مجله دنیای میکروب‌ها
سال نهم شماره دوم (پیاپی ۲۷) تابستان ۱۳۹۵
صفحات ۱۴۴-۱۳۳

Original Article

جداسازی، شناسایی مولکولی و ارزیابی ویژگی های پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس* های غالب در خمیرترش آرد کامل گندم

علیرضا صادقی*[1]، مریم ابراهیمی[2]

[1] استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، [2] دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان.

چکیده

سابقه و هدف: استفاده روزافزون از فرآورده‌های غذایی صنعتی به جای محصولات سنتی، موجب افزایش حذف باکتری‌های پروبیوتیک می شود. این مطالعه با هدف جداسازی، شناسایی مولکولی و ارزیابی ویژگی های پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس* های غالب در خمیرترش آرد کامل گندم انجام شد.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی پس از جداسازی و شناسایی *لاکتوباسیلوس* های غالب خمیرترش آرد کامل گندم، ویژگی های پروبیوتیکی آنها شامل زنده مانی در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش، اثرات ضد میکروبی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس*، *لیستریا منوسیتوژنز*، *اشریشیا کلی*، قابلیت تجمعی بر ضد *اشریشیا کلی* به عنوان یک عامل عفونی روده و همچنین مقاومت این جدایه ها در برابر برخی از آنتی بیوتیک های رایج مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: توالی یابی محصولات واکنش زنجیره ای پلی مراز، منجر به شناسایی *لاکتوباسیلوس* های *اسیدوفیلوس*، *پلانتاروم*، *ساکی* و *برویس* به عنوان *لاکتوباسیلوس* های غالب خمیرترش آرد کامل گندم شد. از میان این چهار جدایه، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* دارای بیشترین زنده مانی در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش بود. همچنین قطر هاله عدم رشد هر سه باکتری بیماری زا در مجاورت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* به شکل معنی داری از دو جدایه لاکتیکی دیگر بیشتر بود. مقایسه قابلیت تجمعی جدایه های لاکتیکی بر ضد *اشریشیا کلی* نیز نشان داد که *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از توانمندی بیشتری در این خصوص برخوردار می باشند. همچنین این دو جدایه به همراه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در برابر آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، کانامایسین، ونکومایسین و نالیدیکسیک اسید مقاومت نشان دادند.

نتیجه گیری: *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* جدا شده از خمیرترش آرد کامل گندم از قابلیت بالایی برای استفاده به عنوان باکتری های پروبیوتیک در مصارف مختلف غذایی و دارویی برخوردار می باشند.

واژگان کلیدی: خمیرترش، پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس*.

دریافت مقاله: دی ماه ۹٤ پذیرش برای چاپ: اسفند ماه ۹٤

مقدمه

باکتری های اسید لاکتیک، گروهی از باکتری های گرم مثبت، بی هوازی اختیاری، غیر اسپوردار و کروی یا میله ای شکل هستند که در فرآیند تخمیر کربوهیدرات ها، اسید لاکتیک را به عنوان محصول نهایی تولید می کنند. تعداد زیادی از باکتری های اسید لاکتیک به خصوص *لاکتوباسیلوس* ها (*Lactobacillus*) دارای ویژگی های پروبیوتیکی بوده و به عنوان کشت آغازگر در محصولات تخمیری مختلف مورد استفاده قرار می گیرند (۱ و ۲). اصطلاحاً پروبیوتیک به کشت زنده و فعالی اطلاق می شود که ضمن بقا و تجمع در دستگاه

*) آدرس برای مکاتبه: گرگان، پردیس دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گروه علوم و صنایع غذایی. تلفن: ۰۹۱۵۵۰۸۰۳۸۳ پست الکترونیک: sadeghi.gau@gmail.com

گوارش، اثرات فیزیولوژیکی مثبتی نیز بر مصرف کننده داشته باشد. پروبیوتیک ها از ویژگی های متعددی مانند مقاومت به اسید معده و املاح صفراوی، همچنین ممانعت از ایجاد اتصال باکتری های بیماری زا با مخاط روده برخوردارند. این میکروارگانیسم ها به عنوان جایگزین آنتی بیوتیک ها و نگهدارنده های سنتزی در پیشگیری و درمان عوارض بسیاری از عوامل عفونی و بیماری زای دستگاه گوارش نیز مورد استفاده قرار می گیرند (۲).

خمیرترش که از تخمیر آب و آرد غلات مختلف به دست می آید یکی از بهترین منابع شناخته شده برای باکتری های پروبیوتیک به شمار می آید (۳). این فرآورده تخمیری از قدیم برای تولید نان های سنتی استفاده می گردید و دارای مزایای فراوانی مانند بهبود عطر و طعم، تاخیر بیاتی، ممانعت از کپک زدگی و ارتقای ارزش تغذیه ای نان می باشد. ویژگی های منحصر به فرد خمیرترش نیز به فلور میکروبی غالب موجود در آن نسبت داده می شود که عمدتاً شامل باکتری های اسید لاکتیک متعلق به جنس *لاکتوباسیلوس* هستند (٤). توجه به افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای غذاهای سالم تر و همچنین گسترش تولید محصولات صنعتی به جای محصولات سنتی و امکان از دست رفتن بسیاری از باکتری های پروبیوتیک، ضرورت استفاده از باکتری های پروبیوتیک موجود در منابع سنتی هر روز ملموس تر می شود.

با توجه به قابلیت این باکتری ها برای کمک به سلامت انسان و نابودی باکتری های بیماری زای دستگاه گوارش، مطالعات بیشتری به منظور جداسازی و شناسایی باکتری های پروبیوتیک موجود در منابع سنتی و استفاده از آنها به منظور تولید فراورده های غذایی سلامتی بخش، ضروری به نظر می رسد (۵). در این راستا، انگمو (Angmo) و همکاران در سال ۲۰۱٦ موفق به جداسازی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*Lactobacillus plantarum*) گونه KJ 722784 از لاداخ (Ladakh) (نوعی محصول تخمیری سبزیجات) به عنوان یک پروبیوتیک جدید شدند که دارای توانایی مقاومت به اسید، نمک صفراوی و قابلیت تولید ترکیبات ضد میکروبی بود (٦).

سابیر (Sabir) و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidophilus*) سویه Z1L را از کفیر جداسازی نمودند. این سویه علاوه بر مقاومت نسبت به شرایط اسیدی و غلظت های مختلف نمک صفراوی، به شکل موثری قادر به جلوگیری از رشد *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli*) نیز بود (۷).

ماسودا (Masuda) و همکاران نیز در سال ۲۰۱۰ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس پاراپلانتاروم* (*Lactobacillus paraplantarum*) و *لکونوستوک مزنتروئیدس* (*Leuconostoc mesenteroides*) با قابلیت های پروبیوتیکی را از زیتون تخمیری جداسازی نمودند (۸). *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس گاسری* (*Lactobacillus gasseri*) جدا شده توسط فرناندز (Fernandez) و همکاران نیز ضمن تحمل شرایط اسیدی و نمک های صفراوی قادر بودند از رشد باکتری های *سالمونلا* (*Salmonella*)، *لیستریا* (*Listeria*) و *کمپیلوباکتر* (*Campylobacter*) بدون ایجاد تداخل در فلور میکروبی دستگاه گوارش جلوگیری نمایند (۹).

با توجه به عوارض ناشی از مصرف ترکیبات ضد میکروبی سنتزی و شیمیایی، متابولیت های باکتری های پروبیوتیک می توانند به عنوان ترکیبات ضد میکروبی طبیعی، کاربرد غذایی و دارویی داشته باشند (۲). علاوه بر مقاومت به اسید و صفرا و خاصیت ضد میکروبی، مقاومت به برخی از آنتی بیوتیک ها نیز یکی دیگر از ویژگی های قابل توجه باکتری های پروبیوتیک به شمار می آید. نتایج هامل (Hummel) و همکاران نشان داد که بیش از ۷۰ درصد *لاکتوباسیلوس* های جدا شده از محصولات پروبیوتیک تجاری مختلف، مانند *لاکتوباسیلوس*، *لاکتوکوکوس* (*Lactococcus*)، *استرپتوکوکوس* (*Streptococcus*) و *پدیوکوکوس* (*Pediococcus*) به آنتی بیوتیک های جنتامایسین و استرپتومایسن مقاوم بوده در حالی که کمتر از ۷ درصد آن ها به اریترومایسین، تتراسایکلین و کلرامفنیکل مقاوم بودند.

قابلیت تجمع بر ضد باکتری های بیماری زا و زنده مانی پروبیوتیک های لاکتیکی به ویژه سویه های مقاوم به

آنتی بیوتیک در دستگاه گوارش نیز آنها را قادر می سازد تا یک سد در برابر باکتری های بیماری زا ایجاد نمایند. با این وجود، عواملی مانند سویه باکتری اسید لاکتیک، سویه باکتری بیماری زا و زمان گرمخانه گذاری بر میزان این خاصیت تجمعی تأثیرگذار می باشند (۱۰).

تا کنون پژوهش های متعددی نیز در مورد ارزیابی ویژگی های پروبیوتیکی جدایه های لاکتیکی محصولات تخمیری مختلف در کشور صورت گرفته است. به عنوان مثال، طباطبایی یزدی (Tabatabaei Yazdi) و همکاران (۱۱) از کیمچی، تفنگ سازان (Tofangsazan) و همکاران (۱۲) از پنیر سنتی کردی، نریمانی (Narimani) و تاری نژاد (Tarinejad) (۱۳) از ماست تولید شده با شیر گاومیش، فرح بخش (Farahbakhsh) و همکاران (۱٤) از ماست های سنتی مناطق روستایی رفسنجان به جدایه های لاکتیکی دست یافتند که از قابلیت پروبیوتیکی بالایی برخوردار بودند.

اخیراً طباطبایی یزدی (Tabatabaei Yazdi) و همکاران (۱۱) ضمن ارزیابی میزان مقاومت به اسید، نمک های صفراوی و همچنین برخی از آنتی بیوتیک های رایج در باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از کیمچی، به سویه ای از *پدیوکوکوس پنتازاسیوس* (*Pediococcus pentosaceus*) برخوردند که ضمن دارا بودن بیشترین مقاومت به اسید و نمک صفراوی، قادر بود در pH معادل ۲ بیش از ٦۲ درصد زنده بماند. این در حالی بود که در همین pH درجه زنده مانی اکثر جدایه ها به کمتر از ۵۰ درصد می رسید. در پژوهش یاد شده، یک جدایه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نیز نسبت به بازدارنده های سنتز دیواره سلولی به خصوص کوآموکسی کلاو و تتراسایکلین حساس بود. اما در برابر بازدارنده های سنتز اسیدهای نوکلئیک مانند ونکومایسین و اریترومایسین کاملاً مقاوم و در برابر پنی سیلین، جنتاماسین و آموکسی سیلین، مقاومت نسبتاً خوبی نشان داد.

با توجه به کاهش مصرف محصولات غذایی سنتی تخمیری که به موجب آن، امکان از دست رفتن بسیاری از سویه های پروبیوتیک وجود دارد، جداسازی و شناسایی این باکتری ها از محصولات غذایی سنتی و سلامتی بخش ضروری به نظر می رسد (۱٤). هدف از این مطالعه ارزیابی ویژگی های پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس* های غالب جدا شده از خمیرترش آرد کامل گندم بود.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹٤ در آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در دو بخش انجام شد. در بخش نخست، *لاکتوباسیلوس* های غالب از خمیرترش آرد کامل گندم (تهیه شده از کارخانه آرد زاهدی استان گلستان) جداسازی و به کمک واکنش زنجیره ای پلی مراز (Polymerase Chain Reaction= PCR) و پرایمرهای اختصاصی شناسایی شدند. در بخش دوم، ویژگی های پروبیوتیکی جدایه های یاد شده شامل زنده مانی در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش یعنی pH معادل ۲ و غلظت نمک صفراوی (سیگما، آمریکا) ۰/۳ درصد، اثرات بازدارندگی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* (*Staphylococcus aureus* PTCC 1112)، *اشریشیا کلی* (*Escherichia coli* PTCC 1399) و *لیستریا منوسیتوژنز* (*Listeria monocytogenes* PTCC 1298) و قابلیت تجمع با *اشریشیا کلی* و همچنین مقاومت در برابر برخی از آنتی بیوتیک های رایج مورد بررسی قرار گرفت.

الف) جداسازی و شناسایی مولکولی لاکتوباسیلوس های غالب خمیرترش آرد کامل گندم: در ابتدا برای تهیه خمیرترش، مقادیر یکسانی از آرد با آب، مخلوط و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳٦ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری گردید. سوسپانسیون میکروبی خمیرترش آرد کامل گندم بر روی محیط Agar MRS

جدول ۱: پرایمرهای اختصاصی مورد استفاده در پژوهش برای شناسایی جدایه های لاکتیکی.

پرایمر	توالی پرایمر ٥′ به ٣′	اندازه (جفت باز)
16S rRNA	F: GAACGCGAAGAACCTTAC R: GCGTGTGTACAAGACCC	٥٠٠

(مرک، آلمان) کشت خطی داده شد. شناسایی اولیه کلنی های خالص جدایه های لاکتیکی با استفاده از آزمون های کاتالاز و رنگ آمیزی گرم انجام گرفت. به منظور استخراج DNA از کیت (بیونیر، AccuPrep K-3032، کره جنوبی) استفاده گردید. به منظور تکثیر ناحیه 16S rRNA باکتریایی از پرایمرهای اختصاصی نشان داده شده در جدول ۱ استفاده شد (۱۵).

واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر، شامل یک واحد بافر استاندارد PCR، ۲۵ پیکومول از هر پرایمر، مخلوطی از هر dNTP با غلظت ۰/۲ میلی مولار، ۲۵ میکروگرم سرم آلبومین، Taq پلی مراز با فعالیت ۲/۵ واحد (روبوست، فرانسه) و ۲ میکرو لیتر DNA با غلظت ۱۰۰ نانوگرم انجام شد. واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر (کوربت، مدل CG1-96، استرالیا) با شرایط دمایی ۲ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹٤ درجه سلیسیوس و در ادامه ۳۵ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹٤ درجه سلیسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ٦۱ درجه سلیسیوس به مدت ۱ دقیقه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سلیسیوس به مدت ۱ دقیقه و در نهایت گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلیسیوس به مدت ۵ دقیقه انجام شد (۱۵). محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۲ درصد الکتروفورز و توسط اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شدند. سپس ژل ها در زیر دستگاه UV ترانس ایلومیناتور مورد مطالعه قرار گرفتند. در نهایت محصولات PCR برای توالی یابی به شرکت MWG آلمان ارسال گردید.

ب) ارزیابی میزان زنده مانی جدایه های لاکتیکی در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش: برای این منظور، ابتدا سوسپانسیون حاوی هر باکتری به مدت ۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سلیسیوس با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس با حذف روماند، رسوب باقی مانده در محلول بافر فسفات حاوی اسید کلریدریک یک نرمال با pH معادل ۲ حل گردید به نحوی که جذبی معادل نیم مک فارلند داشته باشد. در ادامه، سوسپانسیون باکتریایی به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس قرار گرفت. در پایان زمان گرمخانه گذاری نیز این سوسپانسیون در رقت های متوالی بافر فسفات استریل، رقیق و شمارش گردید (۱٦ و ۱۷). علاوه بر این، سوسپانسیون دارای جذب معادل نیم مک فارلند از هر جدایه به مدت ٤ ساعت در مجاورت غلظت ۰/۳ درصد نمک صفراوی قرار داده شد و تعداد باکتری زنده پس از زمان یاد شده با تعداد باکتری نمونه شاهد (فاقد صفرا) مقایسه شد (۱۷ و ۱۸).

ج) بررسی فعالیت ضد میکروبی جدایه های لاکتیکی: برای بررسی فعالیت ضد میکروبی جدایه های لاکتیکی ابتدا به روش انتشار چاهک (Well diffusion)، اثر آنتاگونیستی هر یک از آنها با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشریشیا کلی* و *لیستریا منوسیتوژنز* تعیین شد (۱۹).

سپس به منظور ارزیابی خاصیت ضد میکروبی پالیده کشت ۲٤ ساعته *لاکتوباسیلوس* های جدا شده در برابر باکتری های بیماری زای یاد شده از روش میکرودایلوشن استفاده گردید. بدین منظور، ۱۸۵ میکرولیتر از پالیده کشت هر جدایه لاکتیکی که از سانتریفوژ کشت ۲٤ ساعته در ٤ درجه سلیسیوس با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه به دست آمد به همراه ۱۵ میکرولیتر از باکتری بیماری زای مورد نظر (حاوی 10^5 CFU) به هر چاهک اضافه شد. در ادامه و پس از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس، جذب نمونه در طول موج ٦۰۰ نانومتر اندازه گیری شد (۱).

د) ارزیابی خاصیت تجمعی جدایه های لاکتیکی بر ضد اشریشیا کلی: برای ارزیابی خاصیت تجمعی جدایه های لاکتیکی بر ضد *اشریشیا کلی* به عنوان یک عامل عفونی روده، پس از جداسازی سلول های حاصل از کشت ۲٤ ساعته *لاکتوباسیلوس* ها توسط سانتریفیوژ یخچال دار (مطابق مرحله قبل) و دو بار شستشو با بافر فسفات، مخلوطی از حجم های مساوی از سوسپانسیون هر کدام از جدایه های لاکتیکی و سوسپانسیون باکتری بیماری زای مورد نظر، تهیه و در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس به مدت ٤ ساعت نگهداری گردید. سپس جذب سوسپانسیون های در ٦۰۰ نانومتر خوانده شد و مطابق رابطه زیر، میزان خاصیت تجمعی محاسبه گردید. در این رابطه AP: جذب سوسپانسیون باکتری بیماری زا، Alac:

جذب سوسپانسیون جدایه لاکتیکی و Amix: جذب مخلوط سوسپانسیون جدایه لاکتیکی و باکتری بیماری زا پس از ٤ ساعت می باشد (۱۷).

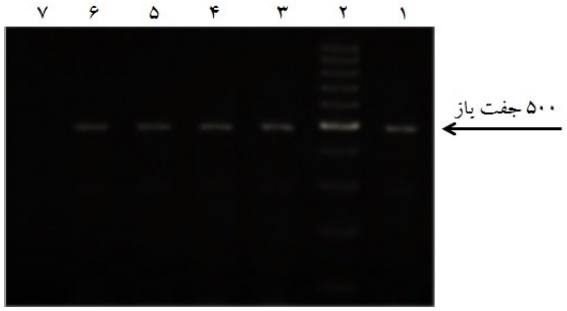
$$[(AP + Alac)/2 - (Amix)/(AP+ Alac)/2] *100$$

ح) بررسی مقاومت جدایه های لاکتیکی در برابر برخی از آنتی بیوتیک های رایج: مقاومت جدایه های لاکتیکی شناسایی شده در برابر برخی از آنتی بیوتیک های رایج مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از کشت ۲٤ ساعته *لاکتوباسیلوس* ها به ٤ میلی لیتر محیط کشت MRS حاوی یک درصد آگار (دمای ٤٥ درجه سلسیوس) اضافه گردید. سپس بر سطح پلیت های از پیش آماده شده که حاوی ۱۵ میلی لیتر محیط کشت MRS آگار ۱/۵ درصد بودند، ریخته شد. در ادامه، دیسک های آنتی بیوتیک شامل نورفلوکساسین، تتراسایکلین، اریترومایسین، استرپتومایسین، پنی سیلین، جنتامایسین، سفالکسین، کلرامفنیکل، کلیندامایسین، کانامایسین، سفتریاکسون و نالیدیکسیک اسید بر روی سطح پلیت قرار گرفتند. پلیت ها به مدت ۲٤ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری گردیدند. در پایان زمان گرمخانه گذاری، قطر هاله عدم رشد در اطراف دیسک ها اندازه گیری شد. نتیجه آزمایش بر این اساس به صورت مقاوم (قطر کمتر یا مساوی ١٤ میلی متر)، حساسیت نسبی (قطر ۱۵ تا ۱۹ میلی متر) و حساس (قطر بیشتر از ۲۰ میلی متر) گزارش گردید (۲۰).

ط) تجزیه و تحلیل آماری: نتایج حاصل از این پژوهش نیز با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه با مقایسات زوجی حداقل اختلاف معنی داری (LSD) در سطح معنی داری ۰/۰۵ با سه تکرار و به کمک نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Microsoft Office Excel نسخه ۲۰۰۷ استفاده شد.

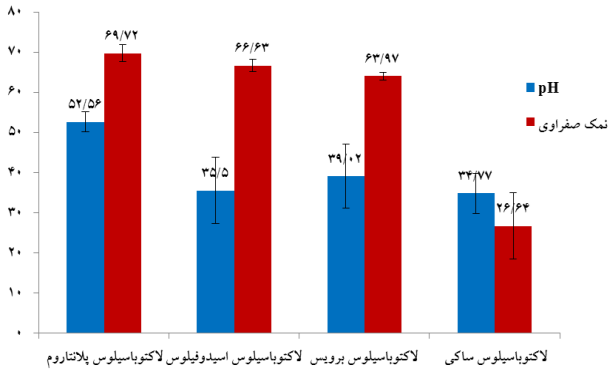
یافته ها

ارزیابی اولیه تکثیر DNA تک کلنی های حاصل از کشت خطی سوسپانسیون میکروبی خمیرترش آرد کامل گندم با ژل



شکل ۱: تصویر الکتروفورز حاصل از تکثیر ناحیه *16S rRNA* باکتریه های لاکتیکی. ستون ۱) کنترل مثبت (حاوی DNA حاصل از کشت خالص *Lactobacillus* spp.)، ستون ۲) مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون های ۳ تا ٦) نمونه های مثبت باکتری های لاکتیکی (۵۰۰ جفت باز)، ستون ۷) کنترل منفی.

الکتروفورز محصولات تولیدی، تایید گردید (شکل ۱). نتایج توالی یابی محصولات PCR پس از مقایسه توالی ها با داده های موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI منجر به شناسایی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (*Lactobacillus acidophilus*)، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*Lactobacillus plantarum*)، *لاکتوباسیلوس ساکی* (*Lactobacillus sakei*) و *لاکتوباسیلوس برویس* (*Lactobacillus brevis*) گردید. نتایج مربوط به درصد زنده مانی جدایه های لاکتیکی یاد شده در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش در نمودار ۱ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می گردد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در

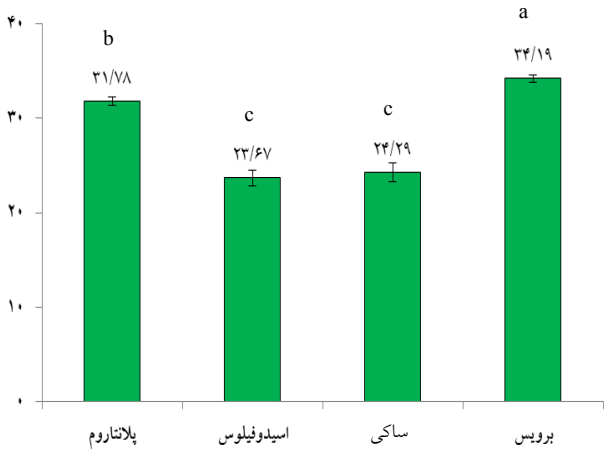


نمودار ۱: درصد زنده مانی جدایه های لاکتیکی غالب خمیرترش آرد کامل گندم در pH ۲ و نمک صفراوی ۰/۳ درصد. تفاوت معنی دار بین درصد زنده مانی تحت تاثیر pH و نمک صفراوی به ترتیب با حروف کوچک و بزرگ لاتین مشخص شده است.

مقایسه با جدایه های دیگر به شکل معنی داری از زنده مانی بیشتری در pH ۲ برخوردار بود. علاوه بر این، *لاکتوباسیلوس ساکی* در غلظت ۰/۳ درصد نمک صفراوی به شکل معنی داری زنده مانی کمتری نسبت به سایر جدایه های لاکتیکی داشت. همچنین بین میزان رشد جدایه های دیگر در این شرایط اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود جدایه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نسبت به سایر جدایه ها به شکل معنی داری از تاثیر بازدارندگی بیشتری در برابر *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا منوسیتوژنز* برخوردار بود. نتایج حاصل از ارزیابی اثرات بازدارندگی پالیده کشت جدایه های لاکتیکی بر رشد باکتری های بیماری زا در جدول ۳ آورده شده است.

بر این اساس، تاثیر بازدارندگی پالیده کشت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر *لیستریا منوسیتوژنز* و *اشریشیا کلی* در مقایسه با سایر جدایه ها به شکل معنی داری بیشتر بود. همچنین به ترتیب، پالیده کشت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تاثیر بازدارنده بیشتری بر *استافیلوکوکوس اورئوس* داشتند اما پالیده کشت *لاکتوباسیلوس ساکی* در مقایسه با نمونه کنترل، تاثیر معنی داری بر این باکتری نداشت.

مقایسه قابلیت تجمعی جدایه های لاکتیکی بر ضد *اشریشیا کلی* به عنوان یک عامل عفونی روده نیز نشان داد که *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در مقایسه با دو جدایه دیگر به شکل معنی داری از توانمندی بیشتری در این خصوص برخوردار بودند (نمودار ۲). نتایج حاصل از مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه های لاکتیکی نشان داد که *لاکتوباسیلوس برویس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در برابر آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، کانامایسین، ونکومایسین و نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند (جدول ٤).



نمودار ۲: مقایسه خاصیت تجمعی جدایه های لاکتیکی بر ضد *اشریشیا کلی*. حروف مشابه، نشانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

جدول ۲: قطر هاله عدم رشد باکتری های بیماری زا تحت تاثیر جدایه های لاکتیکی (میانگین ± انحراف معیار بر حسب میلی متر).

جدایه لاکتیکی	*اشریشیا کلی*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*لیستریا منوسیتوژنز*
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	۷/۱۱±۰/٤۰[a]	۱۹/۷۰±۰/۲۵[a]	۱۷/۰۹±۰/۲۸[a]
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	٤/٦۲±۰/۲۹[d]	۹/٤۳±۰/۳۲[c]	۷/٤۳±۰/۹۱[c]
لاکتوباسیلوس ساکی	٤/۸۳±۰/٦٥[c]	۷/۲۹±۰/٦٦[d]	۷/۰۲±۰/۸٥[d]
لاکتوباسیلوس برویس	٦/۹۷±۰/۷۹[b]	۱٥/۰۳±۰/٥۱[b]	۱۳/۷۷±۰/۳۹[b]

حروف مشابه در هر ستون، نشانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

جدول ۳: مقایسه اثرات بازدارندگی پالیده کشت جدایه های لاکتیکی بر رشد باکتری های بیماری زا (میانگین انحراف معیار بر حسب $CFU\times۱۰^{۷}$).

جدایه لاکتیکی	*اشریشیا کلی*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*لیستریا منوسیتوژنز*
لاکتوباسیلوس پلانتاروم	٦/۷۲±۰/۲۲[b]	۰/۲۱±۰/۱٤[d]	۱/۲۸±۰/۱۸[c]
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	۱۳/۱۱±۰/٥۸[a]	۹/٤۷±۰/۲٥[b]	۱۲/۳۹±۰/۷۰[a]
لاکتوباسیلوس ساکی	۱۱/٥۱±۰/۳۷[a]	۱۱/٤۱±۰/۲۰[a]	۱۳/۸۳±۰/۳٤[a]
لاکتوباسیلوس برویس	۹/۸۸±۰/۷٤[ab]	٥/۹۰±۱/۲۳[c]	٦/۱۱±۰/۲۷[b]
کنترل (فاقد جدایه لاکتیکی)	۱٤/۳٦±۱/۲۷[a]	۱۲/٤۲±۰/۰۷[a]	۱۲/۰۲±۰/۱۹[a]

حروف مشابه در هر ستون، نشانگر عدم تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشد.

جدول ۴: مقاومت جدایه های لاکتیکی در برابر برخی از آنتی بیوتیک های رایج.

آنتی بیوتیک (میکرو گرم ماده موثره)	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	*لاکتوباسیلوس برویس*	*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*	*لاکتوباسیلوس ساکی*
نورفلوکساسین (۱۰)	مقاوم	حساسیت نسبی	حساسیت نسبی	حساس
تتراسایکلین (۳۰)	حساس	حساسیت نسبی	حساسیت نسبی	حساس
اریترومایسین (۱۵)	حساس	حساس	حساس	حساس
استرپتومایسین (۲۵)	مقاوم	مقاوم	مقاوم	حساسیت نسبی
پنی سیلین (۱۰)	حساس	حساسیت نسبی	حساس	حساس
جنتامایسین (۱۰)	حساس	مقاوم	مقاوم	حساس
سفالکسین (۳۰)	حساس	حساسیت نسبی	حساسیت نسبی	حساس
کلرامفنیکل (۳۰)	حساس	حساس	حساس	حساسیت نسبی
کلیندامایسین (۲)	حساس	حساس	حساس	حساس
کانامایسین (۳۰)	مقاوم	مقاوم	مقاوم	حساسیت نسبی
سفتریاکسون (۳۰)	حساس	حساس	مقاوم	حساس
نالیدیکسیک اسید(۱۰)	مقاوم	مقاوم	مقاوم	حساسیت نسبی
ونکومایسین (۳۰)	مقاوم	مقاوم	مقاوم	حساس

بحث

خمیرترش که امروزه به ندرت در فرآیند صنعتی تولید نان مورد استفاده قرار می گیرد علاوه بر اثرات مثبتی که بر خصوصیات کیفی و ماندگاری نان دارد، حاوی باکترهای اسید لاکتیکی است که دارای توانایی کاهش میزان کلسترول، ایمن‌سازی سیستم دفاعی و خاصیت ضد توموری می باشند (۳). همچنین توانایی تولید برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها و ترکیبات زیست فعال توسط این باکتری‌ها جهت کنترل و درمان برخی از سرطان‌های دستگاه گوارش نیز به اثبات رسیده است (۳). هر چند تا کنون گزارشی در مورد ویژگی های پروبیوتیکی جدایه های لاکتیکی خمیرترش های سنتی ایران ارائه نشده است اما خواص ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس کازئی* (*Lactobacillus casei*) و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (*Lactobacillus fermentum*) جدا شده از یک نمونه خمیرترش ایرانی در برابر سه باکتری بیماری زای *سودوموناس آئروژینوزا* (*Pseudomonas aeruginosa*)، *کلبسیلا نمونیه* (*Klebsiella pneumoniae*) و *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین گزارش گردیده است (۲۱). همچنین خواص بازدارندگی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس روتری* (*Lactobacillus reuteri*) مورد استفاده در تهیه خمیرترش در جلوگیری از رشد *آسپرژیلوس نایجر* (*Aspergillus niger*) و دو نوع کپک زرد و سیاه جداسازی شده از نان نیز مورد تایید قرار گرفته است (۲۲). جدایه های لاکتیکی پروبیوتیک، ترکیبات ضد میکروبی متنوعی مانند اسیدهای آلی، دی استیل، استون، پراکسید هیدروژن، روتروسایکلین، پپتیدهای ضد قارچی و باکتریوسین تولید می کنند. ممانعت از فعالیت عوامل بیماری زا توسط این باکتری ها می تواند نقش مهمی در سلامت افراد به واسطه مقابله با عفونت های ناشی از پاتوژن های شایع دستگاه گوارش داشته باشد. پروبیوتیک ها به عنوان نگهدارنده های زیستی و عوامل مدیریتی عفونت های روده ای شناخته شده، با مکانیسم های متعددی که اساساً شامل ترشح مواد ضد میکروبی و اثرات آنتاگونیستی با عوامل بیماری زا در اتصال به جایگاه ها و استقرار در سطوح مخاطی روده است به رقابت در کسب مواد غذایی و تکثیر با پاتوژن ها می پردازند (۵). نتایج تحقیقات اخیر نیز نشان داده است که جدایه های لاکتیکی حاصل از محصولات تخمیری در مقایسه با سویه های تجاری از توان ضد باکتریایی مناسب و خاصیت تجمعی قابل قبولی در مقابل باکتری های بیماری زا برخوردار می باشند (۱۲). در این پژوهش نیز خاصیت ضد میکروبی *لاکتوباسیلوس* های

غالب جدا شده از خمیرترش آرد کامل گندم و پالیده کشت آنها در برابر عوامل بیماری زای مورد مطالعه تایید گردید. در کنار خواص ضد میکروبی، پروبیوتیک ها باید از قابلیت زنده مانی مناسبی در pH پایین معده و در حضور املاح صفراوی روده نیز برخوردار باشند.

علاوه بر این، اخیراً مقاومت به آنتی بیوتیک های مورد استفاده در درمان عفونت های باکتریایی دستگاه گوارش و همچنین توانایی تجمع بر ضد باکتری های بیماری زا نیز جزء ویژگی های موثر پروبیوتیک ها قلمداد می گردد (۲۳).

مقاومت بالای بعضی از این باکتری ها نسبت به pH پایین می تواند به علت تولید ترکیباتی مانند اگزو پلی ساکاریدها (موتان، پلولان، ژلان و زانتان) باشد که از اثر اسید بر روی غشای سلولی آنها ممانعت می کند. البته با توجه به اینکه تحمل محیط اسیدی معده، صرفاً یکی از ویژگی های میکروارگانیسم های پروبیوتیک محسوب می شود و عموماً می توان با استفاده از ریزپوشانی یا از طریق افزایش دوز مصرفی، این میکروارگانیسم ها را با تعداد لازم به دستگاه گوارش رساند. بنابراین سایر خصوصیات پروبیوتیکی مانند مقاومت به نمک های صفراوی و یا توانایی تجمع بر ضد باکتری های بیماری زا از اهمیت بیشتری در مقایسه با این ویژگی برخوردار است (۲۳).

بر اساس یافته های محققین، توانایی مقاومت و تحمل املاح صفراوی نه تنها به گونه باکتری بستگی دارد بلکه حتی در بین سویه های مختلف یک گونه نیز کاملاً متفاوت است. عواملی مانند اثر محافظتی ماتریکس ماده غذایی و اثر فعالیت هیدرولیز نمک های صفراوی نیز در افزایش مقاومت باکتری ها نسبت به نمک صفراوی تأثیرگذار هستند (۲). نتایج مطالعه حاضر نیز حاکی از زنده مانی بالای جدایه های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس برویس* در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش بود. بر اساس نتایج شیلینگر (Schillinger) و همکاران از بین باکتری های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* (*Lactobacillus paracasei*) و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (*Lactobacillus rhamnosus*)، باکتری اول دارای فعالیت هیدرولیزی نمک های صفراوی و قابلیت زنده مانی بیشتری در pH ۲ بود (۲٤). علاوه بر این، قابلیت تجمعی باکتری یاد شده با سلول های ترشح کننده مخاط گوارشی نیز بیشتر بود. دلیل این امر میزان بالای آبگریزی سطح سلولی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقایسه با دو باکتری دیگر عنوان گردید.

بین میزان آبگریزی دیواره سلولی و قابلیت تجمع باکتری های اسید لاکتیک بر ضد باکتری های بیماری زا و نهایتاً گزینش باکتری های پروبیوتیک برای مصارف انسانی رابطه مستقیمی گزارش شده است. تفاوت های مشخصی نیز در خصوصیات دیواره سلولی باکتری های اسید لاکتیک جدا شده از مواد غذایی وجود دارد. همچنین میزان آبگریزی دیواره سلولی این باکتری ها بسته به سویه مورد مطالعه، کاملاً متفاوت بوده و عموماً با غیر فعال سازی حرارتی افزایش می یابد (۲۵).

لاکتوباسیلوس برویس و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* جدا شده از خمیرترش آرد کامل گندم نیز از زنده مانی بالایی در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش و قابلیت تجمعی بر ضد *اشریشیا کلی* برخوردار بودند. امروزه مقاومت آنتی بیوتیکی نیز به عنوان یکی از مهم ترین ویژگی های باکتری های پروبیوتیک مطرح می باشد. مقاومت پروبیوتیک ها به ونکومایسین به واسطه عملکرد ویژه این آنتی بیوتیک در برابر عفونت های حاد ناشی از عوامل بیماری زای مقاوم به داروهای ترکیبی حائز اهمیت است. یکی از دلایل مقاومت باکتری های اسید لاکتیک به این آنتی بیوتیک نیز حضور اسید آمینه انتهایی D-آلانین به جای D-لاکتات یا D-سرین در باکتری های یاد شده می باشد (۱۰).

در مطالعه حاضر به جز *لاکتوباسیلوس ساکی*، سه جدایه دیگر در برابر آنتی بیوتیک ونکومایسین و همچنین آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، کانامایسین و نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند. به طور کلی مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک به واسطه مکانیسم های بیوشیمیایی اختصاصی است که در این میکروارگانیسم ها توسط ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک کنترل می گردد. البته مبانی فیزیولوژیکی و ژنتیکی مقاومت به

آنتی بیوتیک در باکتری های اسید لاکتیک در مقایسه با باکتری های بیماری زا بسیار کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۶). عمدتاً باکتری های اسید لاکتیک متعلق به جنس های *لاکتوباسیلوس*، *پدیوکوکوس*، *استرپتوکوکوس* و *لکونوستوک* نسبت به آنتی بیوتیک های بالینی مانند پنی سیلین، آمپی سیلین، تتراسیکلین، اریترومایسین و کلرامفینیکل حساس می باشند.

این در حالی است که سویه هایی از باکتری های یاد شده دارای مقاومت نسبتاً بالایی در برابر آنتی بیوتیک هایی همچون جنتامایسن، استرپتومایسن و سیپروفلوکساسین هستند. با این حال، الگوی مقاومت به آنتی بیوتیک حتی در گونه های مختلف یک جنس باکتریایی نیز ممکن است کاملاً متفاوت باشد. از طرفی اگر چه ژن مقاومت به آنتی بیوتیک در ژنوم غیر کروموزومی باکتری ها مشاهده می شود، اما ژن مقاومت به برخی از آنتی بیوتیک ها به طور ذاتی در نواحی حفاظت شده سویه هایی از باکتری های اسید لاکتیک وجود دارد. اخیراً استفاده از این باکتری های اسید لاکتیک در فرآورده های غذایی پروبیوتیک برای جایگزین نمودن فلور میکروبی از دست رفته دستگاه گوارش طی درمان های آنتی بیوتیکی بسیار مورد توجه قرار گرفته است (۱۰ و ۲۶).

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این پژوهش، *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* جدا شده از خمیرترش آرد کامل گندم از قابلیت بالایی برای استفاده به عنوان باکتری های پروبیوتیک برای مصارف مختلف غذایی و دارویی برخوردار می باشند. این جدایه ها علاوه بر زنده مانی بالا در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش، از خاصیت ضد میکروبی مناسبی در برابر باکتری های شاخص مورد مطالعه برخوردار بوده اند. از طرفی آنها به واسطه قابلیت تجمعی بر ضد *اشریشیا کلی* می توانند به شکل موثری ضمن جلوگیری از استقرار آن در روده از دسترسی این باکتری به مواد غذایی نیز ممانعت نمایند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که بخشی از هزینه های اجرایی این پژوهش را از محل گرنت پژوهشی طرح خاتمه یافته به شماره شناسه ۱۵-۳۱۴-۹۲ تامین نمودند، کمال امتنان را دارند.

References

1. Mendez-Vilas A. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. 1st ed. Zurbaran. Formatex Research Center; 2013.
2. Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. J Biotechnol. 2000; 84(3): 197-215.
3. Poutanen K, Flander L, Katina K. Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective. Food Microbiol. 2009; 26(7): 693-699.
4. Chavan RS, Chavan SR. Sourdough technology- a traditional way for wholesome foods: a review. Comp Rev Food Sci Food Saf. 2011; 10(3): 170-183.
5. Leroy F, De Vuyst L. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends Food Sci Tech. 2004; 15(2): 67-78.
6. Angmo K, Kumari A, Savitri A, Bhalla TC. Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of ladakh. Food Sci Tech. 2016; 66(1): 428-432.
7. Sabir F, Beyatli Y, Cumhur C. Assessment of potential probiotic properties of *Lactobacillus*

spp., *Lactococcus* spp., and *Pediococcus* spp. strains isolated from kefir. J Food Sci. 2010; 75(9): 568-573.

8. Masuda T, Kimura M, Okada S, Yasui H. *Pediococcus pentosaceus* Sn26 inhibits IgE production and the occurrence of ovalbumin-induced allergic diarrhoea in mice. Biosci Biotechnol Biochem. 2010; 74(2): 329-335.

9. Fernandez M, Boris S, Barbes C. Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. J Appl Microbiol. 2003; 94(3): 449-455.

10. Hummel AS, Hertel C, Holzapfel WH, Franz C. Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria. Appl Environ Microb. 2007; 73(3): 730-739.

11. Tabatabaei Yazdi F, Vasiee A, Alizadeh Behbahani B, Mortazavi SA. Evaluation of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from kimchi produced in Iran. Qom Univ Med Sci J. 2015; 9(5): 11-22. [In Persian]

12. Tofangsazan F, Shahidi F, Mortazavi SA, 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]

13. Narimani T, Tarinejad A. Isolation, biochemical and molecular identification of probiotic bacteria from traditional buffalo milk and yogurt of Khoi city. J Food Res. 2014; 24(3): 335-349. [In Persian]

14. Farahbakhsh M, Hakimi H, Bahram Abadi R, Zolfaghari M, Doraki N. Isolation of probiotic lactobacilli from traditional yogurts produced in rural Areas of Rafsanjan and their antimicrobial effects. J Rafsanjan Univ Med Sci. 2013; 12(9): 733-746. [In Persian]

15. Ferchichi M, Valcheva R, Vost H, Onno B, Dousset X. Molecular identification of the microbiota of French sourdough using temporal temperature gradient gel electrophoresis. Food Microbiol. 2007; 24(7-8): 678-686.

16. Grzeskowiak L, Collado MC, Vesterlund S, Mazurkiewicz J, Salminen S. Adhesion abilities of commensal fish bacteria by use of mucus model system. Aquaculture 2011; 318(1-2): 33-36.

17. Zhang Y, Zhang L, Du M, Yi H, Guo C, Tuo Y, Han X, Li J, Zhang L, Yang L. Antimicrobial activity against *Shigella sonnei* and probiotic properties of wild lactobacilli from fermented food. Microbiol Res. 2011; 167(1): 27-31.

18. Nikoskelainen S, Ouwehand AC, Bylund G, Salminen S, Lilius EM. Immune enhancement in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by potential probiotic bacteria (*Lactobacillus rhamnosus*). Fish Shellfish Immun. 2003; 15(5): 443-452.

19. Simsek O, Hilmi Con A, Tulumoglu S. Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. Food Control. 2006; 17(4): 263-270.

20. Rojo-Bezares B, Saenz Y, Poeta P, Zarazaga M, Ruiz-Larrea F, Torres C. Assessment of antibiotic susceptibility within lactic acid bacteria strains isolated from wine. Int J Food Microbiol. 2006; 111(3): 234-240

21. Alizadeh S, Jamalifar H, Samadi N, Eaidi A, Fazeli M. Effect of sodium chloride on the

kinetics of growth and antimicrobial potential of lactobacilli isolated from Iranian traditional sourdough. Iran J Nutr Sci Food Tech. 2010; 5(3): 47-56. [In Persian]

22. Khorasanchi N, Peighambardoust SH, Golshan Tafti A, Hejazi MA, Rafat SA. Evaluating the ability of liquid sourdough containing *L. plantarum* and *L. reuteri* starters in inhibition of bread mold spoilage. J Food Res. 2011; 21(3): 391-399. [In Persian]

23. Vinderola CG, Reinheimer JA. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative in vitro study of probiotic characteristics and biological barrier resistance. Food Res Int. 2003; 36 (9): 895-904.

24. Schillinger U, Guigas C, Holzapfel WH. In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products. Int Dairy J. 2005; 15(2): 1289-1297.

25. Collado MC, Surono I, Meriluoto J, Salminen S. Indigenous dadih lactic acid bacteria: cell-surface properties and interactions with pathogens. J Food Sci. 2007; 72(3): 89-93.

26. Dzidic S, Suskovic J, Kos B. Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. Food Technol Biotech. 2008; 46(1): 11-21.

Journal of Microbial World
Volume 9, No. 2, June 2016

Original Article

Isolation, molecular identification and evaluation of the probiotic properties of dominant *Lactobacillus* in whole wheat sourdough

Alireza Sadeghi[1], **Maryam Ebrahimi**[2]

[1]Associate Pprofessor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan, Iran.

[2]PhD student, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Highly demands of consumption of industrial food products has led to removal of probiotic bacteria from daily diet. The aim of this study was evaluating the probiotic properties of dominant *Lactobacillus* isolated from whole wheat sourdough.

Materials & Methods: In this experimental study, after isolation of dominant *Lactobacillus* from whole wheat sourdough, the isolates were identified by polymerase chain reaction (PCR). Probiotic properties of these isolates, including survival in simulated conditions of gastrointestinal tract, antimicrobial effects against prototype bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes and Escherichia coli), the* ability of co-aggregation with *E. coli* as an infection agent of intestine and resistance of these isolates against some of routine antibiotics were also investigated in this study.

Results: Sequencing of the PCR products led to identification of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus brevis* as dominant *Lactobacillus* in whole wheat sourdough. Among the mentioned isolates, *Lactobacillus plantarum* showed the maximum survival in simulated conditions of gastrointestinal tract. Inhibition zone diameter of three pathogenic bacteria in the presence of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* were significantly more than the others. Comparison between co-aggregation ability of isolated *Lactobacillus* with *E. coli* showed that *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum* were more effective. Furthermore, these strains along with *L. acidophilus* were resistant to Streptomycin, Kanamycin, Vancomycin and Nalidixic acid.

Conclusion: *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus plantarum* isolated from whole wheat sourdough are highly useful to be uses as probiotic bacteria in food and medicinal applications.

Keywords: Sourdough, Probiotic, *Lactobacillus*.

Correspondence to: Alireza Sadeghi

Tel: +98 9155080383

E-mail: sadeghi.gau@gmail.com

Journal of Microbial World 2016, 9(2): 133-144.