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 تم الحصول على عينات حليب النوق الخام من محطة الشولا أما عينات حليب الماعز الشامي الخام فتم الحصول عليها من مربي في مدينة دير الزور، حيث تم عزل 36 عزلة من حليب النوق الخام و41 عزلة من حليب الماعز الشامي الخام . وقد كان النوع السائد للعزلات في حليب النوق الخام تابعاً للجنس *Lactococcus* يليه الجنس *Lactobacillus* ومن ثم الجنس *Leuconostoc* ثم الجنس *Enterococcus* وأخيراً الجنس *Streptococcus* وبنسب 45.45% و38.89% و22.73% و18.18% و 13.64% على التوالي.

بينما توزعت العزلات في حليب الماعز الشامي الخام على الأجناس *Lactococcus* و *Lactobacillus* و *Streptococcus* ثم الجنس *Enterococcus* وأخيراً الجنس *Leuconostoc* وبنسب 58.54% و 41.46% و 29.17% و 20.83% و 8.33% على التوالي .

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

المقدمة :

عُرف 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 (Lactic acid bacteria) والتي لها أهمية كبيرة ، وتعد مسؤولة عن تخمره (حسين والمصلح، 1990).

وقد بدأ استخدامها كبادئات لإنتاج الحموضة قبل التعرف على البكتريا المسببة لذلك، حيث تُرك الحليب في درجة حرارة الغرفة العادية عدة ساعات يتم خلالها تكاثر بكتريا حمض اللبن الموجودة في الحليب طبيعيًا ومن ثم يستخدم في تصنيع الألبان المتخمرة (شحاته، 1997)، فضلا 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 :

هَدَفَ هذا البحث إلى عزل بعض سلالات بكتيريا حمض اللبن من الحليب الخام للنوق والماعز الشامي وتصنيفها .

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).

لـذا تعـددت الطرائـق المتبعـة للتصـنيف ولكـل منهـا أسـسـه الخاصـة، فقـد اعتمـدت الطـرق التقليديـة فـي تحديـد هويـة بكتيريـا حمـض اللـبن علـى الخصـــائص الشـــكلية والحيويـــة الكيميائيـــة إضـــافة لإنتـــاج الأنزيمـــات (Klein *et al*.,1998).

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

إن النوعيـــة الميكروبيـــة للحليـــب ومنتجاتـــه تتـــأثر بـــالفلورا الأوليـــة للحليب الخام(Ritcher and Vadamuthu, 2001) ، كمـا تعمـل بكتيريـا حمـض اللـبن علـى إنتـاج مركبـات مختلفـة مثـل الأحمـاض العضـــوية وثنـــائي الأســـيتيل و بيروكســـيد الهيـــدروجين و البروتينـــات المانعة أو المثبطة لنمو الجراثيم خلال عملية التخمر اللبني

(Lindgren and Dobrogosz, 1990; Piard and Desmazeaud, 1991; Ouwehand,1998; Oyetayo *et al*., 2003).

حيـث تقـوم بكتيريـا حمـض اللـبن مـن غيـر البادئـات علـى خفـض درجـة الحموضـة للوصـول إلـى الدرجـة المناسـبة لعمـل أنـزيم المنفحـة (RH=6.2) بشـــكل أســـرع ممـــا تفعلـــه بكتيريـــا البـــادئ التجـــاري (Gobbetti *et al*., 1999).

إضـافة إلـى الصـفات التكنولوجيـة التـي تتمتـع بهـا هـذه الفلـورا مقارنـةً مع البادئات التجارية، فهي أكثر مقاومة للمضادات الحيوية (Dicks *et al*.,1996).

فحليب النوق يحتوي على بكتيريا منتجة لحمض اللبن مثل *L.acidophilus* , *Str. lactis* , *Str. Cremoris* وهذه الأخيرة تنمو بسـرعة اكبـر مـن بقيـة الأنـواع الأخـرى حيـث أن نموهـا كـان معـززاً فـي حليب النوق (Ahmed and Kanwal, 2004) .

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

يُخمّر حليب الماعز تقليدياً بواسطة الفلورا الموجودة في الحليب كبكتريا اللاكتيك بأنواعها المختلفة ، والتي ينتج عنها في الغالب مركبات متنوعة تكسب الحليب المتخمر نوعية حسية مختلفة (طعم وقوام ورائحة) وذلك وفقاً لنوع البكتيريا المتواجدة في الحليب (Laouabdia *et al*., 2007) ، حيث يحتوي حليب الماعز على أنواع مختلفة من بكتريا حمض اللبن ومن هذه الأنواع *Lactobacillus* و *Lactococcus* و *Streptococcus* و *Enterococcus* و *Leuconostoc* و *Pediococcus*

(Kostinek *et al*., 2007; 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 الطبيعي وغالباً يستهلك كمنتجات ألبان تقليدية كاللبن الرائب والجبن (Bendimerad *et al*., 2012).

4 – مواد وطرائق البحث :

4 - 1 – البيئات المستخدمة:

بيئة M17 وبيئة MRS أغار من شركة MERCK– ألمانيا

4- 2- العينـــات : تـم جمـع 13 عينـة حليـب نـوق خـام مـن مركـز البحـوث العلميـة الزراعيـة بـدير الـزور(محطـة الشـولا) و 15 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 وذلـك بعـد إجـراء غسـيل للضـرع بمـاء فـاتر وصـابون، وحفظـت العبـوات فـي صـندوق يحـوي ثلـج مجـروش وجـرى تحليـل العينـات فور وصولها إلى المختبر.

4- 3 - عـزل بكتيريـا حمـض اللـبن :عُزلـت بكتريـا حمـض اللـبن وفـق الخطوات التالية (Revol and Herbin, 1999).

4-3-1- التخفيـف بإضـافة 1 مـل مـن الحليـب الخـام إلـى 9 مـل مـن المـاء الفيزيولـوجي المعقـم (1غ ببتـون و 8.5 غ كلوريـد الصـوديوم و يكمـل الحجـم إلـى ليتـر بالمـاء المقطـر) وذلـك ضـمن أنابيـب محكمـة الإغـلاق معقمـة وفـي جـو معقـم أيضًـا، للحصـول علـى تخفيـف 10^{-1}، ويسـتمر التخفيف حتـى الوصـول الـى التركيـز 10^{-7} وتُجـرى هـذه العمليـة إلـى جانـب لهـب فـي ظـروف معقمـة ، وتظهـر المسـتعمرات النموذجيـة لبكتريـا حمـض اللبن على شكل مستعمرات فاتحة اللون وملساء السطح .

4-3-2- تـم اختيـار المسـتعمرات الناميـة علـى بيئـة M.R.S و M17، ثـم أعيدت عمليـة زراعتهـا بطريقـة التخطـيط ، وقـد أجريـت هـذه الخطـوة مـن أجل التأكد من نقاوة المستعمرات .(Guessas and Kihal, 2004).

4-4- الاختبارات الكيميائية الحيوية :

أجـري اختبـار صـبغة الغـرام واختبـار الكاتـالاز إضـافة إلـى مجموعـة أخـرى من الاختبارات الكيميائية الحيوية يمكن تلخيصها بما يلي:

4-4-1- إنتاج الحموضة (Revol and Herbin, 1999):نُميت البكتيريا المراد دراستها خلال 24 ساعة في حليب معقم ، وتم التحضين على درجة الحرارة المناسبة ، ومن ثم حددت النسبة المئوية للحموضة مقدرة كحمض اللبن.

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

4-4-2– النمو على درجتي الحرارة (10– 45) م:

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

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

: أجري هذا الاختبار بإضافة كلوريد الصوديوم NaCl بتراكيز مختلفة إلى البيئات ، وتم التحضين بدرجة حرارة مناسبة للنمو مدة 48 ساعة، ودُرس بعدها نمو السلالات (Thomas and Pritchard, 1997).

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

4- 5- تقنية API System:(من شركة BioMérieux – فرنسا)

تتضمن هذه التقنية مجموعة من الاختبارات الكيميائية الحيوية ، فقد تم استخدام تقنية API 20 Strep وهي عبارة عن شريط يحتوي على 20 أنبوبة صغيرة ، كل أنبوبة تحتوي على مادة تفاعل و كاشف لوني وتعبر عن اختبار معين وتُستخدم للتمييز بين أنواع المكورات اللبنية المعزولة من بيئة M17 ، أما تقنية

الـ API 50 CHL فهي عبارة عن شريط يحتوي على 49 نوع من الكربوهيدرات مع كواشف لونية معينة ، ينتج عن تخمر هذه الكربوهيدرات أحماض تعمل على خفض حموضة الوسط وبالتالي تغير لون الكاشف المستعمل وتستخدم هذه التقنية للتمييز بين أنواع العصيات اللبنية المعزولة من بيئة MRS. http://www.biomerieux.com

4-6- التفاعل السلسلي للبوليميراز PCR :

(Polymerase Chain Reaction) وهو طريقة مستخدمة بكثرة في البيولوجيا الجزيئية ، ويعمل على تكثير و تكوين نسخ عديدة من قطعة من الـ DNA من خلال تناسخ إنزيمي خارج الخلية الحية.وقد تم إجراء تفاعل الـ PCR من أجل تحديد بعض الأجناس والأنواع التابعة لبكتيريا حمض اللبن المعزولة من الحليب الخام للنوق والماعز الشامي، لأن الاختبارات التقليدية لا تعطي دائماً فكرة واضحة وجازمة عن حقيقة البكتيريا التابعة لبعض الأنواع (Bentley et al., 1991) ، وذلك بالاعتماد على تسلسل الـ DNA لمناطق محفوظة فيها (LacZ، 16sRNA و23sRNA) (Germond *et al.*, 2003) .

5- النتائج والمناقشة :

5 - 1 – نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية :

تم عزل ما مجموعه (77) عزلة وذلك من الحليب الخام للنوق والماعز شامي و كانت جميع العزلات موجبة الغرام، سالبة الكاتلاز .

5-1-1- نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية لحليب النوق الخام :

تم الحصول على (36) عزلة من عينات حليب النوق الخام وتبين أن: (12) عزلة متجانسة التخمر و(24) عزلة غير متجانسة

التخمـــر، (24) عزلـــة ناميـــة علـــى درجـــة الحـــرارة 45° م، و(25) عزلـــة نامية على درجة الحرارة 10° م. وتم إدراج النتائج في الجدول (1).

الجـدول (1) الخصـــائص الشـكلية والفيزيولوجيـــة للســـلالات المعزولـــة مـــن حليب النوق الخام

الشكل		عصوي	كروي	المجموع
عدد العزلات		14	22	36
صبغة الغرام		+	+	
الكاتلاز		-	-	
النمو في درجات الحرارة	10° م	9	16	25
	45° م	10	14	24
النمـــو بتركيـــز NaCl	%4	10	18	28
	%6.5	4	7	11
النســـبة المئويـــة للحموضـــــــة المنتجة	أقل من 1%	-	6	36
	أكثر من 1%	14	16	
تخمير الحليب	متجانس	5	7	36
	غير متجانس	9	15	

و يوضـــح الجـــدول (2) تـــوزع النســـب المئويـــة لعـــزلات بكتيريـــا حمـض اللـبن مـن حليـب النـوق الخـام ، وأهـم الأنـواع التـي كانـت سـائدة والتـي تـم تحديـدها بواسـطة مجموعـة الاختبـارات الكيمائيـة الحيويـة وتقنيـة الـ API Systeme ، حيـث بلغـت نسـبة البكتيريـا الكرويـة الشـكل 61.11% من مجموع العزلات، وبالاعتماد على تقنية API 20 Strep تبـين أن الجـنس *Lactococcus* موجـود بنسـبة 45.45% مـن العـزلات،

70% مـــن هـــذا الجـــنس كـــان تابعـــاً للنـــوع *Lc.lactis ssp.lactis* و 30% تابعاً للنوع *Lc.lacti sssp.cremoris* ،

أمـــا النـــوع *Leu.mesenteroides* ظهـــر بنســـبة 22.73 % مـــن العـــزلات فـــي حـــين ظهـــر النـــوع *Enterococcus.faecalis* بنســـبة 18.18% من العزلات بينما بلغت نسبة وجود النوع *Str .thermophilus* 13.64% فقط من العزلات كروية الشكل.

أمـــا البكتيريـــا التـــي ظهـــرت بشـــكل عصـــوي موجبـــة الغـــرام تحـــت المجهـــر شـــكلت نســـبة 38.89 % مـــن العـــزلات، و بالاعتمـــاد علـــى تقنيـــة API 50 CHL فقد تبين أنها تابعة للجنس *Lactobacillus* ، وقد توزعـــت هـــذه النســـبة بـــين الأنـــواع *Lb.acidophilus* ، *Lb.pentosus* و *Lb.bulgaricus* 57.14%،28.57% و14.29%، على التوالي.

الجـــدول (2) النســـبة المئويـــة لمجمـــوع بكتيريـــا حمـــض اللـــبن المعزولـــة مـــن عينات حليب النوق الخام

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

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 الأسيدوفيلوس المُصنّع من 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 .

5-1-2- نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية لحليب الماعز الشامي الخام :

تم الحصول على (41) عزلة من عينات حليب الماعز الشامي الخام وتبين أن: (17) عزلة منها متجانسة التخمر و(24) عزلة غير متجانسة التخمر، و(19) عزلة نامية على درجة الحرارة 45 °م ، و(22) نامية على درجة الحرارة 10 °م ، وتم إدراج النتائج في الجدول رقم (3) .

الجـدول (3) الخصـائص الشـكلية و الفيزيولوجيـة للسـلالات المعزولـة مـن الحليب الخام للماعز الشامي

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

ويبـين الجـدول (4) النسـبة المئويـة لعـزلات بكتيريـا حمـض اللـبن التـي تـم الحصـول عليهـا مـن (15) عينـة مـن عينـات حليـب المـاعز الشامي الخام .

حيـث شـكلت البكتيريـا التـي ظهـرت علـى شـكل كـروي نسـبة 58.54% مـن مجمـوع العـزلات، تواجـد الجـنس *Lactococcus* بنسـبة 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%).

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

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

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 تكراراً 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 .

5-2- نتائج التفاعل المتسلسل للبوليمرار :

بعد إتمام عمليات عزل وتنقية وفصل الـ DNA تم إجراء رحلان كهربائي لمدة ساعة وبعد انتهاء المدة دُرست الحزم المتشكلة وحللت الصور باستخدام جهاز ماسح الهلامة ، وانطلاقاً مما تقدم فقد تم باستخدام تقانة الـ PCR الحصول على (4) عزلات من حليب النوق الخام تابعة للأنواع التالية: *Lb.bulgaricus* و *Lb.pentosus* و *Lc.lacti* و *Ent.fecalis* كما تم الحصول على (4) عزلات من الحليب الخام للماعز الشامي تابعة للأنواع التالية:*Lb.acidophilus* و *Str.thermophilus* و *Lc. lactis ssp.cremoris* و *Lc. lactis ssp. lactis* .

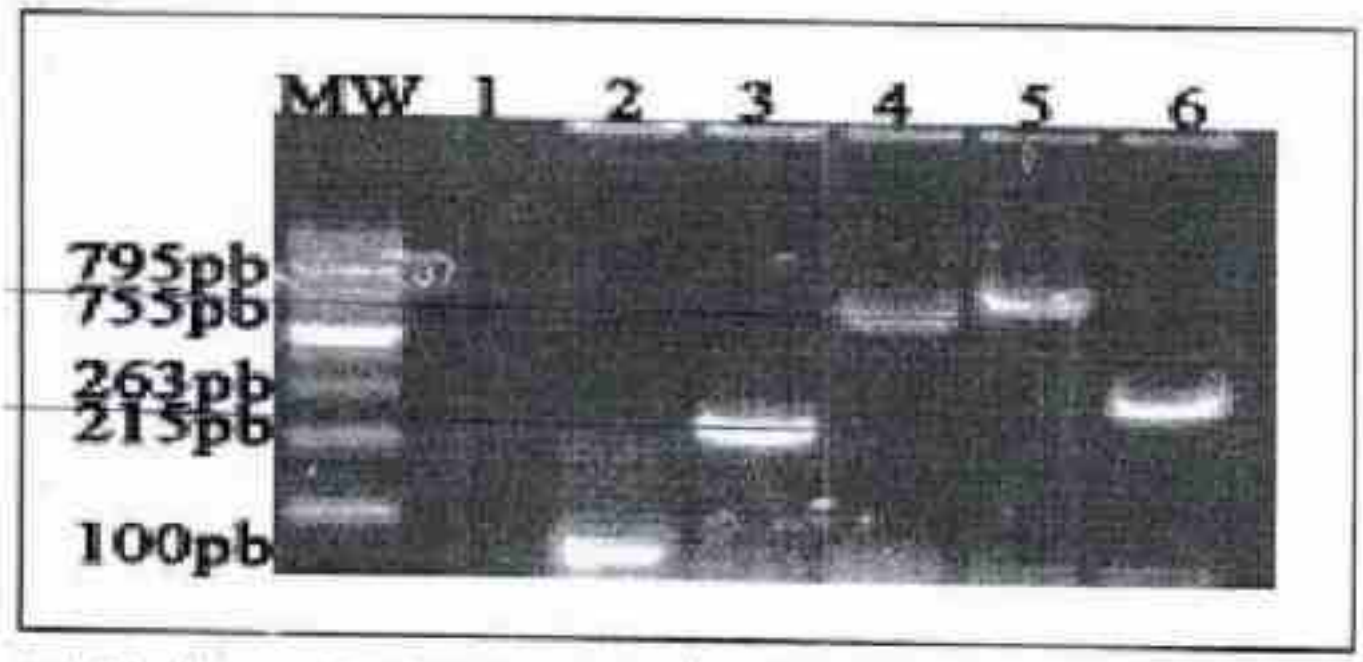
حيث تم تحديد النوع *Lb. bulgaricus* من الأنواع المعزولة من بيئة Rogosa باستخدام المرئستين 5'-AAGGGAGTTCATACTGCCAT-'3 و 5'-CTTCATCATTCTACTCGACA-'3 الخاصة بالمورثة LacZ وهي المورثة المحفوظة ضمن هذا النوع ، بينما تم تمييز باقي السلالات التابعة للجنس *Lactobacillus* المعزولة على بيئة *Rogosa* والمحضّنة على درجات الحرارة (30 ،37 ، 40 ، 45) °م مدة 72 ساعة في ظروف لاهوائية باستخدام المرئستين 5'-CTAACGGGTGCACAATGAGT-'3 و 5'-CATCGCCACCTTACGCATCT-'3 الخاصة بالمورثة 16sRNA المحفوظة ضمن هذا الجنس ، و استخدمت المرئستين

5'-CTACGTTAACGTAGTGAGTTTC-'3 (الواقعة في المورثة 16sRNA) و 5'-GAGGTACACATCGCCAC-'3 (الواقعة في المورثة 23sRNA) لتمييز النوع *Lc. lactis* .

كما تم تمييز النوع *Str. thermophilus* عن باقي الأنواع النامية على بيئة M17 عند التحضين على الدرجة 40°م مدة 72 ساعة باستخدام المرئستين 5'-CTTTGAGTTCATGTAAGCA-'3 و 5'-CAATCCAGCTTTCCGGTTT-'3 الخاصة بالتسلسل الواقع بين المورثتين 16sRNA و23sRNA والتي تعتبر منطقة محفوظة ضمن المادة الوراثية (Genome) لهذا النوع .

أما النوع *Enterococcus fecalis* وهو من الأنواع المعزولة من بيئة M17 فقد تم تمييزه باستخدام المرئستين 5'-TACTGACAAACCATTCATGATG-'3 و 5'-AACTTCGTCACCAACGCGAAC-'3 الخاصة بالتسلسل الواقع بين المورثتين 16sRNA و23sRNA وهي أيضاً المنطقة المحفوظة ضمن المادة الوراثية (Genome) لهذا النوع .

ويُظهر الشكل رقم (1) عصابات عياري الوزن الجزيئي لـ DNA (100bp Ladder) في المسار M وعصابات بطول 100 (215)، 755 ، 795، 263 bp في المسارات 2 ، (3) 4 ، 5 ، 6 على التوالي حيث تبين ان السلالات المعزولة تتبع للأنواع *Enterococcus fecalis* ، *Lactococcus lactis lactis* ، *Streptococcus thermophilus* ، *Lactococcus lactis* ، *Lactobacillus bulgaricus* .



الشكل (1): يوضح الرحلان الكهربائي لنواتج الـ PCR لبعض السلالات

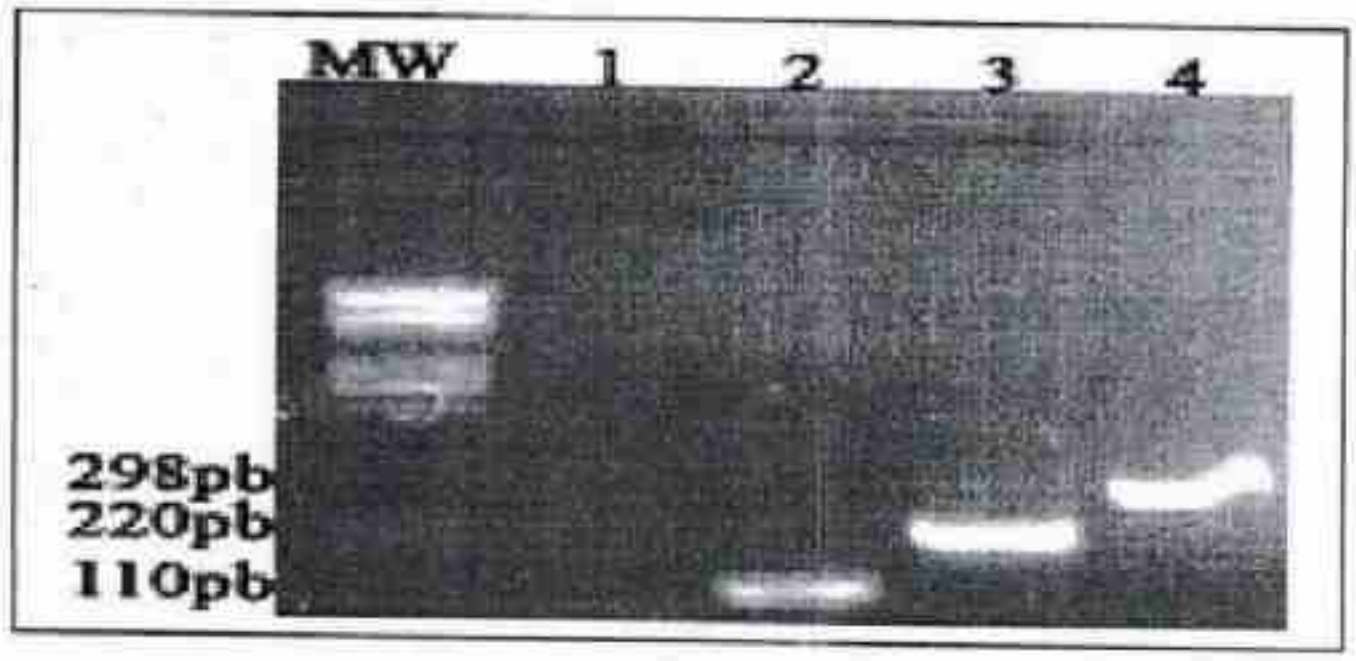
حيث أن : MW عصابات عياري الوزن الجزيئي 100bp Ladder

1: شاهد سلبي (بدون دنا)، 2: *Enterococcus fecalis*،

3: *Lactococcus lactis*، 4: *Lactococcus lactis*،

5: *Streptococcus thermophilus*، 6: *Lactobacillus bulgaricus*.

ويظهر الشكل رقم (2) عصابات عياري الوزن الجزيئي للـ DNA (100bp Ladder) في المسار M و عصابات بطول 110، 220، 298 في المسارات 2، 3، 4 على التوالي وتبين أن هذه السلالات تتبع الأنواع : *Lb. pentosus*، *Lactococcus lactis ssp cremoris*، *Lb. Acidophilus*



الشكل (2) يوضح الرحلان الكهربائي لنواتج الـ PCR لبعض السلالات
حيث أن: MW يوضح عصابات عيارِي الوزن الجزيئي 100bp Ladder
1: شاهد سلبي (بدون دنا)، 2: *Lb. pentosus*،
3: *Lactococcus lactis ssp cremoris*، 4: *Lb. Acidophilus*

6 - الاستنتاجات والتوصيات:

1. إن بكتيريا حمض اللبن السائدة من غير البادئات في الحليب الخام للنوق كانت تابعة للجنس *Lactobacillus* والجنس *Lactococcus* ، ومن ثم الجنس *Streptococcus* .
2. إن بكتيريا حمض اللبن السائدة من غير البادئات في الحليب الخام للماعز الشامي كانت تابعة للجنس *Lactobacillus* والجنس *Lactococcus* ، ومن ثم الجنس *Streptococcus* .
3. توجد في الحليب الخام بعض بكتيريا حمض اللبن المهمة لاستخدامها كبادئات في تصنيع منتجات الألبان المختلفة مثل *Str. thermophilus*، *Lc. lactis*، *Lb. bulgaricus*

4. يجب تهيئة السلالات المعزولة بالشكل المناسب لاستخدامها كبادئات محلية في تصنيع منتجات لبنية ذات مواصفات ثابتة ونكهات مرغوبة من قبل المستهلكين السوريين.
5. تعتبر تقنية الـ PCR الأكثر دقة في تحديد هوية بكتيريا حمض اللبن المعزولة من الحليب الخام للنوق و الماعز الشامي.

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.

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

3. 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. 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** . *Microbio*logical research 164: 81-91.

15. KLEIN, G., PACK, A., BONAPARTE, C., and REUTER, G., 1998- **Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria**. *International Journal of Food Microbio*logy .41: 103–125.

16. 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.

17. LAOUABDIA, N.S., BADIS, A., GUETARNI, J., OUZROUTE, R., and KIHAL, M., 2007- **Characterisation phenotypic of lactic acid bacteria isolates from believed milk of goat of two caprine populations Local Arabia and Kabile**.. *Journal of Animal and Veterinary Advance.*, 6(12): 1474-1481.

18. LINDGREN, SW., and DOBROGOSZ, WJ., 1990- **Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentation**.FEMS Microbiol. Rev.87:149-164.

19. 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.

20. 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.

21. PIARD, J.C. and DESMAZEAUD, M. 1991-**Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria Oxygen metabolites and catabolism en-products**. Lait, 71:525-541.

22. REVOL AM. and HERBIN S., 1999-**Taxonomie des principaux genres de bacteries lactiques**. 3eme annèe IA, Lait et produits Laitiers. 78-92

23. RITCHER. R. L and VADAMUTHU, R., 2001- **Microbiology Examination of Food**. 4th Ed. American Public Health Association, pp: 483-485
24. ROBERT, S., 2008- **Ecology of fermented foods.** Human Ecology Rev. 15:25-31
25. 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
26. 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.
27. STILES M.E. and HOLZAPFEL W.H. 1997- **Lactic acid bacteria and their current taxonomy**. *International journal of food microbiology* , 36:1-29.
28. THOMAS, TD and PRITCHARD, GC 1997- **Proteolytic enzymes of Dairy starter Cultures**. FEMS Microbiol. Rev. 46:245-268.
29. 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.
30. 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
31. 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).

Detection of Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw milk for Camel and Shami Goat

ABSTRACT

This research was conducted in the laboratories of the Faculty of Agriculture- Food Science Department- at Al-furat University and in the Atomic Energy mien in Damascus, for isolation and detection Lactic acid bacteria from raw milk for Camel and Shami Goat ,from 2010 - 2011, samples of raw camel milk were brought from Al-Shola Station while samples of raw Shami goat milk obtained from breeders in Deir-Ezzor city, Analysis were done for 36 bacterial strains were isolated from raw camel milk and 41bacterial strains were isolated from raw goat milk. the predominant type of the isolated strains in raw camel milk belonging to the following genuses : Lactococcus , Lactobacillus , Leuconostoc , Enterococcus and finally Streptococcus and with ratio 45.45% , 38.89% , 22.73% , 18.18% and 13.64%, respectively.

While distributed isolated strains in raw Shami goat milk on races Lactococcus and Lactobacillus and Streptococcus and Enterococcus and finally Leuconostoc and with ratio 58.54% , 41.46% , 29.17% , 20.83% and 8.33%, respectively.

Keywords: lactic acid bacteria, detection, isolation, camel milk, Shami goat milk .

Detection of Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw Camel milk and Shami Goat Milk

ABSTRACT

This research was conducted in the Agriculture Faculty-Food Science Department and in the Atomic Energy Mien in Damascus, Al-furat University for **isolation and Detection Lactic acid bacteria from Raw Camel milk and Shami Goat Milk**

, Samples of Camel milk were brought from al-shola station while Samples of Shami Goat Milk were brought from goat breeder in Deir-Ezzor city , from (2010 to 2011). Analysis was done for (77) bacterial strains isolated from 13 samples of raw camel milk and 15 samples of raw shami goat milk. Results showed that the genus Lactobacillus was dominant with a percentage of 40.26%; Lactococcus had a percentage of 25.97%; Str.thermophilus had a percentage of 12.99%; while Enterococcus had a percentage of 11.69% with only 9.09% for Leuconostoc .

Key Words: *Lactic acid bacteria, Isolation, Detection, Camel Milk, Shami Goat milk*

Detection of Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw Camel milk and Shami Goat Milk

ABSTRACT

This research was conducted in the Agriculture Faculty-Food Science Department and in the Atomic Energy Mien in Damascus, Al-furat University for **isolation and Detection Lactic acid bacteria from Raw Camel milk and Shami Goat Milk**

, Samples of Camel milk were brought from al-shola station while Samples of Shami Goat Milk were brought from goat breeder in Deir-Ezzor city , from (2010 to 2011). Analysis was done for (77) bacterial strains isolated from 13 samples of raw camel milk and 15 samples of raw shami goat milk.

Results showed that the genus Lactobacillus was dominant with a percentage of 40.26%; Lactococcus had a percentage of 25.97%; Str.thermophilus had a percentage of 12.99%; while Enterococcus had a percentage of 11.69% with only 9.09% for Leuconostoc .

Key Words: *Lactic acid bacteria, Isolation, Detection, Camel Milk, Shami Goat milk*