مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 28 (2)، 67-75، 2015

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

قيثار رشيد مجيد[1] و ناهي ياسين يوسف[2] و فاطمة حسن أحمد[1]

[1]قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة البصرة

[2]المركز العراقي لبحوث السرطان والوراثة الطبية، الجامعة المستنصرية

المستخلص: عزلت بكتريا *Lactobacillus* من عينات غذائية مختلفة وشملت (الموز و الطماطة و التفاح و اللالنكي (اليوسفي) و الجبن (الأبيض الطري) و حليب الجاموس و اليوكرت المحلي واليوكرت المستورد) وكذلك من براز الأطفال حديثي الولادة، وتم الحصول على 65 عزلة من أصل 64 عينه غذائية و11 عينة من براز الأطفال عائدة الى جنس *Lactobacillus* spp. وشملت 20 عزلة من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* و23 عزلة من بكتريا *Lactobacillus plantarum* و 6 عزلات من بكتريا *Lactobacillus casei* و 12 عزلة من *Lactobacillus bulgaricus* و3 عزلات من بكتريا *Lactobacillus johnsonii* وعزلة واحدة من بكتريا *Lactobacillus helveticus*. وتم الكشف عن البولي سكرايد وتقدير كميته لجميع أنواع بكتريا حامض اللاكتيك المعزولة. وكانت أفضل كمية أنتاج للبولي سكرايد من العزلة *Lactobasillus plantarium* المعزولة من اليوكرت المستورد (yR_5)، أذ بلغت كمية الأنتاج 0.850 غم. لتر$^{-1}$، بينما العزلة *Lactobacillus plantarum* المعزولة من الطماطة (T_4) فقد بلغت كمية الأنتاج 0.014 غم. لتر$^{-1}$. أما بالنسبة لفعالية البولي سكرايد المضادة للأكسدة كانت أعلى فعالية من العزلة *Lactobacillus bulgaricus* المعزولة من اليوكرت المحلي (yL_6) 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

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

الأحادية ويطلق عليه homopolysaccharide أو homoglygan ومثال عليها النشأ، والبولي سكرايد غير المتجانس الذي يتكون من أكثر من نوع واحد من السكريات الأحادية heteropolysaccharide أو heteroglygan ومثال عليها الكلايكوجين (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 سكرايد 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 التفاحو اللالنكي (اليوسفي)و الجبن (الأبيض الطري) و حليب 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 الدراسة لإنتاج البولي سكرايد حسب طريقة Savadogo *et al*. (24).

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 أختبار حاوية على 9 مل من MRS السائل وحضنت بحرارة 37 م^{o} لمدة 24 ساعة تحت ظروف لاهوائية باستعمال الحاوية اللاهوائية مع أكياس المولدة للغاز CO_2 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 الحضن 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 أعتماداً على الوسط الأنتقائي MRS Agar فقط الفحوصات المظهرية والفحوصات المجهريةوالأختبارات الكيميو حيوية (15) وأكدت الفحوصات بتقنية PCR والتي تشمل (B_2 ، B_3، B_6 ، B_7 ، T_1 ، T_2 ، T_3 ، T_4 ، T_5 ، Mr_1 ، Mr_2، Mr_3، Mr_4 ، yR_1 ، yR_2 ، yR_3 ، yR_4 ، yR_5 ، yR_6 ، yR_7 ، yR_8 ، yR_9 ، yR_{10}). تمثل بكتريا *Lactobaillus plantarum* و (I_1 ، I_2 ، I_3 ، I_4 ، I_5، I_6، I_7 ، I_8 ، I_9 ، I_{10}، I_{11}، B_1، B_4 ، B_5 ، Cha_1 ، Cha_2 ، Cha_3، Cha_4 ، Cha_5 ، Cha_6) . تمثل بكتريا *Lactobacillus acidophilus* و (yL_7، yL_8 ، yL_9 ، yL_{10} ، yL_{11} ، yL_{12}) تمثل بكتريا *Lactobacillus casei* و (MB_1، MB_2، MB_3، MB_4 ، MB_5، MB_6 ، yL_1 ، yL_2 ، yL_3 ، yL_4 ، yL_5 ، yL_6). تمثل بكتريا *Lactobacillus bulgaricus* و (A_1 ، A_2 ، A_3). تمثل بكتريا *Lactobacillus johnsonii* و A_4 تمثل بكتريا *Lactobacillus helveticus*.

رابعاً : إنتاج السكريات المتعددة

أنتج البولي سكرايد بأستعمال عزلات بكتريا *Lactobacillus* قيد البحث حسب الطريقة التي ذكرها Savadogo *et al.* (24) **وذلك** بتنشيط البكتريا في الوسط MRS السائل ثم لقح 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 وبظروف لاهوائية والأس الهيدروجيني 6.5. بعدها نبذت مركزيا بسرعة 11000 دورة. دقيقة$^{-1}$ لمدة 10 دقائق وبعدها تم أضافة 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 و أضيف اليه الماء الخالي من الأيونات **ذو أس** هيدروجيني (6.2-6.6) وخلطه مع 2 حجم من الأيثانول البارد مع أجراء النبذ المركزي على2500 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 بأتباع 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 و8 مل من محلول دارئ الفوسفات (المنظم) ذي تركيز 50 ملي مولاري وذي 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 % و0.1 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-توكوفيورول المذاب في الهكسان وبتركيز (0.5 غم. مل$^{-1}$) بوصفها نماذج المقارنة وحضرت العينة **الضابطة** 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:

$$\text{الفعالية المضادة للاكسدة} = [1-(\frac{\text{قراءة امتصاص النموذج}}{\text{قراءة امتصاص العينة الضابطة}})]*100$$

النتائج والمناقشة

1.عزل البكتريا

تم الحصول على 65 عزلة من أصل 64 عينة غذائية و11 عينة من براز الأطفال عائدة الى جنس *Lactobacillus* spp. و شملت (20) عزلة من بكتريا *Lactobacillus acidophillus* 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*.

2- أنتاج السكريات المتعددة

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

إنتاج 0.014 غم. لتر$^{-1}$ للعزلة (T_4)، في حين كان هناك إنتاج كميات مرتفعة في بعض العزلات إذ بلغت أقصى كمية أنتاج 0.85 غم . لتر$^{-1}$ من البولي سكرايد لعزلة (yR_5) 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*	الأمتصاصية	تركيز السكريات المتعددة		ت	الرمز*	الأمتصاصية	تركيز السكريات المتعددة	
			مايكروغرام. مل$^{-1}$	غم . لتر$^{-1}$				مايكروغرام . مل$^{-}$	غم . لتر$^{-1}$
1	B_1	1.666	393.2143	0.393214	34	Cha_2	0.53	122.7381	0.122738
2	B_2	1.190	279.881	0.279881	35	Cha_3	2.3	544.1667	0.544167
3	B_3	1.950	460.881	0.460833	36	Cha_4	1.45	341.7857	0.341786
4	B_4	2.118	500.8333	0.500833	37	Cha_5	0.594	137.9762	0.137976
5	B_5	2.484	587.9762	0.587976	38	Cha_6	0.776	181.3095	0.18131
6	B_6	1.820	429.881	0.429881	39	MB_1	2.828	669.881	0.669881
7	B_7	0.922	216.0714	0.216071	40	MB_2	1.298	305.5952	0.305595
8	T_1	1.708	403.2143	0.403214	41	MB_3	1.716	405.119	0.405119
9	T_2	1.112	261.3095	0.26131	42	MB_4	1.322	311.3095	0.31131
10	T_3	1.322	311.3095	0.31131	43	MB_5	1.106	259.881	0.259881
11	T_4	0.077	14.88095	0.014881	44	MB_6	2.152	508.9286	0.508929
12	T_5	1.052	247.0238	0.247024	45	yR_1	2.462	582.7381	0.582738
13	A_1	1.374	323.7381	0.32369	46	yR_2	2.632	623.214	0.623214
14	A_2	0.992	232.7381	0.232738	47	yR_3	1.204	283.2143	0.283214
15	A_3	0.089	17.7381	0.017738	48	yR_4	2.706	640.8333	0.640833
16	A_4	1.774	418.9286	0.418929	49	yR_5	3.586	850.3571	0.850357
17	Mr_1	1.986	469.4048	0.469405	50	yR_6	2.632	623.2143	0.623214
18	Mr_2	1.168	274.6429	0.274643	51	yR_7	3.284	778.4524	0.778452
19	Mr_3	0.818	191.3095	0.19131	52	yR_8	0.78	182.2619	0.182262
20	Mr_4	0.852	199.4048	0.199405	53	yR_9	2.966	702.7381	0.702738
21	yL_1	1.720	406.0714	0.406071	54	yR_{10}	1.754	414.1667	0.414167
22	yL_2	1.212	285.119	0.285119	55	I_1	2.506	593.2143	0.593214
23	yL_3	0.954	223.6905	0.22369	56	I_2	2.332	551.17857	0.551786
24	yL_4	1.342	316.0714	0.316071	57	I_3	2.284	540.3571	0.540357
25	yL_5	1.272	299.4048	0.299405	58	I_4	2.38	563.2143	0.563214
26	yL_6	0.172	37.5	0.0375	59	I_5	0.462	106.5476	0.106548
27	yL_7	0.632	147.0238	0.147024	60	I_6	0.742	173.2143	0.173214
28	yL_8	0.314	71.30952	0.07131	61	I_7	0.41	94.2143	0.094167
29	yL_9	0.202	44.64286	0.044643	62	I_8	0.47	108.4524	0.108452
30	yL_{10}	0.244	54.64286	0.0546071	63	I_9	0.742	173.2143	0.173214
31	yL_{11}	1.048	246.0714	0.246071	64	I_{10}	2.112	499.4048	0.499405
32	yL_{12}	2.418	572.2619	0.572262	65	I_{11}	2.241	530.119	0.530119
33	Cha_1	0.79	184.6429	0.184643					

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 اليوكرت المحلي (yL_6) وهي 67.51 % بينما كانت أقل فعالية مضادة للأكسدة بالنسبة البكتريا المعزولة من الجبن المحلي (Cha_2) وهي 1.29%. ويعود سبب الفعالية المضادة للأكسدة لارتباطها بعدد ذرات الهيدروجين المتاحة للواهب بوساطة مجاميع الهيدروكسيل (26). كذلك فأن الفعالية لمضادات الأكسدة لتثبيط أكسدة حامض اللينوليك تعزى لوجود ميكانيكيات مختلفة من بين هذه الميكانيكية إعاقة سلسلة بدء التفاعل وربط انتقال أيونات الحديد وتحطيم البيروكسيدات ومنع استمرار إزالة الهيدروجين وله قابلية اختزال الجذور الحرة واقتناصها (8، 32). وقد يكون في العصيات اللبنية أليات مختلفة لنشاط المضادة للأكسدة (31، 20)، 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) و أن 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

ت	الرمز *	الفعالية المضادة للأكسدة السكريات المتعددة %	ت	الرمز *	الفعالية المضادة للأكسدة السكريات المتعددة %	ت	الرمز *	الفعالية المضادة للأكسدة السكريات المتعددة %
1	B_1	53.6751	23	yL_3	58.1222	45	yR_1	47.1278
2	B_2	30.2655	24	yL_4	30.3273	46	yR_2	42.2483
3	B_3	42.4953	25	yL_5	52.7486	47	yR_3	22.5447
4	B_4	44.5336	26	yL_6	67.5108	48	yR_4	14.7004
5	B_5	34.4657	27	yL_7	60.0370	49	yR_5	58.6781
6	B_6	40.7659	28	yL_8	49.1661	50	yR_6	30.1420
7	B_7	6.9178	29	yL_9	57.8134	51	yR_7	55.5281
8	T_1	29.0302	30	yL_{10}	52.7486	52	yR_8	46.2013
9	T_2	18.4187	31	yL_{11}	41.8777	53	yR_9	28.9067
10	T_3	38.4187	32	yL_{12}	34.4095	54	yR_{10}	34.7745
11	T_4	24.6448	33	Cha_1	23.4095	55	I_1	26.3743
12	T_5	25.2007	34	Cha_2	1.2970	56	I_2	48.2396
13	A_1	6.0531	35	Cha_3	36.1951	57	I_3	38.5423
14	A_2	21.0623	36	Cha_4	47.2513	58	I_4	43.6689
15	A_3	39.7776	37	Cha_5	43.4218	59	I_5	53.9221
16	A_4	38.0481	38	Cha_6	6.9796	60	I_6	25.2625
17	Mr_1	37.1834	39	MB_1	32.3656	61	I_7	29.9567
18	Mr_2	37.4922	40	MB_2	40.8276	62	I_8	42.9277
19	Mr_3	14.7621	41	MB_3	14.6386	63	I_9	6.6090
20	Mr_4	5.4354	42	MB_4	41.6306	64	I_{10}	49.0426
21	yL_1	19.0240	43	MB_5	11.6738	65	I_{11}	18.2211
22	yL_2	55.2192	44	MB_6	49.4132			

ومع ذلك، هي ليست دائما 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 أضافة لتعزيز الصحة (31). ومن المعروف أن الجذور الحرة تهاجم المكونات الخلوية مما يؤدي الى أكسدة الدهون والبروتينات والحامض النووي ، مما قد يسبب تغيرات هيكلية ووظيفية لهذه الجزيئات . وأن أكسدة المكونات الغذائية هو أيضا حدثاً رئيسياً في تلف المواد الغذائية أيضاً، هذا قد يقلل من القيمة الغذائية وسلامة الغذاء من خلال أنتاج نكهات غير مرغوب فيها ومادة سامة، وأن المواد المضادة للأكسدة الاصناعية (الكيميائية) مثل (BHT) (BHA) التي تضاف الى الأطعمة والتي يكون لها آثار جانبية (1،12) . وقد كانت النتائج مقاربة لما وجده (33) Zhang *et al.* والتي أظهرت بكتريا حامض اللاكتيك نوعين من مسارات مضادات الأكسدة التي تشمل أنظمة الدفاع الأنزيمية والأنظمة غير الأنزيمية و الأنزيمات المضادة للأكسدة تؤدي دورا مهما وحاسما عن (ROS) مثل الأنزيمات Superoxide dismutase (SOD) والذي يزيل السمية ، وأيضا قد تطلق وتشجع أنتاج مضادات الأكسدة غير الأنزيمية الرئيسية والجذور الحرة Scavenger glutathione (GSH). وفضلاً عن أنها تفرز عن طريق أنتاج 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 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). Antoxidation 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 Chromotography. 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.

8.Diplock, A. T. (1997). Will the good fairies please proves to us that Vitamin E Iessens 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). Cytotoxity assay and antioxidation activities of the Lacticacid bacterial strans. 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 . 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.; Ludwing, 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.

A.M. and Verrips, C.T. (1995). Production of a novel extracellular polysaccharide by *Lactobacillus* sake0-1 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 Fermention 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.; Vliegenthart, J.F.G.; Ledeboer,

Basrah J. Agric. Sci., 28 (2): 67-75, 2015

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

Kithar R. Majeed[1], Nahi Y. Yaseen[2] and Fatima H. Ahmed[1]

[1]Department of Food Sciences, College of Agriculture, University of Basrah, Iraq
[2]Iraqi 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 (yR_5) 0.850 $g.L^{-1}$. which, *Lactobacillus plantarum* isolated from Tomato (T_4) had 0.014 $g.L^{-1}$ .Results of antioxidant actiivity showed that the highest activity was belong to *Lactobacillus bulgaricus* isolated from local yoghurt (yL_6) was 67.51%. which the lower activity was belong to *Lactobacillus acidophilus* isolated from local chees (cha_2) 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.