

## Glutamic acid and folic acid production in aerobic and anaerobic probiotics

**Zohre Taghiabadi**

M.Sc of Agricultural Biotechnology, Department of Agricultural Science, Payame Noor University, Iran, taghiabadi\_z@yahoo.com

**Mehrana Koohi Dehkordi**\*

Assistant Professor of Agricultural Biotechnology, Department of Agricultural Science, Payame Noor University, Iran,  
m.koohi@gmail.com

**Giti Emtiazi**

Professor of Microbiology, Faculty of Science, University of Isfahan, Iran, emtiaz@yahoo.com

### Abstract

**Introduction:** From an industrial application or commercial point of view, glutamic acid is one of the most important amino acids and its microbial production has been reported from some bacteria. Regarding the role of probiotics to modulate human health and the ever-increasing demand of prebiotics in the food industry, in the current study, production of glutamic acid and folic acid from three probiotic bacteria (*Bifidobacterium*, *Bifidobacterium bifidum*, *Sporolactobacillus*) was evaluated for the first time.

**Materials and methods:** MRS broth and exclusive media was used for probiotic culture. The glutamic acid was identified using thin-layer chromatography and folic acid production was measured by folate kit. Each bacterium in terms of quality and quantity were measured by high pressure liquid chromatography.

**Results:** Production of glutamic acid confirmed is based on the thin layer chromatography analysis and high pressure liquid chromatography results. In addition, it was observed that all three probiotics produce folic acid. The prevalence of folate in *Bifidobacterium* was measured as 315 mg/ml that was more than two other bacteria.

**Discussion and conclusion:** To the best of our knowledge, this is the first report of microbial production of glutamic acid and folate from the probiotic bacteria. These beneficial bacteria can be used as a good source for mass production of these valuable compounds.

**Key words:** *Bifidobacteria*, *Bifidobacterium bifidum*, *Sporolactobacillus*, Amino acid, High Pressure Liquid Chromatography, Thin Layer Chromatography

---

\* Corresponding author

**Received:** March 14, 2017 / **Accepted:** July 19, 2017

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها  
سال هفتم، شماره ۲۵، بهار ۱۳۹۷، صفحه ۱۲۷-۱۳۶  
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۲۸

## تولید گلوتامیک اسید و فولیک اسید در پروبیوتیک‌های هوازی و بی‌هوازی

زهرة تقی‌آبادی: دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام‌نور، ایران، taghiabadi\_z@yahoo.com  
مهرآناکوهی‌دهکردی\*: استادیار بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام‌نور، ایران، m.koohi@gmail.com  
گیتی امتیازی: استاد میکروبیولوژی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران، emtiaz@yahoo.com

### چکیده

**مقدمه:** گلوتامیک اسید یکی از مهم‌ترین آمینواسیدها از نظر کاربردهای صنعتی و تجاری است و تولید میکروبی آن از برخی باکتری‌ها گزارش شده است. با توجه به نقش باکتری‌های پروبیوتیک در ارتقای سلامتی انسان و تقاضای روزافزون کاربرد آنها در صنایع غذایی، در پژوهش حاضر تولید آمینواسیدهای گلوتامیک اسید و فولیک اسید با استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک (بیفیدوباکتریوم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و اسپرولاکتوباسیلوس) بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** چند محیط اختصاصی و محیط MRS آگار برای کشت سویه‌های پروبیوتیک مدنظر استفاده شدند. گلوتامیک اسید موجود در ریزموجودات با کروماتوگرافی لایه نازک بررسی و میزان فولیک اسید با کیت فولات اندازه‌گیری شد. هر کدام از باکتری‌ها نیز از نظر کمی و کیفی با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد اندازه‌گیری شدند.

**نتایج:** تولید گلوتامیک اسید در باکتری‌های پروبیوتیک مطالعه شده بر اساس باندهای حاصل از کروماتوگرافی لایه نازک و نتایج کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد تأیید شد. همچنین، فولیک اسید در سه باکتری مطالعه شده تولید شد. میزان فولات در باکتری بیفیدوباکتریوم، ۳۱۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد که از دو باکتری دیگر بیشتر بود.

**بحث و نتیجه‌گیری:** در پژوهش حاضر، برای نخستین بار تولید میکروبی گلوتامیک اسید و فولات از پروبیوتیک‌های مطالعه شده گزارش شد. این باکتری‌های سودمند منبع مناسبی برای تولید انبوه ترکیبات ارزشمند یادشده هستند و باید بهینه‌سازی و استفاده شوند.

**واژه‌های کلیدی:** بیفیدوباکتریوم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، اسپرولاکتوباسیلوس، آمینواسیدها، کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد، کروماتوگرافی لایه نازک

\* نویسنده مسئول مکاتبات

## مقدمه

واژه «پروبیوتیک» از دهه ۱۹۶۰ میلادی استفاده شد و به معنای «برای حیات» است (۱ و ۲). سازمان جهانی غذا و کشاورزی (FAO) و سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال ۲۰۰۱ تعریف مشترکی برای پروبیوتیک‌ها منتشر کردند و آنها را ریزموجودات زنده‌ای دانستند که مصرف مقادیر کافی آنها موجب بروز آثار مفیدی بر سلامت میزبان خواهد شد (۳). این مکمل‌های غذایی میکروبی با بهبودبخشیدن به تعادل میکروبی روده، آثار سودمندی بر افزایش توان دفاعی میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا دارند (۴-۶). معمول‌ترین ریزموجودات پروبیوتیک جزو باکتری‌ها و مخمرها هستند؛ برخی از این ریزموجودات، سویه‌های انتخابی لاکتوباسیلوس<sup>۱</sup> و بیفیدوباکتریوم<sup>۲</sup> هستند و سویه‌هایی از اسپورولاکتوباسیلوس<sup>۳</sup>، انتروکوکوس<sup>۴</sup>، استرپتوکوکوس<sup>۵</sup> و اشرشیاکلی<sup>۶</sup> نیز به این منظور استفاده می‌شوند (۷ و ۸). با وجود این، بیشتر باکتری‌هایی که به‌عنوان پروبیوتیک انتخاب می‌شوند، از جنس بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیل‌ها هستند (۵ و ۸).

آثار مفیدی از بیفیدوباکتریوم‌ها گزارش شده‌اند که از جمله آنها عبارتند از: جلوگیری از بروز اسهال و کاهش آن (۹ و ۱۰)، کم کردن آثار عدم تحمل لاکتوز (۱۰ و ۱۱)، کاهش میزان کلسترول (۱۲ و ۱۳)، فعالیت ضد میکروبی (۱۴ و ۱۵)، فعال‌سازی سیستم ایمنی بدن (۱۶)، فعالیت ضد سرطانی (۱۷ و ۱۸)، تولید ویتامین و آمینواسیدها (۱۹ و ۲۰). از سال ۱۹۵۰، تولید تجاری آمینواسیدها از ریزموجودات استفاده شده است (۲۱) و (۲۲)؛ برای نمونه، از باکتری‌های متفاوتی مانند کورینه‌باکتریوم<sup>۷</sup>، بریوی‌باکتریوم<sup>۸</sup>، باسیلوس<sup>۹</sup>

اینتروباکتریوم<sup>۹</sup> و میکوباکتریوم<sup>۱۰</sup> برای تولید آمینواسیدها استفاده شده است و اسیدهای آمینه L-گلوتامات، L-والین، L-آلانین، L-گلوتامین و L-پرولین تولید شده‌اند (۲۲ و ۲۳). با وجود این، گلوتامیک‌اسید به علت اهمیتی که دارد، بیشتر از سایر آمینواسیدها بررسی شده است. گلوتامیک‌اسید، آمینواسید چندمنظوره‌ای است که در حس چشایی، تحریکی، انتقال عصبی و متابولیسم نقش واسطه دارد (۲۴)، پیش‌ماده ویژه سایر آمینواسیدها (۲۵ و ۲۶) و انتقال‌دهنده عصبی تحریکی اصلی در مغز و ماده مهم در سوخت‌وساز بدن است (۲۶).

باکتری‌های لاکتیک‌اسید بسیاری سنتزکننده ویتامین‌های گروه B گزارش شده‌اند (۲۷ و ۲۸)؛ برای نمونه، باکتری‌های لاکتوکوکوس و لاکتوباسیلوس برای تولید فولیک‌اسید مطالعه شده‌اند (۲۸ و ۲۹). فولیک‌اسید (PGA<sup>۱۱</sup>) شامل P-آمینوبنزوئیک‌اسید است که در یک انتها به حلقه پتریدین و در انتهای دیگر به L-گلوتامیک‌اسید متصل شده است (شکل ۱). فولیک‌اسید ویتامینی است که در انتقال گروه‌های یک کربنه نقش و در بسیاری از مسیرهای بیوشیمیایی مانند بیوزنز گروه متیل، سنتز نوکلئوتیدها، ویتامین‌ها و برخی آمینواسیدها شرکت دارد. وجود فولیک‌اسید و در دسترس بودن آن بر کارایی همانندسازی، ترمیم و متیلاسیون DNA تاثیر می‌گذارد (۳۰-۳۲).

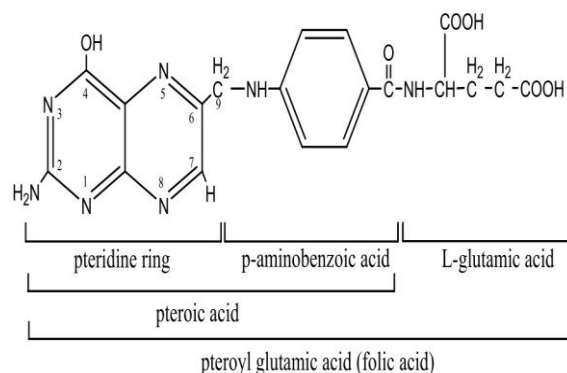
با توجه به اهمیت پروبیوتیک‌ها و کاربرد روزافزون این ریزموجودات در صنایع مختلف، در پژوهش حاضر امکان تولید دو ماده ارزشمند گلوتامیک‌اسید و فولیک‌اسید از سه باکتری پروبیوتیک بررسی شد.

محیط کشت انتخابی بیفیدوباکتریوم و محیط کشت MRS آگار به دو روش اورلی<sup>۱۳</sup> و مخلوط استفاده شد. باکتری استاندارد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نیز طبق دستور سازمان پژوهش های علمی صنعتی ایران کشت شد. سپس از کلنی ها، لام گرفته شد و پس از رنگ آمیزی با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. نمونه ها به شکل مایع و جامد در دو محیط یاد شده کشت شدند و رشد باکتری ها با دستگاه اسپکتوفتومتری در طول موج ۶۰۰ نانومتر و در سه تکرار اندازه گیری شد.

از آزمون های فولیک اسید و کروماتوگرافی لایه نازک به ترتیب برای سنجش فولیک اسید و گلو تامیک اسید استفاده شد. سه باکتری بیفیدوباکتریوم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و اسپرولاکتوباسیلوس جداگانه کشت و آزمون های فولیک اسید و کروماتوگرافی لایه نازک برای هر نمونه انجام شدند. برای تأیید بیشتر، سنجش کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد استفاده شد.

### نتایج

**تولید آمینو اسید گلو تامیک اسید در باکتری های پروبیوتیک مطالعه شده:** بر اساس نتایج آزمون کروماتوگرافی کاغذ با لایه نازک، هر سه پروبیوتیک مطالعه شده در پژوهش حاضر، آمینو اسید گلو تامیک اسید را تولید کردند. در کروماتوگرافی لایه نازک، آمینو اسید استاندارد گلو تامیک اسید در  $R_f = 0/3$  (R= مسافتی که جسم طی کرده است / مسافتی که حلال طی کرده است) اندازه گیری شد که با  $R_f$  اندازه گیری شده در سه پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم و اسپرولاکتوباسیلوس موجود در کپسول پروبیوتیک و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم مطابقت داشت ( $R_f = 0/3$ ) در باندهای اندازه گیری شده از کروماتوگرافی لایه نازک هر سه پروبیوتیک مشاهده شد.



شکل ۱- ساختار فولیک اسید، برگرفته از لی بلنک و همکاران (۳۹)

### مواد و روش ها

**باکتری های استفاده شده:** در پژوهش حاضر، سه باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم، اسپرولاکتوباسیلوس (جداشده از کپسول شکم باریک<sup>۱۴</sup>) و باکتری استاندارد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC 1644)، استفاده شدند. کپسول شکم باریک از شرکت EAFIT Minceur Active فرانسه و باکتری استاندارد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC 1644) از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند.

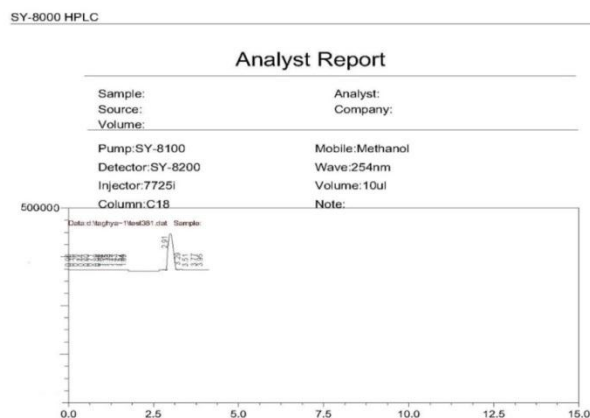
**محیط کشت های استفاده شده:** برای کشت باکتری ها چند محیط کشت بی هوازی شامل محیط کشت انتخابی بیفیدوباکتریوم (۳۳)، محیط کشت ویژه بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (پیتون کازئین: ۸ گرم/لیتر، عصاره مخمر: ۱۰ گرم/لیتر، گلوکز: ۱۰ گرم/لیتر، فسفات پتاسیم دی بازیک: ۳ گرم/لیتر، توئین ۸۰: ۱ میلی لیتر)، محیط کشت تلفیقی (نوترینت براث: ۸ گرم/لیتر، عصاره مخمر: ۴ گرم/لیتر، استات سدیم: ۴ گرم/لیتر، سولفات منگنز: ۰/۰۴ گرم/لیتر، پیتون کازئین: ۸ گرم/لیتر، سولفات منیزیم: ۰/۱۶ گرم/لیتر، فسفات پتاسیم دی بازیک: ۱/۶ گرم/لیتر) و محیط کشت MRS آگار استفاده شد.

**کشت باکتری های پروبیوتیک و بررسی ترکیبات آنها:** برای کشت کپسول پروبیوتیک (شکم باریک) از

بررسی شده در پژوهش حاضر (بیفیدوباکتریوم و اسپرولاکتوباسیلوس موجود در کپسول پروبیوتیک و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم) ارائه نشده است و از نوآوری‌های پژوهش حاضر محسوب می‌شود.

**نتایج آزمون کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد در پروبیوتیک‌های مطالعه‌شده:** مطابق نتایج دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی زیاد (HPLC)، باند آمینواسید استاندارد گلوتامیک‌اسید در دقیقه ۲/۹۱ قرار گرفت که در دو باکتری بیفیدوباکتریوم و اسپرولاکتوباسیلوس به ترتیب در دقیقه‌های ۲/۹۳ و ۲/۹۱ نیز اثبات شد. باند حاصل از باکتری استاندارد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در دقیقه ۲/۹۹ قرار گرفت و تقریباً تأیید می‌شود (شکل‌های ۲-۵). گفتنی است با توجه به جداسازی و تهیه باکتری بیفیدوباکتریوم از کپسول‌های آماده، در پژوهش حاضر تنها امکان تولید این آمینواسید بررسی و تولید آن با کروماتوگرافی تأیید شد.

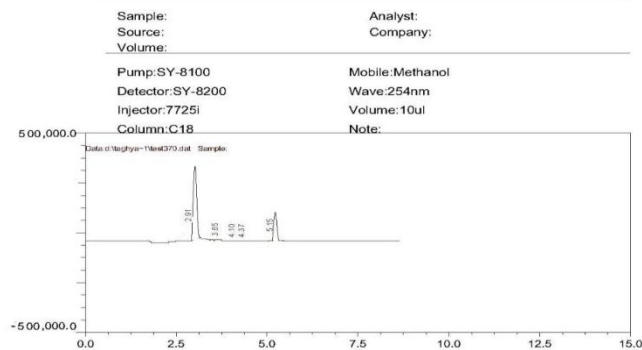
تولید آمینواسید گلوتامیک‌اسید از باکتری‌های بسیاری گزارش شده است؛ برای نمونه، در بررسی کینوشیتا<sup>۱۵</sup> و همکاران (۳۴)، تولید گلوتامیک‌اسید از باکتری میکروکوکوس گلوتامیکوم و کورینه‌باکتریوم گزارش شده است. در بررسی دیگر، کوی‌چا و فوستر (۳۵)، تولید گلوتامیک‌اسید را از باکتری باسیلوس استرین 14B22 گزارش کردند. امین<sup>۱۶</sup> و همکاران (۳۶) نیز تولید L-گلوتامیک‌اسید را از باکتری کورینه‌باکتریوم گلوتامیکوم ATCC گزارش کردند. در بررسی زلن<sup>۱۷</sup> و همکاران (۳۷)، تولید گلوتامیک‌اسید از باکتری لاکتوباسیلوس گزارش شده است. نتایج بررسی‌های تارک و مصطفی<sup>۱۸</sup> (۳۸)، تولید گلوتامیک‌اسید را از گونه‌های LAB مانند باکتری لاکتوباسیلوس پاراماسی و گونه‌های دیگر نشان داده است. با وجود این، اگرچه تولید گلوتامیک‌اسید از باکتری‌های متفاوتی گزارش شده است، تاکنون گزارشی از باکتری‌های پروبیوتیک



شکل ۲- باند ارائه‌شده آمینواسید استاندارد گلوتامیک‌اسید با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد، باند ارائه‌شده در دقیقه ۲/۹۱ نشان داده شده است.

SY-8000 HPLC

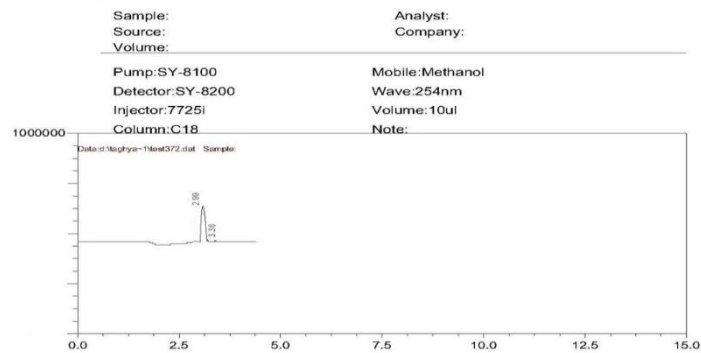
## Analyst Report



شکل ۳- باند ارائه شده آمینو اسید گلو تامیک اسید در باکتری اسپرولاکتوباسیلوس با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد، باند ارائه شده در دقیقه ۲/۹۱ نشان داده شده است.

SY-8000 HPLC

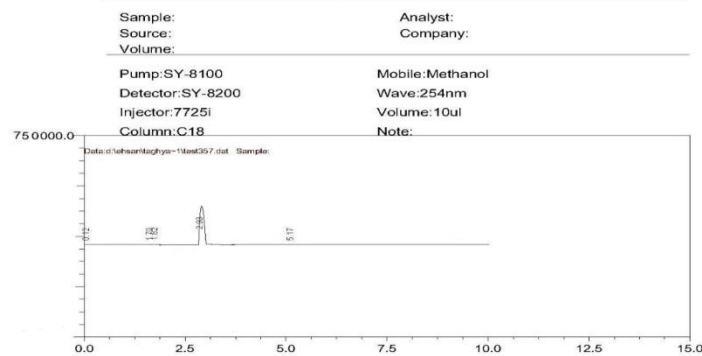
## Analyst Report



شکل ۴- باند ارائه شده آمینو اسید گلو تامیک اسید در باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد، باند ارائه شده در دقیقه ۲/۹۹ نشان داده شده است.

SY-8000 HPLC

## Analyst Report



شکل ۵- باند ارائه شده آمینو اسید گلو تامیک اسید در باکتری بیفیدوباکتریوم با دستگاه کروماتوگرافی مایع با فشار زیاد، باند ارائه شده در دقیقه ۲/۹۳ نشان داده شده است.

تولید فولیک‌اسید از باکتری *Leuconostoc lactis*، ۴۵ میکروگرم/لیتر گزارش شد.

در پژوهش حاضر، میزان تولید فولیک‌اسید از باکتری اسپرولاکتوباسیلوس، ۲۵۲ میلی‌گرم/میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد که بسیار بیشتر از میزان فولیک‌اسید تولیدشده از لاکتوباسیلوس و باکتری‌های یادشده است. تاکنون تولید فولیک‌اسید از اسپرولاکتوباسیلوس گزارش نشده بود و یکی دیگر از نوآوری‌های پژوهش حاضر است.

جدول ۱- نتایج آزمون فولیک‌اسید سه پروبیوتیک مطالعه‌شده با روش ECLIA

میزان (میلی‌گرم/میلی‌لیتر)	آزمون فولیک‌اسید
۳۱۵	بیفیدوباکتریوم
۲۵۲	اسپرولاکتوباسیلوس
۱۴۷	بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (استاندارد)

### بحث و نتیجه‌گیری

پروبیوتیک‌ها، ریزموجوداتی هستند که اگر به تعداد کافی و به‌شکل زنده استفاده شوند، آثار سلامت‌بخشی بر میزبان خود به جا می‌گذارند. غذاهای پروبیوتیک، جزو غذاهای فراسودمند و بیشتر باکتری‌های پروبیوتیک استفاده‌شده در غذاها جزو باکتری‌های لاکتیک‌اسید هستند و عمده به دو جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم تعلق دارند (۴۴-۴۶). در جهان، استفاده از بیشتر ریزموجودات پروبیوتیک به علت بی‌خطر و حتی مفیدبودن آنها بسیار گسترده است.

همان‌طور که گفته شد از سال ۱۹۵۰، تولید آمینواسیدها از ریزموجودات به‌طور تجاری استفاده شده است (۱۲ و ۲۲). آمینواسیدها جزو مواد باارزش و مفید در طبیعت هستند و کاربردهای فراوانی در صنایع

### تولید فولیک‌اسید در باکتری‌های پروبیوتیک

مطالعه‌شده: بر اساس نتایج، باکتری بیفیدوباکتریوم جداشده از کپسول (شکم باریک) بیشترین مقدار فولیک‌اسید (۳۱۵ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) را تولید کرد. میزان فولیک‌اسیدی که باکتری‌های اسپرولاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در پژوهش حاضر تولید کردند به ترتیب ۲۵۲ و ۱۴۷ میلی‌گرم/میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد (جدول ۱). این میزان تولید فولیک‌اسید از باکتری‌های یادشده برای نخستین بار گزارش می‌شود.

باکتری‌های لاکتیک‌اسید بسیاری سنتزکننده ویتامین‌های گروه B گزارش شده‌اند (۲۷ و ۲۸)؛ برای نمونه، باکتری‌های لاکتوکوکوس و لاکتوباسیلوس برای تولید فولیک‌اسید بررسی شده‌اند (۲۸ و ۲۹). تولید فولات از گونه‌های لاکتوباسیلوس پلانتراروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به ترتیب ۴۵ و ۱ میکروگرم/لیتر گزارش شده است (۳۹). در بررسی دیگر، قبادی‌دانا و همکاران (۳۲) بیشترین میزان فولیک‌اسیدی که گونه‌هایی از جنس لاکتوباسیلوس تولید می‌کنند را ۶۲ نانوگرم/گرم گزارش کردند. شن (۴۰)، میزان تولید فولیک‌اسید از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی را ۹۶ نانوگرم/گرم گزارش کرد.

تولید فولیک‌اسید از باکتری‌های دیگری نیز گزارش شده است؛ برای نمونه، هاگن هولتز<sup>۱۹</sup> و همکاران (۴۱) بیشترین میزان تولید فولیک‌اسید در جنس پروپونی‌باکتریوم را از باکتری *Propionibacterium jensenii* و به مقدار ۱۷ تا ۷۸ میکروگرم/لیتر گزارش کردند، در حالی که یانگ و لین<sup>۲۰</sup> (۴۲) میزان فولیک‌اسید تولیدی از باکتری *Streptococcus thermophilus* را ۶۲ نانوگرم/گرم گزارش کردند. بر اساس نتایج پژوهش سیمبسا و همکاران (۴۳)، میزان

- (2) Knut J. Probiotic bacteria in fermented foods product characteristics and starter organisms. *American Journal of Clinical Nutrition* 2001; 73(2): 374-379.
- (3) FAO/WHO. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria In Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Live Lactic Acid Bacteria. Córdoba, Argentina 2001; WHO: Geneva, Switzerland. 1-34.
- (4) Yumnam S., Prasanna B., Oriabinska LB., Khrokalo LA., Dugan OM. Optimization of tannase positive probiotic production by surface response methodology. *Biotechnologia acta*. 2014; 7(5): 62-70.
- (5) Kober MM., Bowe WP. The effect of probiotics on immune regulation, acne, and photoaging. *International Journal of Women's Dermatology* 2015; 1-5.
- (6) Yilmaz-Ersan L., Ozcan T., Akpinar-Bayazit A., Ali Turan M., Taskin MB. probiotic cream: viability of probiotic bacteria and chemical characterization. *Journal of Food Processing and Preservation* 2017, 41: e12797.
- (7) Brown AC., Valiere A. Probiotics and medical nutrition therapy. *Nutrition in Clinical Care* 2004; 7: 56-68.
- (8) Shokri Z., Fazeli MR., Ardjmand M., Mousavi SM., Gilani K. Factors affecting viability of *Bifidobacterium bifidum* during spray drying. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015; 23(7): 1-9.
- (9) Daivid M., Gibson GR. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Journal of Clinical Nutrition* 1999; 69(1): 1052-1057.
- (10) Khomeiri M., Ghodduzi HB., Mortazavi A., Khamessan A., Ahmad D., Shahidi F. Isolation identification and distribution of *Bifidobacterium* ssp. in some Iranian Subjects. *Journal of Agrictural Science and Natural Resource* 2005; 12(3): 33-44.

دارویی، شیمیایی، غذایی، بهداشتی و آرایشی دارند (۴۷). فولات نیز یکی از مهم ترین ویتامین های گروه B است و تولید فولیک اسید از بیفیدوباکتریوم گزارش شده است.

با توجه به استفاده روزافزون پروبیوتیک ها در صنایع مختلف و آثار این ریز موجودات بر سلامتی انسان، هدف پژوهش حاضر بررسی تولید گلو تامیک اسید و فولیک اسید از سه باکتری مفید پروبیوتیک (بیفیدوباکتریوم، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و اسپرولاکتوباسیلوس) بود. میزان فولیک اسید تولیدی از بیفیدوباکتریوم موجود در کپسول پروبیوتیک (شکم باریک)، ۳۱۵ میلی گرم/میلی لیتر و در باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم استاندارد بررسی شده، ۱۴۷ میلی گرم/میلی لیتر اندازه گیری شد که بیشتر از نتایج گزارش شده در پژوهش های دیگر بود.

هر سه پروبیوتیک مطالعه شده در پژوهش حاضر، گلو تامیک اسید تولید کردند. تولید گلو تامیک اسید از باکتری های متفاوتی گزارش شده است اما تاکنون باکتری های پروبیوتیک به این منظور استفاده نشده بودند. با توجه به تأیید توانایی تولید گلو تامیک اسید در هر سه باکتری و پروبیوتیک بودن این باکتری ها، به نظر می رسد بهینه سازی و تولید آمینواسیدهای مدنظر از باکتری های مفید یاد شده در آینده امیدبخش باشد.

## References

- (1) Farahbakhsh M., Hakimi H., BAbadi R, Zolfaghari MR., Doraki N. Isolation of probiotic lactobacilli from traditional yogurts produced in Rural areas of Rafsanjan and their antimicrobial effects. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences* 2013; 12(9): 733-746.



- (11) Fooks LJ, Fuller R., Gibson GR. Prebiotics, probiotics, and human gut microbiology. *International Dairy Journal* 1999; 9(2): 53-61.
- (12) Granato D., Branco GF., Gomes Cruz A., Fonseca Faria AJD., Shah. NP. Probiotic Dairy Products as Functional Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2010; 9: 455-470.
- (13) Pereira DIA., Gibson GR. Cholesterol assimilation by *lactic acid bacteria* and *bifidobacteria* isolated from the human gut. *Applied and Environmental Microbiology* 2002; 68(9): 4689-4693.
- (14) Ross Villa C. The impact of *Bifidobacterium bifidum* and its surface protein BopA on the murine intestinal barrier and endogenous microbiota composition [Dissertation]. Toronto: Nutritional Sciences Univ; 2011.
- (15) Amnah A., Rayes H. Enhancement of probiotic bioactivity by some prebiotics to produce biofermented milk. *Life Science Journal* 2012; 9(3): 2246-2253.
- (16) Park JH., Um JI., Lee BJ., Goh JS., Park SY., Kim WS., et al. Encapsulated *Bifidobacterium bifidum* potentiates intestinal IgA production. *Cellular Immunology* 2002; 219(1): 22-27.
- (17) Hirayama K., Rafter J. The role of probiotic *bacteria* in cancer prevention. *Microbes Infect* 2000; 2(5): 681-686.
- (18) Granato D., Branco GF., Cruz AG., Faria JAF., Nazarro F. Functional foods and non-dairy probiotic food development: Trends, concepts and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2010; 9: 292-302.
- (19) He C., Man H., Guiwei S., Qi M., Tao Q. Effect of prebiotics on growth of *Bifidobacterium bifidum*. International Conference on Human Health and Biomedical engineering, Jilin, China, 2011; 980-984.
- (20) Crittenden RG., Martinez NR., Playne MJ. Synthesis and utilization of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. *International Journal of Food Microbiology* 2003; 80: 217-222.
- (21) Nadeem S., Ahmad SM. Amino acid fermentation: a recent perspective. *Proceedings-Pakistan Academy of Sciences* 1999; 36: 193-206.
- (22) Hassan B., Asghar M., Nadeem S., Zubair H., Muzammil HM., Shahid M. Isolation and screening of amino acids Producing Bacteria from Milk. *Biotechnology* 2003; 2(1): 18-29.
- (23) Bona R., Moser A. Modeling of L-glutamic acid production with *Corynebacterium* under biotin limitation. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly* 1988; 12: 25-29.
- (24) Kondoh T., Mallick HN., Torii K. Activation of the gut-brain axis by dietary glutamate and physiologic significance in energy homeostasis. *American Journal of Clinical Nutrition* 2009; 90: 832-837.
- (25) Inoue K., Shirai T., Ochiai H., Kasao M., Hayakawa K., Kimura M., Sansawa H. Blood pressure lowering effect of a novel fermented milk containing g amino butyric acid (GABA) in mild hypertensive. *European Journal of Clinical Nutrition* 2003; 27: 490-495.
- (26) Zareian M., Ebrahimpour A., Bakar FA., Mohamed AKS., Forghani Bo MSB., Saari NA. Glutamic Acid-Producing Lactic Acid Bacteria Isolated from Malaysian Fermented Foods. *International Journal of Molecular Sciences* 2012; 5482-5497.
- (27) Naidu AS., Bidlack WR., Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 1999; 38: 13-126.
- (28) Ahire JJ., Patil KP., Chaudhari BL., Chincholkar SB. A potential probiotic culture ST2 produces siderophore 2,3-dihydroxybenzoylserine under intestinal conditions. *Food Chemistry* 2011; 10: 120-126.

- (29) Gangadharan D., Sivaramkrishnan S., Pandey A., Nampoothiri MK. Folate producing lactic acid bacteria from cow's Milk with probiotics characteristics. *International Journal of Dairy Technology* 2010; 63: 339-348.
- (30) Pompei A., Cordisco L., Amaretti A., Zanoni S., Matteuzzi D., Ross M. Folate Production by Bifidobacteria as a Potential Probiotic Property. *Applied and environmental microbiology* 2007; 179-185.
- (31) Jacob RA. Folate, DNA methylation, and gene expression, factors of nature and nurture. *American Journal of Clinical Nutrition* 2000; 72: 903-904.
- (32) Ghobadi Dana M., Hatf Salmanian A., Yakhchali B., RastegarJazi F. High folate production by naturally occurring Lactobacillus with probiotics potential isolated from dairy products in Ilam and Lorestan provinces of Iran. *African Journal of Biotechnology* 2013; 9: 5383-5391.
- (33) Ronald M. *Hand book of Microbiological Media*. Fourth ed. CRC Press; 2010.
- (34) Kinoshita S., Tanaka K., Udaka S., Akita S. Glutamic acid fermentation. *proceedings of the international symposium on enzyme chemistry* 1957; 2: 464-468.
- (35) Kwei-Chao C., Foster JWA. Glutamic acid producing Bacillus. *Journal of Bacteriology* 1959; 77(6): 715-725.
- (36) Amin GA., Al-Talhi A. Production of L-glutamic acid by immobilized cell reactor of the bacterium *Corynebacterium glutamicum* entrapped into carrageenan gel beads. *World Applied Sciences Journal* 2007; 2(1): 62-67.
- (37) Zalán Z., Hudáček J., Štětina J., Chumchalová J., Halász A. Production of organic acids by *Lactobacillus* strains in three different media. *European Food Research and Technology* 2010; 230(3): 395-404.
- (38) Tarek M., Mostafa HE. Screening of potential infants' lactobacilli isolates for amino acids production. *African Journal of Microbiology Research* 2010; 4: 226-232.
- (39) LeBlanc JG., de Giori GS. و Smid EJ., Hugenholtz J., Sesma F. Folate production by lactic acid bacteria and other food-grade microorganisms In: Méndez-Vilas. editor. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*. Badajoz, Spain: Formatex Research Center; 2007: 329-339.
- (40) Shane B. Folate status assessment history: implications for measurement of biomarkers in NHANES. *American Society for Nutrition* 2011; 94(1): 337-342.
- (41) Hugenholtz J., Hunik J., Santos H., Smid E. Nutraceutical production by propionibacteria. *Dairy Science and Technology* 2002; 82(1): 103-112.
- (42) Lin MY., Young CM. Folate levels in cultures of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 2000; 10(5): 409-413.
- (43) Sybesma W., Starrenburg M., Tijsseling L., Hoefnagel MH., Hugenholtz J. Effects of cultivation conditions on folate production by lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 2003; 69: 4542-4548.
- (44) Harish K., Varghese T. Probiotics in humans-evidence based review. *Calicut Medical Journal* 2006; 4(4): 3.
- (45) Homayouni A., Azizi A., Ehsani MR., Yarmand MS., Razavi SH. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry* 2008; 111: 50-55.
- (46) Suvarna VC., Bobby VU. Probiotics in human health: A current assessment. *Current Science* 2005; 8(11): 1744-1748.
- (47) Davati, N., Hamidi Esfahani, Z., and Shojaosadati, SA. Optimization of medium composition for microbial production of glutamic acid from Date fruit wastes using fractional factorial method. *Food Science and Technology* 2010; 7(2): 61-66.

- 
- 1- *Lactobacillus*
  - 2- *Bifidobacterium*
  - 3- *Sporolactobacillus*
  - 4- *Enterococcus*
  - 5- *Streptococcus*
  - 6- *Escherichia coli*
  - 7- *Corynebacterium*
  - 8- *Brevibacterium*
  - 9- *Enterobacterium*
  - 10- *Mycobacterium*
  - 11- Pteroyl glutamic acid
  - 12- Belly Slim
  - 13- Overlay
  - 14- Retardation factor (R)
  - 15- Kinoshita
  - 16- Amin
  - 17- Zalán
  - 18- Tarek and Mostafa
  - 19- Hugenholtz
  - 20- Lin and Young