عزل وتشخيص بعض الاحياء المجهرية المسؤولة عن تخمر عجينة الذرة البيضاء

عبير صالح مهدي* حسن رحيم الشريفي**

الملخص

عزلت بعض الاحياء المجهرية من عجينة الذرة البيضاء المستعملة في صناعة خبز (كسره **Kisra**) وشخصت مجهريا وكيميوحيوية فكانت 7 عزلات منها تعود لجنس ***Lactobacillus*** وهي (2) ***Lb.xylouse***، (3)***Lb.fermentum*** ,(1) ***Lb.plantarum*** ,***Lb.curvatuse(1)*** كذلك شخصت (3) عزلات ***Leuconostoc lactis*** ,(3) عزلات ***Enterococcus cecorum*** ,(3) عزلات ***Enterococcus dispar*** اضافة الى (3) عزلات خميرة شخصت عائديتها لجنس ***Dekkera*** وهي المرة الاولى التي عزلت فيها هذه الخميرة وبكتريا ***En.dispar*** و ***En.cecorum*** كاحياء مجهرية مساهمة في تخمر عجينة الذرة البيضاء.

المقدمة

تساهم الاطعمة المتخمرة بحوالي ثلث الغذاء في العالم. وتعد الحبوب ركيزة مهمة جدا للاطعمة المتخمرة في كل انحاء العالم ويعد غذاءً اساسيا في شبة القارة الهندية وفي قارتي افريقيا واسيا (2)، على الرغم من الفوائد العديدة لعملية التخمير الا ان هناك بعض الحالات المسجلة كحالات عدوى وتسمم بسبب مواد الايض المايكروبية مثل **Mycotoxin, Ethyl Carbanate, Biogenic Amines**التي نسبت الى النشاط المايكروبي (17), لذلك فأن هناك حاجة لترقية انتاج الاطعمة المتخمرة الطبيعية من الانتاج العائلي الى الانتاج الصناعي وهذا يمر بمراحل عديدة حسب ما جاء في **FAO** (7) وهي: عزل وتشخيص الانظمة المايكروبية المرتبطة بالتخمير، تحديد دور الانظمة الحيوية في التغيرات الكيميائية التي تحدثها، الاختيار والتحسين الوراثي للانظمة المايكروبية وتحسين السيطرة على العملية الصناعية للاغذية المتخمرة من خلال معالجة العوامل البيئية كالحرارة و الرطوبة و التهوية والرقم الهيدروجيني.

وقد يكون التحسين من خلال تحسين المواد الاولية الداخلة في عملية التخمير .وقد ذكر **Nout** (17) ان اضافة بوادى ملائمة تكون مفيدة بسبب الدور التنافسي للكائنات الحية المجهرية وتكون المواد الايضية التي تساهم في منع نمو الكائنات غير المرغوبة و تمنع انتاج موادها الايضية والبادئ الجيد قد يخفض من وقت التخمير , ويمكن الحصول على البادئ المثالي اما من خلال اختيار العزلات المناسبة او باستعمال تقنية **DNA**. وهناك دراسات كثيرة على عزل وتشخيص الاحياء المجهرية التي تعمل على تخمر الذرة البيضاء فقد ذكر **Nokuthula** وجماعته (15) بانه عزل **180** عزلة من بكتريا حامض اللاكتيك **44** منها عزلت من طحين الذرة البيضاء و**93** عزلت من ذرة بيضاء متخمرة و**43** من ذرة بيضاء متخمرة ومطبوخة وذكر ان **58** عزله كانت ***Lactobacillus plantarum*** و**47** عزلة تعود الى ***Leuconostoc mesenteroides*** وانواع اخرى تعود لجنس ***Pediococcus*** وكذلك انواع اخرى تعود لجنس ***Lactobacillus***. في حين اشار **Nout** (61) الى ان جنسي ***Leuconostoc*** و***Lactobacillus*** كانا سائدين في اغذية اطفال مصنوعة من ذرة بيضاء متخمرة. وقد ذكر **Sulma** وجماعته (21) ان هناك انواع مختلفة من الاحياء المجهرية تساهم في تخمر طحين الذرة البيضاء وقد شخص وجود بكتريا ***Pediococcus***،

جزء من رسالة ماجستير للباحث الاول

*الشركة العامة لتجارة الحبوب– وزارة التجارة – بغداد، العراق.

**كلية الزراعة–جامعة بغداد–بغداد، العراق.

Lactobacilus و*Enterobacter* وبانواع مختلفة وكذلك وجود خمائر مثل ***Candida intermedie*** و***Debaryomyces hansenii*** واعفان مثل ***Penicillium*** ، ***Aspergillus*** و***Rhizopus***.

تهدف هذه الدراسة الى عزل وتشخيص الاحياء المجهرية المسؤولة عن تخمر عجينة الذرة البيضاء المتخمرة المستعملة في صناعة خبز الكسرة.

المواد وطرائق البحث

اجريت عملية التخمير باضافة ماء الحنفية الى طحين الذرة البيضاء (60% ماء محسوبة على اساس الوزن الكلي) في دورق (اناء مغلق) وحضنت في درجة حرارة 30م لمدة 20–24 ساعة واستعمل كوسط طبيعي لعزل الاحياء المجهرية (22), واجريت عملية التخمر عدة مرات عزلت من خلالها الاحياء المجهرية.

تم تشخيص البكتريا اعتماداً على المفاتيح التشخيصية التي ذكرها **Holt** وجماعته (**10**) حيث اجري الفحص المظهري (فحص الشريحة) لعزلات البكتريا كافة للتعرف على شكل الخلايا وتجمعاتها ونوع اصطباغها بصبغة كرام وعدم تكوينها السبورات، كما ذكر **Kandler** و**Weiss** (**12**) وتم تشخيصها كيميوحيويا حيث اجري فحص الكاتليز اعتمادا على ما ذكر **Atlas** وجماعته (**1**) وفحص انتاج الخثرة والحموضة والغاز في وسط حليب اللتموس كما ذكر **Kandler** و**Weiss** (**12**) وفحص تخمر الكربوهيدرات على وسط **MRS** السائل كما ذكر **De-Man** وجماعته (**5**) واجري فحص تسييل الجيلاتين واختزال النترات وفحص **Voges Prouskouer** وانتاج الامونيا من الارجنين كما ذكر **Harrigan** و**McCance** (**9**) وتم فحص النمو بدرجات حرارة مختلفة وتراكيز ملحية مختلفة والنمو بوجود 0.1% ازرق المثيلين كما ذكر **Teuber** (**22**), وفحص استهلاك السترات اعتمادا على طريقة **Holt** وجماعته (**10**).

شخصت الخمائراعتمادا على المفاتيح التشخيصية التي وضعت من قبل **Lodder (14)** حيث دُرست الخواص المظهرية وشملت دراسة شكل الخلايا وابعادها وتكوين المايسيليوم وتكوين الابواغ اعتمادا على الطريقة التي ذكرها **Kreger Van Rij** (**13**) كما تمت دراسة الصفات الكيميوحيويه وشملت دراسة قابلية العزلات على انتاج حامض الخليك واختبار تحمل كلوريد الصوديوم وقابلية العزلات على النمو بتراكيز عالية من السكر وقابليتها على تخمير السكريات وحسب ما ذكر **Lodder** (**14**) وجرى اختبار تحمل الجيلاتين وفق ما ذكر **Walt** (**32**) وفحص تحليل اليوريا وفقا لما ذكر **Christensens** (**4**).

النتائج والمناقشة

امكن الحصول على **16** عزلة بكتيرية وتاكد انها تعود لبكتيريا حامض اللاكتيك وحددت اعتمادا على تكوينها هالة شفافة حول مستعمراتها النامية على وسط **MRS** الصلب الحاوي على 1% كربونات الكالسيوم التي تذوب بالحامض المنتج من قبل البكتيريا, كانت المستعمرات المعزولة على وسط **MRS** الصلب نامية تحت الوسط الزرعي قليلا او على السطح وذات اشكال مختلفة (بيضوية ودائرية ونجمية ومغزلية), ذات لون ابيض مائل للصفرة وحافات ملساء وناعمة الملمس ومحدبة الشكل, وتعود مثل هذه الصفات عادة الى المستعمرات العائدة الى جنس عصيات حامض اللاكتيك ***Lactobacilli*** (**12**), بينما كانت المستعمرات العائدة الى مكورات حامض اللاكتيك نامية على سطح الوسط وذات شكل دائري و بيضاء الى صفراء فاتحة اللون وملساء ناعمة ومحدبة الشكل (**10**) عند اجراء فحص الشريحة على الخلايا التي اخذت من المستعمرات التي كان يعتقد انها تعود الى عصيات حامض اللاكتيك فقد ظهرت باشكال مختلفة كان اكثرها عصوياً أو قصيراً او منحنياً في احيان قليلة, وانتظمت خلاياها بشكل سلاسل كما وجدت بشكل مفرد او ثنائي. اما الخلايا التي اخذت من المستعمرات التي كان يعتقد انها عائدة الى مكورات حامض اللاكتيك

فقد كانت بشكل كروي اوكروي متطاول او بشكل ازواج او سلاسل قصيرة او طويلة. كما اظهر فحص الشريحة بأن العزلات كلها كانت موجبة لصبغة كرام وغير مكونة للسبورات.

يبين جدول (1) الفحوص الكيميوحيوية الخاصة بعصيات حامض اللاكتيك ومن النتائج تبين ان العزلات عائدة الى جنس ***Lactobacillus*** ورمز لها بالرمز **Lb1 –Lb7**. اذ يبين الجدول ان جميع العزلات كانت سالبة لفحص الكاتليز والجيالتينيز وفحص **Voges proskauer** وانتاج الامونيا من الارجنين واختزال النترات. كما تبين النتائج ان العزلات **Lb2 ،Lb4 وLb7** لم تستطع النمو في درجة حرارة **15** م في حين استطاعت العزلات الاخرى النمو فيها. واستطاعت العزلات **Lb6,Lb3,Lb2** النمو في درجة حراره **45** م ولم تستطع العزلات الاخرى النمو فيها واعتمدت العكارة موشرا لحصول النمو البكتيري. وان جميع العزلات استطاعت النمو في وسط **4.5** و**6.5% NaCl**, كما استطاعت العزلة **Lb1** فقط من النمو في وسط حليب اللتموس في الوقت الذي كانت فيه بقية العزلات سالبة لهذ الفحص.

جدول 1: الفحوص الكيميوحيوية الخاصة بعصيات حامض اللاكتيك

الفحوصات / رقم العزله	الكاتليز	الجيلاتينيز	فحص Vp	انتاج الامونيا من الارجنين	اختزال النترات	النمو في 15 م° م	النمو في 45م° م	النمو في 4.5 (%) ملح	النمو في 6.5 (%) ملح	فحص اللتموس
Lb1	–	–	–	–	–	+	–	+	+	+
Lb2	–	–	–	–	–	–	+	+	+	–
Lb3	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–
Lb4	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–
Lb5	–	–	–	–	–	+	–	+	+	–
Lb6	–	–	–	–	–	+	+	+	+	–
Lb7	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–

(+) فحص موجب , (–) فحص سالب.

اما بالنسبه لقابلية العزلات على تخمير الكربوهيدرات (السكريات) فأن النتائج في جدول (2) تبين اختلاف قابلية العزلات على تخمير السكريات. فقد اظهرت العزله **Lb1** مقدرة على تخمير الكلوكوز وسليبايوز وفركتوز وكالاكتوز ومالتوز و مانوز ورايبوز في حين لم تستطع تخمير باقي السكريات وبذلك فهي تماثل النوع ***Lb.curvatus*** (12). كما لم تستطع العزلات **Lb2, Lb4 , Lb7** من تخمير سكر ارابينوز وسليبايوز ومانتول ورانوز وسوربتول وزايلوز واستطاعت تخمير باقي السكريات وانتاج الغاز وبذلك فهي مماثلة للنوع ***Lb. fermentum*** وان عزل هذا النوع من تخمرات الذرة البيضاء يتفق مع ما ذكر **Halm** وجماعته (8) من عزل بكتريا ***Lb.fermentum*** من منتوج **Kenkey**، اما العزلتان **Lb5, Lb6** فهما لم تستطيعا تخمير سكريات الارابينور ومليبايوز ورافينوز ورانوز وسوربتول. وهما بذلك يشبها النوع ***Lb.xylosus***. في حين استطاعت العزله **Lb3** تخمير السكريات باستثناء سكر ارابينوز ورانوز وزايلوز وبذلك فهي تشبه النوع ***Lb. plantarum***. ومن خلال الفحوص الكيميوحيوية المذكورة انفا فقد امكن الحصول على **3** عزلات تابعة للنوع ***Lb. fermentum*** وعزلتين تابعة للنوع ***Lb. xylosus*** وعزلة تابعه للنوع ***Lb. plantarum*** واخرى ***Lb. curvatus***. وان عزل انواع مختلفة من جنس ***Lactobacillus*** من تخمرات الذرة البيضاء يتفق مع ما ذكر **Nokuthula** وجماعته (15)، **Odunfa** (19) من عزل انواع من هذا الجنس وخاصة النوع ***Lb.plantarum***.

جدول 2: استهلاك مصادر الكربوهيدرات لعصيات حامض اللاكتيك

رمز العزلة	كلوكوز	ارابينوز	سليبايوز	فركتوز	كالاكتوز	لاكتوز	مالتوز	مانتول	مانوز	ملبايوز	رافينوز	رانوز	رايبوز	سوربيتول	سكروز	تريهالوز	زايلوز	انتاج غاز
Lb1	+	−	+	+	+	−	+	−	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−
Lb2	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−	+	+	−	+
Lb3	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	−	−
Lb4	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−	+	+	−	+
Lb5	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	+	+	+	−
Lb6	+	−	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−	+	+	+	−
Lb7	+	−	−	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−	+	+	−	+

(+) فحص موجب , (−) فحص سالب

يبين جدول (3) نتائج الفحوص الكيميوحيوية الخاصة بالمكورات اللبنية وتظهر النتائج ان جميع العزلات كانت سالبة لفحص الكاتليز والجيلاتينيز واستهلاك السترات وانتاج الامونيا من الارجنين والنمو في وسط ازرق المثيلين, في حين استطاعت جميع العزلات النمو في وسط 2.5 و6.5% NaCl ما عدا العزلات En_3,En_2,En_1 التي لم تستطع النمو في وسط 6.5% NaCl. بينما استطاعت العزلات الثلاث الاخيرة من اعطاء نتيجة موجبة في فحص Voges-Proskauer ولم تستطع العزلات الاخرى من انتاج مركب Acetyl methyl carbinol كما يبين الجدول نفسه ان جميع العزلات استطاعت النمو في 10 م وان العزلات En_3,En_2,En_1 استطاعت النمو في 45 م في حين لم تستطع العزلات الاخرى النمو فيها, ونلاحظ من جدول (3) ان عزلتين فقط نمت في وسط حليب اللتموس وهما En_3 , Leu_3.

اما بالنسة لقابلية العزلات على تخمير السكريات فأن جدول (4) يظهر ان العزلات Leu_1، Leu_2، Leu_3 لم تستطيع تخمير السكريات: ارابينوز ومانتول وملي بايوز وتريهالوز وزايلوز ومتباينة في تخمير رانوز وسوربتول وجميعها قادرة على انتاج الغاز وبذلك فهي تشبه النوع ***Leuconostoc lactis*** وان عزل جنس **Leuconostoc** من تخمرات الذرة البيضاء يتفق مع ما ذكر **Nout** (16) بينما عزل نوع ***Leu. lactis*** لا يتطابق مع ما ذكر **Steinkraus** (20)، **Nuraida** وجماعته (18) من عزل نوع ***Leu. mesenteroides*** من تخمرات الحبوب.

جدول 3: الفحوص الكيميوحيوية لمكورات حامض اللاكتيك

الفحوصات / رقم العزلة	الكاتليز	اجيلاتينيز	فحص Vp	انتاج الامونيا من الارجنين	استهلاك السترات	النمو في10 م	النمو في 45 م	النمو في 2.5% ملح	النمو في 6.5% ملح	النمو في ازرق المثيلين	فحص للتنموس
Lue1	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−
Leu2	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−
Leu3	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−
En1	−	−	+	−	−	+	+	+	−	−	−
En2	−	−	+	−	−	+	+	+	−	−	−
En3	−	−	+	−	−	+	+	+	−	−	+
En4	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−
En5	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−
En6	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−

(+) فحص موجب, (−) فحص سالب.

جدول 4: استهلاك مصادر الكربوهيدرات لمكورات حامض اللاكتيك

رمز العزلة	كلوكوز	اارابينوز	سليبايوز	فركتوز	كالاكتوز	لاكتوز	مالتوز	مانتول	مانوز	ملبيايوز	رافينوز	رانوز	رايبوز	سوربيتول	سكروز	تريهالوز	زايلوز	انتاج غاز
Lue1	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	−	+	−	+	−	−	+
Leu2	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	+	+	+	+	−	−	+
Leu3	+	−	+	+	+	+	+	−	+	−	+	+	+	−	+	−	−	+
En1	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−
En2	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−
En3	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	−	−
En4	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−	+	+	−	−
En5	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−	+	+	−	−
En6	+	−	+	+	+	+	+	−	+	+	+	−	+	−	+	+	−	−

(+) فحص موجب , (−) فحص سالب.

كما اظهرت العزلات En_1 ,En_2, En_3 عدم مقدرتها على تخمير سكر: ارابينوز ومانتول وسوربتول وزايلوز وتعود مثل هذه الصفات لنوع ***Enterococcus cecorum***, كما يبين الجدول نفسه ان العزلات **En6, En4 , En5** لم تستطع تخمير السكريات (ارابينوز, مانتول, رانوز, سوربتول, زايلوز) وبذلك فهي تشبه النوع ***Enterococcus dispar***. ومن الجدير بالذكر انه لم يثبت عزل جنس ***Enterococcus*** من تخمرات الحبوب باستثناء عزلها من منتوج البيرة (**3**) ولذا يعد عزل وتشخيص نوعي ***En. dispar*** و***En. cecorum*** للمرة الاولى من تخمرات الذرة البيضاء وحسب ما اطلع عليه في المصادر العلمية.

ومن خلال الفحوص المذكورة فقد امكن الحصول على **3** عزلات تابعة للنوع ***Leuconostoc lactis*** و**3** عزلات تابعة للنوع ***Enterococcus cecorum*** و**3** عزلات تابعة للنوع ***Enterococcus dispar***.

يبين جدول (5) العدد البكتيري الكلي والرقم الهيدروجيني للتخمر الطبيعي باوقات مختلفة حيث نلاحظ زيادة اعداد الاحياء المجهرية بعد مرور 12 ساعة على التخمر ونقصان الزيادة بعد مرور 24 ساعة. ويمكن ان يفسر على ان النقصان نتيجة انخفاض الرقم الهيدروجيني الى 4.5 ويعد عاملاً محدداً في نمو الاحياء المجهرية يمكن ان يستنتج ان مصدر الاحياء المجهرية في عجينة الذرة البيضاء هي الاحياء المجهرية الطبيعية **Natural microflora** الموجودة على حبوب الذرة البيضاء ومن خلال الفحوص وانتاج الغاز وانتفاخ العجينة يمكن ان نستنتج ان التخمر اللاكتيكي كان غير متجانس **Hetro fermentation**.

جدول **5**: العدد البكتيري الكلي والرقم الهيدروجيني لعملية التخمر الطبيعي باوقات مختلفة

الزمن (ساعة)	العدد * 10^4	الرقم الهيدروجيني
0	5.5	6.5
12	$10^4 \times 1.0$	6.1
24	$10^3 \times 7.5$	4.5
48	$10^4 \times 1.3$	4.0

امكن الحصول على 3 عزلات من الخمائر من عينات طحين الذرة البيضاء المتخمر, وقد انتخبت هذه العزلات على اساس الصفات المظهرية (من خلال الفحص المجهري) ومقدرتها على النمو في وسط **PDA** التي اكدت كونها خمائر, وشخصت العزلات على مستوى الجنس فقط وفقا للمفاتيح التصنيفية التي ذكرها**Lodder** (**14**). كانت مستعمراتها ذات لون ابيض مائل للكريمي ذات حواف متكاملة وسطح املس, ولوحظ تجمع الخلايا على صورة راسب في قعر الدورق متخذا شكلا حلقيا يحيط بالقعر. وفحصت مجهريا وتبين بأنها كروية او بيضوية مستطيلة بعض الشيء عند الرأس وتكون مفردة او مزدوجة. كونت العزلات المايسيليوم الفطري الكاذب عند تنميتها في وسط، **corn meal agar** كما انها كونت السبورات الكيسية, ويوضح جدول (**6**) صفات الخميرة المعزولة من تخمر عجينة الذرة البيضاء.

جدول **6**: الصفات المظهرية والمزرعية للخمائر المعزولة على الوسط الزرعي **GPY 2%**

الصفات / العزلات	ابعادالخلايا(مايكروميتر)		تكوين الابواغ الكيسية	تكوين المايسيليوم الكاذب
	الطول	العرض		
D1	34.1	23.3	+	+
D2	37.4	28.9	+	+
D3	30.5	23.3	+	+

يظهر جدول (7) الفحوص الكيميوحيوية الخاصة بالخمائر ويظهر ايضاً ان جميع العزلات كانت قادرة على انتاج حامض الخليك في وسط **Glucose-Calcium-Carbonate** كما ان جميع العزلات كانت قادرة على النمو في درجة حرارة 37 م في حين لم تتمكن العزلات من النمو في وسط تحمل التركيز العالي من السكر وكذلك لم تستطع من استهلاك **20%** يوريا ولا تسيل الجيلاتين, ويشير الجدول نفسه الى ان جميع العزلات تمكنت من النمو بتراكيز ملحية تصل الى **10%** ولم تتمكن من النمو في تركيز **15** و**20% NaCl**.

وعند مقارنة النتائج مع ما توفر من المعلومات في المصادر العلمية المتخصصة لتصنيف الخمائر تبين انتماء هذه العزلات الى جنس ***Dekkera***. كما لم يسجل احد من قبل عزل جنس ***Dekkera*** من تخمرات الذرة البيضاء فقد كان

جنسا ***Candida*** و***Saccharomyces*** الاكثر وجودا (**11،20**) في حين عزل جنس ***Dekkera*** من النبيذ المعتق وكما ذكر **Esteve-Zarzoso** وجماعته (**6**).

جدول **7**: الفحوص الكيميوحيوية للخمائر المعزولة

الفحوصات / العزلات	النمو على 37م	انتاج حامض الخليك	النمو في 50% سكر	اسالة الجيلاتين	استهلاك اليوريا	تراكيز كلوريد الصوديوم (%)				
						0	5	10	15	20
D1	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−
D2	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−
D3	+	+	−	−	−	+	+	+	−	−

(+) فحص موجب, (−) فحص سالب.

ختاما يمكن ان نستنتج ان بكتريا ***Lb.plantarum*** ,***Lb.fermentum*** ***Lb.xylouse***, ***Lb.curvatus*** , ***En.cecorum*** , ***En.dispar*** , ***Leu.lactis*** وخميرة **Dekkera**. تعد جزءا من النبيت الطبيعي المسؤول عن تخمر عجينة الذرة البيضاء وقد تم عزل وتشخيص بكتريا ***En.dispar*** و***En.cecorum*** وخميرة ***Dekkera*** لاول مرة من النبيت الطبيعي لعجينة الذرة البيضاء المتخمرة وفقا لما هو متوفر من المصادر.

المصادر

1- **Atlas, R. M; A. E. Brown and L. C. Parks (1995). Labortory manual experimental microbiology. 1 st edition . Masby-year book, Inc. (USA).**
2- **Campbell-Platt, G. (1994). "Fermented foods- a world perspective." Food Research International 27:253.**
3- **Chamunorwa, A. T. B; F. Sara and N. M. Anthony (2002). Identification of Lactic Acid Bacteria isolated from Opaque beer (*Chibuku*) for potential use as a starter culture. The Journal of Food Technology in Africa, 7(3):93-97.**
4- **Christensen,W. B. (1946).Urea decomposition as a means of differentition proteus and para colon cultures from each other and salmonella and shigella types. J. Bacteriol, 52:461-466 .**
5- **De-Man, J. C.; M. Rogosa and M. E. Sharpe (1960). A medium for the cultivation of Lactobacilli. J.Appl. Bact., 23:130-135.**
6- **Esteve-Zarzoso,B.; M. J. Peris-Torán; E. García-Maiquez; F. Uruburu and A. Querol (2000). Yeast Population Dynamics during the Fermentation and Biological Aging of Sherry Wines. J. Applied and Environmental Microbiology, May 2001, 67:2056-2061.**
7- **FAO. (1999). Fermented cereal a global perspective Agricultural Services Bulletin, 138.**
8- **Halm, M.; A. Lillie; A. K. Spreusen and M. Jakobsen (1993). Microbiological and aromatic characteristics of fermented maize doughs for Kenkey production in Ghana. International Journal of Food Microbiology, 19:135-143.**
9- **Harrigan, W. F. and M. E. McCance (1976). Laboratory Method in Microbiology. Academic Press, N.C.(London).LTD.**
10- **Holt, J. C; N. R. Krieg; J. T. Staley and S. T. Williams (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed Williams and Wilkins Baltimore, Maryland, U.S.A.**

11- Jespersen, L.; M. Halm; K. Kpodo and M. Jacobson (1994). Significance of yeasts and moulds occuring in maize dough fermentation for kenkey production. International Journal of Food Microbiology, 24:239-248.

12- Kandler,O. and N. Weiss. (1986).Genus Lactobacillus .in :Bergey ,s Manual of Systematic Bacteriology. (Sneath, P. H. A.; N. S. Mair and J. G. Hold, ed.) . 2. William and Wilkins Co., Baltimore. M.D. USA

13- Kreger-Van Rij, N. J. W. (1984).“The yeast a taxanomic study. North Holland. Pub.Co. Amesterdam.

14- Lodder, J. (1970). The yeast . a taxonmic study (2nd.) North .Holland . Pub. Amesterdam. Neth .

15- Nokuthula, F. K; G. Ifigenia; H. Alexander van and W. H. Hohan (2000). Characterization and Determination of origin of lactic Acid Bacteria from a sorghum - Based fermented weaning food by analysis of soluble proteins and amplifid fragment leangth polymorphism fingerprinting. J. Appl. and Envir. Microbiol., 66:1084-1092.

16- Nout, M. J. (1991). Ecology of accelerated natural lactic fermentation of sorghum based infant food formulas, J. Food Microbiol, 12:17-24.

17- Nout, M. J. R. (1994)."Fermented foods and food safety." Food Research International, 27:291.

18- Nuraida, L.; M. C. Wacher and J. D. Owens (1995). Microbiology of pozol, a Mexican fermented maize dough. World J. Microbiol. Biotechnol, 11: 567-571.

19- Odunfa, S. A. (1985). African Fermented Foods. In: Microbiology of Fermented Foods, Vol 2, Wood, B. J. (ed) Elsevier Applied Science Publishers. London and New York.

20- Steinkraus, K. H. (1996). "Handbook of Indigenous Fermented Foods". 2nd edition, Marcel Dekker, New York.

21- Sulma, M. I; S. R. Larry and W. K. Allen (1991). Isolation and characterization of Microorganisms Associated with the Traditional Sorghum Fermentation for Production of Sudanese Kisra.J.Appl Environ Microbiol., 57:2529-2533.

22- Teuber, M. (1995). The Genus Lactococcus. in: the General of Lactic Acid Bacteria . Edited by B. J. Wood and W. H. Holzapfel.

23- Walt, J. P. V. (1970). Criteria and Methods used in Classification in the yeast, A taxonomic study Chap. 11 (Looder ,j.ed) North-Holl and Publishing Campany −Amisterdam-London.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SOME MICROORGANISMS RESPONSIBLE FOR FERMENTATION OF SORGHUM DOUGH

A. S. Mahdi **H. R. Al-Shariffi**

ABSTRACT

Naturally fermented dough made of sorghum flour was used as a main source to isolate some microoganisms which are responsible of fermentation occurred in producing (Kisra) bread. Morphological and biochemical tests were used for the identification of these isolates up to the species and they were seven isolates which belonged to the genus *Lactobacillus*, 3 *Lb. fermentum*, 2 *Lb.xylouse*, 1 *Lb. plantarum* and 1 *L b. curvatuse*. Nine spherical isolates were identified as *Leuconostoc lactis* (3), *Enterococcus cecorum* (3) and other 3 were *Enterococcus dispar*, also 3 isolates of yeast were identifed as genus *Dekkera* . It is important to point out that *En. cecorum* , *En. dispar* and *Dekkera* were documented for the first time as a part of sorghum dough fermentation.

Part of MSc. Thesis of the first author.

*** State Company For Grain Board-Ministry of Trade- Baghdad, Iraq**

****College of Agric. - Baghdad Univ. – Baghdad, Iraq**