از خود نشان می‌دهند (۵). پالیده‌ی عاری از سلول (CFS) حاصل از کشت پروبیوتیک‌ها، به‌دلیل دارا بودن این متابولیت‌ها بدون حضور سلول زنده‌ی باکتری، به‌عنوان یک رویکرد ایمن و پایدار در کنترل آلودگی‌های قارچی معرفی شده‌اند (۶). مطالعات نشان داده‌اند که CFS گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس می‌تواند رشد قارچ‌های مولد مایکوتوکسین مانند آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم را در محیط‌های آزمایشگاهی مهار نماید (۵، ۷ و ۸). با وجود این شواهد، اطلاعات موجود در خصوص اثرات CFS گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بر رشد کپک‌های مهم غذایی همچنان محدود است. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف مقایسه‌ی اثرات ضدقارچی پالیده‌ی عاری از سلول

گونه‌های لاکتوباسیلوس (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، پلانتاروم، کازئی و هلوونیکوس) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بر رشد کپک‌های آسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم اکسپانسونم در شرایط آزمایشگاهی طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی پالیده‌ی عاری از سلول (CFS) گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم: باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC۱۶۴۳، لاکتوباسیلوس پلانتاروم تحت گونه‌ی پلانتاروم PTCC۱۸۹۶، لاکتوباسیلوس کازئی تحت گونه‌ی کازئی PTCC۱۶۰۸، لاکتوباسیلوس هلوونیکوس PTCC۱۳۳۲، و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم PTCC۱۶۴۴ از کلکسیون میکروبی مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شدند. باکتری‌ها در آب‌گوشت MRS (کیولب، کانادا) کشت و در دمای ۳۷ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس باکتری‌ها در سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در مرحله‌ی بعد، محلول رویی جداسازی و پس از عبور از فیلتر سرنگی با قطر منافذ ۰/۲۲ میکرومتر برای انجام آزمایش اثرات ضدقارچی آماده شدند (۹).

تعیین اثرات ضدقارچی CFS گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بر روی کپک‌های آسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم اکسپانسونم: کپک‌های آسپرژیلوس فلاووس PTCC ۵۰۱۸ و پنی‌سیلیوم اکسپانسونم PTCC ۵۰۳۳ از کلکسیون میکروبی مرکز پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شدند. ابتدا کپک‌های آسپرژیلوس فلاووس و پنی‌سیلیوم اکسپانسونم در محیط PDA (کیولب، کانادا) کشت و در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۵ روز در شرایط هوازی گرم‌خانه‌گذاری شدند. غلظت‌های مختلف (۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) CFS باکتری‌های مورد نظر به‌طور جداگانه و با افزودن در بطری‌های محتوی محیط سترون و مذاب PDA با دمای تقریبی ۴۵ درجه‌ی سلسیوس

(روزهای ۳، ۷ و ۱۰) بر روی درصد مهاري کپک‌های *آسپرژیلوس فلاووس* و *پنی‌سیلیوم اکسپانسونم*، تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر دو طرفه انجام شد. هم‌چنین اختلاف میانگین درصد مهاري کپک‌های مورد مطالعه در روزهای مختلف گرم‌خانه‌گذاری و نیز در غلظت‌های مورد آزمایش CFS با استفاده از آزمون تجزیه‌ی واریانس یک طرفه و آزمون تک‌میلی توکی بررسی گردید. لازم به ذکر است در تمامی مراحل تجزیه و تحلیل، خطای مجاز برای رد فرض صفر (H_0)، ۵ درصد در نظر گرفته شد و برای کاهش خطا، آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام گردید. هم‌چنین رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل ۲۰۱۹ صورت گرفت.

نتایج

مقایسه‌ی درصد مهاري غلظت‌های مختلف CFS گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم متأثر از کل روزهای گرم‌خانه‌گذاری بر روی پنی‌سیلیوم اکسپانسونم: نتایج آزمون تجزیه‌ی واریانس نشان داد که میانگین درصد مهاري در غلظت ۰/۲۵ درصد ($F_{(۴,۴۰)} = ۳۷/۷۴$)، ۰/۵ درصد ($p < ۰/۰۱$ ، $F_{(۴,۴۰)} = ۴/۴۵$) و ۱ درصد ($p < ۰/۰۱$ ، $F_{(۴,۴۰)} = ۲۳/۲۰$) و ۲ درصد ($p < ۰/۰۵$ ، $F_{(۴,۴۰)} = ۲/۹۶$) CFS باکتری‌های مختلف متأثر از روزهای مختلف گرم‌خانه‌گذاری بر روی پنی‌سیلیوم اکسپانسونم تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). هم‌چنین درصد مهاري CFS باکتری‌های مورد آزمایش بر روی پنی‌سیلیوم اکسپانسونم به‌صورت وابسته به غلظت افزایش یافت؛ به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد مهاري در غلظت ۲ درصد CFS لاکتوباسیلوس پلانتاروم مشاهده گردید.

به‌صورت حجمی/حجمی تهیه و در پلیت‌های سِترون ۱۰ سانتی‌متری ریخته شدند. برای تمامی کپک‌های آزمایشی، پلیت‌های PDA بدون هیچ‌گونه افزودنی تهیه و به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. سپس محیط‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس قرار گرفتند تا کاملاً جامد شوند. پس از آن، یک حفره در مرکز محیط کشت و با استفاده از کورک بورر سِترون (قطر ۵ میلی‌متر) ایجاد شد و میسلیوم جوان هر کپک (با سن ۵ روز) به داخل این حفره منتقل گردید. پلیت‌ها در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۱۰ روز گرم‌خانه‌گذاری شدند. اثر بازدارندگی CFS‌ها در روزهای سوم، هفتم و دهم گرم‌خانه‌گذاری به‌صورت زیر محاسبه گردید:

$$I = (C - T) / C \times 100$$

که در آن I درصد مهاري، C قطر پرگنه‌ی کپکی در پلیت‌های کنترل (میلی‌متر)، T قطر پرگنه‌ی کپکی در پلیت‌های حاوی غلظت‌های مختلف CFS است (۱۰).

تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری داده‌های حاصله با استفاده از نرم افزار IBM SPSS Statistics ۲۷ انجام شد. در این مطالعه، هر پلیت آگار با غلظت‌های مختلف CFS به‌عنوان واحد آزمایش در نظر گرفته شد. ابتدا نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از آزمون کولموگراف-اسمیرنوف و سپس همگنی واریانس داده‌ها، با آزمون لون بررسی شد. در صورت عدم توزیع نرمال باقی‌مانده‌ها، با استفاده از روش تبدیل آرکسین ریشه‌ی دوم نسبت به نرمال‌سازی داده‌های درصد مهاري اقدام شد. با توجه به این‌که برای محاسبه‌ی درصد مهاري در روزهای مختلف گرم‌خانه‌گذاری از همان پلیت اولیه استفاده شد؛ برای بررسی تاثیر تعاملی غلظت‌های مختلف CFS (۰/۲۵ تا ۲ درصد) لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم و زمان‌های مختلف گرم‌خانه‌گذاری

مطالعه مقایسه‌ای اثرات ضدقارچی پالیده‌ی عاری از سلول گونه‌های لاکتوباسیلوس ...

جدول ۱: مقایسه‌ی میانگین $\pm$ خطای استاندارد درصد مهاری غلظت‌های مختلف CFS گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم متأثر از کل

روزهای گرم‌خانه‌گذاری بر روی پنی‌سیلیم/اکسیپانسونم

حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ می‌باشد.

پالیده‌ی عاری از سلول	غلظت (درصد)			
	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲
لاکتوباسیلوس پلاتناروم	$2/04 \pm 0/54^b$	$11/99 \pm 1/01^c$	$13/01 \pm 1/60^b$	$30/79 \pm 7/88^b$
لاکتوباسیلوس کازئی	$0/0 \pm 0/0^a$	$7/92 \pm 0/50^b$	$10/19 \pm 1/16^b$	$28/02 \pm 8/49^{ab}$
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	$2/46 \pm 0/50^b$	$7/93 \pm 0/51^b$	$10/54 \pm 1/11^b$	$28/02 \pm 8/49^{ab}$
لاکتوباسیلوس هلوتیکوس	$0/91 \pm 0/47^{ab}$	$1/82 \pm 0/73^a$	$1/43 \pm 0/78^a$	$8/07 \pm 1/80^a$
بیفیدوباکتریوم بیفیدوم	$1/65 \pm 0/54^{ab}$	$1/62 \pm 0/76^a$	$1/62 \pm 0/76^a$	$8/91 \pm 1/98^a$
مقدار p	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۳۱

مقایسه درصد مهاری غلظت‌های مختلف CFS

گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم

متأثر از کل روزهای گرم‌خانه‌گذاری بر روی

آسپرژیلوس فلاووس: نتایج آزمون تجزیه‌ی واریانس

نشان داد که میانگین درصد مهاری در غلظت ۰/۲۵ درصد

($F_{(4,40)} = 3/51$ و $p < 0.05$)، ۰/۵ درصد ($F_{(4,40)} = 8/78$)

و ۱ درصد ($p < 0.01$)، ۱ درصد ($F_{(4,40)} = 5/80$ و $p < 0.01$) و ۲ درصد

($p < 0.05$ و $F_{(4,40)} = 4/90$) CFS باکتری‌های مختلف متأثر

از روزهای مختلف گرم‌خانه‌گذاری بر روی آسپرژیلوس

فلاووس تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲).

هم‌چنین درصد مهاری CFS باکتری‌های مورد آزمایش بر

روی آسپرژیلوس فلاووس به‌صورت وابسته به غلظت افزایش

یافت؛ به‌طوری‌که بیش‌ترین درصد مهاری در غلظت ۲

درصد CFS لاکتوباسیلوس کازئی مشاهده گردید.

جدول ۲: مقایسه میانگین $\pm$ خطای استاندارد درصد مهاری غلظت‌های مختلف CFS گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم متأثر از کل

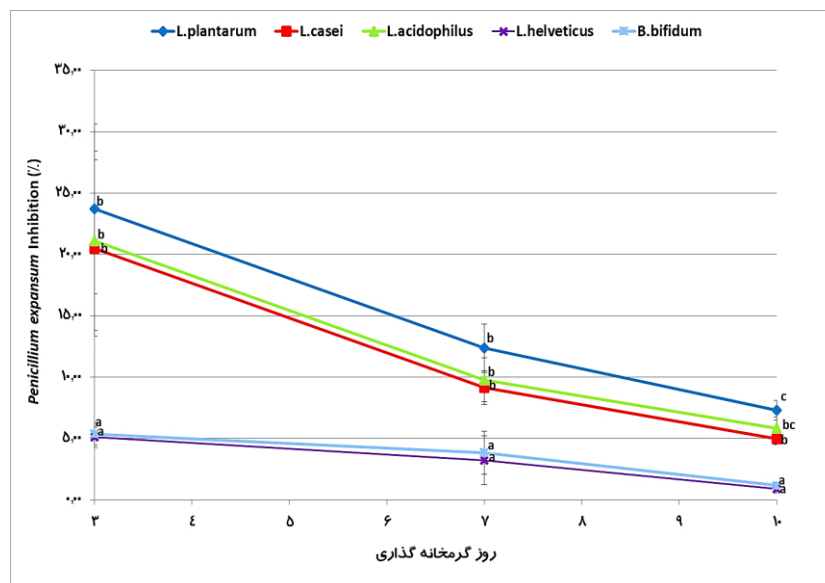
روزهای گرم‌خانه‌گذاری بر روی آسپرژیلوس فلاووس

حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ می‌باشد.

پالیده‌ی عاری از سلول	غلظت (درصد)			
	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲
لاکتوباسیلوس پلاتناروم	$0/86 \pm 0/45^b$	$10/21 \pm 2/46^c$	$23/44 \pm 5/86^b$	$22/87 \pm 4/46^b$
لاکتوباسیلوس کازئی	$0/67 \pm 0/44^a$	$16/56 \pm 3/74^b$	$28/38 \pm 6/31^b$	$28/53 \pm 6/31^{ab}$
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	$3/27 \pm 0/91^b$	$3/84 \pm 0/78^b$	$16/77 \pm 4/17^b$	$16/91 \pm 2/69^{ab}$
لاکتوباسیلوس هلوتیکوس	$1/07 \pm 0/77^{ab}$	$3/10 \pm 0/80^a$	$5/86 \pm 1/05^a$	$9/18 \pm 1/18^a$
بیفیدوباکتریوم بیفیدوم	$0/38 \pm 0/25^{ab}$	$1/75 \pm 0/78^a$	$5/05 \pm 0/54^a$	$10/01 \pm 1/38^a$
مقدار p	۰/۰۱۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۳۳

غلظت‌ها بر روی پنی‌سیلیوم/اکسیپانسونم تفاوت معنی‌داری وجود داشت (نمودار ۱). از سویی، درصد مهاري CFS باکتری‌های مورد آزمایش با افزایش روزهای گرم‌خانه‌گذاری متأثر از کل غلظت‌ها کاهش یافت؛ بطوری‌که بیشترین درصد مهاري در CFS لاکتوباسیلوس پلانتروم در روز سوم گرم‌خانه‌گذاری و کمترین درصد مهاري در CFS لاکتوباسیلوس هلوتیکوس در روز دهم گرم‌خانه‌گذاری متأثر از کل غلظت‌ها مشاهده شد.

مقایسه درصد مهاري CFS گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در روزهای مختلف گرم‌خانه‌گذاری متأثر از کل غلظت‌ها بر روی پنی‌سیلیوم/اکسیپانسونم: نتایج آزمون تجزیه واریانس یک طرفه نشان داد که میانگین درصد مهاري CFS باکتری‌های مورد آزمایش در روز ۳ ($F_{(۴,۵۵)} = ۳/۱۷$) و روز ۷ ($F_{(۴,۵۵)} = ۴/۵۷$) و ($p < ۰/۰۵$)، روز ۱۰ ($F_{(۴,۵۵)} = ۲۲/۸۲$) و ($p < ۰/۰۱$) متأثر از کل

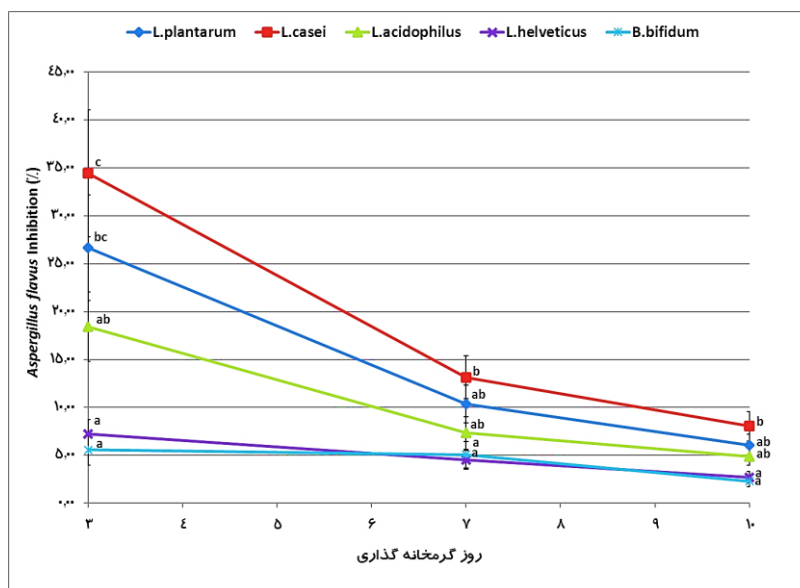


نمودار ۱: مقایسه‌ی میانگین $\pm$ خطای استاندارد درصد مهاري CFS گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در روزهای مختلف گرم‌خانه‌گذاری متأثر از کل غلظت‌ها بر روی پنی‌سیلیوم/اکسیپانسونم (حروف انگلیسی نامشابه در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < ۰/۰۵$ می‌باشد).

غلظت‌ها بر روی آسپرژیلوس فلاووس تفاوت معنی‌داری وجود داشت (نمودار ۲). از سویی، درصد مهاري CFS باکتری‌های مورد آزمایش با افزایش روزهای گرم‌خانه‌گذاری متأثر از کل غلظت‌ها کاهش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین درصد مهاري در CFS لاکتوباسیلوس کازئی در روز سوم گرم‌خانه‌گذاری و کمترین درصد مهاري در CFS بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در روز دهم گرم‌خانه‌گذاری متأثر از کل غلظت‌ها مشاهده شد.

مقایسه درصد مهاري CFS گونه‌های مختلف لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در روزهای مختلف گرم‌خانه‌گذاری متأثر از کل غلظت‌ها بر روی آسپرژیلوس فلاووس: نتایج آزمون تجزیه‌ی واریانس یک طرفه نشان داد که میانگین درصد مهاري CFS باکتری‌های مورد آزمایش در روز ۳ ($F_{(۴,۳۷)} = ۸/۳۷$) و روز ۷ ($F_{(۴,۳۷)} = ۴/۴۹$) و ($p < ۰/۰۱$)، روز ۱۰ ($F_{(۴,۳۷)} = ۵/۴۰$) و ($p < ۰/۰۱$) متأثر از کل

مطالعه مقایسه‌ای اثرات ضدقارچی پالیده‌ی عاری از سلول گونه‌های لاکتوباسیلوس ...



نمودار ۲: مقایسه‌ی میانگین $\pm$ خطای استاندارد درصد مهاري CFS گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در روزهای مختلف گرم‌خانه‌گذاری متأثر از کل غلظت‌ها بر روی آسپرژیلوس فلاووس (حروف انگلیسی نامشابه در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ می‌باشد).

هم‌چنین CFS لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس کازئی بیش‌ترین درصد مهاري به‌ترتیب بر روی پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم و آسپرژیلوس فلاووس نشان داد. از سویی، CFS لاکتوباسیلوس هلوتیکوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم کم‌ترین درصد مهاري به‌ترتیب بر روی پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم و آسپرژیلوس فلاووس نشان دادند.

مقایسه‌ی میانگین کل درصد مهاري CFS گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم متأثر از کل غلظت‌ها و روزهای گرم‌خانه‌گذاری بر روی پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم و آسپرژیلوس فلاووس: همان‌گونه که در جدول ۳ نشان داده شده است میانگین کل درصد مهاري CFS باکتری‌های مورد آزمایش متأثر از کل غلظت‌ها و روزهای گرم‌خانه‌گذاری بر روی پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم ($F=6/40$ و $p < 0.01$) و آسپرژیلوس فلاووس

جدول ۳: مقایسه‌ی میانگین کل $\pm$ خطای استاندارد درصد مهاري گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم متأثر از کل غلظت‌ها و روزهای گرم‌خانه‌گذاری بر روی پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم و آسپرژیلوس فلاووس

حروف انگلیسی نامشابه در هر ستون نشان‌دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ می‌باشد.

درصد مهاري		پالیده‌ی عاری از سلول
آسپرژیلوس فلاووس	پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم	
۱۴/۳۵ 2 ± 44 ^{bc}	۱۴/۴۶ 2 ± 61 ^b	لاکتوباسیلوس پلانتاروم
۱۸/۵۳ 3 ± 01 ^c	۱۱/۵۳ 2 ± 68 ^b	لاکتوباسیلوس کازئی
۱۰/۲۰ 1 ± 66 ^{ab}	۱۲/۲۴ 2 ± 61 ^b	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس
۴/۸۰ 0 ± 69 ^a	۳/۰۶ 0 ± 71 ^a	لاکتوباسیلوس هلوتیکوس
۴/۲۹ 0 ± 74 ^a	۳/۴۵ 0 ± 76 ^a	بیفیدوباکتریوم بیفیدوم
< 0.001	< 0.001	مقدار p

بحث و نتیجه گیری

کنترل رشد قارچ‌های مولد مایکوتوکسین، به‌ویژه *آسپرژیلوس فلاووس* و *پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم*، یکی از چالش‌های اساسی در صنایع غذایی به‌شمار می‌رود. استفاده از ترکیبات شیمیایی ضدقارچ اگرچه تا حدی مؤثر بوده است، اما نگرانی‌های مرتبط با ایمنی، پایداری و مقاومت میکروبی، توجه پژوهشگران را به راه‌کارهای زیستی و ایمن معطوف کرده است. در این راستا، استفاده از پست‌بیوتیک‌ها و به‌ویژه پالیده‌های عاری از سلول (CFS) تولیدشده توسط پروبیوتیک‌ها، رویکردی نوین و مورد توجه است. پژوهش حاضر با تمرکز بر CFS گونه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم می‌تواند شواهد جدیدی را در خصوص کارایی این ترکیبات در مهار کپک‌های یادشده فراهم آورد.

نتایج نشان داد که تمامی CFS‌های مورد بررسی، موجب کاهش رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و *پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم* شدند؛ و این اثر به‌صورت وابسته به غلظت و زمان بود. بیش‌ترین بازدارندگی در غلظت ۲ درصد پالیده‌ها و در روز سوم گرم‌خانه‌گذاری مشاهده شد. این یافته با گزارش‌های پیشین که نشان داده‌اند متابولیت‌های ترشح‌شده توسط لاکتوباسیلوس‌ها می‌توانند رشد کپک‌ها و تولید مایکوتوکسین را مهار کنند؛ هم‌خوان است (۱۱ و ۱۲). در یک مطالعه که ۱۳ سویه‌ی مختلف باکتری اسیدلاکتیک از جمله لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، پلانتاروم و کازئی را بررسی کردند، تمامی CFS‌ها، کپک‌های مورد بررسی از جمله *پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم* و *آسپرژیلوس فلاووس* را با دامنه‌ی ۲/۶۵ تا ۶۶/۸۲ درصد مهار کردند؛ این اثر با تیمار حرارتی CFS‌ها (۱۲۱ درجه‌ی سلسیوس به‌مدت ۲۰ دقیقه) تحت‌تأثیر قرارنگرفت ولی با خنثی‌سازی و رساندن pH به ۶/۵ به‌طور قابل توجه کاهش یافت و این یافته، نشان می‌دهد که اسیدهای آلی از جمله اسید لاکتیک، اسید استیک و اسید فنیل‌لاکتیک (PLA) در مکانسیم مهارکنندگی رشد کپک‌ها نقش مهم ایفا می‌کنند (۱۳). هم‌چنین در مطالعات دیگر، نشان‌داده شد که برخی از

سویه‌های لاکتوباسیلوس می‌توانند تولید آفلاتوکسین توسط *آسپرژیلوس فلاووس* را کاهش دهند (۱۴-۱۶). در پژوهش حاضر، بررسی مقایسه‌ای گونه‌های مختلف نشان داد که CFS لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم به‌ترتیب بیش‌ترین اثر مهاری را بر روی *آسپرژیلوس* و *پنی‌سیلیوم* داشتند. مطالعات متعدد به قدرت ضدقارچی بالای این دو گونه اشاره کرده‌اند (۱۳). در یک مطالعه، گزارش شد که CFS حاصل از لاکتوباسیلوس پلانتاروم سویه‌ی ۱۲۴ به‌طور قابل توجه رشد *آسپرژیلوس فلاووس* و گونه‌های *پنی‌سیلیوم* را در آزمایش میکرو دایلوژن مهار کردند. در تحقیق مذکور، آزمایش خنثی‌سازی pH باعث کاهش قابل توجه فعالیت ضدقارچی شد درحالی‌که تیمار حرارتی و پروتئیناز K فعالیت ضدقارچی CFS را تحت تأثیر قرار نداد. ترکیبات عمده‌ی CFS، اسید لاکتیک (۴۹/۵۷ درصد) و اسید استیک (۲۵/۸۵ درصد) شناخته شدند (۱۷). هم‌چنین، به‌طور مشابه Russo و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که لاکتوباسیلوس پلانتاروم قادر است طیف وسیعی از کپک‌های مولد فساد را مهار نماید (۱۲).

در مقابل، کم‌ترین اثر مهاری در پژوهش حاضر مربوط به بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس بود؛ این یافته با نتایج Abbaszadeh و همکاران (۲۰۱۵) که نشان دادند بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در مقایسه با گونه‌های لاکتوباسیلوس کم‌ترین اثر ضدقارچی را دارد (۱۸)؛ همسو می‌باشد. هم‌چنین، این یافته با نتایج Qiao و همکاران (۲۰۲۰) که نشان دادند گونه‌های بیفیدوباکتریوم به‌ویژه بیفیدوباکتریوم آدوله‌سنتیس سویه‌ی CCFM۱۱۸۰ اثر مهاری قوی‌تری نسبت به گونه‌های لاکتوباسیلوس بر روی *پنی‌سیلیوم اکسپانسونوم* نشان دادند (۱۹)؛ هم‌راستا نیست. اما این به آن معنی نیست که همه‌ی بیفیدوباکتریوم‌ها اثر قوی دارند بلکه برخلاف، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ممکن است متابولیت‌های ضعیف‌تری در برابر قارچ‌ها تولید کند. این نتیجه نشان می‌دهد که توانایی مهار قارچ‌ها در میان باکتری‌های پروبیوتیک به‌طور قابل توجهی به گونه و سویه‌ی

مطالعه مقایسه‌ای اثرات ضدقارچی پالیده‌ی عاری از سلول گونه‌های لاکتوباسیلوس ...

باکتری و نوع قارچ هدف وابسته بوده و همه‌ی این میکروارگانیسم‌ها از پتانسیل ضدقارچی یکسانی برخوردار نیستند (۱۳ و ۱۹).

چند عامل در تفاوت شدت و الگوی مهارى بین پژوهش‌های مختلف می‌توانند نقش داشته باشد. تنوع سویه‌ای، حتی درون یک گونه، تفاوت‌های ژنتیکی سبب تولید پروفایل متابولیتی متفاوت می‌شود. برخی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم قادر به تولید پپتیدهای ضدقارچی اختصاصی هستند، در حالی‌که دیگر سویه‌ها بیش‌تر بر تولید اسیدهای آلی تکیه دارند (۲۰ و ۲۱). روش تهیه CFS، شرایط کشت، مدت گرم‌خانه‌گذاری و تکنیک‌های جداسازی بر ترکیب نهایی CFS اثر مستقیم دارند. در برخی پژوهش‌ها، خنثی‌سازی pH موجب کاهش یا از بین رفتن فعالیت ضدقارچی شده است (۱۴ و ۱۵)؛ این نشان می‌دهد که بخش مهمی از اثر به دلیل حضور اسیدهای آلی مانند لاکتیک، استیک و فیل‌لاکتیک اسید است. متد ارزیابی فعالیت ضدقارچ، استفاده از محیط‌های آزمایشگاهی ساده مانند PDA معمولاً اثرات آشکارتری نشان می‌دهد، در حالی‌که در آزمون‌های درون‌محصولی (مانند روی میوه یا نان) نتایج متغیرتر گزارش شده‌اند (۱۹). علاوه بر کاهش pH، ترکیبات فرار، بیوسورفکتانت‌ها و ترکیبات مشابه باکتریوسین در مکانیسم عمل فعالیت ضدقارچی نقش دارند. مطالعات متابولومیک نشان داده‌اند که ترکیبی از چندین عامل، مسئول فعالیت مشاهده‌شده است (۲۰، ۲۱). هرچند نتایج به‌دست‌آمده ارزشمندند، اما محدودیت‌هایی نیز وجود دارد. نخست، بررسی‌ها در شرایط آزمایشگاهی ساده انجام شد و قابلیت تعمیم به ماتریس‌های پیچیده غذایی نیازمند بررسی بیش‌تر است. دوم، ترکیبات فعال CFS شناسایی و کمی‌سازی نشدند؛ درحالی‌که شناسایی دقیق متابولیت‌های مسئول می‌تواند مسیر توسعه‌ی کاربرد صنعتی را هموار سازد. سوم، از نکات مهم روش‌شناختی مقاله، عدم اندازه‌گیری یا گزارش pH CFS و همچنین pH نهایی محیط PDA پس از افزودن CFS است. با توجه به این‌که بخش قابل‌توجهی از فعالیت

ضدقارچی لاکتوباسیلوس‌ها ناشی از تولید اسیدهای آلی و کاهش pH می‌باشد. عدم کنترل دقیق نقش pH در اثرات مشاهده‌شده، تفسیر مکانیسم‌های عمل را دشوار می‌سازد. بررسی اثر CFS خنثی‌شده (pH≈۷) می‌تواند به شناخت مکانیسم ضدقارچی کمک کند. چهارم، در طراحی آزمایش‌های این مطالعه، از کنترل منفی (محیط PDA بدون افزودنی) استفاده شده است؛ نبود یک کنترل مثبت (مانند یک ترکیب ضدقارچی شیمیایی متداول) امکان مقایسه‌ی قدرت مهارى CFS‌ها با ترکیبات ضدقارچ رایج را محدود می‌کند.

به‌طورکلی، یافته‌های این پژوهش نشان داد که CFS‌های حاصل از لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم دارای فعالیت ضدقارچی قابل توجه در شرایط محیط کشت می‌باشند و می‌توانند به‌عنوان ترکیبات ضدقارچ طبیعی در زمینه جایگزینی با عوامل ضدقارچ شیمیایی در صنایع غذایی مورد مطالعه و ارزیابی قرار گیرند. با این‌حال، برای بهره‌برداری صنعتی، انجام مطالعات تکمیلی در شرایط واقعی مواد غذایی، شناسایی ترکیبات فعال، بررسی ایمنی و اثرات حسی ضروری است. این مسیر می‌تواند افق‌های تازه‌ای در استفاده از پست‌بیوتیک‌ها برای افزایش ایمنی و پایداری مواد غذایی به‌گشاید.

سپاسگزاری:

بدین وسیله نویسندگان مقاله از زحمات و تلاش‌های جناب آقای مهندس ناصر باقری مسئول محترم آزمایشگاه کنترل کیفی و بهداشتی مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه تشکر و قدردانی می‌نماید.

تعارض منافع:

بدین وسیله اعلام می‌گردد که نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارض منافع در چاپ و انتشار مقاله‌ی حاضر ندارند.

References

- 1- Bennett JW, Klich M. Mycotoxin production by *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 80(3): 223-240.
- 2- Pitt JI, Hocking, AD. Fungi and food spoilage. 3rd ed. New York: Springer, 2009; p:169-295.
- 3- Wild CP, Gong YY. Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis.* 2010 Jan; 31(1): 71-82.
- 4- Gänzle MG. Lactic metabolism revisited: Metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Curr. Opin. Food Sci.* 2015; 2: 106-117.
- 5- Corsetti A, Settanni L. Lactic acid bacteria in sourdough fermentation. *Food Res Int.* 2007; 40(5): 539-558.
- 6- Arena MP, Capozzi V, Russo P, Drider D, Spano G, Fiocco D. Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018; 102(23): 9949-9958.
- 7- Crowley S, Mahony J, van Sinderen D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends Food Sci Technol.* 2013; 33(2): 93-109.
- 8- Magnusson J, Schnürer J. *Lactobacillus coryniformis* subsp. *coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Appl Environ Microbiol.* 2001; 67(1): 1-5.
- 9- Moradi M, Mardani K, Tajik H. Characterization and application of postbiotics of *Lactobacillus* spp. on *Listeria monocytogenes* in vitro and in food models. *LWT.* 2019; 111: 457-464.
- 10- Gumus T, Demirci AS, Sagdic O, Arici M. Inhibition of heat-resistant molds: *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotii* by some plant essential oils. *Food Sci Biotechnol.* 2010; 19: 1241-1244.
- 11- Peng Q, Yang J, Wang Q, Suo H, Hamdy A M, Song J. Antifungal Effect of Metabolites from a New Strain *Lactiplantibacillus plantarum* LPP703 Isolated from Naturally Fermented Yak Yogurt. *Foods.* 2023; 12(1):181.
- 12- Russo P, Lavermicocca P, Baccigalupi L. *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. *Int J Food Microbiol.* 2017; 247: 48-54.
- 13- Cortés-Zavaleta O, López-Malo A, Hernández-Mendoza A, García HS. Antifungal activity of lactobacilli and its relationship with 3-phenyllactic acid production. *Int J Food Microbiol.* 2014 Mar 3; 173:30-5.
- 14- Taheur FB, Mansour C, Kouidhi B, Chaieb K. Use of lactic acid bacteria for the inhibition of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus carbonarius* growth and mycotoxin production. *Toxicon.* 2019; 166: 15-23.
- 15- 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. *Comp Clin Path.* 2017; 26(5): 1083-1092.
- 16- Ghazvini RD, Kouhsari E, Zibafar E, Hashemi SJ, Amini A, Niknejad F. Antifungal activity and aflatoxin degradation of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus fermentum* against toxigenic *Aspergillus parasiticus*. *Open Microbiol J.* 2016; 10:197.
- 17- Kanjan P, Sakpetch P. Effect of antifungal compounds secreted by *Lactiplantibacillus plantarum* 124 against *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. and its application in Kaeng-Tai-Pla-Haeng to extend the shelf life. *Int J Food Sci Technol.* 2023; 58(10): 5376-87.
- 18- Abbaszadeh S, Tavakoli R, Sharifzadeh A, Shokri H. Lactic acid bacteria as functional probiotic isolates for inhibiting the growth of *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. niger* and *Penicillium chrysogenum*. *J Mycol Med.* 2015 Dec; 25(4): 263-7.
- 19- Qiao N, Yu L, Zhang C, Wei C, Zhao J, Zhang H, et al. A comparison of the inhibitory activities of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* against *Penicillium expansum* and an analysis of potential antifungal metabolites. *FEMS Microbiol Lett.* 2020; 367(18): fnaa130.
- 20- Wang H, Yan Y, Wang J, Zhang H, Qi W. Production and characterization of antifungal compounds produced by *Lactobacillus plantarum* IMAU10014. *PLoS One.* 2012; 7(1): e29452.
- 21- Bukhari SA, Salman M, Numan M, Javed MR, Zubair M, Mustafa G. Characterization of antifungal metabolites produced by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus coryniformis* isolated from rice rinsed water. *Mol Biol Rep.* 2020 Mar; 47(3):1871-1881.



Volume 9, Issue 2, Summer 2026, pages: 23-32

۳۲

In vitro comparative study on the antifungal effects of cell-free supernatants (CFS) of *Lactobacillus* species (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. helveticus*, and *L. plantarum*) and *Bifidobacterium bifidum* against *Aspergillus flavus* and *Penicillium expansum*

Hossein kazemkhani ¹, Moslem Neyriz Naghadehi ^{2*}, Vahid Tanhaei Marand ³

- 1- Graduated Doctor of Veterinary Medicine (DVM), Veterinary Faculty, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran
- 2- Department of Food Hygiene, Veterinary Faculty, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran
- 3- Department of Biology, Basic Science Faculty, Ur.C., Islamic Azad University, Urmia, Iran

* **Corresponding author:** specialized in Food Hygiene - Address: Department of Food Hygiene, Veterinary Faculty, Urmia branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran. – Tel: 04431803160-09352112123. Email: Mo.Neyriz@iau.ac.ir

Receive: September 11, 2025; Revise: June 14, 2026; Accept: July 10, 2026

 10.22034/nfvm.2026.546448.1299

Abstract

Aspergillus flavus and *Penicillium expansum* are among the most important mycotoxin-producing fungi, responsible for food spoilage and serious health concerns. In recent years, postbiotics have emerged as a safe and natural approach to fungal inhibition. This study aimed to compare the antifungal effects of cell-free supernatants (CFS) derived from selected *Lactobacillus* species (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. helveticus*, and *L. plantarum*) and *Bifidobacterium bifidum* against *A. flavus* and *P. expansum* under laboratory conditions. Bacterial strains were first cultured in MRS broth, and their CFS was obtained by centrifugation and filtration. Different concentrations of CFS (0.25, 0.5, 1, and 2% v/v) were incorporated into PDA medium, and mold colony diameters were measured on days 3, 7, and 10 of incubation to calculate inhibition percentages. Results revealed that all CFS samples reduced fungal growth to varying extents, with inhibitory effects being both concentration and time dependent. The strongest inhibition was observed at 2% concentration on day 3 of incubation. Among the tested strains, *L. casei* and *L. plantarum* exhibited the highest inhibitory activity against *A. flavus* and *P. expansum*, respectively. In contrast, *B. bifidum* and *L. helveticus* showed the lowest inhibition percentages against *A. flavus* and *P. expansum*. Therefore, it can be concluded that CFS of *Lactobacillus casei* and *plantarum* have significant antifungal activity under culture conditions, and it is recommended that further studies be conducted on their replacement with chemical antifungal compounds in the food industry.

Keywords: antifungal effect, cell-free supernatant (CFS), *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*