

إنتاج السكريات المتعددة من عزلات محلية لبكتريا *Lactobacillus* واستعمالها كمضادات للأكسدة

قيثار رشيد مجيد¹ و ناهي ياسين يوسف² و فاطمة حسن أحمد¹

¹قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة البصرة

²المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية، الجامعة المستنصرية

المستخلص: عزلت بكتريا *Lactobacillus* من عينات غذائية مختلفة وشملت (الموز و الطماطة و التفاح و اللانكي (اليوسفي) و الجبن (الأبيض الطري) و حليب الجاموس و اليوكرت المحلي و اليوكرت المستورد) وكذلك من براز الأطفال حديثي الولادة، وتم الحصول على 65 عزلة من أصل 64 عينة غذائية و 11 عينة من براز الأطفال عائدة الى جنس *Lactobacillus* spp. وشملت 20 عزلة من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* و 23 عزلة من بكتريا *Lactobacillus plantarum* و 6 عزلات من بكتريا *Lactobacillus casei* و 12 عزلة من *Lactobacillus bulgaricus* و 3 عزلات من بكتريا *Lactobacillus johnsonii* وعزلة واحدة من بكتريا *Lactobacillus helveticus*. وتم الكشف عن البولي سكرياد وتقدير كميته لجميع أنواع بكتريا حامض اللاكتيك المعزولة. وكانت أفضل كمية أنتاج للبولي سكرياد من العزلة *Lactobacillus plantarum* المعزولة من اليوكرت المستورد (y_{R5})، أذ بلغت كمية الإنتاج 0.850 غم. لتر⁻¹، بينما العزلة *Lactobacillus plantarum* المعزولة من الطماطة (T_4) فقد بلغت كمية الإنتاج 0.014 غم. لتر⁻¹. أما بالنسبة لفعالية البولي سكرياد المضادة للأكسدة كانت أعلى فعالية من العزلة *Lactobacillus bulgaricus* المعزولة من اليوكرت المحلي (y_{L6}) أذ بلغت 67.51 % بينما كانت أقل فعالية من العزلة *Lactobacillus acidophilus* المعزولة من الجبن المحلي Cha_2 والتي بلغت 1.29 %. وبالمقارنة مع مضادات الأكسدة الصناعي BHT ومضاد الأكسدة الطبيعي α -tocopherol، أظهرت النتائج إن الفعالية المضادة للأكسدة باستعمال المضاد الصناعي BHT بلغت 82.70 % في حين فعالية مضادة الأكسدة الطبيعية α -tocopherol كانت 73.96 %.

الكلمات الدالة: بكتريا حامض اللاكتيك *Lactobacillus*، السكريات المتعددة، مضادات الأكسدة.

المقدمة

للبيروكسيد (18،25). البولي سكرياد عبارة عن جزيئة كاربوهيدراتية طويلة السلسلة، والوحدات الأساسية لبنائها هي السكريات الأحادية التي ترتبط مع بعضها بواسطة أواصر كلايكوسيدية من نوع (α -1-4) مكونة سلاسل خطية أو متفرعة وتكون الأواصر في منطقة النقرع من نوع (β -1-6) أو (β -1-3) وتكون هذه الجزيئات كبيرة لها خواص واضحة من هيكلها البنائي (29، 30). و البولي سكرياد المنتج من بكتريا حامض اللاكتيك يمتلك وزناً جزيئياً يتراوح من (4.0×10^4 - 6.0×10^6) (7، 28). يوجد نوعان من البولي سكرياد وهو البولي سكرياد المتجانس الذي يتكون من نوع واحد من السكريات

العصيات اللبنية *Lactobacilli* تنتمي لبكتريا حامض اللاكتيك (LAB) وهي موجبة لصبغة كرام (22). ويشمل جنس *Lactobacillus* 148 نوعاً من العصيات اللبنية اللاهوائية أو المحبة لكميات قليلة من الأوكسجين عسوية غير مكونة للسبورات ونسبة الكوانين الى الساييتوسين أقل من 53 % مول وتنمو في ظروف لاهوائية أو تحتاج كميات قليلة من الأوكسجين وسالبة لفحص الكاتليز. وهي تمتلك أنزيم Superoxide dismutase لأزالة التأثير السمي لجذور الحرة

الدراسة لإنتاج البولي سكرائيد حسب طريقة Savadogo (24) *et al.*

ثالثاً : عزل البكتريا وتنقيتها

عزلت بكتريا حامض اللاكتيك باستعمال طريقة التخافيف العشرية وذلك بوضع 1مل من المصادر السائلة و 1 غم من المصادر الصلبة بالنسبة للمصادر الغذائية وبراز الأطفال في أنبوبة اختبار حاوية على 9 مل من MRS السائل وحضنت بحرارة 37 °م لمدة 24 ساعة تحت ظروف لاهوائية باستعمال الحاوية اللاهوائية مع أكياس المولدة للغاز CO₂ Gasback ثم أجريت سلسلة من التخافيف العشرية للعينات المزروعة باستعمال ماء البيتون، ثم نقل 0.1 مل من كل تخفيف إلى أطباق بتري معقمة وصب فوقه وسط MRS Agar (المذاب) الخاص بالعزل بعدها حضنت بحرارة 37 °م لمدة 48 ساعة . وبعد الحضانة نقلت المستعمرات المعزولة إلى وسط MRS الصلب لتنقيتها بطريقة التخطيط، وحضنت بحرارة 37 °م لمدة 24 ساعة تحت ظروف لا هوائية مع متابعة النمو خلال هذه المدة (4 ; 11). وشخصت اعتماداً على الوسط الانتقائي MRS Agar فقط الفوصات المظهرية والفوصات المجهرية والاختبارات الكيميو حيوية (15) وأكدت الفوصات بتقنية PCR والتي تشمل (B₂ ، B₃ ، B₆ ، B₇ ، T₁ ، T₂ ، T₃ ، T₄ ، T₅ ، Mr₁ ، Mr₂ ، yR₁ ، yR₂ ، yR₃ ، yR₄ ، yR₅ ، yR₆ ، yR₇ ، yR₈ ، yR₉ ، yR₁₀). تمثل بكتريا *Lactobacillus plantarum* (I₁ □ I₂ □ I₃ □ I₄ □ I₅ □ I₆ □ I₇ □ I₈ □ I₉ □ I₁₀ □ I₁₁ □ B₁ □ B₄ □ B₅ □ Cha₁ □ Cha₂ □ Cha₃ □ Cha₄ □ Cha₅ □ Cha₆). تمثل بكتريا *Lactobacillus acidophilus* (yL₇) و (yL₈ □ yL₉ □ yL₁₀ □ yL₁₁ □ yL₁₂) تمثل بكتريا *Lactobacillus casei* (MB₁ □ MB₂ □ MB₃ □ MB₄ □ MB₅ □ MB₆ □ yL₁ □ yL₂ □ yL₃ □ yL₄) تمثل بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* (A₁ □ A₂ □ A₃). تمثل بكتريا *Lactobacillus johnsonii* A₄ □ *Lactobacillus helveticus*

الأحادية ويطلق عليه homopolysaccharide أو homoglycan ومثال عليها النشا، والبولي سكرائيد غير المتجانس الذي يتكون من أكثر من نوع واحد من السكريات الأحادية heteropolysaccharide أو heteroglycan ومثال عليها الكلايوجين (19).

أظهرت الدراسات أن بعض بكتريا حامض اللاكتيك تمتلك نشاطاً مضاداً للأكسدة فهي قادرة على تقليل خطر تراكم أنواع الأوكسجين في داخل الكائن الحي ، ويمكن استعمالها في المكملات الغذائية البروبيوتك للحد من التفاعل التأكسدي (13 ; 21 ; 14 ; 31 ; 17). ولقلة الدراسات حول فعالية البولي سكرائيد المنتج من بكتريا حامض اللاكتيك المستعمل مضادات للأكسدة إذ أن أكثر الدراسات قد ركزت على البكتريا فقط بوصفها مضاد للأكسدة ارتأينا القيام بهذه الدراسة.

المواد وطرائق العمل

أولاً : جمع العينات

تم جمع عينات غذائية مختلفة وشملت الموز والطماطة و التفاح واللبنكي (اليوسفي) والجبن (الأبيض الطري) وحليب الجاموس و اليوكرت المحلي واليوكرت المستورد وكذلك من براز الأطفال حديثي الولادة.

ثانياً : تجهيز العزلات

تم الحصول على العزلات البكتيرية من مصادر غذائية مختلفة ومن براز الأطفال حديثي الولادة وقد وضعت المواد الغذائية في أكياس البولي أثلين ونقلت الى المختبر لعزل بكتريا حامض اللاكتيك، أما براز الأطفال حديثي الولادة فأخذت مسحات من تلك العينات ووضعت مباشرة في أنابيب اختبار حاوية على وسط MRS السائل ثم نقلت الى المختبر تحت ظروف مبردة. وأستعمل الوسط الانتقائي MRS Agar لعزل بكتريا حامض اللاكتيك وحفظها المجهز من شركة Oxide، وأستخدم وسط MRS broth لتنمية بكتريا حامض اللاكتيك وتنشيطه، والوسط المحور في هذه

رابعاً : إنتاج السكريات المتعددة

أنتج البولي سكرائيد بأستعمال عزلات بكتريا *Lactobacillus* قيد البحث حسب الطريقة التي ذكرها Savadogo et al. (24) بتنشيط البكتريا في الوسط MRS السائل ثم لقع الوسط MRS المحور المضاف اليه 75غم. لتر⁻¹ سكر اللاكتوز بدلا من سكر الكلوكوز و حضنت البكتريا عند درجة حرارة 37°م لمدة (24-48) ساعة ويطروف لاهوائية والأس الهيدروجيني 6.5. بعدها نبذت مركزيا بسرعة 11000 دورة. دقيقة⁻¹ لمدة 10 دقائق وبعدها تم إضافة 2 حجم من الكحول الأيثانول البارد ويترك لمدة ليلة كاملة على درجة حرارة 4°م، ثم اجري لها مرة أخرى النبذ المركزي على 2500 دورة. دقيقة⁻¹ لمدة 20 دقيقة، ثم أخذ الراسب وأضيف اليه الماء الخالي من الأيونات $\square\square\square\square$ هيدروجيني (6.2-6.6) وخلطه مع 2 حجم من الأيثانول البارد مع إجراء النبذ المركزي على 2500 دورة. دقيقة⁻¹ لمدة 20 دقيقة، ثم أخذ الراسب وجفف على درجة حرارة 100°م، تم تحديد محتوى الكربوهيدرات الكلي لـ EPS باستعمال طريقة الفينول-حامض الكبريتيك المركز المتبعة من (9).

خامساً : قياس الفعالية المضادة للأكسدة

تم قياس الفعالية المضادة للأكسدة باتباع طريقة الثايوسيانات التي ذكرها Bersuder et al. (3) بأكسدة حامض اللينوليك للمستخلص المحضر آنفاً وكما يلي: خلط 1 مل كل من السكريات المتعددة مع 4 مل إيثانول تركيزه 95% و 4.1 مل حامض اللينوليك تركيزه 2.5% في الإيثانول و 8 مل من محلول دارئ الفوسفات (المنظم) ذي تركيز 50 ملي مولاري وذو أس هيدروجيني 7، وحضن الخليط في درجة حرارة 40°م لمدة 24 ساعة وأضيف 0.1 مل من هذا الخليط الى 9.7 مل كحول إيثانول تركيزه 75 % و 0.1 مل من ثايوسيانات الأمونيوم تركيزه 30% ثم أضيف 0.1 مل من كلوريد الحديدوز تركيزه 20 ملي مولاري محضر في 3.5% حامض الهيدروكلوريك الى خليط التفاعل لتكوين

مركب معقد أحمر اللون مع البيروكسيدات الناتجة من الأكسدة. كما أستعمل مضاد الأكسدة الصناعي BHT المذاب في الإيثانول النقي ، ومضاد الأكسدة الطبيعي الفا-توكوفيرول المذاب في الهكسان وبتركيز (0.5 غم. مل⁻¹) بوصفها نماذج المقارنة وحضرت العينة $\square\square\square\square$ بنفس الطريقة أعلاه وذلك بخلط 1مل من خلات الأثيل بدلا من العينة، تم قياس الامتصاص للنماذج ونموذج العينة القياسي عند طول موجي 500 نانوميتر في جهاز المطياف الضوئي spectrophotometer وتم حساب الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك وفقا للمعادلة التالية:

قراءة امتصاص النموذج

$$100 * \left[\frac{\text{قراءة امتصاص العينة الضابطة}}{\text{قراءة امتصاص النموذج}} - 1 \right] = \text{الفعالية المضادة للأكسدة}$$

قراءة امتصاص العينة الضابطة

النتائج والمناقشة

1. عزل البكتريا

تم الحصول على 65 عزلة من أصل 64 عينة غذائية و 11 عينة من براز الأطفال عائدة الى جنس *Lactobacillus* spp. و شملت (20) عزلة من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* و (23) عزلة من بكتريا *Lactobacillus plantarum* $\square$ (6) عزلات من بكتريا *Lactobacillus casei* و (12) عزلة من *Lactobacillus bulgaricus* و (3) عزلات من بكتريا *Lactobacillus johnsonii* وعزلة واحدة من بكتريا *Lactobacillus helveticus*.

2- إنتاج السكريات المتعددة

أظهرت النتائج أن كمية البولي سكرائيد المنتج من العزلات المحلية *Lactobacillus* spp. تفاوتت في الكمية باختلاف العزلات والانواع . إذ بلغت أدنى كمية

إنتاج 0.014 غم. لتر⁻¹ للعزلة (T₄)، في حين كان هناك إنتاج كميات مرتفعة في بعض العزلات إذ بلغت أقصى كمية إنتاج 0.85 غم . لتر⁻¹ من البولي سكرابيد لعزلة (yR₅) وهي أفضل العزلات وأكثرها غزارة في الإنتاج واتفقت هذه النتائج مع ما ذكرت في بعض الدراسات (5، 6، 24) وشخصت حسب تقنية HPLC.

جدول (1): كمية السكريات المتعددة المنتج من العزلات المحلية لبكتريا *Lactobacillus* spp.

ت	الرمز*	الامتصاصية	تركيز السكريات المتعددة		ت	الرمز*	الامتصاصية	تركيز السكريات المتعددة	
			غم . لتر ⁻¹	مايكروغرام . مل ⁻¹				غم . لتر ⁻¹	مايكروغرام . مل ⁻¹
1	B ₁	1.666	0.393214	393.2143	34	Cha ₂	0.53	122.7381	0.122738
2	B ₂	1.190	0.279881	279.881	35	Cha ₃	2.3	544.1667	0.544167
3	B ₃	1.950	0.460833	460.881	36	Cha ₄	1.45	341.7857	0.341786
4	B ₄	2.118	0.500833	500.8333	37	Cha ₅	0.594	137.9762	0.137976
5	B ₅	2.484	0.587976	587.9762	38	Cha ₆	0.776	181.3095	0.18131
6	B ₆	1.820	0.429881	429.881	39	MB ₁	2.828	669.881	0.669881
7	B ₇	0.922	0.216071	216.0714	40	MB ₂	1.298	305.5952	0.305595
8	T ₁	1.708	0.403214	403.2143	41	MB ₃	1.716	405.119	0.405119
9	T ₂	1.112	0.26131	261.3095	42	MB ₄	1.322	311.3095	0.31131
10	T ₃	1.322	0.31131	311.3095	43	MB ₅	1.106	259.881	0.259881
11	T ₄	0.077	0.014881	14.88095	44	MB ₆	2.152	508.9286	0.508929
12	T ₅	1.052	0.247024	247.0238	45	yR ₁	2.462	582.7381	0.582738
13	A ₁	1.374	0.32369	323.7381	46	yR ₂	2.632	623.214	0.623214
14	A ₂	0.992	0.232738	232.7381	47	yR ₃	1.204	283.2143	0.283214
15	A ₃	0.089	0.017738	17.7381	48	yR ₄	2.706	640.8333	0.640833
16	A ₄	1.774	0.418929	418.9286	49	yR ₅	3.586	850.3571	0.850357
17	Mr ₁	1.986	0.469405	469.4048	50	yR ₆	2.632	623.2143	0.623214
18	Mr ₂	1.168	0.274643	274.6429	51	yR ₇	3.284	778.4524	0.778452
19	Mr ₃	0.818	0.19131	191.3095	52	yR ₈	0.78	182.2619	0.182262
20	Mr ₄	0.852	0.199405	199.4048	53	yR ₉	2.966	702.7381	0.702738
21	yL ₁	1.720	0.406071	406.0714	54	yR ₁₀	1.754	414.1667	0.414167
22	yL ₂	1.212	0.285119	285.119	55	I ₁	2.506	593.2143	0.593214
23	yL ₃	0.954	0.22369	223.6905	56	I ₂	2.332	551.17857	0.551786
24	yL ₄	1.342	0.316071	316.0714	57	I ₃	2.284	540.3571	0.540357
25	yL ₅	1.272	0.299405	299.4048	58	I ₄	2.38	563.2143	0.563214
26	yL ₆	0.172	0.0375	37.5	59	I ₅	0.462	106.5476	0.106548
27	yL ₇	0.632	0.147024	147.0238	60	I ₆	0.742	173.2143	0.173214
28	yL ₈	0.314	0.07131	71.30952	61	I ₇	0.41	94.2143	0.094167
29	yL ₉	0.202	0.044643	44.64286	62	I ₈	0.47	108.4524	0.108452
30	yL ₁₀	0.244	0.0546071	54.64286	63	I ₉	0.742	173.2143	0.173214
31	yL ₁₁	1.048	0.246071	246.0714	64	I ₁₀	2.112	499.4048	0.499405
32	yL ₁₂	2.418	0.572262	572.2619	65	I ₁₁	2.241	530.119	0.530119
33	Cha ₁	0.79	0.184643	184.6429					

3- قياس فعالية السكريات المتعددة لمضادات الأكسدة

يوضح الجدول (2) نتائج الفعالية المضادة للأكسدة في نظام تثبيط أكسدة حامض اللينوليك بفعل السكريات المتعددة، أظهرت أعلى فعالية مضادة للأكسدة بالنسبة للبكتريا المعزولة من اليوكريت المحلي (yL_6) وهي 67.51 % بينما كانت أقل فعالية مضادة للأكسدة بالنسبة للبكتريا المعزولة من الجبن المحلي (Cha_2) وهي 1.29%. ويعود سبب الفعالية المضادة للأكسدة لارتباطها بعدد ذرات الهيدروجين المتاحة للواهب بواسطة مجاميع الهيدروكسيل (26). كذلك فإن الفعالية لمضادات الأكسدة لتثبيط أكسدة حامض اللينوليك تعزى

لوجود ميكانيكيات مختلفة من بين هذه الميكانيكية إعاقاة سلسلة بدء التفاعل وربط انتقال أيونات الحديد وتحطيم البيروكسيدات ومنع استمرار إزالة الهيدروجين وله قابلية اختزال الجذور الحرة واقتناصها (8 و32). وقد يكون في العصيات اللبنية أليات مختلفة لنشاط المضادة للأكسدة (31 و20) ومن الصعب تحديد آلية واحدة أو مركب مؤثر، ولكن بغض النظر تكون الآلية الأساسية هي الكسح من الجذور الحرة لأنها سلسلة من ردود فعل الأكسدة (31) وأن من أليات بكتريا حامض اللاكتيك هو القضاء على الآثار السلبية لنشاط الجذور.

جدول (2): الفعالية المضادة للأكسدة في نظام تثبيط أكسدة حامض اللينوليك بفعل السكريات المتعددة

الفعالية المضادة للأكسدة السكريات المتعددة %	الرمز *	ت	الفعالية المضادة للأكسدة السكريات المتعددة %	الرمز *	ت	الفعالية المضادة للأكسدة السكريات المتعددة %	الرمز *	ت
47.1278	yR ₁	45	58.1222	yL ₃	23	53.6751	B ₁	1
42.2483	yR ₂	46	30.3273	yL ₄	24	30.2655	B ₂	2
22.5447	yR ₃	47	52.7486	yL ₅	25	42.4953	B ₃	3
14.7004	yR ₄	48	67.5108	yL ₆	26	44.5336	B ₄	4
58.6781	yR ₅	49	60.0370	yL ₇	27	34.4657	B ₅	5
30.1420	yR ₆	50	49.1661	yL ₈	28	40.7659	B ₆	6
55.5281	yR ₇	51	57.8134	yL ₉	29	6.9178	B ₇	7
46.2013	yR ₈	52	52.7486	yL ₁₀	30	29.0302	T ₁	8
28.9067	yR ₉	53	41.8777	yL ₁₁	31	18.4187	T ₂	9
34.7745	yR ₁₀	54	34.4095	yL ₁₂	32	38.4187	T ₃	10
26.3743	I ₁	55	23.4095	Cha ₁	33	24.6448	T ₄	11
48.2396	I ₂	56	1.2970	Cha ₂	34	25.2007	T ₅	12
38.5423	I ₃	57	36.1951	Cha ₃	35	6.0531	A ₁	13
43.6689	I ₄	58	47.2513	Cha ₄	36	21.0623	A ₂	14
53.9221	I ₅	59	43.4218	Cha ₅	37	39.7776	A ₃	15
25.2625	I ₆	60	6.9796	Cha ₆	38	38.0481	A ₄	16
29.9567	I ₇	61	32.3656	MB ₁	39	37.1834	Mr ₁	17
42.9277	I ₈	62	40.8276	MB ₂	40	37.4922	Mr ₂	18
6.6090	I ₉	63	14.6386	MB ₃	41	14.7621	Mr ₃	19
49.0426	I ₁₀	64	41.6306	MB ₄	42	5.4354	Mr ₄	20
18.2211	I ₁₁	65	11.6738	MB ₅	43	19.0240	yL ₁	21
			49.4132	MB ₆	44	55.2192	yL ₂	22

جيدة بالمقارنة مع مضادات الأكسدة الصناعية التي قد تكون مضارها أكثر من منافعها. ولهذا نوصي بالاهتمام بهذا الموضوع إذ لا توجد حالياً أي دراسة تتناول هذا الجانب.

المصادر

1. Abramovic, H. and Abram, V. (2006). Effect of added rosemary extract on oxidative stability of Camelina sativa oil. Acta. Agric. Slov., 87: 255-261.
2. Afify, A. M. R.; Romeilah, R. M.; Sultan, S. I. M. and Hussein, M. M. (2012). Antioxidation activity and biological evaluations of propiotic bacteria strains. International of Academic Research, 4(6): 131-139.
3. Bersuder, P.; Hole, M. and Smith, G. (1998). Antioxidants from a heated histidine-glucose of the antioxidant role of histidine and isolation of antioxidants by high performance Liquid Chromatography. J. Am. Oil. Chem., 75: 181-187.
4. Buck, L. M. and Gilliland, S. E. (1995). Comparisons of freshly isolated strains of *Lactobacillus acidophilus* of human intestinal origin for ability to assimilate cholesterol during growth. J. Dairy Sci., 77: 2925-2933.
5. Cerning, J. (1990). Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Rev., 87: 113-130.
6. Cerning, J. (1995) Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. Lait, 75: 463-472.
7. Cerning, J.; Bouillanne, C.; Landon, M. and Desmazeaud, M. J. (1992). Isolation and characterization of exopolysaccharides from slime-forming mesophilic lactic acid bacteria. J. Dairy Sci., 75: 692-699.

ومع ذلك، هي ليست دائماً كافية لتحديد الجذور الداخلية والخارجية تماماً ومن ثم. أن الكسح للجذور الحرة من البكتريا هي التي يمكن أن تكون مفيدة في تصنيع الأغذية ومن ثم يمكن أن توفر مضادات الأكسدة مصادر غذائية إضافة لتعزيز الصحة (31). ومن المعروف أن الجذور الحرة تهاجم المكونات الخلوية مما يؤدي إلى أكسدة الدهون والبروتينات والحامض النووي، مما قد يسبب تغيرات هيكلية ووظيفية لهذه الجزيئات. وأن أكسدة المكونات الغذائية هو أيضاً حدثاً رئيسياً في تلف المواد الغذائية أيضاً، هذا قد يقلل من القيمة الغذائية وسلامة الغذاء من خلال إنتاج نكهات غير مرغوب فيها ومادة سامة، وأن المواد المضادة للأكسدة الاصناعية (الكيميائية) مثل (BHT) (BHA) التي تضاف إلى الأطعمة والتي يكون لها آثار جانبية (12). وقد كانت النتائج مقارنة لما وجدته (33) Zhang et al. التي أظهرت بكتريا حامض اللاكتيك نوعين من مسارات مضادات الأكسدة التي تشمل أنظمة الدفاع الأنزيمية والأنظمة غير الأنزيمية و الأنزيمات المضادة للأكسدة تؤدي دوراً مهماً وحاسماً عن (ROS) مثل الأنزيمات Superoxide (SOD) dismutase والذي يزيل السمية، وأيضاً قد تطلق وتشجع إنتاج مضادات الأكسدة غير الأنزيمية الرئيسية والجذور الحرة Scavenger (GSH) glutathione. فضلاً عن أنها تفرز عن طريق إنتاج بعض الجزيئات الحيوية المضادة للأكسدة مثل Exopolysaccharides وتبين أن لهذه البكتريا لها دور العلاجية في أنواع الأوكسجين التفاعلية (RoS) اضطرابات جهاز الهضم (16، 23، 27). واتفقت النتائج مع ما ذكره (10) El.Adawi et al.، لكن لم يتفق مع ما ذكره (2) Afify et al. وقد تبين من نتائج هذه الدراسة فعالية السكريات المتعددة المعزولة من بكتريا حامض اللاكتيك بوصفها مضادات أكسدة

- Biotechnology in Animal Husbandry, 25(5-6):1071-1077.
- 16.Lee, J.; Hwang, K.; Chung, M. Y.; Chao, D. H. and Park, C. S. (2005). Resistance of *Lactobacillus casei* KCTC 3260 to reactive oxygen species (ROS): Role for a metal ion chelating effect. *J. Food Sci.*, 70: 388-391.
- 17.Lee, N. K.; Yun, C. W.; Kim, S. W.; Chang, H. I.; Kang, C. W. and Paik, H.D. (2008). Screening of lactobacilli derived from chicken feces and partial characterization of *Lactobacillus acidophilus* A12 as an animal probiotics, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 18: 338-342.
- 18.Lin, M. Y. and Yen, C. L. (1999). Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, 47 (4): 1460-1466.
- 19.Nic, M.; Jirat, J.; Kosate, B. (2006). Intersystem crossing upAs Compendium of Chemical terminology. 1670pp.
- 20.Ou, C. C.; Lu, T. M.; Tsai, J. T.; Yen, J. H.; Chen, H. W. and M.Y. Lin, M. Y. (2009). Antioxidative effects of lactic acid bacteria: Intact cells vs. intracellular extracts. *J. Food Drug Anal.*, 17 : 209-216.
- 21.Peuhkuri, K.; Lahteenma ki, T.; Sievi, E.; Saxelin, M.; Vapaatalo, H. and Korpela, R. (1996). Antioxidative properties of *Lactobacillus* GG measured as prostacyclin and nitric oxide production in endothelial cell culture. *Nutr. Today*, 31: 53S-54S.
- 22.Pot, B.; Ludwig, W.; Kereters, K. and Schleifer, K. H. (1994). Taxonomy of lactic acid bacteria. Bacteriocins of lactic acid bacteria: Pp: 13-89. In de Vuyst, L. and Vandamme E J. (Eds.). *Genetics and Applications* Chapman and Hall, Glasgow, U.K. 295pp.
- 8.Diplock, A. T. (1997). Will the good fairies please prove to us that Vitamin E lessens human degenerative of disease. *Radical Reserch*, 27: 511-532.
- 9.Dubois, M.; Giles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A. and Smith, F. (1956). Colorimetric methods for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28: 350-356.
- 10.El.Adawi, H. I.; Khalil, M. A; El-sheekh, M. M.; EL-Deeb, N. M. and Hussein, M. Z. (2012). Cytotoxicity assay and antioxidation activities of the Lacticacid bacterial strains. *African Journal of Microbiology Research*, 6(8) :1700-1712.
- 11.Harrigan, W. F. and McCance, M. E. (1976). *Laboratory methods in microbiology*. Academic Press. London. U.K. 374pp.
- 12.Hedegaar, R. V.; Kristensen, D.; Nielsen, J. H.; Frost, M. B.; Stdal, H.; Hermansen, J. E.; Kroger-Ohlsen, M. and Skibsted, L. H. (2006). Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk. *J. Dairy Sci.*, 89: 495-504.
- 13.Kaizu, M.; Sasaki, M.; Nakajama, H. and Suzuki, Y. (1993). Effect of antioxidative lactic acid bacteria on rats fed a diet deficient in vitamin E. *J. Dairy Sci.*, 76: 2493-2499.
- 14.Kullisaar, T.; Zilmer, M.; Mikelsaar, M.; Vihalemm, T.; Annuk, H.; Kairane, C. and Kilk, A. (2002). Two antioxidative *Lactobacilli* strains as promising probiotics. *Int. J. Food Microbiol.*, 72: 215-224.
- 15.Langkay, H. A. W.; Balia, R. L.; Tangoe, I.; Tasbac, B. A. and Ludong, M. (2009). Isolation and Identification of Lactic acid bacteria from Row poultry meat .

- A.M. and Verrips, C.T. (1995). Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus sake*0-1 and characterization of the polysaccharide. Appl. Environ. Microbiol., 61: 2840-2844.
- 29.Varki, A.; Cumming, R.; Esko, J.; Freeze, H.; Hart, G. and Marth, J. (1999). Essentials of Glycobiology. Gold Spring Harbor, NY: Gold spring Harbor Laboratory Press. 823pp.
- 30.Varki, A.; Cummings, R.; Esko, J.; Freeze, H.; Stanley, P.; Bertozzic, Hart, G. and Etzler, M. (2009). Essentials of Glycobiology. 2nd ed. Gold Spring Harbor Laboratory Press.
- 31.Virtanen, T.; Pihlanto, A.; Akkanen, S. and Korhonen, H. (2007). Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. J. Appl. Microbiol., 102: 106-115 .
- 32.Yaldirim, A.; Mavi, A. and Kara, A. A. (2001). Determination of antoxidation and antimicrobial activities of *Rumaxs crispus* L. extracts. J. Agric. food Chem., 49: 4083-4089.
- 33.Zhang, S.; Liu, L.; Su, Y.; Li, H.; Sun, Q.; Liang, X. and Lv, J. (2011). Antioxidation activity of lactic acid bacteria in yogurt . African Journal of Microbiology Research, 5(29): 5194-5201.
- 23.Saide, J. A. O. and Gilliland, S. E. (2005). Antioxidative activity of lactobacilli measured by oxygen radical absorbance capacity. J. Dairy Sci., 88: 1352-1357.
- 24.Savadogo, A.; Ouattara, C. A. T.; Savadogo, P. W.; Barro, N.; Ouattara, A. S. and Traore, A.S. (2004). Identification of exopolysaccharides- producing lactic acid bacteria from Burkina Faso Fermentation milk samples. African Journal of Biotechnology, 3(3): 189-194 .
- 25.Schleifer, K. H.; Ehrmann, M.; Beimfohr, C.; Brockmann, E.; Ludwig, W. and Amann, R. (1995). Application of molecular methods for the classification and identification of lactic acid bacteria. Int. Dairy J., 5(8): 1081-1094.
- 26.Shimada, K.; FujiKawa, K.; Yahara, K. and Nukamura, T. (1992). Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. J. Agric. Food Chem., 40: 954-948.
- 27.Spyropoulos, B.; Misiakos, E.; Fotiadis, C. & Stoidis, C. (2011). Antioxidant properties of probiotics and their protective effects in the pathogenesis of enteritis and colitis. Dig. Dis. Sci., 56: 285-294.
- 28.Van den Berg, D.J.C.; Robijn, G.W.; Janssen, A.C.; Giuseppin, M.L.F.; Vreeker, R.; Kamerling, J.P.; Vliegthart, J.F.G.; Ledeboer,

Production of polysaccharide from Local Isolates of *Lactobacillus* and Using as Antioxidant

Kithar R. Majeed¹, Nahi Y. Yaseen² and Fatima H. Ahmed¹

¹Department of Food Sciences, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq

²Iraqi Center for Cancer and Medical Genetics Research, University of Al-Mustanseria, Iraq

kitharrasheed@yahoo.com

Abstract: *Lactobacillus* bacteria was Isolated from different food samples included banana, tomato, apple, mandarin orange, cheese, buffalo milk, local yogurt and imported yogurt and from infant feaces. A Total of 65 isolates were obtained out of 64 food samples, and 11 samples of newborn feaces belong to *Lactobacillus* spp included 20 isolates of *Lactobacillus acidophilus*, 23 isolates of *Lactobacillus plantarum*, 6 isolates of *Lactobacillus casei*, 12 isolates of *Lactobacillus bulgaricus*, 3 isolates of *Lactobacillus johnsonii* and one isolates of *Lactobacillus helveticus*. Detectine of polysaccharides for all obtained bacteria was done . Results showed that the bast amount of produced of polysaccharide was from *Lactobacillus plantarum* while isolated from imported yoghurt (yR₅) 0.850 g.L⁻¹ . which, *Lactobacillus plantarum* isolated from Tomato (T₄) had 0.014 g.L⁻¹ .Results of antioxidant actiivity showed that the highest activity was belong to *Lactobacillus bulgaricus* isolated from local yoghurt (yL₆) was 67.51%. which the lower activity was belong to *Lactobacillus acidophilus* isolated from local chees (cha₂) was 29.1%. compared with the industrial antioxidant (BHT) and α -tocopherol. with activites of antioxidant was (82.70 and 73.96) % respectively.

Key words: Lactic acid Bacteria, antioxidants, polysaccharide.