مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۷، شماره ٦، بهمن و اسفند۱۳۹۱(شماره پی در پی ۷۲)

استفاده از باکتری آمونیفیلوس اگزالاتیکوس به عنوان پروبیوتیک در صنایع کنسروسازی اسفناج به منظور کاهش اگزالات

محمود نارکی[۱]، گیتی امتیازی[۲*]

[۱] مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران، [۲] گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/٦/۱۸

چکیده

زمینه و هدف: حدود ۷۵ درصد سنگ‌های ادراری از کلسیم اگزالات تشکیل می‌شوند. گونه اسفناج به عنوان یک گیاه حاوی اگزالات بالا شناسایی شده است. هدف این مطالعه بررسی استفاده از باکتری آمونیفیلوس اگزالاتیکوس به عنوان پروبیوتیک در صنایع کنسروسازی اسفناج به منظور کاهش اگزالات بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی سویه باکتری آمونیفیلوس اگزالاتیکوس به روش مولکولی شناسایی شد. بیومس باکتری تهیه شد و وزن‌تر آن سنجیده شد. عصاره رقیق شده و رقیق نشده اسفناج با بیومس باکتری مخلوط و انکوبه شد. همچنین عصاره رقیق شده اسفناج با سوسپانسیون آنزیمی‌باکتری مخلوط و انکوبه گردید. غلظت اگزالات با کیت تشخیص اگزالات سنجیده شد.

یافته‌ها: سویه جدا شده آمونیفیلوس اگزالاتیکوسDIM در سایت NCBI با شماره پذیرش HQ398365 ثبت شده است و این سویه توانست ۹۸/۳ درصد مقدار اگزلات را در عصاره رقیق شده و۵۱/۵٤ درصد مقدار اگزالات را در عصاره رقیق نشده اسفناج کاهش داد.

نتیجه‌گیری: سویه آمونیفیلوس اگزالاتیکوس DIM می‌تواند یک کاندیدای مناسب پروبیوتیک برای کاهش اگزالات در بدن باشد. همچنین می‌توان از این باکتری در محصولات کنسرو شده دارای اگزالات بالا مانند اسفناج برای کاهش میزان اگزالات و مطلوب کردن این محصولات استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: آمونیفیلوس، اگزالات، اسفناج، پروبیوتیک

[*] **نویسنده مسئول: دکتر گیتی امتیازی**، اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

Email:emtiazi@yahoo.com

مقدمه

اگزالیک اسید یک اسید قوی به شدت اکسید شده است که به صورت گسترده در طبیعت، گیاهان و حیوانات و همچنین در میان انواع وسیعی از قارچها و میکروارگانیسمها وجود دارد(۱). به دلیل ماهیت شیمیایی آن، بار انرژی پایین و سمی بودن، اکثر باکتری‌ها نمی‌توانند از آن به عنوان منبع انرژی استفاده کنند(۲). باکتری‌هایی که روی اگزالات رشد می‌کنند با مشکلات بیوانرژیتیک و شیمیایی مواجه می‌شوند، اما دو گروه اصلی از باکتری‌های تجزیه کننده اگزالات وجود دارند. بعضی از آنها عمومی هستند یعنی می‌توانند خیلی از سوبستراهای دیگر و همچنین اگزالات را تخمیر کنند، در حالی که بعضی اختصاصی هستند که از اگزالات به عنوان تنها منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند(۳). سطح بالای اگزالات در انسان می‌تواند تأثیر مضر و خورنده داشته باشد. این ماده می‌تواند عامل برخی از بیماری‌های پزشکی مانند هیپراگزالاریا و نقص کلیوی و ایجاد سنگ‌های ادراری اگزالات کلسیم باشد(۵ و۴).

اسفناج یک منبع عالی از مواد معدنی و ویتامین‌ها به شمار می‌رود. این مواد شامل؛ ویتامین K، ویتامین A، منگنز، منیزیم، فولیک اسید، آهن، ویتامین C، ویتامینB2 و پتاسیم می‌باشند(۶). همچنین دارای مقدار زیادی فیبر، امگا-۳ نیز می‌باشد(۷). ثابت شده است که اسفناج حاوی آنتی‌اکسیدان‌هایی از کاروتنوئیدها و پلی‌فنل‌ها نیز می‌باشد(۹ و۸). مید و همکاران[1](۲۰۱۰) تأثیر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در اسفناج را بر روی سلول‌های سرطانی بررسی کردند و گزارش دادند که این آنتی‌اکسیدان‌ها تأثیر معنی‌داری روی رشد سلول‌های سرطانی دارند(۱۰).

در بین گیاهان، بیشترین غلظت اگزالات در خانواده‌های پلی‌گناسه، آمارانتاسه و کنوپدیاسه وجود دارد. از بین گونه‌هایی که در این خانواده‌ها وجود دارند اسفناج دارای بیشترین مقدار اگزالات است(۱۱). بنابراین اسفناج علاوه بر این که حاوی مقدار زیادی مواد مغذی می‌باشد، به عنوان یکی از محصولاتی که حاوی بیشترین مقدار اگزالیک اسید است به حساب می‌آید. اگزالیک اسید در اسفناج، به صورت اسید آلی و همچنین کریستال‌های معدنی که به صورت نمک‌های محلول مانند پتاسیم، سدیم و روی و نمک‌های غیر محلول مانند کلسیم، منیزیم و آهن وجود دارد. نمک‌های اگزالات غیر محلول در روده نمی‌توانند جذب شوند و به وسیله مدفوع دفع می‌شوند. در نتیجه این عمل در دسترس بودن و جذب کلسیم، آهن و منیزیم که در اسفناج وجود دارد، کاهش پیدا می‌کند(۱۲). از آنجا که انسان‌ها فاقد آنزیم‌های لازم برای متابولیز کردن اگزالات هستند، بنابراین جذب اگزالات محلول باعث ایجاد هیپراگزالاریا و سپس تشکیل سنگ در بدن می‌شود(۱۴ و۱۳). تحقیقات در افراد سالم نشان می‌دهد که بیش از ۵۰ درصد اگزالات

1-Maed et al

ادراری از رژیم غذایی حاوی اگزالات منشاء می‌گیرد(۱۵).

هدف این مطالعه بررسی استفاده از باکتری آمونیفیلوس اگزالاتیکوس به عنوان پروبیوتیک در صنایع کنسروسازی اسفناج به منظور کاهش اگزالات بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه اصفهان انجام شد. باکتری مورد استفاده در این پژوهش با استفاده از غنی‌سازی و غربالگری در محیط اختصاصی اگزلات OM2 جداسازی شده و با استفاده از روش های بیوشیمیایی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفت(۱۶). جهت شناسایی مولکولی از روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز[1] استفاده شد. استخراج DNA بر اساس روش کویپی- ارتانو و همکاران[2](۲۰۰۸) انجام گرفت(۱۷). واکنش زنجیره‌ای پلی مراز بر طبق روش تروتا و همکاران[3](۲۰۰۱) انجام گرفت (۱۸). برای شناسایی سویه جدا شده بر اساس 16sRNA، محصول واکنش زنجیره‌ای پلی مراز به شرکت فزا بیوتک فرستاده شد.

برای به دست آوردن زیست توده سلولی ۲۰۰ میلی‌لیتر از محیط مایع کشت باکتری در ۳۵۰۰ دور به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس وزن تر زیست توده به دست آمده محاسبه شد. برای فراهم کردن سوسپانسیون آنزیمی نیز در ابتدا زیست توده سلولی فراهم شد. سپس در ۷ میلی‌لیتر بافر فسفات نمکی حل شد و کدورت نهایی آن ۵ به دست آمد. این سوسپانسیون تحت تیمار شکستن با دستگاه سونیکاتور قرار گرفت. برای این منظور سلول‌ها در حمام یخ قرار گرفته و عمل شکستن برای باکتری ۸ بار(در هر بار ۳۰ ثانیه کار و ۱ دقیقه استراحت) انجام شد. در نهایت اجساد خرد شده سلولی به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، به وسیله سانتریفیوژ یخچال دار سانتریفیوژ شدند. سوسپانسیون بالایی برداشته شده و در لوله اپندروف به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد. هم‌چنین میزان پروتئین سوسپانسیون آنزیمی با استفاده از معرف برادفورد و منحنی استاندارد پروتئین محاسبه گردید.

اسفناج از بازار خریداری شد و بعد از تمیز کردن، ۱ کیلوگرم از آن بخارپز شده و عصاره آن بدون اضافه کردن آب گرفته شد. از آنجا که مقدار اگزالات در اسفناج بالا می‌باشد و کیت اگزالات خریداری شده قادر به سنجش اگزالات با غلظت بالای ۰/٦ میلی مولار نبود، عصاره اسفناج یک پنجاه‌ام رقیق گردید و از آن به عنوان نمونه استفاده شد. هم‌چنین کاهش اگزالات در عصاره اسفناج رقیق نشده نیز به وسیله زیست توده باکتری سنجیده شد. تیمارهای مختلف عصاره تهیه شده و به مدت دو ساعت انکوبه

1-Polymerase Chain Reaction(PCR)
2-Queipo-Ortuno et al
3-Trotha et al

شدند. سپس برای گرفتن رنگیزه ها طبق دستور کیت زغال فعال به آن افزوده و به مدت ۵ دقیقه روی شیکر قرار داده شد و سپس با استفاده از سانتریفیوژ صاف گردید. از محلول صاف شده بالایی به عنوان نمونه برای بررسی میزان کاهش اگزالات استفاده شد. جذب نوری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۷۸ نانومتر خوانده شد و در صد کاهش اگزالات با استفاده از منحنی استاندارد اگزالات و اعمال ضریب رقت محاسبه گردید. کیت تشخیص اگزالات استفاده شده در این پژوهش از شرکت درمان کاو تهیه شد.

رشد باکتری جدا شده بر روی محیط‌های مغذی شامل؛ نوترینت آگار، تریپتیکاز سوی آگار، مولر هینتون آگار، برین هارت انفیوژن آگار و در محیط پایه نمکی حاوی استات سدیم(۱۰ گرم در لیتر)، گلوکز(۱۰ گرم در لیتر)، لاکتات(۱۰ گرم در لیتر)، گالاکتوز(۱۰ گرم در لیتر)، پیروات(۱۰ گرم در لیتر) و متانول(۱ گرم درلیتر) بررسی شد. هم‌چنین در آزمایش دیگر پپتون و عصاره مخمر به محیط‌ها اضافه گردید و رشد باکتری بررسی شد.

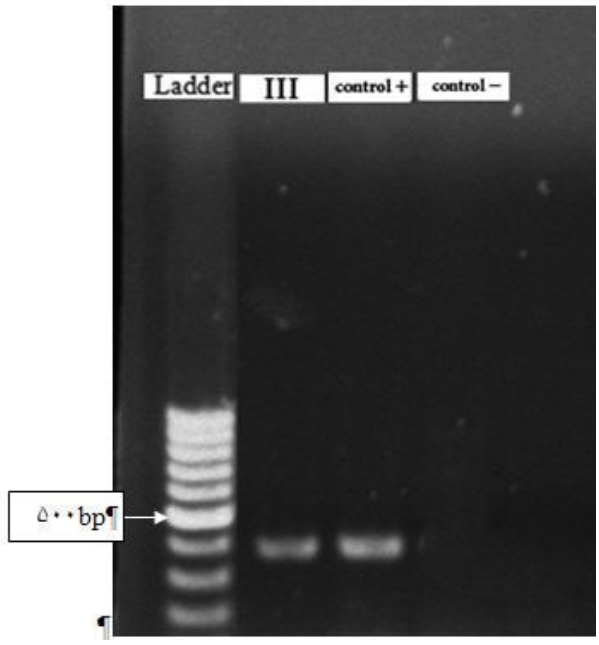
داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار Excel تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

باکتری جدا شده یک باسیل اسپوردار گرم مثبت، دارای کلنی‌های زرد رنگ و محدب، تست کاتالاز مثبت، بی هوازی اختیاری و بدون حرکت بود. هم‌چنین این باکتری با استفاده از روش مولکولی شناسایی شده و به عنوان یک سویه جدید در جنس آمونیفیلوس قرار گرفت که این جنس دارای دو گونه اگزالوترف اجباری می‌باشد که به جز اگزالات از هیچ ماده دیگری استفاده نمی‌کند. این سویه به عنوان *آمونیفیلوس اگزالاتیکوس*DIM نام‌گذاری شده است و در سایت NCBI با شماره پذیرش HQ398365 ثبت شده است . تصویر ۱ محصول الکتروفورز واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز را نشان می‌دهد.

رشد باکتری جدا شده بر روی محیط‌های مغذی و هم‌چنین منابع کربن و نیتروژن نام برده شده انجام گرفت، اما مشاهده شد که سویه جدا شده به جز اگزالات بر روی هیچ کدام از محیط ها و مواد تست شده قادر به رشد نمی‌باشد، بنابراین، این سویه به عنوان یک سویه اگزالوتروف اجباری در نظر گرفته شد.

بر اساس نتایج حاصله، درصد کاهش اگزلات در ۱ میلی‌لیتر عصاره اسفناج بدون رقت به علاوه ۲۲۴ میلی‌گرم وزن تر سویه باکتری ۵۱/۵۴ درصد، در ۱ میلی‌لیتر عصاره اسفناج یک پنجاه‌ام رقیق شده به علاوه ۲۳۸ میلی‌گرم وزن تر سویه باکتری ۹۸/۳ درصد و در ۱ میلی‌لیتر عصاره اسفناج یک پنجاه‌ام رقیق شده به علاوه ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون آنزیمی باکتری (۱/۶۴ میلی‌گرم پروتئین) ۵۷/۹۱ درصد بودند.



تصویر۱: محصول الکتروفوز واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ژن 16s rRNA باکتری آمونیفیلوس اگزالاتیکوس بر روی ژل الکتروفورز (قطعه مارکر، کنترل مثبت، کنترل منفی و III باکتری)

بحث

وقوع بالای عود بیماری سنگ کلیه منجر به افزایش تحقیقات روی نقش احتمالی باکتری‌های تجزیه کننده اگزالات در هموستازی اگزالات، با نگرش به توسعه انتخاب پروبیوتیک برای کنترل هیپراگزالاریا شده است(۱۳). اکثر تحقیقات تا امروز روی اگزالوترف اختصاصی *O.formigenes* متمرکز شده است. این باکتری به خاطر نقشی که در تنظیم و حذف اگزالیک اسید در انسان و حیوانات دارد مورد توجه است، اما از آنجا که کشت دادن این باکتری بی هوازی مشکل پسند دشوار است، تحقیقات روی نقش این باکتری در هموستازی اگزالات را محدود می‌کند و کشت دادن گونه‌های اگزالوباکتر نیازمند شرایط خاص می‌باشد(۱۹). گرچه نتایج به دست آمده یک نگرش امید بخش به سوی استفاده از *O.formigenes* و آنزیم‌های آن برای کنترل اگزالات در بدن موجود زنده را نشان می‌دهد، اما مطالعات هنوز در مرحله اولیه هستند و لازم است که مطالعات با آزمایش‌های کنترل شده و در مقیاس وسیع تر تأیید گردند(۲۰). استفاده از اگزالوتروف های عمومی‌به ویژه لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکتریوم‌ها هم مد نظر قرار گرفته‌اند(۲۱)، اما از آنجا که این باکتری‌ها اگزالوترف عمومی می‌باشند و استفاده از این باکتری‌ها به عنوان پروبیوتیک رضایت‌بخش نبوده و نتایج در مطالعات انجام شده متغیر و معنی‌دار نیست، نیاز به جست و جوی یک باکتری جدید به عنوان پروبیوتیک ضروری است (۲۰). برای این کار باید از بهترین گونه‌های باکتریایی تجزیه کننده اگزالات استفاده شود و به

علاوه باکتری مورد نظر ویژگی‌های پروبیوتیکی خوبی مانند توانایی رشد یا فعالیت در روده و همچنین اختصاصی بودن برای اگزالات را داشته باشد. همان‌طور که گفته شد، باکتری جدا شده فقط از اگزالات به عنوان تنها منبع کربن و انرژی استفاده می‌نماید، از این رو استفاده از آن به عنوان پروبیوتیک می‌تواند یک روش مؤثر برای درمان هیپر اگزالاریا و جلوگیری از سنگ کلیه باشد. البته لازم است در ابتدا سالم بودن این باکتری مورد ارزیابی قرار گیرد. هدف این مطالعه بررسی استفاده از باکتری آمونیفیلوس اگزالاتیکوس به عنوان پروبیوتیک در صنایع کنسروسازی اسفناج به منظور کاهش اگزالات بود.

این مطالعه نشان داد بیومس باکتری جدا شده ۹۸/۳ درصد و سوسپانسیون آنزیمی این باکتری ۵۷/۹۲ درصد مقدار اگزالات موجود در عصاره رقیق شده اسفناج را در طی ۲ ساعت کاهش داد و همچنین نشان داد که بیومس باکتری در طی دو ساعت ۵۱/۵۴ درصد اگزالات موجود در عصاره اسفناج (بدون رقت) را کاهش می‌دهد.

بتشه و فرتزودرف[1](۲۰۰۵) از روش آنزیمی برای کاهش اگزالات در اسفناج استفاده کردند و آنها توانستند با استفاده از اگزالات اکسیداز ریشه غلات مقدار اگزالات در اسفناج را کاهش دهند(۲۲). لاتیکا و همکاران[2](۱۹۹۵) از اگزالات اکسیداز موز به صورت به دام افتاده شده در آلژینات، برای کاهش اگزالات در اسفناج استفاده کردند و گزارش دادند که ۷۸ در صد اگزالات موجود در اسفناج در اثر فعالیت آنزیم تجزیه می‌گردد(۲۳).

نتیجه‌گیری

در مجموع این مطالعه نشان داد که از باکتری آمونیفیلوس اگزالاتیکوس می‌توان در محصولات کنسرو شده دارای اگزالات مانند اسفناج برای کاهش اگزالات و مطلوب کردن این محصولات استفاده نمود و همچنین از این باکتری می‌توان به عنوان یک کاندیدای مناسب پروبیوتیک به منظور کاهش اگزالات در بدن استفاده نمود.

تقدیر و تشکر

این مطالعه حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان می باشد.

1-Betsche & Fretzdorff
2-Lathika et al

REFERENCES

1.Lung HY, Baetz AL, Peck AB. Molecular cloning, DNA sequence and gene expression of the oxalyl-coenzyme A decarboxylase gene*, oxc*, from the bacterium *Oxalobacterformigenes*. Journal of Bacteriology; 1994; 176: 2468–72.
2.Dimorth P, Schick B. Energy conservation in the decarboxylation of dicarboxylic acid by fermenting bacteria. Archives of Microbiology: 1998: 170, 69-70.
3.Sahin N. Oxalotrophic bacteria. Research in Microbiology; 2003; 154, 399–407.
4.Hoppe B, Beck BB, Milliner DS. The primary hyperoxalurias. Kidney International; 2009; 75, 1264–71.
5.Campieri C, Bertuzzi V, Swennen E, Mateeuzzi D, Stefoni S, Pirovano F, et al. Reduction of oxaluria after an oral course of lactic acid bacteria at high concentration. Kidney International; 2001; 60: 1097–105.
6.Morelock TE, CorrellJC. Handbook of plant breeding.*1nd ed. Springer: New York;* 2008; 189- 218.
7.Tang G, Qin J, Dolnikowski GG, Russell RM, Grusak MA. Spinach or carrots can supply significant amounts of vitamin A as assessed by feeding with intrinsically deuterated vegetables. American Journal of Clinical Nutrition; 2005; 82: 821–8.
8.Bakshi S, Bergman M, Dovrat S, Grossman S. Unique natural antioxidants (NAOs) and derived purified components inhibit cell cycle progression by downregulation of ppRb and E2F in human PC3 prostate cancer cells. FEBS Letters; 2004; 573: 31–7.
9.Sai A, Terasaki M, Nagao A. An epoxide-furanoid rearrangement of spinach neoxanthin occurs in the gastrointestinal tract of mice and in vitro: Formation and cytostatic activity of neochrome stereo-isomers. Journal of Nutrition; 2004; 134: 2237–43.
10.Maed N, Yoshida H, Mizushina Y. Spinach and Health: Anticancer effect. Bioactive foods in promoting health. Fruits and Vegetables Academic Press; 2010; 393-405.
11.Siener R, Honow R, Seidler A, Voss S, Hesse A. Oxalate contents of species of the Polygonaceae, Amaranthaceae and Chenopodiaceae families. Food Chemistry; 2006; 98, 220–4.
12.MouB. Evaluation of oxalate concentration in the u.s. spinach germplasm collection. Hortscience; 2008; 43(6): 1690-3.
13.Duncan SH, Richardson AJ, Kaul P, Holmes RP, Allison MJ, Stewart CS. *Oxalobacterformigenes* and its potential role in human health. Applied and Environmental Microbiology 2002; 68: 3841–7.
14.Holmes RP, Kennedy M. Estimation of the oxalate content of foods and daily oxalate intake. Kidney International; 2000; 57: 1662–7.
15.Holmes RP, Goodman HO, Assimos DG. Contribution of dietary oxalate to urinary oxalate excretion. Kidney International 2001; 59: 270–6.
16.Zaitsev GM, Tsitko IV, Rainey FA, Trotsenko YA, Uotila JS, Stackebrandt E, et al. New aerobic ammoniumdependent obligately oxalotrophic bacteria: Description of *Ammoniphilus oxalaticus gen. nov sp nov* and *Ammoniphilus oxalivorans gen nov sp nov*. International Journal of Systematic Bacteriology 1998; 48: 151–63.
17.Queipo-Ortuno MI, Colmenero JD, Macias M, Bravo MJ, Morata P. Preparation of bacterial dna template by boiling and effect of immunoglobulin g as an inhibitor in real-time pcr for serum samples from patients with brucellosis. Clinical and Vaccine Immunology 2008; 15: 293–6.
18.Trotha R, Hanck T, King W, King B. Rapid ribosequencing an effective diagnostic tool for detecting microbial infection. Infection 2001; 29: 12-6.
19.Siva S, Barrack ER, Reddy GP, Thamilselvan V, Thamilselvan S, Menon M, et al. A critical analysis of the role of gut *Oxalobacter formigenes* in oxalate stone disease. British Journal of Urology International *2008*; 103: 18–21.
20.Abratt VR, Reid SJ. Oxalate-Degrading bacteria of the human gut as probiotics in the management of kidney stone disease. Advances in Applied Microbiology 2010; 8: 72.
21.Ferraz RB, Marques NC, Froeder L, Menon, VB, Siliao PR, Baxmann AC, et al. Effects of lactobacillus casei and bifidobacterium breve on urinaryoxalate excretion in nephrolithiasis patients. Urological Research 2009; 37: 95–100.
22.Betsche T, Fretzdorff B. Biodegradation of oxalic acid from spinach using cereal radicles. Journal of Agricultural and Food Chemistery; 2005; 53: 9751-8.
23.Lathika KM, Sharma S, Inamdar KVandRaghavan KG. Oxalate degradation from leafy vegetabeles using alginate enterapped banana oxalate oxidase. Biotechnology Letters; 1995; 17: 407-10.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Application of Ammoniphillus as Probiotic in Spinach Cane for Oxalate Reduction

Naraki M[1] , Emtiazi G[2*]

[1]Medicinal Plant Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, [2] Department of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received: 29 May 2012 Accepted: 08 Sep 2012

Abstract

Background & aim: Up to 75% of all urinary stones are composed mainly of calcium oxalate. Spinach species have been identified as high-oxalate containing plants. The aim of this study was the isolation of oxalate degrading bacterium and evaluation of its application in reducing the oxalate content in spinach .

Methods: The strain used in this experimental study was confirmed by molecular methods. Spinach was purchased from the market, and the ex-crude was obtained. Bacterial biomass was prepared and the wet weight was determined. The diluted and non-diluted spinach ex-crude was mixed with bacterial biomass and then incubated. Also, diluted spinach extract was mixed with enzyme suspension of strain and then incubated. Ultimately, oxalate concentration was determined with oxalate diagnostic kit. The data was analyzed using the Microsoft Excel program version 2007.

Results: The strain (*Ammoniphilus oxalaticus* DIM) was submitted to NCBI website with access number HQ398365. This strain could decrease 98.3% and 51.54% oxalate content in diluted and non- diluted spinach ex-crude respectively.

Conclusion: *Ammoniphilus oxalaticus* DIM strain is a good candidate for probiotic activities in the body. Moreover, it could be used in canned products, such as spinach, to reduce the amount of their high oxalate content.

Key words: Ammoniphillus, Oxalate, Spinach, probiotic

***Corresponding Author: Emtiazi G,** Department of Biology, University of Isfahan, Isfahan, Iran
Email: emtiazi@yahoo.com