فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۲- شماره ۴- زمستان ۱۳۹۶

مقاله تحقیقی

جداسازی و شناسایی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* از نمونه‌های زیتون ایرانی

شیدا قدیری افشار[۱]، روزبه یلفانی[۱،*]، مهدی ابراهیمی[۳،*]

۱. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پیشوا، ایران
۲. گروه پرستاری، دانشکده پرستاری و مامایی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پیشوا، ایران
۳. گروه بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشکده علوم زیستی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، پیشوا، ایران

***مسئول مکاتبات:** آدرس الکترونیکی: ryalfan@yahoo.com، ebrahimi@iauvaramin.ac.ir

محل انجام تحقیق: آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین- پیشوا

تاریخ دریافت ۹۷/۳/۷ تاریخ پذیرش ۹۷/۶/۱۰

چکیده

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های غیربیماری زایی هستند که هرگاه در مقادیر مناسب تجویز گردند، به میزبان سلامتی می‌بخشند و قادرند از بعضی از بیماری‌ها پیشگیری نموده یا آنها را بهبود بخشند. *لاکتوباسیلوس‌ها* و *بیفیدوباکتریوم‌ها*، بیشترین پروبیوتیک‌های مورد استفاده تا امروز بوده اند. جنس *لاکتوباسیلوس*، گروهی از باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB) مختلف از نظر ژنتیکی و فیزیولوژیکی است که میله‌ای شکل، گرم مثبت، غیراسپورگذار، بدون پیگمان، کاتالاز منفی و میکروآئروفیلیک تا بی‌هوازی اجباری می‌باشند. زیتون از قدیمی‌ترین گیاهان شناخته شده ای است که به عنوان یکی از منابع مهم غذایی به شمار رفته و نقش مؤثری در تعیین سلامتی، پیشگیری و کنتری بیماری‌های ناشی از ناراحتی‌های گوارشی، سیستم گردش خون و قلبی عروقی دارد. زیتون ممکن است حامل مناسبی برای انتقال پروبیوتیک‌ها به شمار رود. لذا در تحقیق حاضر این خصوصیت زیتون مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق شانزده نمونه از زیتون‌های بسته‌بندی مختلف و همچنین به صورت فله و خام تهیه گردید. باکتری‌های موجود در نمونه‌های مورد نظر جداسازی شده و با استفاده از روش‌های مورفولوژیک، کشت و بیوشیمیایی مورد شناسایی قرارگرفتند. با توجه به نتایج به دست آمده، ۴ جدایه *لاکتوباسیلوس پلانتارم* و یک جدایه، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تشخیص داده شدند. بنابراین، زیتون می‌تواند علاوه بر فوائد سرشار غذایی، به عنوان حاملی طبیعی برای پروبیوتیک‌ها در نظر گرفته شود.

واژه های کلیدی: زیتون، *لاکتوباسیلوس*، جداسازی، *لاکتوباسیلوس پلانتارم*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

مقدمه

"مواد غذایی سودمند" اصطلاحی است برای دسته‌ای از موادغذایی که به عنوان بخشی از یک رژیم‌غذایی عادی به شمار می‌روند و عملکردهای مفیدی از خود نشان داده اند و یا افزون بر وظایف تغذیه‌ای پایه، احتمال ابتلا به بیماری مزمن را هم کاهش می‌دهند. پروبیوتیک‌ها[۲] و پره بیوتیک‌ها[۳] در سرتاسر جهان به عنوان یکی از اجزاء مهم مواد غذایی شناخته شده اند. آنها را می‌توان در انواع گسترده ای از محصولات تجاری مانند

[1] Functional foods
[2] Probiotics
[3] Prebiotics

شیرهای تخمیر شده، ماست، غذای کودک و شیرینی‌های عاری از قند یافت (۱). طبق تعریف FAO[4] و WHO[5] پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های غیربیماری‌زایی هستند که هرگاه در مقادیر مناسب تجویز شوند، به میزبان سلامتی می‌بخشند و قادرند از بعضی بیماری‌ها پیشگیری نموده یا آنها را بهبود بخشند. آنها باید نسبت به شیره معده مقاوم بوده و قادر به رشد در حضور صفرا باشند. لاکتوباسیلوس‌ها[6] و بیفیدوباکتریوم‌ها[7] عمده‌ترین پروبیوتیک‌های مورد استفاده تا امروز بوده اند (۱-۵).

این باکتری‌ها جزء گروه باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB[8]) هستند. باکتری‌های اسیدلاکتیک گروهی از باکتری‌های میله‌ای شکل گرم مثبت و کوکسی شکلی هستند که در جایگاه‌های متفاوتی شامل مجرای معدی–روده‌ای، گیاهان و غذاهای تخمیرشده مانند محصولات لبنی، گوشت و نوشیدنی‌های الکلی یافت می‌شوند. جزئیات مکانیسم تاثیر باکتری‌های پروبیوتیک در ارتقاء سلامتی افراد، به وضوح روشن نشده و بیشتر توجهات به خواص ضدپاتوژنیک آنها معطوف شده است. مکانیسم‌های مطرح‌شده در این زمینه عبارتند از: ۱- برخی از پروبیوتیک‌ها دارای فعالیت ضدمیکروبی هستند و می‌توانند پاتوژن‌ها را مهار نمایند. ۲- باکتری‌های پروبیوتیک می توانند سدهای اپی‌تلیالی روده را بهبود بخشند. ۳- اعتقاد بر این است که باکتری‌های پروبیوتیک پاسخ‌های ایمنی را تعدیل می‌کنند (۶).

فعالیت ضدمیکروبی پروبیوتیک‌ها علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، چند منظوره است و بر اساس تولید ترکیبات غیراختصاصی مانند اسیدهای چرب زنجیره کوتاه (SCFA[9])، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و پروتئین‌های با وزن ملکولی کم که به عنوان باکتریوسین و مواد مهارکننده شبیه باکتریوسین شناخته می شوند، صورت می‌پذیرد (۱).

تاکنون LAB از منابع مختلفی شامل انگور، شراب، پنیر، میوه ها و سبزیجات خام و زیتون جدا شده است . باکتری‌های اسید لاکتیک در طبیعت به صورت گسترده‌ای وجود دارند و عموماً در تولید و نگهداری محصولات غذایی انسان و دام مانند پنیر، کلم شور، گوشت، ماست و علف تازه مانده مورد استفاده قرار می‌گیرند (۷).

جنس *لاکتوباسیلوس*، گروهی از باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) مختلف از نظر ژنتیکی و فیزیولوژیکی است که میله‌ای شکل، گرم مثبت، غیراسپورگذار، بدون پیگمان، کاتالاز منفی و میکروآئروفیلیک تا بی‌هوازی اجباری می‌باشند (۸). در آغاز سال ۲۰۰۵ جنس *لاکتوباسیلوس* بر اساس گزارش‌ها شامل حدود ۱۰۰ گونه معتبری بود. اما تعداد سویه‌ها به علت توصیف گونه-های جدید و یا طبقه‌بندی مجدد بقیه، مدام در حال تغییر است. در حقیقت، در ابتدای سال ۲۰۰۷ تعداد گونه های این جنس به ۱۲۰ رسید (۹).

زیتون ممکن است حامل مناسبی برای انتقال پروبیوتیک‌ها به شمار رود. در مطالعه‌ای، سویه *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* به صورت موفقیت آمیزی هم سطح زیتون و هم روده انسان را کلنیزه کرد. باکتری‌های اسید لاکتیک که بسته به راه متابولیکی آنها قند را به اسید لاکتیک تخمیر می‌کنند، مهمترین باکتری-های زیتون می‌باشند. باکتری‌های اسیدلاکتیک هموفرمانتاتیو مانند *لاکتوباسیلوس*، *استرپتوکوکوس* و *پدیوکوکوس* و باکتری-های اسیدلاکتیک هتروفرمانتاتیو مانند *لوکونوستوک* و برخی اعضای *لاکتوباسیلوس* در زیتون‌های تخمیرشده شناسایی شده-اند. ولی در فرآیند تخمیر، گونه‌های لاکتوباسیلوس علت اصلی بوده و *لوکونوستوک* و *پدیوکوکوس* نقش کمرنگ‌تری دارند (۱۰).

در این مطالعه با بررسی وجود یا عدم وجود باکتری های پروبیوتیک در نمونه‌های زیتون، امکان استفاده از این ماده غذایی به عنوان حامل باکتری های پروبیوتیک مورد بررسی قرارگرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها

شانزده نمونه از زیتون های بسته بندی مختلف و همچنین به صورت فله و خام به صورت تصادفی تهیه شده و جهت جداسازی باکتری های *لاکتوباسیل* مورد استفاده قرارگرفت.

جداسازی باکتری‌ها

[4] Food and Agriculture Organization
[5] World Health Organization
[6] *Lactobacilli*
[7] *Bifidobacteria*
[8] Lactic Acid Bacteria
[9] short-chain fatty acids

برای به دست آوردن باکتری های زنده، از محلول رینگر (Merck) به عنوان رقیق‌کننده استفاده شد. در این روش ۱۰ گرم از نمونه زیتون وزن گردیده، در ۹۰ میلی‌لیتر از رینگر ریخته شده و ۱۰ دقیقه تکان داده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از آن بر روی محیط MRS آگار (Merck) انتقال یافته و در ۳۷ درجه سانتی-گراد به مدت ۴۸ ساعت تحت شرایط بی‌هوازی انکوبه شد (۱۱). باکتری‌هایی که از نظر رنگ آمیزی گرم، خصوصیات کلنی و تست کاتالاز مثبت شناسایی شدند، به عنوان جنس *لاکتوباسیلوس* در نظر گرفته‌شدند (۸).

آزمایش حرکت باکتری‌ها به دو روش قطره معلق و کشت در محیط مخصوص حرکت انجام شد. در روش اول، لام با بزرگنمایی ۴۰ برابر توسط میکروسکوپ نوری بررسی شد. در روش دوم، باکتری‌ها در مرکز محیط کشت تلقیح گردیدند و ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد انکوبه شدند. نتیجه مثبت به صورت انتشار در محیط بود و نتیجه منفی، به صورت رشد باکتری‌ها در امتداد خط کشت دیده شد (۱۲). برای مشاهده اسپور باکتری ها، از مالاشیت گرین (Sigma-Aldrich) به عنوان رنگ اصلی استفاده گردید. لام ها به مدت ۵ دقیقه بر روی حمام بخار آب در معرض رنگ قرار گرفتند و بعد از شستشو با آب به مدت ۳۰ ثانیه، با سافرانین (Sigma-Aldrich) رنگ شدند. نتیجه به صورت اسپورهای سبز رنگ در زمینه ای از باکتری های قرمز دیده می شود (۱۳). برای انجام آزمایش کاتالاز از کشت های تازه استفاده گردید. یک قطره سرم فیزیولوژی استریل بر روی لام تمیزی قرار داده شد و از کلنی باکتری ها مقداری با آنس استریل برداشته و در آن حل گردید. سپس از محلول H_2O_2 ۳٪ بر روی آن ریخته شد. نتیجه مثبت با تولید و نتیجه منفی بدون تولید حباب های اکسیژن همراه بود (۱۲). رشد در دماهای ۱۵، ۳۰، ۳۷، ۴۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط بی‌هوازی انجام شد و کدورت محیط‌های کشت هر دو ساعت یک بار در طول موج ۵۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Shimadzu) ثبت‌شد (۴). بررسی تخمیر قندها در محیط کشت MRS براث (Merck) صورت گرفت. در این روش محلول قندهای استریل بعد از اتوکلاو نمودن محیط کشت، در غلظت ۱٪ به طور آسپتیک به محیط کشت افزوده شد. سپس محیط‌های کشت، تلقیح شده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت انکوبه شدند. قندهای مورد نظر عبارت بودند از: آرابینوز، سلوبیوز، گالاکتوز، گلوکز، مالتوز، مانوز، رافینوز، سالیسین، سوربیتول، سوکروز، ترهالوز، مانیتول، گزیلوز، رامنوز، اینوزیتول، لاکتوز (Difco BBL) (۴, ۱۴).

تولید گاز از گلوکز با روش تلقیح باکتری‌ها به لوله حاوی ۵ میلی لیتر MRS براث دارای لوله دورهام و انکوبه کردن آن در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز انجام گردید (۴).

جهت تعیین pH بهینه، از کشت یک شبه لاکتوباسیلوس‌ها، ۱٪ (v/v) به محیط کشت MRS براث که دارای pHهای متغیر ۲/۵ تا ۸/۵ بود، اضافه شد. pH محیط‌های کشت MRS، توسط استیک اسید (۹۹٪) (Merck) و NaOH (۵ N) (Merck) تنظیم شد. بعد از تلقیح، محیط‌های کشت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در شرایط بی‌هوازی قرار داده شدند. سپس کدورت محیط‌های کشت در طول موج ۵۶۰ نانومتر در مقایسه با محیط‌های کشت تلقیح نشده قرائت شد (۸). در تست تحمل نمک، ۱۰ لوله MRS براث حاوی غلظت های مختلف نمک (۱ تا ۱۰ درصد NaCl) (Merck) ساخته و استریل شد. هر لوله توسط ۱٪ (v/v) از کشت یک شبه لاکتوباسیلوس‌ها تلقیح شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. رشد باکتری‌ها با مشاهده کدورت در لوله‌ها در نظر گرفته شد (۸). در آزمایش تحمل صفرا، محیط کشت MRS براث حاوی ۰/۳٪ صفرا (Sigma-Aldrich) با باکتری‌های لاکتوباسیلوس تلقیح شده و ۱۶ تا ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در طی این مدت، هر ۴ ساعت یک بار باکتری‌های زنده توسط روش کشت پورپلیت[1] بررسی شدند.

تهیه سویه‌های استاندارد

سویه‌های استاندارد لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران واقع در شهریار تهیه گردید. سویه ها عبارت بودند از: *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* (PTCC 1637)، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم تحت گونه پلانتاروم* (PTCC 1745) و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (PTCC 1744). سویه ها ابتدا در MRS براث (Merck) در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی یک شب گرمخانه‌گذاری شدند. در مرحله بعد،

[1] pourplate

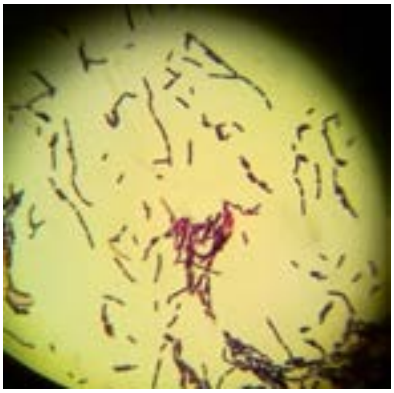
بر روی MRS آگار برده شده و ۲۴ تا ۳۶ ساعت تحت شرایط فوق‌الذکر قرار داده شدند تا کلنی‌های آنها به دست آید (۱۵). تمامی آزمایش‌ها، با توجه به نتایج به دست آمده از سویه‌های استاندارد مقایسه و تفسیر شدند.

نگهداری سویه‌ها

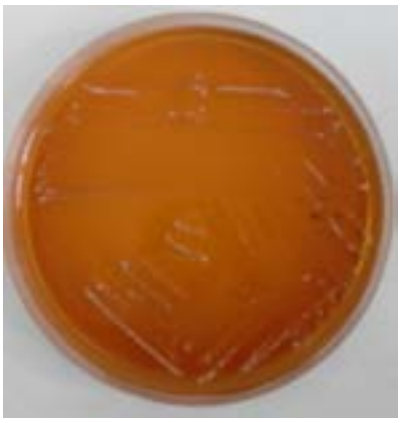
جدایه‌های به دست آمده از نمونه‌های زیتون و همچنین سویه‌های استاندارد، جهت نگهداری طولانی مدت در محیط کشت MRS براث و نوترینت براث دارای ۳۰٪ گلیسرول کشت داده شده و در ۷۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (۱۶).

نتایج

از ۱۶ نمونه زیتون که شامل نمونه‌های بسته‌بندی شده و فله و خام بود، ۵ نمونه واجد باکتری‌های مورد نظر از لحاظ خصوصیات مورفولوژی و کشت تشخیص داده شد. بقیه نمونه‌ها دارای باکتری‌های کوکوسی و مخمر بودند. باکتری‌هایی انتخاب شدند که باسیل‌های گرم مثبت کشیده یا کوتاه بودند و به صورت منفرد، دوتایی یا به هم چسبیده دیده می‌شدند و کلنی آنها بر روی محیط کشت، به صورت صاف، محدب، کوچک، منظم، کرم رنگ بود (شکل های ۱ و ۲)



شکل ۱- منظره میکروسکوپی باکتری های لاکتوباسیلوس (۴۰X).



شکل ۲- منظره کلنی باکتری های لاکتوباسیلوس بر روی محیط MRS آگار.

نتایج مربوط به کاتالاز، pH، تحمل NaCl، رشد در دماهای مختلف و گاز از گلوکز در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به نتایج مرحله اول، جدایه‌های شماره ۱ و ۲ و ۳ و ۵ *لاکتوباسیلوس پلانتارم* تشخیص داده شدند و جدایه شماره ۴ به عنوان *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* شناخته گردید. تعداد باکتری های زنده در برابر صفرا در زمان های مختلف در جدول ۲ آورده شده است. نتایج تخمیر قندهای مختلف توسط جدایه های به دست آمده و همچنین سویه های استاندارد در جدول ۳ آمده است.

بحث

در ایران پژوهش‌هایی که برای شناسایی *لاکتوباسیلوس‌ها* در مواد غذایی انجام پذیرفته، بیشتر در زمینه لبنیات بوده است (۴, ۱۴, ۱۷). بالطبع وجود این میکروارگانیسم‌ها در شیر، تهیه انواع مختلف فرآورده های لبنی از آن را امکان‌پذیر می‌سازد. اما موضوعی که کمتر مورد بررسی قرار گرفته، وجود چنین میکروارگانیسم‌هایی در سایر مواد غذایی است. تنوع محصولات غذایی از نظر وجود این باکتری‌ها که پروبیوتیک نامیده می‌شوند، می‌تواند موجب بهره مندی بیشتر اقشار مختلف جامعه از فوائد آن شود. در این تحقیق سعی بر آن بوده که زیتون به عنوان یکی از این مواد غذایی مورد بررسی قرار گیرد.

در تحقیق حاضر، ۵ نمونه زیتون که همگی از نوع بسته‌بندی بودند از نظر وجود باکتری‌های *لاکتوباسیلوس* مثبت تعیین شدند که از این تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با ۴ مورد بیشترین و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با یک مورد کمترین حضور را

داشتند. در هیچ یک از نمونه‌های زیتون فله و همینطور خام باکتری‌های لاکتوباسیلوس جداسازی نشدند.

در تحقیقی که توسط Lavermicocca و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی ماندگاری پروبیوتیک ها بر روی زیتون انجام شد، متوجه شدند که *لاکتوباسیلوس کازئی* نسبت به *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* و *بیفیدوباکتریوم لانگوم* زمان طولانی‌تری بر روی زیتون باقی می‌ماند و می‌تواند به عنوان کاندیدی برای انتقال باکتری‌های پروبیوتیک به انسان از طریق زیتون باشد (۱۷).

مطالعه دیگری نشان داده میکروبیوتای زیتون‌های فرآوری شده و یا آب نمک زیتون‌های فرآوری شده شامل اعضای انتروباکتریاسه، *کلستریدیوم*، *سودوموناس*، *استافیلوکوکوس*، باکتری‌های اسید لاکتیک، مخمرها و گاهی کپک‌ها می‌گردد (۱۰).

در این تحقیق نیز علاوه بر باکتری‌های *لاکتوباسیل*، باکتری-های دیگر مانند کوکسی‌ها و همچنین مخمرها به وفور وجود داشتند.

عمده مقالات خارج از ایران راجع به *لاکتوباسیلوس‌ها*، مربوط به جداسازی و شناسایی آنها از منابع زیتون‌های تخمیری می-باشد (۲, ۱۸). بیشتر این مقالات به زیتون‌های تخمیر شده و فرآورده های آنها می‌پردازند. حتی از *لاکتوباسیلوس‌ها* به عنوان نوعی استارتر در تخمیر زیتون استفاده می‌کنند (۶, ۷). فرآیندی که تقریباً مشابه آن در ایران انجام نمی‌شود.

Kacem و همکاران در سال ۲۰۰۴ توانستند از ۱۰ نمونه زیتون تخمیر شده، ۲۳ باکتری اسید لاکتیک در غرب الجزایر جدا نمایند. تعیین خصوصیاتشان توسط شواهد میکروسکوپی و فنوتیپی انجام شد. از این تعداد ۱۱ عدد مربوط به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بوده و بقیه *انتروکوکوس فسیوم* و *لاکتوکوکوس لاکتیس* بودند (۱۹).

در این تحقیق هدف تعیین فلور میکروبی زیتون از نظر وجود باکتری های *لاکتوباسیل* بود. جا دارد به منظور شناسایی فلور طبیعی زیتون‌های مناطق مختلف ایران، تعیین فلور میکروبی زیتون‌های خام، فرآوری و تخمیر شده انجام شود و در مراکز مربوطه به عنوان معرفی انواع مختلف باکتری‌های پروبیوتیک زیتون ثبت شود. در این میان زیتون خام و فرآوری نشده کمتر از سایر موارد دیگر مورد توجه قرار گرفته است.

امروزه نام باکتری‌های پروبیوتیک مترادف با لبنیات شده است. بر هیچکس پوشیده نیست که مزایای فراوان این باکتری‌ها دامنه وسیعی را برای انسان و همچنین حیوانات در بر می‌گیرد. به جاست که علاوه بر این مطلب، بر روی سایر مواد غذایی از جمله زیتون که سرشار از مواد ضروری غذایی است، از نظر خاصیت بالقوه آنها در انتقال این باکتری‌ها به انسان تحقیقات بیشتر و جامع‌تری انجام شود.

تقدیر و تشکر: نویسندگان از آزمایشگاه نمونه آزمای ماد به دلیل حمایت‌هایی که در انجام این پژوهش به عمل آورد، سپاسگزاری می نمایند.

جدول ۱- نتایج آزمایش های مربوط به دما، pH، NaCl، کاتالاز، گاز از گلوکز جدایه ها و سویه های استاندارد.

جدایه	دما (°C)							NaCl (%)		pH		حرکت	اندوسپور	کاتالاز	تولید گاز از گلوکز
	15	30	37	40	45	4	6.5	3.9	9.6						
۱	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
۲	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
۳	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
۴	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–	–
۵	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–

لاکتوباسیلوس رامنوزوس PTCC 1637	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
لاکتوباسیلوس فرمنتوم PTCC 1744	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−
لاکتوباسیلوس پلانتاروم PTCC 1745	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−

جدول ۲- تعداد کلنی های شمارش شده در زمان های مختلف پس از مجاورت با صفرا.

ساعت	جدایه ۱	جدایه ۲	جدایه ۳	جدایه ۴	جدایه ۵
صفر	۱۹۸	۱۹۲	۲۰۱	۱۹۹	۲۱۱
اول	۱۸۸	۱۷۵	۱۸۸	۱۹۱	۱۹۵
دوم	۱۸۳	۱۶۷	۱۸۷	۱۷۴	۱۹۲
سوم	۱۷۹	۱۵۸	۱۸۴	۱۶۷	۱۸۲
چهارم	۱۷۰	۱۴۷	۱۸۳	۱۶۵	۱۷۳

جدول ۳- نتایج تخمیر قندهای مختلف توسط جدایه ها و سویه های استاندارد

قند / باکتری	آرابینوز	اینولزیتول	ترهالوز	رافینوز	رامنوز	سالیسین	سلوبیوز	سوربیتول	سوکروز	گالاکتوز	گزیلوز	گلوکز	لاکتوز	مالتوز	مانیتول	مانیتوز
جدایه ۱	+	+	−	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+
جدایه ۲	+	+	−	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+
جدایه ۳	+	+	−	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+
جدایه ۴	−	−	−	−	+	−	+	−	+	+	ND	+	+	−	+	−
جدایه ۵	+	+	−	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+
لاکتو باسیلوس رامنوزوس	+	ND	+	+	−	+	+	+	−	+	+	+	+	+	+	+
لاکتو باسیلوس پلانتاروم	+	+	−	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+
لاکتوباسیلوس فرمنتوم	+	ND	+	+	−	−	+	−	−	+	+	+	+	+	+	−

ND: آزمایش انجام نشد.

منابع مورد استفاده

1. Cruz-Guerrero, A., Hernández-Sánchez, H., Rodríguez-Serrano, G., Gómez-Ruiz, L., García-Garibay, M., Figueroa-González, I., 2014, Commercial probiotic bacteria and prebiotic carbohydrates: a fundamental study on prebiotics uptake, antimicrobials production and inhibition of pathogens, J Sci Food Agr, 94(11):2246-52.

2. Bautista-Gallego, J., Arroyo-López, F., Rantsiou, K., Jiménez-Díaz, R., Garrido-Fernández, A., Cocolin, L., 2013, Screening of lactic acid bacteria isolated from fermented table olives with probiotic potential, Food Res Int, 50(1):135-42.
3. Boyle, R.J., Robins-Browne, R.M., Tang, M.L., 2006, Probiotic use in clinical practice: what are the risks?, Am J Clin Nutr, 83(6):1256-64.
4. Forouhandeh, H., Vahed, A., Hejazi, M., Nahaei, M., Dibavar, M.A., 2010, Isolation and phenotypic characterization of Lactobacillus species from various dairy products, Curr Res Bacteriol, 3(2):84-8.
5. Martinez, R.M., Hulten, K.G., Bui, U., Clarridge, J.E., 2014, Molecular analysis and clinical significance of Lactobacillus spp. recovered from clinical specimens presumptively associated with disease, J Clin Microbiol, 52(1):30-6.
6. Sisto, A., Lavermicocca, P., 2012, Suitability of a probiotic Lactobacillus paracasei strain as a starter culture in olive fermentation and development of the innovative patented product "probiotic table olives", Front Microbiol, 3:174.
7. Boot, H.J., Kolen, C.P., Pot, B., Kersters, K., Pouwels, P.H., 1996, The presence of two S-layer-protein-encoding genes is conserved among species related to Lactobacillus acidophilus, Microbiol, 142(9):2375-84.
8. Hoque, M., Akter, F., Hossain, K., Rahman, M., Billah, M., Islam, K., 2010, Isolation, identification and analysis of probiotic properties of Lactobacillus spp. from selective regional yoghurts, World J Microb Biot, 5(1):39-46.
9. Blaiotta, G., Fusco, V., Ercolini, D., Aponte, M., Pepe, O., Villani, F., 2008, Lactobacillus strain diversity based on partial hsp60 gene sequences and design of PCR-restriction fragment length polymorphism assays for species identification and differentiation, Appl Environ Microb, 74(1):208-15.
10. Heperkan, D., 2013, Microbiota of table olive fermentations and criteria of selection for their use as starters, Front Microbiol, 4:143.
11. Dommels, Y.E., Kemperman, R.A., Zebregs, Y.E., Draaisma, R.B., Jol, A., Wolvers, D.A., et al., 2009, Survival of Lactobacillus reuteri DSM 17938 and Lactobacillus rhamnosus GG in the human gastrointestinal tract with daily consumption of a low-fat probiotic spread, Appl Environ Microb, 75(19):6198-204.
12. Pyar, H., Peh, K., 2014, Characterization and identification of Lactobacillus acidophilus using biolog rapid identification system, Int J Pharm Pharm Sci, 6(1):975-1491.
13. Harley, J.P., Prescott, L.M., 2005, Laboratory exercises in microbiology, McGraw-Hill
14. Issazadeh, K., Azizollahi Ali abadi, M., Darsanaki, R., Alikhani, F., Dadras, H., Tajehmiri, A., 2013, Isolation, Identification and Analysis of Probiotic Properties of Lactobacillus spp from Traditional Yoghurts in North of Iran, J Pure App Microbiol, 7(4): 2965-2971.
15. Khani, S., Motamedifar, M., Golmoghaddam, H., Hosseini, H.M., Hashemizadeh, Z., 2012, In vitro study of the effect of a probiotic bacterium Lactobacillus rhamnosus against herpes simplex virus type 1, Braz Jour Infec Dis, 16(2):129-35.
16. Rojas, M., Ascencio, F., Conway, P.L., 2002, Purification and characterization of a surface protein from Lactobacillus fermentum 104R that binds to porcine small intestinal mucus and gastric mucin, Appl Environ Microb, 68(5):2330-6.
17. Lavermicocca, P., Valerio, F., Lonigro, S.L., De Angelis, M., Morelli, L., Callegari, M.L., et al., 2005, Study of adhesion and survival of lactobacilli and bifidobacteria on table olives with the aim of formulating a new probiotic food, Appl Environ Microb, 71(8):4233-40.
18. Peres, C.M., Alves, M., Hernandez-Mendoza, A., Moreira, L., Silva, S., Bronze, M.R., et al., 2014, Novel isolates of lactobacilli from fermented Portuguese olive as potential probiotics, LWT - Food Sci Technol, 59(1):234-46.
19. Kacem, M., Zadi-Karam, H., Karam, N.-E., 2011, Lactic acid bacteria isolated from fermented green olives produced in Western Algeria, Revue Marocaines des Sc., 24(1):59-66.