تأثير الخلايا الحية والميتة والمستخلص الخالي من الخلايا لبعض انواع بكتريا حامض اللاكتيك في تقليل الكولسترول والحمولة الميكروبية للنسيج الدهني للجاموس

عامر عبد الرحمن الشيخ ظاهر
كلية الزراعة/ جامعة بغداد

الخلاصة

قدرت بعض النسب المئوية للمكونات الكيميائية للنسيج الدهني البطني للجاموس وهي الرطوبة والدهن والبروتين والرماد وبلغت 9.07، 84.49، 3.02 و1.33 وعلى التوالي، فيما بلغت نسبة الكولسترول ورقم البيروكسيد والرقم الهيدروجيني 178.62ملغم/ 100 غرام دهن و2.73 مللي مكافئO_2/كغم دهن و6.27 وعلى التوالي. استعملت الخلايا الحية والخلايا الميتة (مقتولة بالبسترة 63° م لمدة نصف ساعة) والمستخلص الخالي من الخلايا Cell Free Extract (CFE) لأربعة أنواع من بكتريا حامض اللاكتيك وبنسبة لقاح 10% مع النسيج الدهني للجاموس وهي:

(*Lactobacillus casei, Lactobacillus delbrueckii spp bulgaricus, Lactobacillus acidophilus&Bifidus actiregularis*.)

وحضنت في درجة حرارة 37 م لمدة 48 ساعة، أظهرت النتائج حدوث تقليل في مستوى الكولسترول تراوح بين 28.17 – 60.34% للخلايا الحية وكانت بكتريا *Lactobacillus casei* هي الأكثر كفاءة ، فيما تراوحت نسبة التخفيض CFE بين 27.45 – 17.28% وكانت بكتريا *Lactobacillus acidophilus* هي الأكثر كفاءة، أما بالنسبة للخلايا الميتة فتراوحت نسبة التخفيض بين 21.32 –9.11%وكانت بكتر يا *Lactobacillus delbrueckii spp bulgaricus* هي الأكثر كفاءة. وأظهر ت ذات المعاملات مقدرة عالية متباينة في تخفيضها لبكتريا القولون والبكتريا المحللة للدهون والخمائر والأعفان للنسيج الدهني للجاموس وكانت بكتريا *Lactobacillus acidophilus* هي الأكثر كفاءة تلتها بكتريا*Lactobacillus delbrueckii spp bulgaricus* .

The effect of life and dead cell and cell free extract for same lactic acid bacteria in reducing cholesterol and microbial load for buffalo fatty tissue

A. A. M. Al-Sheikh Thahir
College of Agriculture\ University of Baghdad

Abstract

Some of chemical composition for abdominal buffalo fatty tissue were measured (moisture, fat, protein, and ash) the results were 9.7, 84.79, 3.02 and 1.33% respectively. While the cholesterol level, peroxide value, pH were 178.62 mg/100gm fat, 2.73 ml meq O_2/kg fat and 6.27 respectively. 10% inoculums of life and dead bacteria (which killed by using slow pasteurization 63^{o}C for 30 minute) and cell free extract (CFE), four lactic acid bacteria (*Lactobacillus casei, Lactobacillus delbrueckii spp bulgaricus, Lactobacillus acidophilus* and *Bifidus actiregularis*), added to abdominal buffalo fatty tissue and incubated at 37^{o}C for 48 hours, the results were shown decreasing in cholesterol level between 28.16 – 60.34% for the life bacteria, *Lb.casei*was the most efficient, for the CFE treatments the percentage decreasing were

between 17.28- 26.45% *Lb.acidophilus*was the best, while the decreasing in cholesterol level for the dead bacteria treatments were between 9.11– 21.32 %, *Lb. bulgaricus* was the most effective. The same treatments also shown high efficiency in reducing total coliform, lipolytic bacteria and yeasts and molds as the microbial load indicators in the abdominal buffalo fatty tissue, *Lb.acidophilus* and Lb. *bulgaricus* were the best among the other bacteria.

المقدمة

يعد الجاموس من بين أهم مصادر الحليب واللحوم في العراق أذ يستعمل حليبه ولحومه وشحومه بكثرة في تصنيع العديد من الأغذية ونظرا لقلة الدراسات حول هذا الحيوان عموماً لاسيما أنسجته الدهنية جاءت هذه الدراسة. تعد الأنسجة الدهنية الحيوانية من أولى المواد التي استعملها الإنسان لسهولة ملاحظتها وانتزاعها عند جزر الحيوانات،وتؤدي الدهون دوراً مهماً في توازن قوام الأغذية المصنعةوتعد مصدراً رئيسياً ومهماً للطاقة والحوامض الدهنية الأساسية التي يحتاجها الجسم للنمو، إذ تزود الدهون الجسم 9 كيلو كالوري لكل غرام واحد منه أي ضعف ما يزوده الوزن نفسه من الكربوهيدرات والبروتينات (1). ومن جانب أخر تعد الأنسجة الدهنية الحيوانية ذا ت محتوى عالي من الكولسترول مما جعلها ذات ارتباط وثيق بارتفاع معدلات الإصابة بأمراض شرايين القلب التاجية Coronary Heart Diseases وتصلب الشرايين (2). أن خطر الإصابة بالنوبات القلبية أعلى ثلاث مرات عند الأشخاص المصابين بارتفاع مستوى الكولسترول في الدم Hypercholesterolemia مقارنة بالأشخاص ذوي المعدل الطبيعي كما وأصدرت المنظمة WHO نشرات عن الأغذية المرتفعة الكولسترول كالأنسجة الدهنية الحيوانية والتي تزيد أخطار الإصابة بأمراض القل ب (3). تمتلك بكتريا حامض اللاكتيك ولاسيما المعززات الحيوية المقدرة على خفض مستوى الكولسترول، كأحد التأثيرات الصحية التي تمت دراستها حيث أظهرت كفاية في خفض الكولسترول في الأوساط الزرعية ومصل دم الحيوان والإنسان بآليات مختلفة (4) فضلا على التأثير كمضادات مكروبية والذي يشمل التنافس على مواقع الالتصاق والمواد المغذية للمسببات المرضية وخفض الرقم الهيدروجيني وإنتاج الحوامض الدهنية قصيرة السلسلة وا إنتاج البكتريوسينات(5). ولغرض معرفة مقدرة الخلايا الحية والخلايا الميتة ومستخلص الخلايا الحية في تقليل مستوى الكولسترول والفعل التضادي أتجاه الملوثات الميكروبية كلا على حده ولأربعة أنواع من بكتريا حامض اللاكتيك وتقديرها كنسب مئوية، كل ذلك سيؤدي لمحاولة فهم اليات هذه الفعاليات الحيوية مستخدمين النسيج الدهني للجاموس في ذلك كدراسة خارج الجسم In vitro مما سيفسح الطريق لدراستها على حيوانات التجارب وداخل جسم الانسان.

المواد وطرائق العمل

- **جمع النماذج:** جمعت نماذج الأنسجة الدهنية البطنية للجاموس من السوق المحلية وضعت النماذج في أكياس بولي أثيلين ونقلت في صندوق مبرد Cooling box حاوي على قطع من الثلج حتى إيصالها إلى المختبر، بعدها قطعت نماذج الأنسجة الدهنية إلى قطع صغيره باستعمال سكين فولاذيه غير قابله للصدأ معقمة واستخدمت مفرمة لحوم كهربائية لغرض ثرم النماذج المقطعة وكانت جميع أجزاء الماكينة ذات الاحتكاك المباشر مع النماذج غير قابله للصدأ بعدها مزجت النماذج لضمان تجانسها.
- **المكونات الكيميائية:** قدرت النسبة المئوية للمكونات الكيميائية حسب ما ورد في AOAC (6) إذ قدر ت النسبة المئوية للرطوبة باستخدام جهاز الفرن المفرغ والنسبة المئوية للدهن باستخدام جهاز سكسوليت وللبروتين باستخدام جهاز مايكروكلدال MicroKjeldahl والرماد باستخدام فرن الترميدMuffle furnace.
- **النوعية الميكروبية:** استعملت طريقة Pour Plate Count المذكورة في APHA (7) في تقدير العدد الكلي باستعمال وسط Nutrient Agar وأعداد بكتريا القولون باستعمال الوسط MacConKey Agar وأعداد

الخمائر والأعفان باستعمال الوسط Potato Dextrose Agarو استعملت الطريقة المذكورة في (8) في تقدير أعداد البكتريا المحللة للدهون باستعمال الوسط Nutrient Agar والمضاف له دهن حر 1 gm / 100 ml.

- **الفحوص الفيزيو كيميائية:** قدرت نسبة الكولسترول الكلي حسب الطريقة الواردة في Stanbio Cholesterol Liquicolor Procedure No.10، وباستعمال Kit خاص مجهز من شركة Spin react الاسبانية وحسب تعليمات الشركة المجهزة.

حسب تركيز الكولسترول الكلي في 100غم من الدهن وفق العلاقة الآتية:

$$\text{الكولسترول (ملغم/100غم)} = \frac{\text{قراءة امتصاصية الانموذج الدهني}}{\text{قراءة امتصاصية المحلول القياسي}} \times 200$$

وقدر رقم البيروكسيد استنادا إلى الطريقة القياسية البريطانية British standard والمذكورة في (9)، فيما اتبعت الطريقة الواردة في (10) في تقدر الرقم الهيدروجيني وتم القياس باستعمال جهاز pH-meter، وقدرت نقطة الانصهار استنادا إلى ما جاء في AOAC (6).

- **المزارع الميكروبية:** استعملت بكتريا *Lactobacillus casei* وبكتريا *Lactobacillus delbrueckii spp bulgaricus* وبكتريا *Lactobacillus acidophilus* وبكتريا *Bifidus actiregularis* المتوافرة في مختبرات قسم علوم الأغذية – كلية الزراعة – جامعة بغداد.
- **مستخلص الخلايا الحية:** حضر مستخلص الخلايا الحية للمزارع الميكروبية بالنبذ المركزي للوسط الزرعي MRS-BROTH السائل الملقح بنسبة 10% من الأنواع البكتيرية الأربع لمدة 15دقيقة بسر عة 4000 دورة/ دقيقة، أخذ الجزء الطافي من الوسط بوساطة محقنه طبية معقمة Syringe ورشحت باستعمال المرشح البكتيري بقطر 0.45µ m (ملي بور فلتر) وحسب ما ذكره (11).
- **الخلايا الميتة:** حضرت الخلايا الميتة للمزارع الميكروبية الأربع ببسترة الوسط الزرعيMRS-BROTH السائل الملقح بنسبة 10% من الأنواع البكتيرية الأربع لمدة 15 في درجة حرارة 63 م.

النتائج والمناقشة

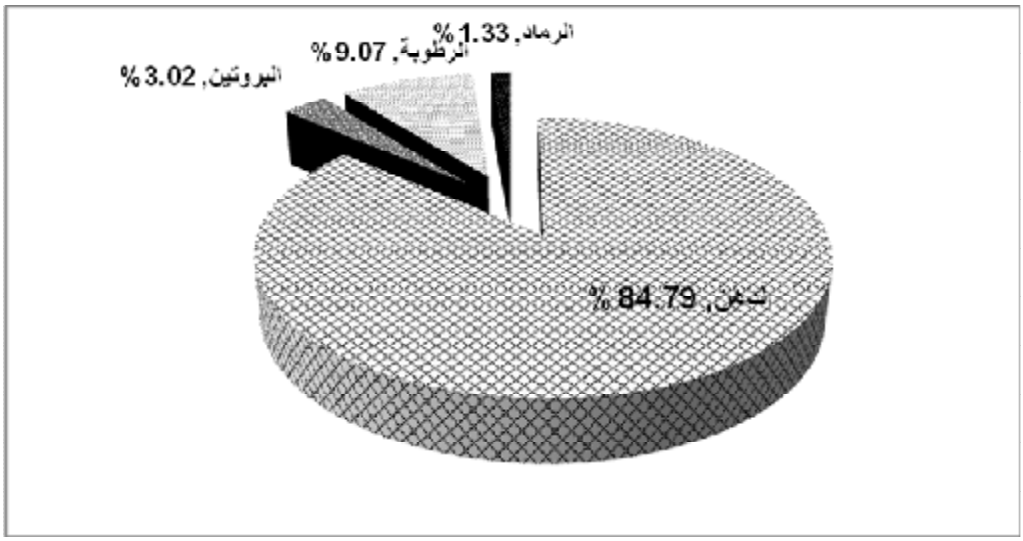
- **النوعية الميكروبية:** أظهرت النتائج في جدول (1) النوعية الميكروبية لأنموذج النسيج الدهني البطني للجاموس إذ بلغ العدد الكلي 62×10^4 و.م.م/غم فيما بلغت أعداد بكتريا القولون 17×10^3و.م.م/غم وبلغت أعداد البكتريا المحللة للدهون 21×10^3و.م.م/غم وبلغت أعداد الخمائر والأعفان 11×10^3 و.م.م/غم وتتفق هذه النتائج مع ما وجده (12) في دراسته للنسيج الدهني لإلية الغنم وسنام الإبل إذ بلغ العدد الكلي 67×10^4 و84×10^4 و.م.م/غم وأعداد بكتريا القولون 1.6×10^3 و1.9×10^3 و. م.م/ غم وأعداد البكتريا المحللة للدهو ن 7×10^3 و13×10^3 و.م.م/ غم وأعداد الخمائر والأعفان 4×10^3 و9×10^3 و.م.م/ غم وعلى التوالي.

جدول (1) يبين النوعية الميكروبية

النوعية الميكروبية	و.م.م/ غم
العدد الكلي	62×10^4
بكتريا القولون	17×10^3
البكتريا المحللة للدهون	21×10^3
الخمائر والأعفان	11×10^3

***كل رقم يمثل معدل لمكررين**

- **المكونات الكيميائية:** أظهرت النتائج في الشكل (1) النسبة المئوية للمكونات الكيميائية للنسيج الدهني للجاموس إذ بلغت النسبة المئوية للرطوبة 9.07% وللدهن 84.79% وللبروتين 3.02% وللرماد 1.33%وقد تعز د الاختلافات في القيم إلى عمر وجنس و غذاء وأساليب تربية الحيوان وغيرها من الظروف البيئية.



شكل (1) يبين المكونات الكيميائية

- **الفحوص الفيزيوكيميائية:** أظهرت نتائج الفحوص الفيزيوكيميائية في الجدول (2) لأنموذج النسيج الدهني البطني للجاموس إذ بلغت نسبة الكولسترول الكلي 178.62 ملغم/ 100غم دهن وقد يعزى الاختلاف في نسبة الكولسترول إلى نوع النسيج الدهني والتغذية والحالة الفسلجية للحيوان فيما بلغت قيمة الرقم الهيدروجيني 6.27 pH وبلغت قيم رقم البيروكسيد 2.73 ملي مكافئ O_2/ كغم دهن لذا تعد النماذج طازجة إن وجود هذه النسب من البيروكسيدات نتيجة لتفاعلات الأكسدة الذاتية الطفيفة في أثناء عملية الاستخلاص بوجود الهواء وتقع هذه النتائج ضمن الحدود القياسية للمواصفة القياسية العراقية للشحوم الحيوانية رقم 1988/452 والتي تنص على أن لا يتجاوز رقم البيروكسيد عن 10.00 مللي مكافئO_2/ كغم دهن (13).

جدول (2) يبين الفحوص الفيزيوكيميائية

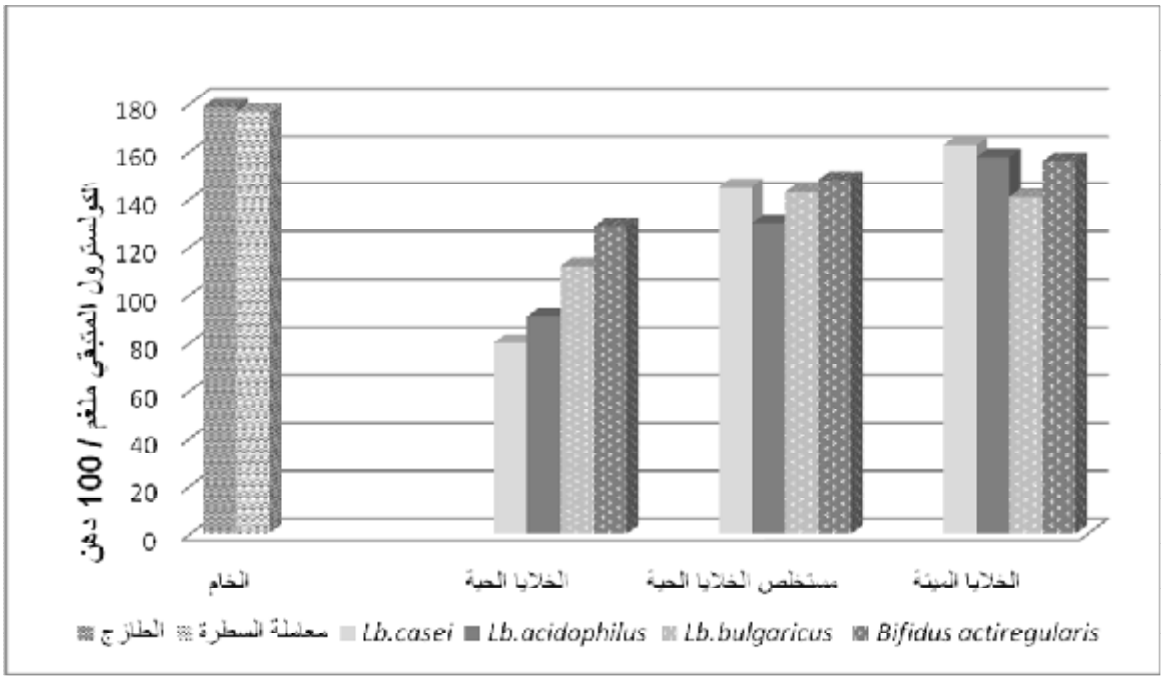
الفحوص الفيزيوكيميائية	
نسبة الكولسترول (ملغم /100غم دهن)	178.62
الرقم الهيدروجيني pH	6.27
رقم البيروكسيد (ملي مكافئ O_2/كغم دهن)	2.73

***كل رقم يمثل معدل لمكررين**

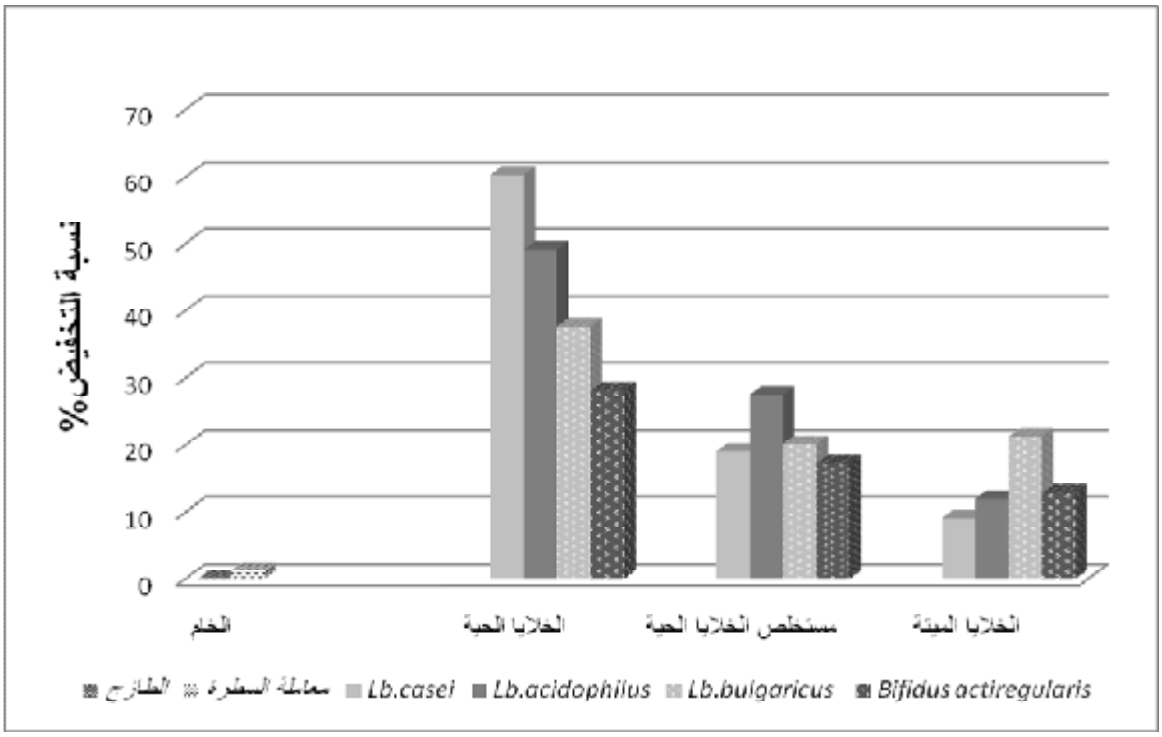
- **الكولسترول:** أظهرت النتائج حدوث ارتفاع في النسب المئوية لتخفيض الكولسترول الكلي تبعاً لنوع البكتريا المستعملة كما مبين في الشكلين (2 و3)، إذ بلغت أعلى نسبة تخفيض للكولسترول عند الحضن مع الخلايا الحية للمزارع البكتيرية قيد الدراسة عند استعمال الخلايا الحية لبكتريا *Lb.casei* لتصل إلى 60.34% في حين بلغت اقل نسبة تخفيض28.17% عند استعمال الخلايا الحية لبكتريا *Bifidus actiregularis* .

وتتفق هذه النتائج مع ما وجده (9) من ان استعمال نسبة 10% من بكتريا *Lb.casei* وبكتريا *Lb.acidophilus* ومدة حضن 48 ساعة مع النسيج الدهني لإلية الغنم قد خفضتا مستوى الكولسترول بنسبتي 77.52، 49.41 % وعلى التوالي وبنسبتي 58.19 و40.18%و على التوالي للنسيج الدهني لسنام الإبل. وقد تعزى الاختلافات بين الانواع المستعملة والية تخفيضها الى الكفاء الجينية لكل منها والاختلاف في الية التخفيض وهذا يبرر البحث المستمر عن انواع الاحياء المجهرية الاكثر كفاءة في خفض الكولسترول وربما خلائطها. كذلك تتفق مع ما أشار أليه (14) من مقدرة الخلايا الحية لبكتريا *Lb.plantarum*على خفض مستو ى الكولسترول في الأوساط الزرعية. وقد يعزى السبب في خفض الكولسترول الذي تسببه المعززات الحيوية لاندماجه إلى أغشيتها الخلوية أثناء النمو فقد أشار (15) إلى ظهور اختلافات في توزيع الحوامض الدهنية لأغشية الخلايا النامية بوجود وعدم وجود الكولسترول والذي يعود لاندماج الكولسترول إلى الأغشية الخلوية. وبلغت أعلى نسبة تخفيض

للكولسترول عند الحضن مع مستخلصات الخلايا الحية عند استخدام مستخلص الخلايا الحية لبكتريا *Lb.acedophilus*إذ بلغت النسبة 27.45% بينما بلغ اقل تخفيض لنسبة الكولسترول عند استعمال مستخلص الخلايا الحية لبكتريا *Bifidus actiregularis* والتي بلغت 17.28%. وعز د (4) خفض الكولسترول إلى انخفاض pH الناتج عن الحوامض العضوية. فيما عزى (16) الانخفاض الحاصل في الكولسترول إلى إن إنزيم كولسترول دي هايدروجينيز Cholesterol dehydrogenase والمنتج من قبل المعززات الحيوية وهو المسؤول عن تحفيز تحول الكولسترول إلى Cholest-4-en-3-one وهو عامل مساعد وسطي في تحول الكولسترول إلى Coprostanol الغير قابل للامتصاص في الجسم. اما عند استعمال الخلايا الميتة فقد بلغت أعلى نسبه لتخفيض الكولسترول عند الحضن مع الخلايا الميتة لبكتريا *Lb.bulgaricus* إذ بلغت 21.32% وبلغت اقل نسبة تخفيض عند استعمال الخلايا الميتة لبكتريا *Lb.casei* لتبلغ 9.11%. وقد يعزى سبب التخفيض إلى ترسب الكولسترول على جدران الخلايا الميتة وهذا ما يتفق مع (17) الذي علل الانخفاض في الكولسترول إلى زيادة الكولسترول في طبقة الفوسفو لبيد الثنائية مما يرجح اندماج الكولسترول إلى هذه المناطق، كما بين إن التخفيض الحاصل في الكولسترول قد يعود لتحوله إلى Coprostanol. بينت النتائج إن هناك انخفاض طفيف في قيم الكولسترول في معاملة السيطرة في مدتي الحضن، وقد يعود السبب في ذلك إلى البكتريا الملوثة الموجودة طبيعيا والتي تعمل على خفض الكولسترول بشكل أبطأ مما لو أُضيفت (18).



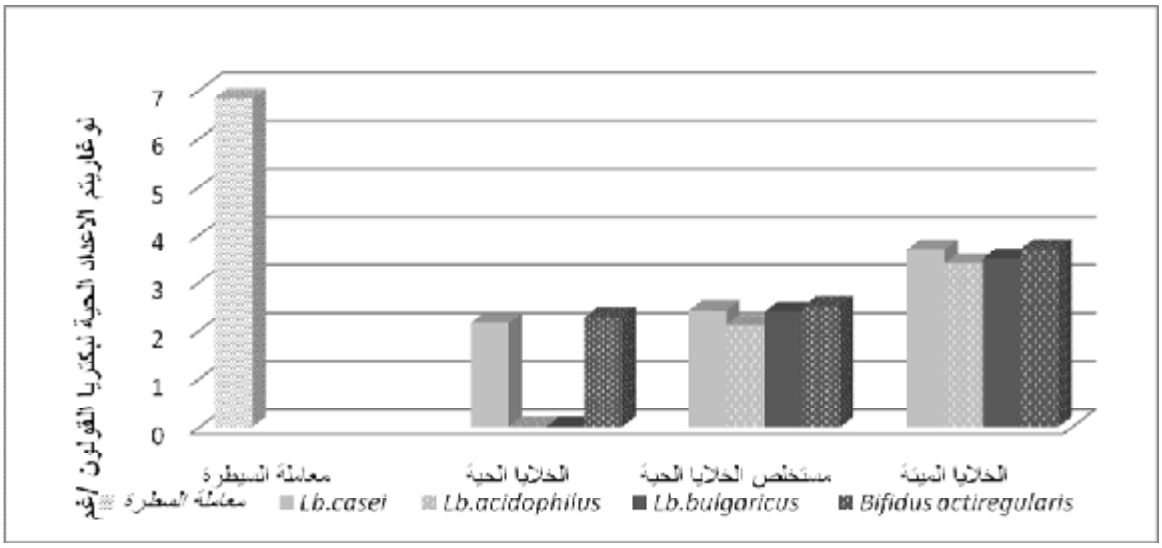
شكل (2) يبين نسب الكولسترول المتبقي



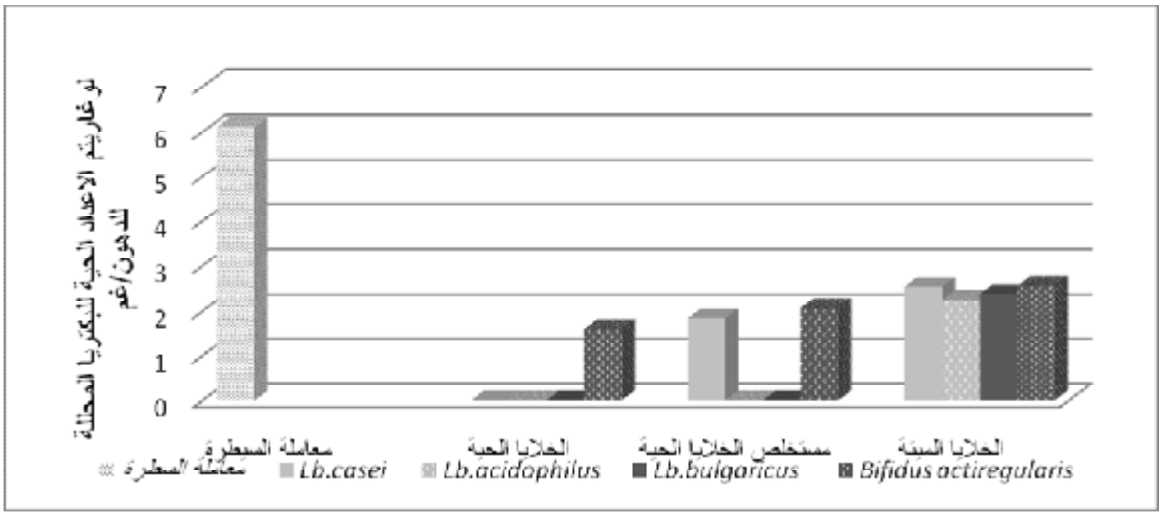
شكل (3) يبين نسب تخفيض الكولسترول

- **الفعاليــة المضــادة للأحيــاء الملوثــة:** أظهـرت النتـائج انخفاضـاً فـي أعـداد الميكروبـات تبعـاً لنـوع البكتريـا والمستخلصـات والخلايـا الميتـة فعنـد اسـتعمال الخلايـا الحيـة أظهـر ت بكتريـا *Lb.acedophilus* وبكتريـا *Lb.bulgaricus* أفضـلية فـي الفعاليـة المضـادة للميكروبـات الملوثـة إذ خفضـت أعـداد بكتريـا القولـون (الشـكل 4)و الخمائر والأعفان (الشكل 6) دورتين لوغارتميتين لتصل الأعداد إلىالصفر مقارنـةً بمعاملـة السيطرة فيما لم تظهر البكتريا المحللة للدهون (الشكل 5) مع جميع الأنواع البكتيرية قيد الدراسة.

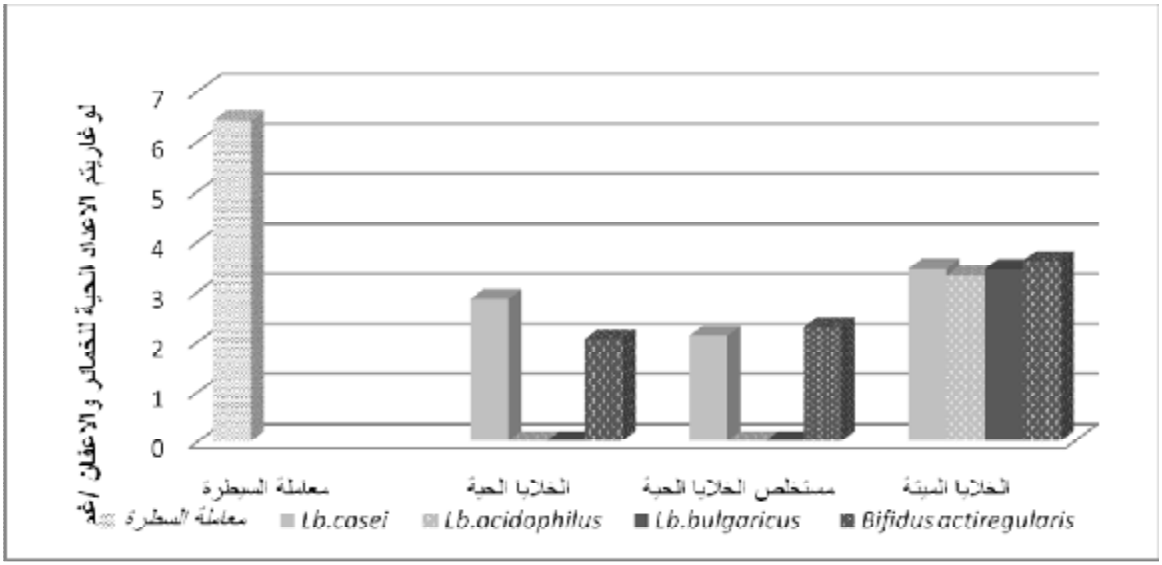
وتتفق النتائج مع ما ذكره (12) عند استعمال بادئي بكتريا *Lb.casei* وبكتريا *Lb.acidophilus* مـع النسيج الدهني لإلية الغنم وسنام الإبل من خفض الحمل الميكروبي للنسيجين الدهنيين دورتين لوغارتميتين ودوره لوغارتمية واحده عند الحمل الميكروبي العالي. كذلك تتفق مـع مـا ذكره (19) من أ ذ بكتريـا *Lb.acidophilus* تثبط نمـو الخمائر والأعفان وما وجده (14) من أن بكتريا LABثبطت طيفاً واسعاً من البكتريا الموجبـة والسالبة لصبغة كرام كذلك ثبطت نمو الخمائر والأعفان لإنتاجها العديد من البكتريوسينات مثل Acidolin وAcidophilin بالإضـافة إلـى إنتاجهـا بيروكسـيد الهيـدروجين وحـامض اللاكتيـك. وعنـد اسـتعمال مستخلصـات الخلايـا الحيـة فقـد أظهـر ت مستخلصات بكتريا *Lb.acedophilus* أفضلية في خفض أعداد بكتريا القولون دورة لوغارتمية واحدة وخفض أعداد البكتريـا المحللـة للـدهون والخمـائر والأعفـان لتصـل إلـى الصـفر. وأظهـر ت النتـائج فـي الأشـكال (4 و5 و6) تقليـل الحمولـة الميكروبيـة عند الحضـن مـع الخلايـا الميتـة لأنـواع البكتريـا قيـد الدراسـة أذ أظهـرت الخلايـا الميتـة لبكتريـا *Lb.acedophilus*أفضـلية فـي خفـض أعـداد الميكروبـات الملوثـة مقارنـة بمعاملـة السـيطرة وبـاقي المعـاملات تلتهـا بكتريـا *Lb.bulgaricus* وقـد يعـزى ذلـك لمقاومـة البكتريوسـينات التـي ينتجهـا نـوعي البكتريـا لحـرارة البسـترة مقارنـة ببكتريـا *Lb.casei* وبكتريـا *Bifidus actiregularis* وهـذا يتفـق مـع مـا ذكره (20) مـن مقاومـة البكتريوسـينات للدرجات الحرارية العالية ولمدة طويلة.



شكل (4) يبين لوغاريتم الاعداد الحية لبكتريا القولون



شكل (5) يبين لوغاريتم الاعداد الحية للبكتريا المحللة للدهون



شكل (6) يبين لوغاريتم الأعداد الحية للخمائر والأعفان

المصادر

1. Zubay, G. L. (1998). Biochemistry. The McGraw- Hill Companies, Inc., USA. 4th ed., P. 520.
2. Zeb, A. & Ali, M. (2008). Thermal Stability of Animal Tallow Used In Kebab Preparation. Chem. Sco. Pak. (Accepted).
3. Who. (2003). Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases, Report of A Joint Who/ Fao Expert Consultation, Geneva, Switzerland.
4. Mathara, J. M.; Schillinger, U.; Guigas, C.; Franz, C. & Kutima, P. M. (2008). Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. from traditional Maasai fermented milk products in Kenya. Int. J. Food Microbiol., 126: 57-64.
5. Gill, H. S. (2003). Probiotics to Enhance Anti-Infective Defences In The Gastrointestinal Tract. Best Practice and Res. Clin. Gastroenterol., 17(5): 755-773.
6. AOAC. (2000). Official methods of analysis. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.
7. APHA (American Public Health Association). (1978). Standard methods for the examination of dairy products.14th ed. Marth. E. H. (Ed). American Public Health Association. USA, Washington .D.C.
8. Harrigan, W. F. & McCance, M. E. (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic. Press. London, New York, San Francisco.
9. Pearson, D. (1984). The Chemical Analysis of Foods. 7th ed. New York.
10. Capita, R.; Liorente-Marigomez, S.; Prieto, M. & Carlos, A. C. (2006). Microbiological profiles, pH, and titratable acidity of chorizo and salchichön (Two Spanish Sausages) Manufactured with ostrich, deer, or pork meat. J. Food Protection., 69 (5):1183-1189.
11. Gupta, P. K.; Mital, B. K. & Garg, S. K. (1996). Antibiotic sensitivity pattern of various *Lactobacillus acidophilus*strains. Indian J. of Experimental Biol., 33: 620-621.
12. Al-Ziady, R. (2011). Reducing Cholesterol level in Some Animal Fats Tissues by using *Lactobacillus casie*and *Lactobacillus acidophilus* Bacteria. Thesis Presented In Partial Fulfillment Of The Requirements For The Degree Of Master Of Food Science and Biotechnology at Agriculture College-Baghdad University.
13. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية،مسودة المواصفات العراقية للشحوم الحيوانية، رقم (452) لسنة 1988.
14. Sirilun, S.; Chaiyasut, C.; Kantachote, D. & Luxananil, P. (2010). Characterization of Non-Human Origin Probiotic *Lactobacillus Plantarum* With Cholesterol-Lowering Property. African J. of Microbiol. Res., 4 (10): 994-1000.
15. Kimoto, H.; Ohmomo, S. & Okamoto, T. (2002). Cholesterol Removal From Media By *Lactococci*. J. Dairy Sci., 85: 3182-3188.
16. Chiang, Y. R.; Ismail, W.; Heintz, D.; Schaeffer, C.; Van Dorsselaer, A. & Fuchs, G. (2008). Study of anoxic and oxic cholesterol metabolism by *Sterolibacterium Denitrificans*. J. Bacteriol., 190: 905-914.
17. Lye, H. S.; Rusul, G. & Liong, M. T. (2010). Removal of cholesterol by lactobacilli via incorporation of and conversion to coprostanol. J. Dairy Sci., 93: 1383-1392.
18. Toldra, F. (2007). Handbook of fermented meat and poultry. First Edition. USA.
19. Magnusson, J.; Ström, K.; Roos, S.; Sjögren, J. & Schnürer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Lett., 219: 129-135.
20. الشيخ ظاهر، عامر عبد الرحمن. (1999). دراسة مقارنة للصفات الكيموحيوية لعزلة محلية وسلالة مستوردة من بكتريا *Lactobacillus acidophilus* واستخدامها في تصنيع منتجات علاجية. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة، جامعة بغداد.