الكشف عن بكتريا حمض اللبن المعزولة من الحليب الخام للنوق والماعز الشامي

الملخص:

أجري هذا البحث في مخابر كلية الزراعة بجامعة الفرات قسم علوم الأغذية وفي مخابر هيئة الطاقة الذرية بدمشق ، وقد هدف إلى عزل بكتريا حمض اللبن من الحليب الخام للنوق والماعز الشامي وتصنيفها وذلك بين عامي 2010 – 2011، وقد أحضرت عينات حليب النوق الخام من محطة الشولا أما عينات حليب الماعز الشامي الخام فتم الحصول عليها من احد مربي الماعز في مدينة دير الزور ، حيث تم عزل ما مجموعه (77) عزلة أخذت من 13 عينة حليب نوق خام ومن 15 عينة حليب ماعز شامي خام . وقد كان النوع السائد للعزلات تابعا للجنس *Lactobacillus* حيث بلغت نسبة وجوده 40.26 % يليه العزلات التابعة لجنس *Lactococcus* وبنسبة 25.97 %، ومن ثم النوع *Str.thermophilus* الذي تواجد بنسبة 12.99% ، أما الجنس *Enterococcus* فقد كانت نسبته 11.69%، و أقل نسبة كانت للجنس *Leuconostoc* ومقدارها 9.09% .

الكلمات المفتاحية :بكتريا حمض اللبن، التعريف، العزل، حليب النوق ، حليب الماعز الشامي .

المقدمة :

عرف التخمر اللبني الحامضي الذي تقوم به بكتيريا حمض اللبن منذ فترة طويلة من الزمن واستخدم من أجل حفظ المواد الغذائية بشكل طبيعي(Guasch-Jané *et al.*, 2005;Robert, 2008) ،فقد تبين أنه ضمن الفلورا الطبيعية في الحليب توجد بكتيريا حمض اللبن والتي لها أهمية كبيرة ، وتعد مسؤولة عن تخمره (حسين والمصلح، 1990).

وقد بدأ استخدامها كبادئات لإنتاج الحموضة قبل التعرف على البكتريا المسببة لذلك، حيث كان الحليب يترك في درجة حرارة الغرفة عدة ساعات يتم خلالها تكاثر بكتريا حمض اللبن الموجودة في الحليب طبيعيًا ومن ثم يستخدم في تصنيع الألبان المتخمرة (شحاته، 1997)، فضلاً عن دور البادئات في إنتاج مركبات النكهة فإنها تعطي القوام المناسب لمنتجات الألبان المتخمرة (Fryer and Rossi ,2004)

لقد لوحظ وجود بكتيريا حمض اللبن في جميع أنواع حليب المواشي المختلفة (بقر، جاموس،ماعز، نوق) (Singh and Sharma , 2009)

2- **هدف البحث :**

انطلاقا مما تقدم ونظرا لأهمية البادئات في مجال تصنيع مشتقات الألبان فان هذا البحث يهدف إلى عزل بعض سلالات بكتيريا حمض اللبن من الحليب الخام للسوق والماعز الشامي وتصنيفها وتحديد مواصفاتها.

3 – **الدراسة المرجعية :**

يعتبر التعرف على بكتيريا حمض اللبن والحصول على السلالات المطلوبة منها من المهام الصعبة (Dalezios and Siebert,2001)، وذلك كونها تضم مجموعة واسعة من البكتيريا موجبة الغرام المتماثلة في الصفات الحيوية الكيميائية(Stiles and Holzapfel,1997).

لذا تعددت الطرائق المتبعة للتصنيف ولكل منها أسسه الخاصة، فقد اعتمدت الطرق التقليدية في تحديد هوية بكتيريا حمض اللبن على الخصائص الشكلية والحيوية الكيميائية إضافة لإنتاج الأنزيمات (Klein *et al.*,1998).

3-1- الفلورا المتواجدة بشكل طبيعي في الحليب الخام:

إن النوعية الميكروبية للحليب ومنتجاته تتأثر بالفلورا الاولية للحليب الخام(Ritcher and Vadamuthu, 2001) ، وتعرف باسم بكتيريا غير البادئ وتعطي هذه المجموعة لمنتجات الألبان خاصية مميزة لها من حيث الطعم والرائحة والقوام (Dicks *et al.*, 1996)، كما تعمل بكتيريا حمض اللبن على انتاج مركبات مختلفة مثل الأحماض العضوية وثنائي الأسيتيل و بيروكسيد الهيدروجين و البروتينات المانعة او المثبطة لنمو الجراثيم خلال عملية التخمر اللبني (Lindgren and Dobrogosz, 1990; Piard and Desmazeaud, 1991; Ouwehand,1998; Oyetayo *et al.*, 2003).

حيث تقوم بكتيريا حمض اللبن من غير البادئات على خفض درجة الحموضة للوصول إلى الدرجة المناسبة لعمل أنزيم المنفحة بشكل أسرع مما تفعله بكتيريا البادئ التجاري (Gobbetti *et al.*, 1999).

إضافة إلى الصفات التكنولوجية التي تتمتع بها هذه الفلورا مقارنة مع البادئات التجارية، فهي أكثر مقاومة للمضادات الحيوية (Dicks *et al.*,1996).

وتعتبر البكتيريا النموذجية التواجد هي الكروية المحبة للحرارة المتوسطة متجانسة التخمر التابعة لجنس *Lactococcus* (Somers *et al.*, 2001). كما أنه من الممكن أن تكون من العصويات متجانسة التخمر أو العصويات غير متجانسة التخمر (Turner and Thomas,1980) .

فحليب النوق يحتوي على بكتيريا منتجة لحمض اللبن مثل *L.acidophilus* , *Str. lactis* , *Str. Cremoris* وهذه الأخيرة نمت بسرعة اكبر من بقية الأنواع الأخرى حيث أن نموها كان معززاً في حليب النوق (Ahmed and Kanwal, 2004) .

كما أوضحت دراسة علمية أخرى انه يمكن عزل 3 أنواع من بكتيريا حمض اللبن وهي *L.pentosus* , *L.plantarum* من حليب النوق الخام *Lactococcus lactis ssp lactis* (الغير مبستر) (Yateem *et al* ., 2008) .

يُخمر حليب الماعز تقليديا بواسطة الفلورا الموجودة في الحليب كبكتريا اللاكتيك التي تتباين في تركيب انواعها ،والتي تنتج في الغالب نوعية جسية مختلفة للحليب المتخمر (Laouabdia *et al.*, 2007) .

يحتوي حليب الماعز على أنواع مختلفة من بكتريا حمض اللبن (Kostinek *et al.*, 2007; Tserovsk *et al.* ,2004) .

ومن هذه الأنواع *Lactobacillus* و *Lactococcus* و *Streptococcus* و *Enterococcus* و *Leuconostoc* و *Pediococcus*

(Facklam *et al.*,1989)

كما تبين من دراسة أخرى أجريت على حليب الماعز أنه يحتوي على بكتيريا حمض اللبن مثل *L.acidophilus*, و *L.delbrueckii* و *Str.thermophilus* و *Pediococcus.acidilactici* و *Leuconostoc mesenteroides* و *Aerococcus.urinaeequi* .

(wen *et al* ., 2008)

إن حليب الماعز يخضع للتخمر العفوي وغالبا يستهلك كمنتجات ألبان تقليدية كاللبن الرائب والجبن(Bendimerad *et al.*, 2012).

4 – مواد وطرائق البحث :

4 – 1 – البيئات المستخدمة:

بيئة M17 وبيئة MRS أعار من شركة MERCK– ألمانيا

4– 2– العينـــات : تـم جمـع 13 عينـة حليـب نـوق خـام مـن مركـز البحـوث العلميـة الزراعيـة بـدير الزور(محطـة الشـولا) و15 عينـة حليـب مـاعز شـامي خـام مـن مربـي فـي منطقـة كنامـات فـي مدينـة ديـر الـزور وذلـك فـي عـامي (2010– 2011) حيـث وضـعت العينـات فـي عبـوات معقمـة محكمـة الإغـلاق وأنجـز العمـل بجـو معقـم قـدر الامكـان ، وحفظـت العبـوات فـي صـندوق يحـوي ثلـج مجـروش وجـرى تحليـل العينـات فـور وصولها إلى المختبر .

4–3– عـزل بكتيريـا حمـض اللـبن :عُزلت بكتريا حمض اللبن وفق الخطوات التالية (Revol and Herbin, 1999):

1– تحضر التخفيفات العشرية بإضافة 1 مل من الحليب الخام إلى 9 مل من الماء الفيزيولوجي المعقم (1غ ببتون و 8.5 غ كلوريد الصوديوم و يكمل الحجم إلى ليتر بالماء المقطر) وذلك ضمن أنابيب محكمة الإغلاق معقمة وفي جو معقم أيضًا، للحصول على تخفيف 10^{-1}، ويستمر التخفيف حتى الوصول الى التركيز 10^{-7} وتُجرى هذه العملية إلى جانب لهب في ظروف معقمة.

2– اسـتخدمت بيئـة M17 لعـزل المكـورات اللبنيـة Streptococcus، وتم التحضين في درجتي حرارة 40 °م مدة 72 ساعة، وفي 31 °م مدة 48 ساعة وذلك للتمييز بين الأنواع المحبة للحرارة المرتفعة والمحبة للحرارة المتوسطة.

3- استخدمت بيئة M.R.S لعزل العصيات اللبنية Lactobacillus ، وتم التحضين في الدرجة 31° م مدة 72 ساعة في ظروف لاهوائية .

وتظهر المستعمرات النموذجية لبكتريا حمض اللبن على شكل مستعمرات،فاتحة اللون وملساء السطح .

4- تم اختيار المستعمرات النامية على بيئة M.R.S و M17، ثم أعيدت عملية زراعتها بطريقة التخطيط بدرجة الحرارة المناسبة ،وقد أجريت هذه الخطوة من أجل التأكد من نقاوة المستعمرات (Guessas and Kihal, 2004).

4-4 - تحديد هوية وتوصيف بكتيريا حمض اللبن: حددت هوية العزلات بالاعتماد على بعض الاختبارات الكيميائية الحيوية المحددة للأجناس كاختبار صبغة الغرام، واختبار الكاتالاز (Harrigan and McCance, 1976). إضافة إلى مجموعة أخرى من الاختبارات الكميائية الحيوية يمكن تلخيصها بما يلي:

1- انتاج الحموضة (Revol and Herbin, 1999):نميت البكتيريا المراد دراستها خلال 24 ساعة في حليب معقم ، وتم التحضين على درجة الحرارة المناسبة ، ومن ثم حددت النسبة المئوية للحموضة مقدرة كحمض اللبن.

$$\% \text{ للحموضة} = \frac{\text{عدد ميليلترات NaOH 0.1 N} \times 0.009 \times}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

2 – النمو على درجتي الحرارة (10– 45)° م

(Savadogo *et al.*, 2004): وذلك بتحضين بكتيريا حمض اللبن المراد دراستها مدة 72 ساعة وفي ظروف مناسبة لطريقة عزلها (هوائية – لاهوائية)، ثم درس نمو السلالات.

3 – النمو في تراكيز مختلفة لـ NaCl (4%و6.5%)

(Thomas and Pritchard, 1997): والتي جرت بإضافة كلوريد الصوديوم NaCl بتراكيز مختلفة إلى البيئات ، وتم التحضين بدرجة حرارة مناسبة للنمو مدة 48 ساعة، ودرس بعد ذلك نمو السلالات.

4 – دراسة نمط تخمير البكتيريا للحليب (الحديثي والسيمري، 1993): حيث تعتبر البكتيريا ذات تخمر متجانس في حال أعطت خثرة متماسكة ، أما في حال أعطت البكتيريا خثرة هشة مع وجود فقاعات وتكسر للخثرة فيمكن اعتبارها غير متجانسة التخمر.

5- تقنية API System: تم استخدام تقنية API 20 Strep للتمييز بين أنواع المكورات اللبنية المعزولة من بيئة M17، و API 50 CHL للتمييز بين أنواع العصيات اللبنية المعزولة من بيئة MRS، من شركة BioMérieux – فرنسا، والتي تتضمن مجموعة من الاختبارات الكيميائية الحيوية التي تسمح بدراسة استقلاب الكربوهيدرات المميزة لأنواع بكتيريا حمض اللبن.

6- التفاعل السلسلي البوليميراز PCR (Polimrase Chain Reaction):

وهو من الوسائل الحديثة المستخدمة في تصنيف و تحديد بعض الأجناس والأنواع للعزلات التابعة لبكتيريا حمض اللبن حيث يعتمد على المادة الوراثية الموجودة ضمن الخلية (Germond *et al.*, 2003)، حيث تبين أن تقانات البيولوجيا الجزيئية هي الأكثر دقة في تحديد هوية الأحياء الدقيقة بالاعتماد على تسلسل الـ DNA لمناطق محفوظة فيها (Germond *et al.*,2003)، وذلك لأن الاختبارات الروتينية لا تعطي دائماً فكرة واضحة عن حقيقة البكتيريا(Bentley *et al.*, 1991) .

5- النتائج والمناقشة :

5 - 1 - نتائج التحليل الميكروبيولوجي :

تم عزل ما مجموعه (77) عزلة وذلك من الحليب الخام للذوق والمناعز شامي ، كانت جميع العزلات موجبة الغرام، سالبة الكاتلاز . فقد وجد من خلال التحاليل الكيميائية الحيوية بالنسبة للعزلات التي تم الحصول عليها من عينات حليب الذوق الخام والتي بلغت(36) عزلة أن: (12) عزلة متجانسة التخمر و(24) عزلة غير متجانسة التخمر ، (24) عزلة نامية على درجة الحرارة 45° م، و(25) عزلة نامية على درجة الحرارة 10° م. وتم إدراج النتائج في الجدول (1).

الجدول (1) الخصائص الشكلية والفيزيولوجية للسلالات المعزولة من حليب الذوق الخام

الشكل		عصوي	كروي	المجموع
عدد العزلات		14	22	36
صبغة الغرام		+	+	
الكاتلاز		-	-	
إنتاج غاز CO2		5	10	15
النمو في درجات الحرارة	10° م	9	16	25
	45° م	10	14	24
النمو بتركيز NaCl	%4	10	18	28
	%6.5	4	7	11
النسبة المئوية للحموضة المنتجة	أقل من 1%	-	6	36
	أكثر من 1%	14	16	
تخمير الحليب	متجانس	5	7	36
	غير متجانس	9	15	

بلغت نسبة البكتيريا التي ظهرت على شكل كروي 61.11% من مجموع العزلات، وبالاعتماد على تقنية API 20 Strep تبين مايلي:

أن الجنس *Lactococcus* موجود بنسبة 45.45% من العزلات، كانت 70% من هذا الجنس تابعة للنوع *Lc.lactis ssp.lactis* أما النوع *Lc.lactisssp.cremoris* فكانت 30%، اما النوع *Leu.mesenteroides* ظهر بنسبة 22.73 % من العزلات و كان حوالي 18.18% منها تابعة لجنس *Enterococcus* وكان النوع السائد فيها: *E.faecalis* ، في حين بلغت نسبة وجود النوع *S.thermophilus* 13.64% فقط من العزلات كروية الشكل.

أما البكتيريا التي ظهرت بشكل عصوي موجب الغرام تحت المجهر، والتي شكلت نسبة 38.89 % من العزلات، و بالاعتماد على تقنية API 50 CHL فقد تبين أنها من البكتريا التابعة للجنس *Lactobacillus*، وقد توزعت هذه النسبة بين الأنواع *Lb.acidophilus*،*Lb.pentosus* و *Lb.bulgaricus* 57.14%،28.57% و 14.29%، على التوالي.

يوضح الجدول (2) توزع النسب المئوية لعزلات بكتيريا حمض اللبن من حليب النوق الخام ، وأهم الأنواع التي كانت سائدة والتي تم تحديدها بواسطة مجموعة الاختبارات الكيمائية الحيوية وتقنية الـ API Systeme .

الجدول (2) النسبة المئوية لمجموع بكتيريا حمض اللبن المعزولة من عينات حليب النوق الخام

شكلها تحت المجهر	النسبة المئوية لتواجدها لمجموع العزلات	أهم الأنواع السائدة
كروية	%61.11	*Lc. lactis ssp. lactis*
		Lc. lactis ssp. cremoris
		Leu.mesenteroides
		Enterococcus. faecalis
		Streptococcus. thermophilus
عصوية	%38.89	*Lactobacillus. acidophilus*
		Lactobacillus. pentosus
		Lactobacillus. bulgaricus
المجموع	%100	

وتتوافق نتائج هذه الدراسة مع النتائج التي حصل عليها Abu-Tarboush عام 1994 في دراسة أجراها على سلوك النمو لدى بكتريا حمض اللبن في حليب النوق ، حيث وجد أن حليب النوق يدعم نمو النوع *Lactobacillus.acidophilus* ، كما تتطابق هذه النتائج مع الدراسة التي أجراها الباحثان Ahmad و Kanwal عام 2004 على حليب النوق ، حيث أن النوع *Lactobacillus.acidophilus* ينمو بشكل أكثر في حليب النوق بالمقارنة مع حليب باقي المواشي .كما توافقت هذه النتائج مع النتائج التي حصل عليها Khedid وزملاؤه عام 2009 في دراستهم على حليب النوق حيث تبين وجود سيطرة للمكورات اللبنية بينما تواجدت العصيات اللبنية بنسبة 37.5% من المجموع الكلي للعزلات .

أما بالنسبة للعزلات التي تم الحصول عليها من عينات الحليب الخام للماعز الشامي والتي بلغت 41 عزلة، فقد وجد من خلال التحاليل الكيميائية الحيوية أن : (17) عزلة منها متجانسة التخمر

و(24) عزلة غير متجانسة التخمر، (19) عزلة نامية على درجة الحرارة 45° م، و(22) نامية على درجة الحرارة 10° م وتم إدراج النتائج في الجدول رقم (3) .

الجدول (3) الخصائص الشكلية والفيزيولوجية للسلالات المعزولة من الحليب الخام للماعز الشامي

الشكل		عصوي	كروي	المجموع
عدد العزلات		17	24	41
صبغة الغرام		+	+	
الكاتلاز		-	-	
إنتاج غاز		10	14	24
النمو في درجات الحرارة	10° م	7	15	22
	45 °م	10	9	19
النمو بتركيز NaCl	4 %	10	13	23
	6.5 %	3	10	13
النسبة المئوية للحموضة المنتجة	أقل من 1%	-	5	41
	أكثر من 1%	17	19	
تخمير الحليب	متجانس	7	10	41
	غير متجانس	10	14	

شكلت البكتيريا التي ظهرت على شكل كروي نسبة 58.54% من مجموع العزلات، تواجد الجنس *Lactococcus* بنسبة بلغت 41.67 % حيث شكل النوع *Lc. lactis ssp .lactis* نسبة (60%) والنوع *Lc. lactis ssp. cremoris* نسبة (40%)، في حين وجد أن 29.17% من المكورات كانت من النوع *Streptococcus.thermophilus* بينما وجد أن 20.83% منها تتبع جنس *Enterococcus* وكان النوع السائد فيها *E.fecalis* واقل

نسبة وهي 8.33% كانت ممثلة بالنوع *Leu.mesenteroides* ، أما البكتيريا التي ظهرت بشكل عصوي موجب الغرام تحت المجهر، والتي بلغت نسبة وجودها 41.46% والتابعة لجنس *Lactobacillus* فقد وجد أنها من النوع *Lb.acidophilus* (76.47%) و *Lb.bulgaricus* (23.53%).

ويبين الجدول (4) النسبة المئوية لعزلات بكتيريا حمض اللبن التي تم الحصول عليها من (15) عينة من عينات حليب الماعز الشامي الخام .

الجدول (4) يبين النسبة المئوية لمجموع بكتيريا حمض اللبن المعزولة من عينات حليب الماعز الشامي الخام

شكلها تحت المجهر	النسبة المئوية لتواجدها لمجموع العزلات	أهم الأنواع السائدة
كروية	%58.54	*Lactococcus lactis ssp. lactis*
		Lactococcus lactis ssp. cremoris
		Streptococcus thermophilus
		Enterococcus. faecalis
		Leu.mesenteroides
عصوية	%41.46	*Lactobacillus. acidophilus*
		Lactobacillus. bulgaricus
المجموع	%100	

وتتوافق نتائج هذه الدراسة مع النتائج التي حصل عليها Tornadijo وزملاؤه عام 1995 في دراسته على حليب الماعز الخام في إسبانيا حيث وجد أن النوع الذي تم عزله وكان الأكثر تكرارا هو *Lactococcus lactis subs. lactis* . وهذه النتائج تتطابق مع ما جاء في دراسة الباحث Badis وزملاؤه عام 2004 التي جرت

على الحليب الخام للماعز في الجزائر ، والتي أثبتت أن النوع السائد للعزلات هو *Lactococcus lactis subs. lactis* ، كما وجد أن نسبة العصيات اللبنية التي عزلت 20.8% من مجموع العزلات الكلية .

يبين الجدول (5) النسب المئوية للأنواع المعزولة من مجموع العزلات البالغ (77) عزلة من عينات الحليب الخام للذوق والماعز الشامي .

الجدول (5) يبين النسب المئوية للأنواع المعزولة من مجموع العزلات

البكتيريا	*Lactobacillus*	*Lactococcus*	*S.thermophilus*	*Enterococcus*	*Leuconostoc*
%	40.26	25.97	12.99	11.69	9.09

يلاحظ من الجدول (5) سيادة للأنواع التابعة لجنس *Lactobacillus*، يليه التابعة لجنس *Lactococcus* ، ومن ثم النوع *Str.thermophilus* ، أما الجنس *Enterococcus* فقد كانت نسبته11.69%، وشكل الجنس *Leuconostoc* اقل نسبة حيث بلغت 9.09 % .

6 - الاستنتاجات والتوصيات:

1. إن بكتيريا حمض اللبن السائدة من غير البادئات في الحليب الخام للسوق كانت تابعة للجنس *Lactobacillus* والجنس *Lactococcus* ، ومن ثم النوع *Str.thermophilus* .
2. إن بكتيريا حمض اللبن السائدة من غير البادئات في الحليب الخام للمناعز الشامي كانت تابعة للجنس *Lactobacillus* والجنس *Lactococcus* ، ومن ثم النوع *Str.thermophilus*
3. توجد في الحليب الخام بعض بكتيريا حمض اللبن المهمة لاستخدامها كبادئات في تصنيع منتجات الالبان المختلفة مثل *Lb. bulgaricus* ،*Lc. lactis* ،*Str. thermophilus* .
4. يجب توعية المصنعين التقليديين للمنتجات اللبنية السورية بمميزات هذه البادئات بعد تهيئتها بالشكل المناسب لكونها تعطي منتجات ذات مواصفات عالية ونكهات مرغوبة من قبل المستهلكين السوريين.
5. أبدت بعض السلالات المعزولة قدرة على النمو في درجات حرارة منخفضة نسبيا (10 -12)°م وتكوين حموضة منخفضة وينصح باستخدام هذه السلالات لانضاج القشدة المعدة لصناعة الزبدة أو الانتاج الكفارك (اللبنة) .
6. ينصح باستخدام العزلات المكونة للحموضة وذات القدرة على النمو في مجال الحرارة المرتفعة (40)°م لانتاج الالبان المتخمرة .

7 – المراجع :

1. الحديثي هديل و السيمري إحسان ، 1993 – علم البكتريا العملي . كلية العلوم جامعة البصرة 97 – 110 .
2. حسين بهاء الدين و المصلح رشيد ، 1990 – الأحياء الدقيقة المجهرية في الأغذية . وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، بغداد، العراق257 – 260.
3. شحاته عبده ،1997 – تكنولوجيا الجبن،الأسس العلمية .المكتبة الأكاديمية – مصر 350–357.

1. ABU-TARBOUSH, H.M., 1994- **Growth behavior of Lactobacillus acidophilus and biochemical characteristics and acceptability of acidophilus milk made from camel milk** . dept . food sci., college of agriculture, king saud university , Riyadh ,Saudi Arabia.
2. AHMED, T.,and KANWAL, R.,2004-Biochemical Characteristics **of Lactic acid producing bacteria and preparation of Camel milk cheese by using starter culture** . *Pakistan Vet. J.*, 24(2).
3. BADIS, A., GUETARNI, D., MOUSSA-BOUDJEMA , B., HENNI, D.E., TORNADIJO, M.E., and KIHAL, M., 2004- **Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat's milk of four Algerian races.** *Food Microbiol.* 2, 579–588.
4. BENDIMERAD, N., Kihal, M., and Berthier, F., 2012- **Isolation, identification, and technological characterization of wild *leuconostocs* and *lactococci* for traditional Raib type milk fermentation.** *Dairy Sci. Technol.*, 92(3): 249-264.
5. BENTLEY, R. W., LEIGH, J. A., AND COLLINS M. D. 1991- **Intrageneric structure of Streptococcus based on comparative analysis of small-subunit rRNA sequences**. Int. J. Syst. Bacteriol. 41:487-494
6. DALEZIOS, I. and SIEBERT, K.J., 2001- **Comparison of pattern recognition techniques for the identification of Lactic acid bacteria** . *J. Appl. Microbiol.* 91:225– 236.

7. DICKS, L.M.T., DUPLESSIS, E.M., DELLAGLIO, F., and LAUER E., 1996- **Reclassification of *Lactobacillus casei subsp. casei* ATCC 393 and *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 15820 as *Lactobacillus zeae* nom. rev., designation of ATCC 334 as the neotype of *L. casei subsp. casei*, and rejection of the name *Lactobacillus paracasei*** . *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46:337-340

8. FACKLAM, R., Hollis, D., and Collins, M.D., 1989- **Identification of Gram-Positive Coccal and Cocobacillary Vancomicin-Resistant Bacteria.** *J.Clin.Microbiol.*, 27(4): 724-730.

9. FRYER, T.F., and ROSSI, J., 2004- **Lactic acid bacteria in cheddar cheese** . *J. Dairy* Res. 3:325 – 331.

10. GERMOND, J.E., LAPIERRE, L., DELLEY, M., MOLLET, B., FELIS, G.E., AND DELLAGLIO, F., 2003 - **Evolution of the bacterial species Lactobacillus delbrueckii: a partial genomic study with reflections on prokaryotic species concept** . Mol. Biol. Evol. 20:93–104.

11. GOBBETTI, M., LANCIOTTI, R., DEANGELIS, M., CORBO, MR., MASSINI, R., and FOX, P.F., 1999- **Study of the effects of temperature, pH, NaCL and aw on the proteolytic and Lipolytic activities of cheese related lactic acid bacteria by quadratic response surface methodology** . Enzyme Microb. Technol. 25: 795 – 809.

12. GUASCH-JANÉ, M., ANDRÉS-LACUEVA, C., JÁUREGUI, O., LAMUELA-RAVENTÓS, R., 2005- **First evidence of white wine in ancient Egypt fromTutankhamun's tomb**. *J. Archaeol. Sci.* 33: 1075-1080.

13. GUESSAS B. and KIHAL M. 2004- **Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk** . *African Journal of Biotechnology* .3 (6): 339-342

14. HARRIGAN, WF., and MCCANCE, ME., 1976- **Laboratory methods in food and dairy microbiology** . Academic Press , New –York.

15. KHEDID , K., FAID , M., MOKHTARI , A., SOULAYMANI, A., and ZINEDINE , A., , 2009- **Caracterisation of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco** . *Microbi*ological research 164: 81-91.

16. KLEIN, G., PACK, A., BONAPARTE, C., and REUTER, G., 1998- **Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria**. *International Journal of Food Microbiology* .41: 103–125.
17. KOSTINEK, M., SPECHT, I., EDWARD, V.A., PINTO, C., ENGONLETY, M., SOSSA, C., DORTU, C., and THONART, P., 2007- **Caracterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures**. *International Journal of Food Microbiology*, 114: 342-351.
18. LAOUABDIA, N.S., BADIS, A., GUETARNI, J., OUZROUTE, R., and KIHAL, M., 2007- **Caractéruisation phenotypique of lactic acid bacteria isolées from believed milk of goat of two caprine populations Local Arabia and Kabile**.. *Journal of Animal and Veterinary Advance*., 6(12): 1474-1481.
19. LINDGREN, SW., and DOBROGOSZ, WJ., 1990- **Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentation**.FEMS Microbiol. Rev.87:149-164.
20. OUWEHAND, A.C., 1998- **Antimicrobial components from lactic acid bacteria. In Salminen, S. and Von Wright A. (Ed.), lactic acid bacteria Microbiology and functional aspects**, 2nd edition (edited by). Marcel Dekker Inc, New York. 139-159.
21. OYETAYO, V.O., ADETUYI, F.C. and Akinyosoye, F.A., 2003-**Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent *in vivo***. Afr. *J. Biotech*. 2: 448-452.
22. PIARD, J.C. and DESMAZEAUD, M. 1991-**Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria Oxygen metabolites and catabolism en-products**. Lait, 71:525-541.
23. REVOL AM. and HERBIN S., 1999-**Taxonomie des principaux gener de bacteries Lactiques**. 3eme année IA, Lait et produits Laitiers. 78-92
24. RITCHER. R. L and VADAMUTHU, R., 2001- **Microbiology Examination of Food**. 4th Ed. American Public Health Association, pp: 483-485
25. ROBERT, S., 2008- **Ecology of fermented foods**. Human Ecology Rev. 15:25-31

26. SAVADOGO A., OUATTARA C., BASSOLE I. H. and TRAORE A. S., 2004- **Antimicrobial Activities of Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Burkina Faso Fermented Milk**. *Pakistan Journal of Nutrition*. 3(3):174-179

27. SINGH G.P. and SHARMA R.R., 2009- **Dominating Species of Lactobacilli and Leuconostoc Present Among The Lactic Acid Bacteria of Milk of Different Cattle's Asian**. *J. Exp. Sci.*, Vol. 23, No. 1, 173-179.

28. SOMERS, E. B., JOHNSON M. E. and WONG A.C.L., 2001- **Biofilm formation and contamination of cheese by nonstarter lactic acid bacteria in the dairy environment** *J. Dairy Sci.* 8:1926–1937.

29. STILES M.E. and HOLZAPFEL W.H. 1997- **Lactic acid bacteria and their current taxonomy**. *International journal of food microbiology* , 36:1-29.

30. THOMAS, TD and PRITCHARD, GC 1997- **Proteolytic enzymes of Dairy starter Cultures**. FEMS Microbiol. Rev. 46:245-268.

31. TORNADIJO, M.E., FRESNO, J.M., BERNARDO, A., MARTIN SARMIENTO, R., and CARBALLO, J., 1995- **Microbiological changes throughout the manufacturing and ripening of Spanish goat's raw milk cheese (Armada Variety).** Le Lait 75, 551–570.

32. TSEROVSK, L., STANKA, S., and TANYE, Y., 2004- **Identification of lactic acid bacteria isolated form katyk, goat's milk and cheese**. J. Cult. Collect. Nation. Bank Indust. Micro. Cell Cult. 13: 48-52.

33. TURNER, K.W. and THOMAS T.D. 1980- **Lactose fermentation in Cheddar cheese and the effect of salt.** *N.Z. J. Dairy Sci.* Technol. 15:265–276.

34. WEN. ZH, YUE .Y , TIAN .S, BILIGE .M ,and HE P. ZH.2008- **Isolation and identification of dominant microorganisms involved in naturally fermented goat milk in Haixi region of Qinghai**, China Annals of Microbiology, 58 (2) 213-217

35. YATEEM. A , BALBA. M.T, Al-SURRAYAI. T, Al-MUTARN. B and Al-DAHER. R, 2008- **Isolation of Lactic Acid Bacteria with Probiotic Potential from Camel Milk** .*International Journal of Dairy science* 3 (4): 194-199).