



## جداسازی و شناسایی باکتری‌های اسیدلاکتیک از چال در استان گلستان

براتعلی زارعی‌یام<sup>۱\*</sup>، مرتضی خمیری<sup>۲</sup>، علیرضا صادقی ماهونک<sup>۳</sup> و سیدمهدی جعفری<sup>۳</sup>

دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، آدانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۲/۲۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۶/۱۷

### چکیده

باکتری‌های اسیدلاکتیک از ۹ نمونه شیر تخمیری شتر، چال، جمع‌آوری شده از مناطق روستایی و سوپرمارکت‌ها بر اساس خصوصیات موفولوژیکی و فیزیولوژیکی شناسایی شدند. نتایج نشان داد که pH نمونه‌ها بین ۳/۸ تا ۴/۵ قرار داشت. ۹۳ عدد باکتری اسیدلاکتیک از نمونه‌ها شناسایی شدند که شامل ۶۴ عدد *Bacillus* (۶۸/۸ درصد)، ۸ عدد کوکسی (۸/۶ درصد)، ۱۱ عدد *Cocobacillus* (۱۱/۸۳ درصد)، ۲ عدد *Streptococcus* (۲/۱۵ درصد) و ۸ عدد تتراد (۸/۶ درصد) بودند. در بین لاکتوباسیلوسها، *Lactobacillus plantarum* (۱۳ درصد) و در بین اشکال کوکسی، گونه‌های مختلف *Leuconostoc* (۱۳ درصد) غالب بودند. همه جدایه‌ها به جز *Lactobacillus viridescens*، *Lactobacillus kefir* و *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* گالاکتوز را تخمیر کردند. نتایج نشان داد همه جدایه‌ها در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به صورت هوازی رشد کردند و فقط گونه‌های شناسایی شده به‌عنوان *Leuconostoc mesenteroides sub sp. cremoris* و *Leuconostoc paramesenteroides* قادر به رشد در ۳۰ درجه سانتی‌گراد نبودند. هیچ یک از جدایه‌ها قادر به تخمیر گلیسرول نبودند. در بین همه جدایه‌ها فقط *Lactobacillus helveticus* و *Leuconostoc mesenteroides* قادر به رشد در حضور ۲ درصد کلرید سدیم نبودند. بعضی از باکتری‌های اسیدلاکتیک جدا شده از چال مانند *Lactobacillus fermentum*، *Lactobacillus reuteri*، *Streptococcus thermophilus*، *Lactobacillus helveticus*، *Lactobacillus*

\*مسئول مکاتبه: [alizarei1662@gmail.com](mailto:alizarei1662@gmail.com)

*delbrueckii subsp. Bulgaricus, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus hilgardii, Lactobacillus casei subsp. Paracesei, Lactobacillus casei subsp. rhamnosus, Lactobacillus curvatus, Lactobacillus brevis, Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii, Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus gasseri* در گروه باکتری‌های پروبیوتیک طبقه‌بندی شده‌اند و نتایج این مطالعه نشان داد کهچال حاوی این باکتری‌های مفید است.

**واژه‌های کلیدی:** شیر تخمیری شتر، گلیسرول، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، پروبیوتیک

### مقدمه

شتر یک کوهانه (*Camelus dromedarius*) یکی از فراموش‌شده‌ترین گونه حیوانات اهلی است. شتر در بسیاری از مناطق دنیا برای تغذیه انسان حیوانی مفید قلمداد می‌شود اما بیشتر مطالعات انجام شده بر روی شتر، بر روی خصوصیات آناتومی و فیزیولوژیکی آن در شرایط بیابان انجام شده و بر روی پتانسیل تولید مواد غذایی از شتر مطالعات زیادی صورت نگرفته است (لهاسته، ۲۰۰۴). در بسیاری از مناطق بیابانی و گرم کره زمین، شتر نقش محوری در تامین شیر ایفا می‌کند و شیر شتر به صورت تخمیر شده استفاده می‌شود. تخمیر تنها روش نگهداری شیر در مناطق بیابانی و گرم است که شتر در آن نگهداری می‌شود (لاکوسا و شاکین، ۱۹۶۴).

چال<sup>۱</sup> یک نوشیدنی سفید رنگ با طعم ترش است (فرح و فیشر، ۲۰۰۴). در ترکمنستان، شمال آفریقا و بیشتر مناطق خاورمیانه چال با تخمیر شیر تازه شتر در مشک، کوزه یا بطری به دست می‌آید. شیر ترش شده قبلی به شیر تازه افزوده می‌شود و هر ۳-۴ روز یکبار شیر تازه به آن افزوده می‌شود تا حجم محصول نهایی به حدود ۳-۵ برابر محصول اولیه برسد. تخمیر در دمای ۲۵-۳۰ درجه سانتی‌گراد توسط میکروارگانیسم‌های طبیعی موجود در شیر خام شتر انجام می‌شود (گریگوریانتس، ۱۹۵۴). در ایران و در استان گلستان، چال به روش دیگری نیز تهیه می‌شود. ابتدا مایه کشت قبلی که به صورت سنتی تهیه شده به شیر خام افزوده می‌شود و حدود یک تا دو روز بسته به فصل سال، گرمخانه گذاری در داخل کوزه ای سفالی در زیر زمین انجام می‌شود. بعد از گذشت یک تا دو روز و ترش شدن آن، چال را در داخل بطری‌های ۱/۵ لیتری پلاستیکی به صورت سنتی (با دست) بسته بندی می‌کنند و برای مصرف خانگی یا فروش استفاده می‌شود و در بیشتر مواقع به اندازه حجم شیر اولیه به آن آب جوشیده شده

1- Chal

سرد نیز اضافه می‌شود. بنابراین عطر و مزه چال بسته به روش تهیه و میکروارگانیزم‌های شرکت کننده در تخمیر متفاوت است. چال پس از تهیه به صورت مایع و مشابه دوغ است و به همین دلیل در استان گلستان و در بین اقوام ترکمن به آن دوغ شتر هم گفته می‌شود و همانند دوغ حاصل از شیر گاو همراه با غذا یا به تنهایی مصرف می‌شود. چال در همه فصول سال قابل تهیه است اما تهیه و مصرف آن در فصل بهار و تابستان رایج تر است. ثابت شده که شیر شتر در دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت بیش از ۷۲ ساعت ترش نمی‌شود اما در دمای ۳۰ درجه به مدت حدود ۸ ساعت ترش می‌شود این درحالی است که شیر گاو در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت ترش می‌شود (گریگوریانتس، ۱۹۵۴). وقتی به شیر شتر اجازه داده می‌شود در جایی ساکن بماند، به دلیل وجود باکتری‌های اسیدلاکتیک به سرعت اسیدیته آن افزایش می‌یابد (اوه‌ریس و جاشی، ۱۹۶۱). باکتری‌های اسیدلاکتیک قادرند از موادی مانند لاکتات و استات مواد بازدارنده‌ای را تولید کنند که بر روی بسیاری از میکروارگانیزم‌های دیگر خاصیت آنتاگونیستی دارند (دایشل، ۱۹۸۹).

جداسازی و غربال کردن میکروارگانیزم‌ها از منابع طبیعی، وسیله‌ای موثر برای دست‌یابی به گونه‌های ثابت از لحاظ ژنتیکی است. باکتری‌های اسیدلاکتیک، پروبیوتیک‌های زنده‌ای هستند که با اصلاح تعادل میکروبی روده و به دنبال آن تغییر متابولیسم میکروبی باعث افزایش سیستم ایمنی بدن، جلوگیری از عفونت باکتری‌های بیماریزا و جلوگیری و درمان اسهال می‌شوند (رید، ۱۹۹۹). باکتری‌های اسیدلاکتیک سالهاست که برای تغییر خصوصیات طعم و بافت محصولات لبنی به منظور افزایش زمان ماندگاری آنها استفاده می‌شود (دی‌رویسارت و لوگوئت، ۱۹۹۴) نقش اولیه باکتری‌های اسیدلاکتیک تخمیر کربوهیدراتها و به دنبال آن کاهش pH محصولات لبنی است. ترکیب pH پائین، اسیدهای آلی (به‌خصوص اسیدلاکتیک)، دی‌استیل، پروکسید هیدروژن و باکتروسین‌ها، علت اصلی نگهداری فرآورده‌های لبنی است (اویثانو و همکاران، ۲۰۰۳). هدف این پژوهش جداسازی و شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک از محصول تخمیری چال در مناطقی از استان گلستان است.

### مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: چال در استان گلستان همانند سایر مناطق کویری ایران که مستعد نگهداری شتر است به صورت سنتی تهیه می‌شود. در این مطالعه، ۹ عدد نمونه چال بسته‌بندی شده در داخل بطری‌های پلاستیکی ۱/۵ لیتری به صورت تصادفی از خانه‌ها و سوپرمارکت‌های مختلف در سطح استان گلستان

جمع‌آوری شد. مناطق مورد بررسی در این مطالعه، شهرستان‌های آق قلا، بندر ترکمن و گنبد بودند. نمونه‌های برداشت شده جهت انجام آزمون‌های شیمیایی و میکروبی تحت شرایط سرد به آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتقال داده شدند.

**آنالیز ترکیبات شیمیایی نمونه‌های چال:** ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌های چال مانند اسیدیته، درصد ماده خشک کل، pH، درصد خاکستر، درصد چربی درصد نمک در سه تکرار انجام شد. مقدار پروتئین کل نمونه‌ها به روش کج‌دال، ماده خشک کل به روش آون خشک، اسیدیته بر اساس درجه درنیک و درصد الکل (وزنی/حجمی) به روش AOAC (۱۹۹۰) انجام شد. مقدار چربی به روش ژربر (رشید و میاموتو، ۲۰۰۵)، میزان خاکستر با حرارت دادن نمونه‌ها در کوره حرارتی به ترتیب در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت، ۲۰۰ درجه به مدت ۲ ساعت و ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک شبانه روز اندازه‌گیری شد (مارت، ۱۹۷۸). میزان pH نمونه‌ها (با استفاده از pH متر مدل 766 knick، آلمان) و درصد نمک بر اساس روش بردلی و همکاران ۱۹۹۲ اندازه‌گیری شد.

**جداسازی و شناسایی باکتری‌های اسیدلاکتیک از نمونه‌های چال:** شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در محیط کشت MRS جامد (لیوفیلجم<sup>۱</sup>، ایتالیا) بر اساس روش استاندارد آزمایش میکروبیولوژی مواد غذایی انجام شد (هارینگان و مک کین، ۱۹۷۶).

ابتدا با مخلوط کردن ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه چال با ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل، رقت‌های متوالی از نمونه‌ها تهیه شد. بعد از تهیه محیط کشت بر اساس دستور شرکت سازنده، و تلقیح یک دهم میلی‌لیتر از نمونه بر روی محیط کشت MRS جامد شده، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز گرمخانه‌گذاری شدند. کلنی‌های رشد یافته با خصوصیات ظاهری متفاوت مانند رنگ، ظاهر، شکل و اندازه، برداشت و با کشت متوالی خطی خالص‌سازی شدند. جهت نگهداری کوتاه مدت ایزوله‌های جدا شده برای انجام آزمایش‌های میکروبی، جدایه‌ها بر روی محیط کشت MRS جامد مورب در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد توسط پارافین استریل نگهداری شدند. جدایه‌ها جهت بررسی مورفولوژی کلنی و سلول بر روی محیط کشت MRS جامد و مایع (هارینگان و مک کین، ۱۹۷۶)، ویژگی گرم و کاتالاز (آکابندا و همکاران، ۲۰۱۰)، رشد در دماهای ۱۵، ۳۰ و ۴۲ درجه به صورت بی‌هوازی و ۳۷ درجه

سانتی گراد به صورت هوازی (اسنیت و همکاران، ۱۹۸۶؛ وودو هولزافل، ۱۹۹۵؛ هیدرولیز اووه و آرژنین زوراری و همکاران، ۱۹۹۹)، تولید اسید از کربوهیدرات‌های مختلف (با استفاده از محیط کشت حاوی ۰/۸ درصد عصاره مخمر، ۰/۸ درصد تریپتون، ۱/۲ درصد پپتون (از شیر)، ۰/۱ درصد توئین، ۰/۰۰۰۴ درصد برموفنول آبی به عنوان معرف رنگی و ۲ درصد کربوهیدرات مورد نظر (تورس لیانز و همکاران، ۲۰۰۶)، تولید گاز از ۲ درصد گلوکز و گلوکوز سدیم در لوله دورهام (کلی و همکاران، ۱۹۹۸) و رشد در حضور ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد کلرید سدیم (دمن و همکاران، ۱۹۶۰) مورد آزمون قرار گرفتند. در همه آزمون‌ها، ترکیبات حساس به حرارت با استفاده از فیلتر میلی‌پور ۰/۲۳ میکرون استریل گردید.

### نتایج و بحث

نتایج ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌های چال در جدول ۱ آورده شده است. نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که pH نمونه‌های چال بین ۳/۸ تا ۴/۵ قرار دارد که pH معمول اکثر فرآورده‌های لبنی نیز در همین محدوده قرار دارد. pH پائین بر روی باکتری‌های بیماری‌زا اثر بازدارنده دارد اما برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک مناسب می‌باشد. وجود باکتری‌های اسیدلاکتیک در چال باعث ایجاد محیط اسیدی در اثر تخمیر می‌شود که باعث کاهش pH می‌شود.

جدول ۱- نتایج مربوط به ویژگی‌های شیمیایی نمونه‌های چال

کد نمونه	پروتئین (درصد)	چربی (درصد)	ماده خشک (درصد)	خاکستر (درصد)	اسیدیته (درنیک)	pH	نمک (درصد)	الکل (درصد)
۱	۱/۳	۲	۴/۱	۰/۳۲	۳۲	۴	۰/۸	۰/۴
۲	۱/۴	۲/۱	۴/۳	۰/۳	۳۳	۴/۲	۰/۷۵	۰/۵
۳	۱/۲	۲/۲	۴/۲	۰/۳۵	۲۹/۸	۴/۵	۰/۸	۰/۵
۴	۱/۴	۲/۳	۴/۵	۰/۴	۳۰	۴/۴	۰/۸۵	۰/۶
۵	۱/۵	۲/۵	۴/۶	۰/۴۴	۳۵	۴/۵	۰/۷	۰/۷
۶	۲	۲/۳	۵	۰/۴۵	۳۴	۴	۰/۸	۰/۶
۷	۱/۶	۲/۱	۴/۴	۰/۴۲	۳۵	۳/۹	۰/۷۶	۰/۵
۸	۱/۸	۱/۶	۴/۱	۰/۳۸	۳۶	۳/۸	۰/۷	۰/۵
۹	۱/۴	۱/۹	۴/۲	۰/۳۷	۳۲	۴/۵	۰/۸	۰/۶

گریگوریانتس (۱۹۵۴)، ترکیبات چال تولیدی در سنگال را آنالیز کرد نتایج وی نشان داد که میزان اسیدیته (درنیک)، چربی، مواد جامد بدون چربی و الکل به ترتیب برابر با ۲۸، ۴/۳، ۷/۵ و ۱/۱ درصد بود. سان و همکاران (۲۰۱۰) میزان pH در آیراگ<sup>۱</sup> (محصولی تخمیری از شیر مادیان در مغولستان) و تاراگ<sup>۲</sup> (محصولی تخمیری از شیر شتر، گاو، بز یا الاغ در مغولستان) را به ترتیب بین ۴/۱-۳/۷ و ۶/۴-۳/۷ با میانگین  $4/4 \pm 0/7$  گزارش کردند. در حالی که برای شوبات<sup>۳</sup> (محصولی تخمیری حاصل از شیر شتر که مشابه چال است) بین ۴/۱-۳/۶ گزارش شده است (رحمان و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲. شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک نمونه‌های چال (لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی‌لیتر)

کد نمونه	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
باکتری‌های اسید لاکتیک	۴/۵۸	۴/۵۰	۴/۴۵	۴/۱۴	۴/۰۴	۴/۴۶	۴/۳۲	۴/۰۸	۴/۲۵

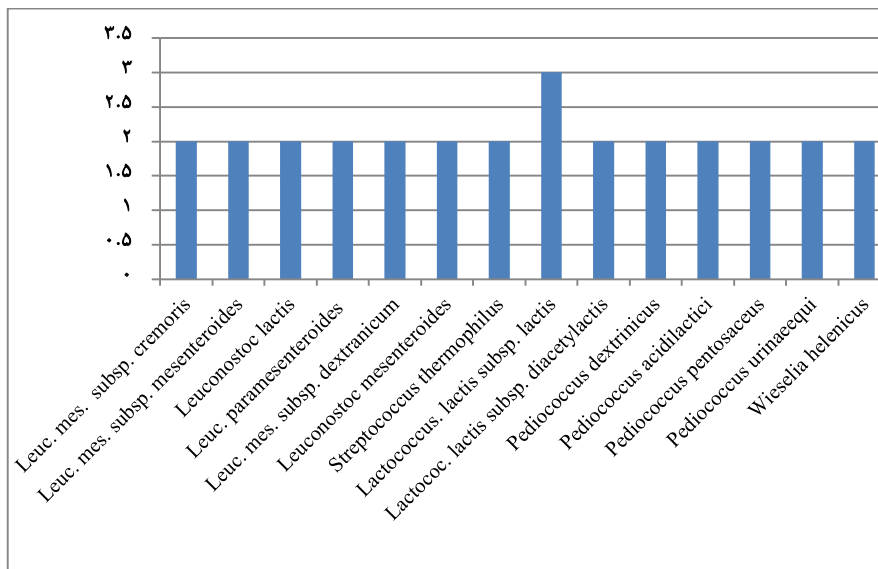
نتایج جدول ۲ نشان می‌دهد که حداقل و حداکثر شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک در چال بین ۴/۵۸ - ۴/۰۴ لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی‌لیتر قرار داشت که کمتر از میزان گزارش شده توسط رحمان و همکاران (۲۰۰۹) برای شوبات (۶/۸ و ۷/۳ لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی‌لیتر)، عبدالغدير و همکاران (۲۰۰۸) در مورد شوبات (۷/۷۶ تا ۸/۶۶ لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی‌لیتر) و لر و همکاران (۲۰۰۵) در مورد سوساک<sup>۴</sup> (یک محصول تخمیری از شیر شتر در کنیا) ۷/۶۸ لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی‌لیتر) بود. همچنین نتایج نشان داد که شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک در این پژوهش از میزان گزارش شده توسط واتانابه و همکاران (۲۰۰۸) در مورد تاراگ نیز کمتر بوده است. وی گزارش داده بود که حداقل و حداکثر شمارش در تاراگ حاصل از شیر شتر ۵/۹۷ و ۸/۲۳ لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی‌لیتر بود در حالی که در شیر گاو ۸ و ۹/۴۱، در شیر بز ۷/۶۷ و ۸/۵۳ لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی‌لیتر و در شیر الاغ ۷/۶۹ و ۹/۱۳ لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی‌لیتر بود اما

- 1- Airag
- 2- Tarag
- 3- Shubat
- 4- Sussac

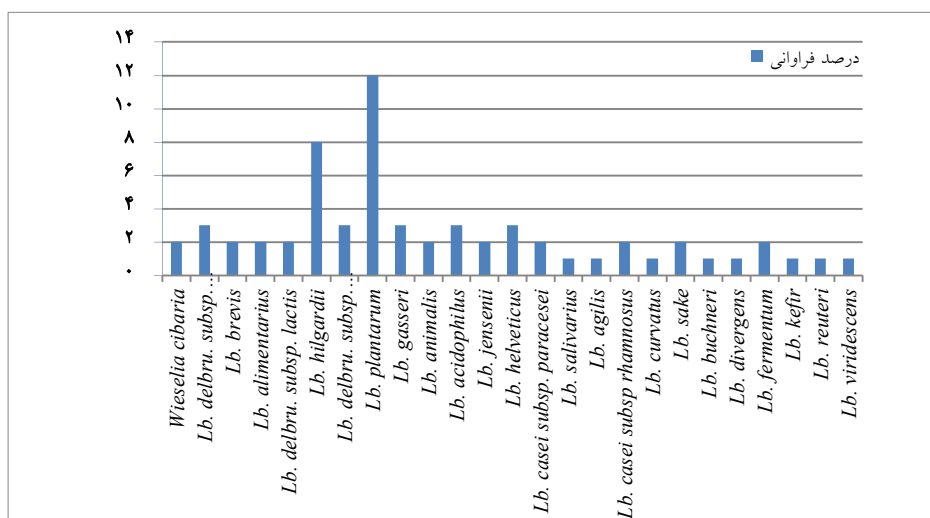
از حداقل گزارش شده در شیر خام شتر توسط بنکروم و همکاران (۲۰۰۳)، (۳/۰۸) لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی لیتر) بالاتر بوده است. این اختلافات ممکن است ناشی از بار میکروبی اولیه شیر خام، شرایط محیطی، و زمان و دمای تخمیر و غیره باشد. از آنجایی که باکتری‌های اسیدلاکتیک به‌عنوان ارگانیزم‌های مفید شناخته شده‌اند وجود آن‌ها در شیر و فرآورده‌های لبنی باعث محدود شدن رشد باکتری‌های بیماری‌زا و افزایش ایمنی و ماندگاری محصول می‌شود بنکروم و همکاران (۲۰۰۳).

جدایه‌های مختلف باکتری‌های اسیدلاکتیک براساس خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی شناسایی شدند و نتایج حاصل به کتاب طبقه‌بندی سیستماتیک باکتریایی برگیس<sup>۱</sup> (تیوبر و همکاران، ۱۹۸۶) و نتایج حاصل از سایر پژوهشگران در این زمینه ارجاع و ایزوله‌های جدا شده شناسایی شدند (اسنیت و همکاران، ۱۹۸۶؛ موندت، ۱۹۸۶؛ کندلر و وکس، ۱۹۸۶؛ هاردی، ۱۹۸۶؛ گاریتی و همکاران، ۲۰۰۴؛ هولت و همکاران، ۱۹۹۴؛ شارپ، ۱۹۷۹؛ وودو هولزافل، ۱۹۹۵).

بعد از انکوباتورگذاری و رشد باکتری‌ها، تعداد ۹۳ جدایه به‌صورت تصادفی برداشت و مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که همه جدایه‌ها گرم مثبت و کاتالاز منفی بودند. از بین جدایه‌ها، ۶۴ عدد باسیل دراز و کوتاه با انتهای گرد، به‌صورت سلول‌های تک یا جفت بودند که به‌عنوان جنس‌های *Lactobacillus* و *Wieselia* شناسایی شدند. باقی ایزوله‌ها به‌صورت کوکسی تک، جفت و تتراد با موفولوژی گرد، بیضوی و کروی بودند که به‌عنوان جنس‌های *Streptococcus*، *Lactococcus*، *Wieselia* و *Pediococcus Leuconostoc* شناسایی شدند.



شکل ۱- پراکندگی باکتری‌های غیرمیله‌ای شکل جدا شده از نمونه‌های چال.



شکل ۲- پراکندگی باکتری‌های میله‌ای شکل جدا شده از نمونه‌های چال.



نتایج نشان داد که *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus salivarius* که نتایج نشان داد که *Pediococcus urinaeequi* و *Lactobacillus animalis*, *Lactobacillus curvatus* و *Lactobacillus helveticus* به جز ۱۰ درصد نمک رشد کنند این در حالی بود که همه گونه‌ها به جز *Lactobacillus helveticus* و *Leuconostoc mesenteroides* در حضور ۲ درصد نمک رشد کردند و همه گونه‌ها نیز به جز *Lactobacillus viridescens* و *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*، *Lactobacillus kefi* لاکتوز را تخمیر کردند. گونه‌های شناسایی شده به‌عنوان *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* و *Leuconostoc paramesenteroides* قادر به رشد در ۳۰ درجه سانتی‌گراد نبودند در حالی که همه جدایه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌صورت هوازی رشد کردند. تولید دی‌اکسیدکربن از گلوکونات سدیم توسط *Lactobacillus fermentum* و *Lactobacillus curvatus* به‌ترتیب متغیر و مثبت و برای سایر گونه‌ها منفی بودند.

مانوز، لاکتوز و زایلوز توسط اغلب گونه‌ها تخمیر شد اما فقط *Lactobacillus divergens* قادر به تخمیر گلیسرول بود همچنین هیچ یک از جدایه‌ها قادر به هیدرولیز اوره نبودند. در بین کوکسی‌ها فقط *Leuconostoc paramesenteroides* و *Wieselia helenicus* قادر به تخمیر اینولین به‌عنوان منبع کربن بودند درحالی که در بین باکتری‌های میله‌ای فقط *Lactobacillus sake* به‌صورت ضعیف توانست این ترکیب را تخمیر کند. جدایه‌های شناسایی شده به‌عنوان *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum* و *Pediococcus urinaeequi* قادر به تخمیر سلوبیوز بودند و در بین باکتری‌های میله‌ای شکل فقط *Lactobacillus fermentum* و *Lactobacillus agilis* قادر به تخمیر ضعیف این ترکیب بودند. در بین اشکال کوکسی، فقط *Lactococcus lactis subsp. Lactis*، *Lactococcus lactis subsp. Lactis*، *Pediococcus pentosaceus*، *Pediococcus urinaeequi*، *Wieselia cibaria*، *Pediococcus acidilactici* قادر به هیدرولیز آرژنین بودند این درحالی بود که در بین لاکتوباسیلوس‌ها، *Lactobacillus salivarius*، *Lactobacillus agilis*، *Lactobacillus casei subsp. rhamnosus*، *Lactobacillus sake*، *Lactobacillus animalis* و *Lactobacillus viridescens* قادر به هیدرولیز آرژنین نبودند. گونه شناسایی شده به‌عنوان *Lactobacillus acidophilus* قادر به تخمیر قوی گلوکز، گالاکتوز، ساکارز، مانوز و زایلوز و تخمیر ضعیف لاکتوز بود درحالی که تخمیر فروکتوز و ترهالوز توسط این گونه متغیر بود. این باکتری میله‌ای آرژنین مثبت، قادر به رشد در ۱۵ درجه سانتی‌گراد نبود و فقط در غلظت ۲ درصد کلرید سدیم رشد کرد. نتایج شکل ۲ نشان می‌دهد که *Lactobacillus acidophilus* ۱/۹۲ درصد تعداد کل

لاکتوباسیلوس‌های موجود در چال می باشد. ثابت شده که شیر شتر در مقایسه با شیر سایر حیوانات محیط مناسب‌تری جهت رشد *Lactobacillus acidophilus* است (ابوتربوش، ۱۹۹۴). همه گونه‌های شناسایی شده به‌عنوان *Lactobacillus plantarum* قادر به تخمیر گالاکتوز، زایلوز، ساکارز و مانوز بودند درحالی که تخمیر نشاسته و لاکتوز در بین چند گونه ضعیف و در بقیه منفی گزارش شد. این گونه‌های آرژنین مثبت فقط قادر به رشد در غلظت ۲ درصد کلرید سدیم، و دمای ۳۰ و ۴۲ درجه (به‌صورت بی‌هوازی) و ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌صورت هوازی بودند. گونه شناسایی شده به‌عنوان *Lactobacillus reuteri* در دماهای ۳۰، ۳۷ و ۴۲ درجه قادر به رشد بود. این گونه آرژنین مثبت و هتروفرومتاتیو، در غلظت‌های ۲، ۴، ۶ و ۸ درصد کلرید سدیم به‌خوبی رشد کرد و در غلظت ۱۰ درصد کلرید سدیم رشد ضعیفی داشت. گونه شناسایی شده به‌عنوان *Streptococcus thermophiles* قادر به رشد در غلظت‌های ۲ و ۴ درصد کلرید سدیم، دماهای ۱۵، ۳۰، ۳۷ و ۴۲ درجه سانتی‌گراد بود اما قابل به‌هیدرولیز آرژنین نبود. ایزوله شناسایی شده به‌عنوان *Lactobacillus casei subsp rhamnosus* قادر به استفاده از منابع بسیار وسیع‌تری از کربن در مقایسه با *Lactobacillus casei subsp. paracesei* بود. *Lactobacillus casei subsp rhamnosus* تنها گونه شناسایی شده از چال بود که قادر به تخمیر رامنوز به‌عنوان منبع کربن بود. هر دوی این گونه‌ها (*Lactobacillus casei subsp. paracesei* و *Lactobacillus casei subsp rhamnosus*) در غلظت ۲ درصد کلرید سدیم و دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قادر به رشد بودند *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus casei subsp rhamnosus* قبلاً نیز از چال جداسازی شده بودند (کیسلی، ۱۹۵۶).

نتایج این پژوهش نشان داد که در بین گونه‌های مختلف باکتریایی جداشده از نمونه‌های چال، در بین لاکتوباسیلوس‌ها، *Lactobacillus plantarum* (۱۳ درصد) و *Lactobacillus hilgardii* (۹/۷۸ درصد) (شکل ۲) و در بین اشکال کوکسی، گونه‌های مختلف *Leuconostoc* (۱۳ درصد) بیشترین تعداد را تشکیل دادند (شکل ۱).

نتایج این پژوهش، وجود باکتری‌های اسیدلاکتیک در فرآورده‌های تخمیری حاصل از شیر شتر توسط سلیمان و همکاران (۲۰۰۶) و عمر و همکاران (۲۰۰۷) و در سایر فرآورده‌های لبنی را تأیید می‌کند (عبدالغدیور و همکاران، ۲۰۰۱؛ گونفا و همکاران، ۲۰۰۱؛ نروهوس و گاداگا، ۲۰۰۳).

وتنابه و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که در تاراگ لاکتوباسیلوس‌ها بیشتر از آیراگ وجود داشتند (که با یافته‌های این پژوهش نیز مطابقت دارد) به‌طوری که *Lactobacillus helveticus* و

*Lactobacillus kefiranofaciens* گونه غالب در آیراگ بود در حالی که گونه‌های غالب در تاراگ را *Streptococcus thermophilus* تشکیل دادند همچنین سان و همکاران (۲۰۱۰) نیز حداقل و حداکثر شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک موجود در تاراگ را بین ۵/۰۹ تا ۷/۸ با میانگین  $6/97 \pm 0/69$  لگاریتم کلنی تشکیل شده در میلی لیتر گزارش کردند و *Lactobacillus fermentum* (۴۴/۶ درصد) و *Lactobacillus helveticus* (۲۷ درصد) را گونه‌های غالب در تاراگ حاصل از شیر شتر و *Lactobacillus helveticus* را گونه غالب در آیراگ گزارش کردند. این در حالی است که بنکروم و همکاران (۲۰۰۳) خلاف این را اظهار داشتند نتایج وی نشان داد در بین جدایه‌های شناسایی شده از شیر شتر، گونه‌های *Enterococcus* با ۵۸/۸ درصد، *Pediococcus* ۲۸/۲ درصد، *Leuconostoc* ۸ درصد و *Streptococcus* با ۴ درصد قرار داشتند. وی هیچ‌گونه لاکتوباسیلوسی را از نمونه‌ها جداسازی نکرد و بیان کرد که علت این امر احتمالاً به دلیل عدم فاکتورهای مناسب رشد و ترکیبات بازدارنده در شیر شتر بوده است و در بین جنس‌های شناسایی شده از هر جنس، *Enterococcus faecalis* (۸۳ درصد) و *Enterococcus faecium* (۱۷ درصد)، *Streptococcus halophilus*, *Pediococcus salivarius*, *Streptococcus*, *Pediococcus acidilactic*، *Lactococcus lactis subsp. Lactis, bovis* و *Leuconostoc lactis* نسبت به سایر گونه‌ها غالب بودند. بنکروم و همکاران (۲۰۰۳) خاطر نشان کردند که میزان بالای *Enterococcus faecalis* در بین سایر جدایه‌های *Enterococcus* (۸۸ از ۱۲۰ عدد) ممکن است نشان‌دهنده آلودگی نمونه‌ها به طریق انسانی باشد.

گلسومینو و همکاران (۲۰۰۲) و الگادی و همکاران (۲۰۰۸) نیز در شیر بز و گاو، استرپتوکوکوس‌های بیشتری را نسبت به لاکتوباسیل‌ها جداسازی کردند اما در شیر شتر لاکتوباسیلوس‌ها غالب بودند و در شیر میش این میزان برابر بود. در این پژوهش نیز لاکتوباسیلوس‌ها غالب بودند که با نتایج به دست آمده از یافته‌های الگادی و همکاران [۲۰۰۸] مطابقت دارد. گونه‌های شناسایی شده در چال در این پژوهش مانند *Leuconostoc lactis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Wieselia helenicus*, *Lactobacillus casei plantarum* و گونه‌های *Pediococcus* توسط سایر پژوهشگران از شوبات نیز جداسازی شده است (آئوسل، ۲۰۰۲؛ رحمان و همکاران، ۲۰۰۹). در حالی که آشمایگوه همکاران (۲۰۰۹) در سوداناز گاریس *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus rafinolactis* و *Lactobacillus*

*Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus brevis animalis*,  
*Lactobacillus fermentum* و *Lactobacillus paracasei divergens*,  
شناسایی شده بسته به هر منطقه متفاوت بوده است.

در این پژوهش *Lactobacillus plantarum* نسبت به سایر گونه‌ها غالب بود (شکل ۲). غالب بودن  
*Lactobacillus plantarum* در پنیر سنتی آرتیسانال حاصل از شیرخام گاو بدون افزود استارتر در  
کوه‌های قفقاز (ترزیک ویدوجویچ و همکاران، ۲۰۰۹)، پنیرهای مصری (آیاد و همکاران، ۲۰۰۴)،  
مراکشی (کوآدقیری، ۲۰۰۵) و تبتی (دوآن و همکاران، ۲۰۰۸) نیز گزارش شده است در حالی که در  
پنیرهای اروپای شمالی (اوستلی و همکاران، ۲۰۰۴؛ فیتز سیمونز و همکاران، ۲۰۰۱)، اسپانیا (آریزکان و  
همکاران، ۱۹۹۷؛ اورتیگوسا و همکاران، ۲۰۰۶؛ پرز الورتوندو و همکاران، ۱۹۹۸)، ایتالیا (مارینو و  
همکاران، ۲۰۰۳) و حوزه بالکان (نیکولیک و همکاران، ۲۰۰۸؛ ترزیک ویدوجویچ و همکاران، ۲۰۰۷)  
گونه غالب *Lactobacillus Paracasei* بوده است.

الگادی و همکاران (۲۰۰۸) در خارطوم سودان لاکتوباسیلوس‌های هتروفرمنتاتیوی مانند  
*Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus acidophilus* را از شیر شتر و گاو جداسازی کردند  
در حالی که نوع هتروفرمنتاتیو در شیر بز و میش لاکتوباسیلوس فرمتوم *Lactobacillus fermentum* بود.  
گونه‌های هموفرمنتاتیو مانند *Streptococcus lactis* و *Streptococcus cremoris* را از همه نمونه‌ها  
جداسازی کردند در حالی که در شیر شتر فقط گونه هتروفرمنتاتیو *Leuconostoc lactis* یافت شد.

بر اساس نتایج چندین (۱۹۹۹)، آنورادها و راجشواری (۲۰۰۵) و گیسون و رابرفرید (۱۹۹۵) در  
مورد طبقه‌بندی باکتری‌های پروبیوتیک، بسیاری از باکتری‌های اسید لاکتیک جدا شده از چال در این  
پژوهش مانند *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Streptococcus thermophilus*,  
*Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*,  
*Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus casei subsp. Paracasei*, *Lactobacillus casei subsp rhamnosus*,  
*Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii*,  
*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri* در گروه  
باکتری‌های پروبیوتیک قرار دارند. البته تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در یک محصول باید به اندازه معینی  
برسد تا اثرات پروبیوتیکی لازم را به صورت قطعی داشته باشند. در این پژوهش شمارش باکتری‌های  
پروبیوتیک صورت نگرفته است اما با توجه به وجود آنها، احتمال پروبیوتیک بودن آنها وجود دارد و

برای قطعیت بخشیدن به آن در پژوهش‌های بعدی نیاز به شمارش و شناسایی آن‌ها براساس روش‌های مولکولی وجود دارد تا نتایج دقیق‌تری حاصل شود.

### نتیجه‌گیری

براساس یافته‌های این پژوهش نتیجه‌گیری می‌شود که چال دارای طیف وسیعی از باکتری‌های اسیدلاکتیک مانند لاکتوباسیلوس، استرپتوکوکوس، لاکتوکوکوس، لوکونوستوک، ویسلیا و پدیوکوکوس است و لاکتوباسیلوس‌ها نسبت به سایر گونه‌ها غالب هستند. در بین لاکتوباسیلوس‌ها، *Lactobacillus plantarum* و در بین جنس‌های مختلف کوکسی شکل، گونه‌های مختلف *Leuconostoc* بیشترین تعداد را تشکیل دادند. همچنین از این پژوهش نتیجه گرفته شد که به دلیل حضور بسیاری از باکتری‌های طبقه‌بندی شده به‌عنوان پروبیوتیک در نمونه‌های چال، ممکن است چال یک محصول پروبیوتیک باشد که البته نیاز به مطالعات بیشتری دارد تا پروبیوتیک بودن قطعی آن تعیین شود. اگر چه شناسایی مورفولوژیکی و بیوشیمیایی بر پایه الگوی تخمیر قندها، وسیله‌ای مناسب جهت شناسایی باکتری‌هاست اما این روش شناسایی همیشه دقیق و قابل اعتماد نیست همچنان‌که این مسئله توسط سایر پژوهشگران نیز تأیید شده است (مویانا و همکاران، ۲۰۰۳؛ دآنجلیس و همکاران، ۲۰۰۱؛ نایگاتو، ۲۰۰۰). بنابراین روش‌های موجود باید با تکنیک‌های مولکولی نیز تلفیق شوند تا نتایج دقیق‌تر و قابل اطمینان‌تری حاصل شوند.

### منابع

- Abdelgadir, W.S., Hamad, S.H., Moller, P.L., and Jakobsen, M. 2001. Characterization of the dominant microbial of Sudanese fermented milk Rob. *International Dairy Journal*, 11: 63-70.
- Abdelgadir, W. S., Nennis, D.S., Hamad, SH. P. and Jakobsen, M. 2008. A Traditional Sudanese fermented camel's milk products, *Gariss*, as a habitat of *Streptococcus infantarius* subsp. *Infantries*. *International Journal Food Microbiology*, 127:215–219.
- Abu-Tarboush, H.M. 1994. Growth behavior of *Lactobacillus acidophilus* and biochemical characteristics and acceptability of acidophilus milk made from camel milk. Dept. Food Science College of Agriculture, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia.
- Akabanda, F., Owusu- Kwarteng, J., Glower, R.L.K., and Tano-Debrah, K. 2010. Microbiological characteristics of Ghanaian traditional fermented milk product, *Journal of Nature and Science*, 8 (9): 178-187.
- Anuradha, S., and Rajeshwari, K. 2005. Probiotics in Health and Disease. *JACM*, 6: 67-72.

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15<sup>th</sup> ed. AOAC, Arlington. VA.
- Ashmaig, A., Hasan, A., and Ei Gaali, E. 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Sudanese fermented camel milk (Grriss). *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 3 (8) pp. 451-457.
- Arizcun, C., Barcina, Y., and Torre, P. 1997. Identification and characterization of proteolytic activity of *Enterococcus* spp. isolated from milk and Roncal and Idiazabal cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 38: 17-24.
- Aussel, X. 2002. Etudes des bacteries lactiques isolées du shubat et du koumis. Mémoire de BTS Industrie agro-alimentaire, CIRAD, Montpellier, France, 51p.
- Ayad, E.H.E, Nashat, S., El-Sadek, N., Metwaly, H., and El-Soda, M. 2004. Selection of wild lactic acid bacteria isolated from traditional Egyptian dairy products according to production and technological criteria. *Food Microbiology*, 21: 715-725.
- Benckerroum, N., Boughdadi, A., Bennani, N., and Hidane, K. 2003. Microbiological quality assessment of Moroccan camel milk and identification of predominating lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19: 645-648.
- Bradley, R.L.J.E., Amold, Jr., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith D.E., and Viries, B.K. 1992. Chemical and Physical Methods. Inc: Standard Methods for the Examination of Dairy Products. Marshall R.T. (Ed).
- Chandan, R.C. 1999. Enhancing market value of milk by Adding Cultures. *Journal of the Dairy Science*, 82: 2245-2256.
- Daeschel, M.A. 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Journal of Food Technology*, 43: 164-166.
- De Angelis, M., Corsetti, A., Tosti, N., Rossi, J., Corbo, M., and Gobbetti, M. 2001. Characterization of non-starter lactic acid bacteria from Italian ewe cheeses based on phenotypic, genotypic and cell wall protein analyses. *Applied of Environmental Microbiology*, 67: 2011-2020.
- De Man, J.C., Rogosa, M., and Sharpe, M.E. 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *Journal of Applied Bacteriology*, 23: 130-135.
- De Roissart, H. and Luquet, F.M. 1994. *Bacteries Lactiques*, Vol. 1 and 2. Uriage: Lorica.
- Duan, Y., Zhongfang, T., Yanping, W., Zongwei, L., Zongyi, L., Guangyong, Q., Yuping, H., and Yimin, C. 2008. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from Tibetan Qula cheese. *Journal General Applied Microbiology*, 44:311-316.
- Elgadi, Z. A.M., Warda,S., Albel Gadir and Hamid, A. Dirar. 2008. Isolation and identification of lactic acid bacteria and yeast from raw milk in Khartoum state (sudan). *Research Journal of Microbiology*, 3(3): 163-168.
- Farah, Z, Fischer, A. 2004. Milk and Meat from the camel. Handbook on products and processing. Vdt Hochschul verlag AG and der ETHZ urch, Zurich/Singen.

- Fitzsimons, A.N., Cogan, T.M., Condon, S., Beresford, T. 2001. Spatial and temporal distribution of non-starter lactic acid bacteria in cheddar cheese. *Journal Applied Microbiology*, 90: 600-608.
- Garrity, G.M., Bell, J.A., and Lilbum, T.G. 2004. Taxonomic Outline of The Prokaryotes Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2<sup>th</sup>ed. DOI 10.1007/bergeysoutline200405.
- Gelsomino, R., Vancanneyt, M., Cogan, T.M., Condon, S., and Swings, J. 2002. Source of *Enterococci* in a farm house raw-milk cheese, *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 3560–3565.
- Gibson, G.R., and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125: 1401-12.
- Gonfa, A., Foster, H., and Holzappel, W. 2001. Field survey and literature review on traditional fermented milk products of Ethiopia. *International Journal Food Microbiology*, 68: 173-186.
- Grigoryants, N.N. 1954. Composition of camel milk and chal (Ru). *Vop. Pit.* 13: 41–45.
- Hamad, S.H., Dieng, M.C., Ehmann, M.N. and Vogel, R.F. 1997. Characterization of the bacteria flora of Sudanese sorghum flour and sorghum sour dough. *Journal Applied Microbiology*, 83: 764-770.
- Hardie, J.M. 1986. Genus *Streptococcus* Rosenbach 1884. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins Co, Baltimore, MD, USA, pp. 1043-1071.
- Harrigan, W.F. and McCane, M.E. 1976. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. London.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, H.A., Staley, J.T., and Williams, S.T. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth ed. Williams and Williams. Baltimore. P. 566.
- Kandler, O., and Weiss, N. 1986. Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins Co, Baltimore, MD, USA, 2: pp. 1209-1243.
- Kelly, W.J., Davey, G.P, and Ward, L.J.H. 1998. Characterization of *Lactococci* isolated from minimally processed fresh fruit and vegetables. *International Journal Food Microbiology*, 45: 83-92.
- Kieselev, N. 1956. Bacteriological examination of chal (Ru). *Mol. Prom.* 17: 31–34.
- Lakosa, I.I. and Shokin, V.A. Milk production. 1964. In: *Camels. Science. Technical Agricultural Publisher Kolos Moscow.* 113–120.
- Lhoste, F. 2004. Lait de chamelle pour l'Afrique. Atelier sur la filière cameline en Afrique, Niamey, Animal production and health, Publication FAO. Rome.
- Lore, T.A., Mbugua, S.K., Wangoh, J. 2005. Enumeration and identification of microflora in *Suusac*, a Kenyan traditional fermented Camel milk product. *Lwt-Food Science Technology*, 38:125–130.

- Marino, M., Maifreni, M., Rondinini, G. 2003. Microbiological characterization of artisanal Montasio cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 229: 133-140.
- Marth, E.H. 1978. *Standards Methods for the Examination of Dairy Products*. 14<sup>th</sup> ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Mundt, J.O. 1986. Lactic acid *streptococci*. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 2, Williams and Wilkins Co, Baltimore, MD, USA, pp. 1064-1071.
- Muyana, C., Narvhus, J., Treimo, J., and Langsrud, T. 2003. Isolation, characterization and identification of lactic acid bacteria from *Bushera*: a Ugandan traditional fermented beverage. *International Journal Food Microbiology*, 80: 201-210.
- Narvhus, J., Gadaga, T. 2003. The role of interaction between yeasts and lactic acid bacteria in African fermented milks: A review. *International Journal Food Microbiology*, 86: 51-60.
- Nigatu, A. 2000. Evaluation of numerical analysis of RAPD and API 50 CHL patterns to differentiate *Lactobacillus plantarum*, *Lact. fermentum*, *Lact. sake*, *Lact. parabuchneri*, *Lact. gallinarum*, *Lact. casei*, *Weisella minor* and related taxa isolated from kocho and tef. *Journal Applied Microbiology*, 89: 969-978.
- Nikolic, M., Terzic-Vidojevic, A., Jovicic, B., Begovic, J., Golic, N., and Topisirovic, L. 2008. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Bukuljac, a homemade goat's milk cheese. *International Journal Food Microbiology*, 122: 162-170.
- Ohris, S.P. and Joshi, B.K. 1961. Composition of camel milk. *Indian Vet. J.* 38(a): 514-516, 38(b): 604-606.
- Omar, H., Halima, Z., and Nour-Eddine, K. 2007. Technologically important properties of lactic acid bacteria isolated from raw milks of three breeds of Algerian dromedary (*Camelus dromedarius*). *Afr. J. Biotechnol.* 6: 1720-1727.
- Ortigosa, M., Arizcun, C., Irigoyen, A., Oneca, M., and Torre, P. 2006. Effect of lactobacillus adjunct cultures on the microbiological and physicochemical characteristics of Roncal-type ewes'-milk cheese. *Food Microbiology*, 23: 591-598.
- Ostlie, H.M., Eliassen, L., Florvaag, A., Skeie, S. 2004. Phenotypic and PSR-based characterization of the microflora in Norvegia cheese during ripening. *International Journal Food Microbiology*, 94: 287-299.
- Ouadghiri, M., Amar, M., Vancanneyt, M., Swings, J. (2005). Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS Microbiology Letter*, 251: 267-271.
- 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.



- Pérez-Elortondo, F.J., Aldamiz, P., Albusu, M., and Barcina, Y. 1998. Indigenous lactic acid bacteria in Idiazabal ewe's-milk cheese. *International Dairy Journal*, 8: 725-732.
- Rahman, N., Xiaohong, C., Meiqin, F., and Mingsheng, D. 2009. Characterization of the dominant microflora in naturally fermented camel milk *Shubat*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1941-1946.
- Rashid, M. and Miyamoto, T. 2005. Quality Evaluation of Traditional Milk "Sahi" in Bangladesh. *Journal Milk Science*, 54(1): 29-36.
- Reid, G. 1999. The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Applied Environmental Microbiology*, 65: 3763-3766.
- Sharpe, M.E. 1979. Lactic Acid Bacteria in the Dairy Industry. *Journal Society of Dairy Technology*, 32: 9-17.
- Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharp, M.E., Holt, J.G. 1986. *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*. Vol. 2, Williams and Wilkins Co, Baltimore, MD, USA. p: 965-1599.
- Sulieman, A., Ilayan, A., and ElFaki, A. 2006. Chemical and microbiological traditional fermented milk products of Ethiopia. *International Journal Food Microbiology*, 68: 173-186.
- Sun, Z.H., Liu, W.J., Zhang, J.C., Yu, J., Gao, W., Jiri, M., Menghe, B., Sun, T.S., and Zhang, H.P. 2010. Identification and characterization of the dominant lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milk in Mongolia. *Folia Microbiology Journal*, 55 (3): 270-276.
- Terzic-Vidojevic, A., Vukasinovic, M., Veljovic, K., Ostojic, M., Topisirovic, L. 2007. Characterization of microflora in homemade semi-hard white Zlata cheese. *International Journal Food Microbiology*, 114: 36-42.
- Terzic-Vidojevic, A., Nikolic, M., Veljovic, K., Tolinacki, M., Busarcevic, M., and Topisirovic, L. 2009. Analysis of the Lactic Acid Bacteria Microflora in Traditional Caucasus Cow' Milk Cheeses. *Archives of Biological Science Belgrade*, 61 (3), 395-406.
- Teuber, M., Geis, A. and Neve, H. 1986. Genus *Lactobacillus*. In: *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*. 8<sup>th</sup> Edn., Waverly Press Inc., Baltimore, M., USA.
- Torres-Lianez, M.J., Vallejo- Cordoba, B., Diaz-Cinco, M.E., Mazonra-Manzano, M.A. and Gonzalez-Cordova, A.F. 2006. Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fersco cheese. *Journal Food Control*, 17: 683-690.
- Watanabe, K., Fujimoto, J., Sasamoto, M., Dugersuren, J., Tumursuh, T., and Demberel, SH. 2008. Diversity of lactic acid bacteria and yeasts in *Airag* and *Tarag* Traditional fermented milk products of Mongolia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24: 1313-1325.
- Wood, B.J.B. and Holzappel, W.H. 1995. *The Genere of Acid Lactic Bacteria*, Vol.2, 1<sup>st</sup> ed, pp:398.
- Zourari, A., Roger, S., Chabanet, C., and Desmazeaud, M. 1999. Caractérisation de bacteries lactiques thermophiles isolées de yaourts artisanaux grecs. Souches de *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*. *Lait* 71, 445-461.

(Short Technical report)

## Isolation and identification of lactic acid bacteria from chal in Golestan Province

**B. Zarei yam\*<sup>1</sup>, M. Khomeiri<sup>2</sup>, A.R. Sadeghi mahonak<sup>3</sup>, S.M. Jafari<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>M.Sc. graduated, Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, <sup>2</sup>Associate Prof. Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, <sup>3</sup>Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

### Abstract

The lactic acid bacteria in 9 samples of the fermented camel milk, *Chal*, taken from rural area and retail markets were identified on the basis of their physiological and morphological properties. From the samples, 93 LAB species including, 64 *Bacillus* (68.8%), 8 cocci 8.6%), 11 *Coccobacillus* (11.83%), 2 *Streptococcus* (2.15%) and 8 tetrade (8.6%) were identified. Among the *Lactobacillus* species, *Lactobacillus plantarum* (13%) and in cocci shapes, different species of *Leuconostoc* (13%) were the predominant. All the isolates except, *Lactobacillus viridescens*, *Lactobacillus kefi* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* were fermented the galactose. Results showed all the isolates, aerobically growth at 37 °C and only species identified as *Leuconostoc mesenteroides subsp. Cremoris* and *Leuconostoc paramesenteroides* could not grow at 30 °C. Only *Lactobacillus divergens* fermented the Glycerol as carbon source and *Lactobacillus fermentum* produced the CO<sub>2</sub> from Sodium gluconate. Between the isolates only *Lactobacillus helveticus* and *Leuconostoc mesenteroides* could not grow in the presence of sodium chloride 2%. Many of lactic acid bacteria isolated from *chal* such as *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus casei subsp. Paracasei*, *Lactobacillus casei subsp rhamnosus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus gasseri* classified in the probiotic bacteria group. Furthermore, *chal* can be considered as a probiotic dairy product.

**Keywords:** Fermented camel milk, Glycerol, *Lactobacillus acidophilus*, Probiotic.

\*Corresponding author; alizarei1662@gmail.com