



**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ,, – БИТОЛА  
ТЕХНОЛОШКО-ТЕХНИЧКИ ФАКУЛТЕТ – ВЕЛЕС**



**Иновативни технологии за храна и нутриционизам**

**ИЗОЛАЦИЈА И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА НА МЛЕЧНОКИСЕЛИ БАКТЕРИИ ВО  
КОЗЈО МЛЕКО И ТРАДИЦИОНАЛНО ПРОИЗВЕДЕНО БЕЛО  
САЛАМУРЕНО КОЗЈО СИРЕЊЕ**  
докторски проект

Кандидат  
Хава Мифтари  
број на индекс 14

Ментор  
Проф.д-р Даниела Николовска Неделкоска

## СОДРЖИНА

Апстракт .....	3
1. Вовед.....	4
2. Преглед на литературата.....	6
3. Методи и материјали.....	8
3.1. Изолација и карактеризација на млечнокисели бактерии.....	8
3.2. Детекција на ген <i>hdCa</i> .....	9
3.3. Ензимска активност.....	9
4. Резултати и дискусија .....	9
5. Заклучок.....	13
Благодарност .....	14
Користена литература .....	14

# ИЗОЛАЦИЈА И КАРАКТЕРИЗАЦИЈА НА МЛЕЧНОКИСЕЛИ БАКТЕРИИ ВО КОЗЈО МЛЕКО И ТРАДИЦИОНАЛНО ПРОИЗВЕДЕНО БЕЛО САЛАМУРЕНО КОЗЈО СИРЕЊЕ

**Хава Мифтари**

Технолошко-технички факултет Велес,  
Универзитет „Св. Климент Охридски“  
Битола, Република Северна Македонија  
ORCID iD 0009-0006-4595-6876  
hava.miftari@uklo.edu.mk

**Проф. д-р Даниела Николовска Неделкоска**

Технолошко-технички факултет Велес,  
Универзитет „Св. Климент Охридски“ Битола  
Република Северна Македонија  
ORCID iD 0000-0002-8983-0961  
daniela.nedelkoska@uklo.edu.mk

## Апстракт

Во традиционалното производство на сирење, особено кога се користи сурово млеко и не се додаваат стартни култури, природната микробиолошка флора во суровото млеко има централна улога во започнувањето и контролирањето на процесот на ферментација. Микробиолошката разновидност во сирењето, исто така, влијае на процесот на зреење, каде што различните соеви на млечнокисели бактерии произведуваат секундарни метаболити кои ги обликуваат органолептичките квалитети на сирењето. Главна цел на ова истражување е да се направи идентификација и карактеризација на автохтоните млечнокисели бактерии присутни во суровото козјо млеко, во белото саламурено козјо сирење произведено во традиционални услови без додавање на стартер култури и без топлотен третман, како и во примероци земени од опремата употребена при производството на сирењето во есенската сезона на производство. За идентификација и карактеризација на млечнокиселите бактерии екстрахираната дезоксирибонуклеинска киселина (ДНК) на криопрезервираните бактерии беше подложена на PCR (Polymerase chain reaction) користејќи ги универзалните прокариотски прајмери 27f и 1495g, а ампликоните потоа беа испратени во Genewiz за прочистување и секвенционирање. Добиените секвенци беа споредени со 16S rRNA секвенци на типови соеви од базата на ДНК на GenBank преку основната алатка за пребарување и локално порамнување (Basic Local Alignment Search Tool, BLAST). Детекцијата на генот хистидин декарбоксилаза (*hdcA*) е направена преку qPCR, и резултатите беа изразени како присуство (+) или отсуство (-) на целниот ген. Ензимските активности на млечнокиселите бактерии беа оценети со анализи на агар според Линарес-Моралес и сор. - Linares-Morales et al. (2020) со некои модификации. *Enterococcus* беше доминантен род на LAB во повеќето примероци, следен од *Streptococcus* и *Lactococcus*. Генот *hdcA* беше детектиран само во еден изолат идентификуван како *Companilactobacillus alimentarius*. Сите изолати покажаа позитивна реакција за активноста на протеазата и многу од нив покажаа позитивна реакција за активноста на липазата.

Со разбирањето на разновидноста на млечнокиселите бактерии во овие примероци, производителите можат да ја оптимизираат ферментацијата, стабилноста и безбедноста, и да ја зачуваат автентичноста на сирењата.

**Клучни зборови:** козјо млеко, бело саламурено сирење, млечнокисели бактерии

## 1. Вовед

Регионалните и традиционалните млечни производи стануваат се попопуларни меѓу потрошувачите поради нивните нутритивни вредности и уникатните сензорни карактеристики (Кавечка & Пастернак - Kawęcka & Pasternak, 2022). Овие производи направени во мали фарми се карактеризираат со микроорганизми кои претставуваат локална, често уникатна микробиота чиј состав и метаболичка активност ги одредуваат исклучителните сетилни карактеристики на сирењата (Налепа & Маркиевиц - Nalera & Markiewicz, 2023). Традиционалното производство на бело саламурено сирење останува присутно во Северна Македонија и е економски и важен елемент на руралниот живот. Белото саламурено сирење се произведува од сурово кравјо и овчо млеко и поретко од козјо млеко во мали фарми без додавање на starter култури, со користење на традиционални процедури и алатки (Левков и сор. – Levkov et al., 2017; Санта и сор. - Santa et al., 2024). Конечниот микробен состав на производот е резултат на микробиотата на сурово млеко, хигиенските процедури кои се применуваат во фармата и технолошките процеси што се користат за производство (Налепа и сор. – Nalera et al., 2020).

Производството на козји млечни производи е истакната глобална активност, со зголемено значење во производството на различни прехранбени производи. Во овој поглед, млечните производи од козјо млеко привлекоа значително внимание, бидејќи се смета дека се корисни за добро балансирана исхрана и одржување на здравјето, поради нивната висока хранлива вредност и присуството на биоактивни компоненти (Хамам и сор. - Hammam et al., 2021). Освен тоа козјото млеко содржи сложена микробиота, а деталното познавање на истата е од суштинско значење за производството на ферментирани производи (Астери и сор. - Asteri et al., 2010; Пони и сор. - Psoni et al., 2007). Општо, ферментацијата на сирењето е поттикната од млечнокиселите бактерии (LAB - lactic acid bacteria) кои природно се појавуваат во суровото млеко или од микробните starter култури, кои се додаваат во млекото по термичката обработка (Акиланти и сор. - Aquilanti et al., 2012). LAB долго време се поврзани со ферментацијата и конзервирањето на храната. Бидејќи тие играат мултифункционални улоги во бројни апликации, LAB се сметаат за најважна група на индустриски микроорганизми (Хати-Каул и сор. - Hatti-Kaul et al., 2018).

LAB се карактеризираат како грам-позитивни, споро-неформирачки, каталаза-негативни и толерантни анаеробни бактерии (Акселсон - Axelsson, 2004; Бин Масалам и сор. - Bin Masalam et al., 2018). Тие се „пребирливи“ бактерии, толерантни на киселина и имаат строго ферментативен метаболизам, при што млечната киселина е главниот краен производ на ферментацијата на шеќерот (Хипе и сор. – Hippe et al., 2011). Поради нивните ограничени биосинтетички способности и големата побарувачка за извори на јаглерод и азот, природните живеалишта на LAB се средини богати со хранливи материи. Затоа, млечнокиселите бактерии обично се поврзуваат со млекото и неговите деривати, месото и неговите деривати, зеленчукот, пијалациите, почвата и канализацијата, а исто така се дел од микробиотата на респираторниот, интестиналниот и гениталниот тракт на луѓето и на вишите животни (Акселсон - Axelsson, 2004; Шлаифер & Лудвиг - Schleifer & Ludwig, 1995). LAB предизвикува брзо закиселување на ферментираното млеко преку производство на органски киселини, главно млечна киселина (Бинтсис - Bintsis, 2018). За време на оваа ферментација, LAB го инхибира растот на повеќето непожелни микроорганизми преку закиселување на околината; ова се смета за основна карактеристика на млечните производи, особено во производството на сирење (Сетани & Мошети - Settanni & Moschetti, 2010). Метаболитите произведени за време на ферментацијата, со исклучок на испарливите, остануваат во храната, а тоа помага да се спречи растот на непожелните бактерии. Својствата кои ја фаворизираат

индустриската примена, исто така, вклучуваат толеранција на различни неповолни средини, едноставен метаболизам и способност за метаболизирање на различни извори на јаглерод (Хати-Каул и сор. - Hatti-Kaul et al., 2018). Покрај нивниот капацитет за производство на млечна киселина, LAB придонесува за други карактеристики на производот, како што се вкусот, текстурата и хранливата вредност, како последица на нивните метаболички својства (Сетани & Мошети - Settanni & Moschetti, 2010; Бинтсис - Bintsis, 2018). Метаболизмот на LAB води до различни соединенија, како што се диацетил, ацетоин и 2,3-бутанедиол од искористувањето на цитрати, како и широк опсег на испарливи соединенија и биоактивни пептиди од катаболизмот на аминокиселините; Познато е дека тие влијаат на аромата и вкусот на сирењето (Мајо и сор. - Mayo et al., 2010). Некои млечнокисели бактерии исто така се способни да произведуваат метаболити со специфични антагонистички и антибактериски активности, како што се антифунгални соединенија и бактериоцини, кои имаат огромен потенцијал да инхибираат различни видови на микроорганизми (Сетани и сор. – Settanni et al., 2011). Инхибиторните својства на LAB зависат од видот, оптоварувањето на патогените бактерии, санитарните процеси и количината на LAB во храната (Повтонг & Сунтортичароен - Powthong & Suntornthiticharoen, 2015). Затоа, LAB може да се користи како биопротективна култура за да се зголеми микробиолошката безбедност, да се продолжи рокот на траење, да се подобри текстурата и да се придонесе за пријатен сетилен профил на финалниот производ (Бинтсис - Bintsis, 2018). Поради нивната широка употреба во ферментирани производи и долгата историја на безбедна човечка конзумација многу бактерии го имаат GRAS (GRAS - Generally recognized as safe) статусот што значи генерално се сметаат за безбедни и соодветно се одобрени од Агенцијата за храна и лекови на САД (Сетани и сор. – Settanni et al., 2011; Балциунас и сор. - Balciunas et al., 2013). Во Европската заедница, статусот на квалификувана претпоставка за безбедност (QPS - Qualified presumption of safety) е доделен од Европската агенција за безбедност на храната (EFSA – European Food Safety Authority) (ЕФСА - EFSA, 2017). LAB кои се сметаат за GRAS припаѓаат на родовите *Lactococcus*, *Oenococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pedicoccus* и некои *Streptococcus* (Балциунас и сор. - Balciunas et al., 2013). Видовите од родот *Enterococcus* и некои видови *Streptococcus* можат да бидат патогени и затоа не се подобни за статусот GRAS (Колинс и сор. – Collins et al., 2010). Поради загриженост за безбедноста, ниту еден член од родот *Enterococcus* не е предложен за QPS статус. Загриженоста поврзана со овие бактерии произлегува од нивните вирулентни фактори и отпорност на различни антибиотици (Франз и сор. - Franz et al., 2010).

*Enterococcus* опфаќа еден од главните родови на групата на млечнокисели бактерии, вклучувајќи скоро 50 видови (Насименто и сор. – Nascimento et al., 2019). Неодамнешните прегледи кои известуваат за можна примена на ентерококи во човечката храна и сточната храна покренала сомнежи за нивната безбедна примена бидејќи тие често се поврзуваат со болнички инфекции поради зголемената отпорност на одредени антибиотици, особено ванкомицин и ампицилин (Фолике Морено и сор. - Foulquié Moreno et al., 2006; Лебретон и сор. - Lebreton, 2014). Покрај тоа што гастроинтестиналниот тракт на топлокрвните животни се смета за природно живеалиште, родот *Enterococcus* е и широко распространет во природата (почва, површински води итн.), поради неговата приспособливост на различни средини, како што се големи опсези на температури, рН и концентрации на сол. Таквото фенотипско однесување како генералист дозволува често да се појавува во храна од животинско потекло како што се месото, рибата, ферментираниот зеленчук и сирењата, кои се богати со јаглени хидрати, протеини и витамини (Бен Браек & Смоуи - Ben Braïek & Smaoui, 2019). Во некои случаи, особено во занаетчиските прехранбени производи, ентерококите доминираат над родот *Lactobacillus* и *Lactococcus* (Домингос-Лопез и сор.

- Domingos-Lopes et al., 2017; Кастро и сор. - Castro et al., 2016; Терзич-Видојевич и сор. - Terzic-Vidojevic et al., 2014). Во ферментирана храна, *Enterococcus* се предлага да игра важна улога како стартер култура поради некои метаболички карактеристики поврзани со производството на протеолитички и липолитички ензими и производството на диацетил од цитрат, што позитивно влијае на зреењето на овие сирења (Санлибаба & Сентурк - Sanlibaba & Senturk, 2018). Исто така, овие микроорганизми може да имаат конзервирачки својства поради производството на активни бактериоцини против патогени релевантни во сирењата, како што се *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus*, наречени ентероцини (Франз и сор. – Franz et al., 2011). Недостатокот на признат безбедносен статус на ентерококите ја попречува нивната употреба во улога на индустриски култури, и покрај нивните потенцијални придобивки (Ханчи и сор. - Hanchi et al., 2018). Поради тоа, потребно е подобро разбирање на нивното влијание врз човечкото здравје, не само за да се минимизираат ризиците поврзани со нивната способност да шират вирулентност и гени отпорни на антибиотици, туку и за да се овозможи подобра експлоатација на нивниот потенцијал како помошни, заштитни и пробиотски култури.

Во последните неколку години во Северна Македонија се зголемува популарноста на козјото млеко и неговите производи. Зголениот интерес на пазарот и научната заедница е конзистентен со општиот тренд и напори за производство на здрава храна, вклучувајќи го козјото млеко кое е добро познато по неговите корисни ефекти врз здравјето на луѓето (Србиновска и сор. - Srbinska et al., 2001). Иако белото саламурено сирење во Северна Македонија се произведува од различни видови млеко (кравјо, овчо и козјо), малку податоци постојат за истражувања во врска со автохтоната микрофлора и разновидноста на млечнокиселите бактерии кај козјото млеко и козјото сирење.

Имајќи го предвид погоре наведеното, истражувањето на разновидноста на млечнокиселите бактерии во козјото млеко, белото саламурено сирење и примероците од животната средина во простории каде е произведувано ова сирење, е важно за да се оптимизираат процесите на ферментација, да се контролираа киселоста, да се подобрат сензорните квалитети на сирењето и да се подобрат производните техники. Во рамките на овој пилот проект поставивме неколку цели во истражувањето: (i) да се изолираат и карактеризираат млечнокиселите бактерии во суровото козјо млеко, белото саламурено козјо сирење и примероците од животната средина (ii) да се детектира ген *hdcA* во овие изолати, (iii) да се анализира ензимската активност (протеаза и липаза).

## 2. Преглед на литературата

Балканскиот Полуостров има богата традиција на одгледување говеда, овци и кози, благодарение на поволната географска положба, климата и обилните ливади и пасишта. Како резултат на тоа, производството на млеко отсекогаш било од суштинско значење за земјоделството на Балканскиот Полуостров, а млечните производи го обликувале кулинарското наследство на регионот (Терзич-Видојевич и сор. - Terzić-Vidojević et al., 2020). Во Северна Македонија белото саламурено сирење е национален млечен производ со вековна традиција на производство со користење на сурово млеко и основни млечни алатки (Матева и сор. - Mateva et al., 2019). Карактеристичниот сетилен квалитет на традиционалните сирења се припишува на нивната микробиота, која е обликувана од сложената интеракција помеѓу факторите на животната средина и технолошките процеси кои се користат за време на производството на сирење (Монтел и сор. - Montel et al., 2014). Млечнокиселите бактерии (LAB) сочинуваат дел од микробиотата што имаат најголемо влијание врз својствата на локалните сирења (Франциози и сор. – Franciosi et al., 2009; Моранди и сор. – Morandi et al., 2011), или поради нивната закиселувачка активност (стартер култури) или преку олеснување на

протеолитичките и липолитичките настани за време на зреењето на сирењето како не-стартер млечнокисели бактерии (NSLAB- non-starter lactic acid bacteria) (Гонзалез и сор. – González et al., 2010).

Млечнокиселите бактерии се првенствено одговорни за природната ферментација на млечни производи и тие се широко проучувани поради нивната потенцијална употреба како био конзерванси во прехранбените производи (Астери и сор. - Asteri et al., 2010), овие бактерии сочинуваат голем број на родови и тие се широко користени како пробиотици со долга историја (Ландете - Landete, 2017). Неколку студии покажале дека LAB имаат значителна инхибиторна активност против патогени бактерии и бактерии кои предизвикуваат расипување на храната (Неро и сор. - Nero et al., 2008). Пријавено е дека бактериите со бактериоциногени својства како што се *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* и *Streptococcus* се составен дел од микробиотата во козјото млеко (Псони и сор. - Psoni et al., 2007; Коломбо и сор. - Colombo et al., 2010). Често пронајдени млечнокисели бактерии во ферментирана млечна храна вклучуваат родови како што се *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* и *Streptococcus* (Песионе - Pessione, 2012). Многу автори ја имаат истражувано разновидноста на млечнокиселите бактерии во козјо млеко затоа што деталното познавање на овие бактерии е од суштинско значење за диверзификација на производството. Жанг и сор - Zhang et al. (2017) во примероци земени од козјо млеко Saanen и Guanzhong (по три примероци од секое млеко) од Гуанжонг регион во Кина идентификувале пробиотици од родовите *Lactococcus* (0,67%), *Lactobacillus* (0,45%), *Bifidobacterium* (0,24%), *Enterococcus* (0,18%), *Weissella* (0,0076%) и *Pediococcus* (0,0028%) од вкупната бактериска разновидност. Гесас & Кихал - Guessas & Kihal (2004) изолирале 206 соеви на млечнокисели бактерии од Алжирско сурово козјо млеко, при што 115 од нив припаѓале на млечнокисели коки, а други на родот *Lactobacillus*. Репрезентативните видови на вкупните коки биле *Lactococcus* sp. (76,16%), *Streptococcus thermophilus* (14,78%) и *Leuconostoc* sp. (8,6%). Доминантниот вид бил *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*. Видовите лактобацили пронајдени во суровото козјо млеко и нивната пропорција била: *Lb. curvatus* (25,25%), *Lb. helveticus* (10,98%), *Lb. plantarum* (9,89%), *Lb. reuteri* (9,89%), *Lb. casei* (7,69%), *Lb. brevis* (5,49%), *Lb. bulgaricus* (5,49%) *Lb. paracasei* (4,39%) и *Lb. acidophilus* (2,19%). Во друга студија 120 соеви на млечнокисели бактерии во сурово млеко од Западен Алжир биле идентификувани, од изолатите 25,33% биле класифицирани како *Lactococcus*, 34,66% како *Enterococcus*, 37,33% лактобацили и 2,66% *Streptococcus thermophilus*. Доминантниот вид на лактококи бил *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (18,66%). 25 од изолатите на ентерококи биле идентификувани како *Enterococcus faecium*, додека преостанатите 07,33% биле идентификувани како *Enterococcus durans*) (Черигене и сор. - Cheriguene et al., 2006). Во студијата на Писано и сор - Pisano et al. (2019) бројот на вкупните LAB бил во опсег од  $10^4$  до  $10^7$  cfu/mL, а значително повисок ( $p < 0,05$ ) број бил откриен во примероците од сурово млеко собрани во северна Сардинија во споредба со примероците од сурово млеко од другите региони на Сардинија. Бројот на ентерококи се движел помеѓу  $10^3$  и  $10^5$  cfu/mL во овие примероци. Од 289 изолати 29,41% припаѓале на родот *Lactococcus*, 32,52% биле идентификувани како *Lactobacillus*, 8,30% *Pediococcus*, 4,84% *Leuconostoc*, 7% *Streptococcus* и 23,53% *Enterococcus*.

Во примероци на сирење од козјо млеко произведени во Србија просечниот број на LAB се движел помеѓу  $4,60 \times 10^3$  и  $4,13 \times 10^7$  cfu ml<sup>-1</sup> определени на MRS агар и  $1,82 \times 10^7$  и  $8,86 \times 10^7$  на M17 агар. Мнозинството (87,3%) од анализираните изолати (55 изолати) припаѓале на родот *Lactobacillus*, 9,1% на *Lactococcus* и 3,6% биле *Enterococcus*. Меѓу коките пет изолати ги имале типичните физиолошки карактеристики на сојот *Lc. lactis* subsp. *lactis* (Николиќ и сор. - Nikolic et al., 2008). Во студијата на Санчез и сор. - Sánchez et al. (2005), бројот на LAB во козји сирења од

Шпанија се движел помеѓу 4,7 и 7,7 log cfu/g, и изолирани биле 162 изолати од кои 89,0% припаѓале на родот *Lactobacillus*, 8,1% на *Lactococcus* и 2,9% на *Leuconostoc*. *Lc. lactis* бил најзастапен вид во две шпански традиционални сирења од козјо млеко (41,9% во Quesailla Arochena и 26,4% во Torta Arochena), проследено со различни видови *Lactobacillus* како *Lb. paracasei* и *Lb. plantarum* (38,2% во Quesailla Arochena и 14,6% во Torta Arochena). Сојовите *Leuconostoc* исто така биле застапени во двете сирења на различни нивоа (7,8% во Quesailla Arochena и 0,002% во Torta Arochena), а ентерококите биле застапени со 6,7% во Quesailla Arochena и 20,01% во Torta Arochena (Мартин-Платеро и сор. - Martín-Platero et al., 2009). Во друга студија од 232 изолати од занаетчиско козјо сирење од сурово млеко 35% припаѓале на родот *Lactococcus*, 27,5% на *Leuconostoc*, 17,5% *Lacticaseibacillus*, 15% *Enterococcus*, и по 2,5% на родовите *Loigolactobacillus* и *Lactobacillus* (Нунез Силва и сор. - Nunes Silva et al., 2023). Разликите во доминантните LAB може да се припишат на неколку фактори како што се различните раси на кози, хигиенската процедура на молзење и периодот на земање примероци (Макете и сор. - Makete et al., 2017; Делавене и сор. - Delavenne et al., 2011). Сирењата од сурово млеко поради разновидната микробиота зрееат побрзо и развиваат поинтензивен вкус од пастеризираните или микрофилтрираните млечни сирења (Бахман и сор. - Bachmann et al., 2011; Мрконџиќ Фука и сор. - Mrkonjić Fuka et al., 2013). Од друга страна, термичкиот третман на млекото го намалува бројот на одржливи микроорганизми и придружните ензими, како и некои млечни протеази и липази, спречувајќи формирање на соодветен вкус во пастеризираните млечни сирења (Џо и сор. - Jo et al., 2018; Томасино и сор. - Tomasino et al., 2018).

Околината за преработка на сирење може да биде потенцијален извор на NSLAB, особено во случај на мезофилни бактерии, кои можат да преживеат во околината за обработка и на самата опрема, дури и по чистење и дезинфекција, поради нивната способност да формираат биофилмови (Блаја и сор. – Vlaya et al. 2018).

Податоците за микробната разновидност на суровото козјо млеко и белото саламурено козјо сирење се важни за зачувување на традиционалните методи на производство и локалното културно наследство, а истовремено овозможува разликување на продуктите на пазарот и промоција на регионалната специфичност.

### **3. Методи и материјали**

Пилот истражувањето е спроведено во неколку фази со цел да се соберат податоци кои ќе бидат користени за поставување на хипотези и развој на конечен експериментален проток за изведување на главното истражување во рамките на докторската теза. Сирењето е произведено во традиционални услови без топлотен третман на козјото млеко и без додавање на стартер култури, во мала фарма во село Селце, Тетово, Република Северна Македонија (Мифтари & Николовска Неделкоска - Miftari & Nikolovska Nedelkoska, 2024).

#### **3.1. Изолација и карактеризација на млечнокисели бактерии**

Од секој примерок (сурово млеко, козјо сирење, саламура, алатки и простории на производство), колонииите развиени на M17 агар и MRS агар беа случајно избрани и последователно субкултурирани до постигнување чистота на културата под истите услови. Добиените бактериски изолати беа складирани на -80 °C во 1:1 стерилна мешавина од M17 бујон и MRS бујон соодветно, и глицерол (50% во вода) за долгорочно складирање.

Криопрезервираните бактерии беа субкултурирани двапати и беа подложени на екстракција на ДНК според Осимани и сор. - Osimani et al. (2015). ДНК беше подложена



на PCR во Mastercycler X50a Thermocycler (Епендорф, Хамбург, Германија) користејќи ги универзалните прокариотски пражмери 27f и 1495r, како што е опишано од Осимани и сор. - Osimani et al. (2015). Ампликоните потоа беа испратени во Genewiz (Лајпциг, Германија) за прочистување и секвенционирање. Добиените секвенци беа споредени со 16S rRNA секвенци на типови соеви од базата на ДНК на GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) преку основната алатка за пребарување и локално порамнување (BLAST).

### 3.2. Детекција на ген *hdCa*

Изолатите беа тестирани за присуство на генот на хистидин декарбоксилаза (*hdca*) преку qPCR изведена со помош на машина CFX Connect Real-Time System (BioRad, Hercules, CA, USA), следејќи ги условите за циклус и пражмерите претходно опишани од Белегиа и сор. - Belleggia et al., (2021) за засилување на фрагмент од 174 bp од генот *hdca* (Фернандез и сор. – Fernández et al. 2006). Позитивниот вид *Lactobacillus parabuchneri* DSM 5987 беше искористен за креирање на стандардната крива. Резултатите беа изразени како присуство (+) или отсуство (-) на целниот ген во примероците на бактериска ДНК.

### 3.3. Ензимска активност

Ензимските активности на млечнокиселите бактерии беа евалуирани со агарски анализи според Линарес-Моралес и сор. - Linares-Morales et al. (2020) со некои модификации. Пред тестот, изолатите беа извадени од замрзнатите складирани суспензии и субкултурирани двапати на истиот медиум што се користеше за изолацијата. За секој изолат, 5 µL од културата беа додавани во три примероци на следните медиуми: (i) агар со обезмастено млеко (пептон 0,5%, екстракт од слад 0,3%, екстракт од квасец 0,3%, гликоза 1%, натриум хлорид 0,5%, агар 0,2%, обезмастено млеко 2%) за евалуација на активноста на протеазата; (ii) трибутирин агар (пептон 0,5%, екстракт од квасец 0,3%, агар 2%, трибутирин 1%) за активност на липаза.

Диференцирањето на зона - ореол (анг. halo) околу инокулумот по инкубација на 30 °C во текот на 48 часа укажува на позитивен резултат, со нивоа на интензитет означени како + (1 mm), ++ (1-2 mm) и +++ (>2 mm).

## 4. Резултати и дискусија

Идентификацијата на млечнокиселите бактерии во сурово козјо млеко, козјо сирење и од примероци од алатките за производство на сирење е претставена во табела 1.

Род (бр. на изолати)	Алатки	Млеко	Саламура	Сирење
<i>Enterococcus</i> (46)	5	6	1	34
<i>Lactococcus</i> (6)	/	1	4	1
<i>Levilactobacillus</i> (1)	/	/	/	1
<i>Lactiplantibacillus</i> (2)	/	/	/	2
<i>Streptococcus</i> (9)	/	/	2	7
<i>Companilactobacillus</i> (1)	/	/	/	1
<i>Lacticaseibacillus</i> (2)	/	/	2	/

Табела 1: Идентификација на млечнокисели бактерии

Од вкупно 67 изолати во примероците, 68,65% се идентификувани како *Enterococcus*, 13,43% *Streptococcus*, 8,95% *Lactococcus*, 2,98% *Lactiplantibacillus*,

2,98% *Lacticaseibacillus*, 1,49% *Levilactobacillus* и 1,49% *Companilactobacillus*.

Во ова истражување беше утврден диверзитет на млечнокисели бактерии во сирењето, при што доминантен идентификуван род беше *Enterococcus*, проследен со претставници од родот *Streptococcus*. *Enterococcus*, исто така, беше доминантен род во суровото козјо млеко и примероците од алатки.

Слични резултати се пријавени во студијата на Перин & Неро - Perin & Nero (2014), каде доминантни LAB биле *Enterococcus* и *Lactococcus* во примероци од сурово козјо млеко собрано од 11 различни фарми во Бразил. Во друга студија во аргентинско козјо млеко и козјо сирење биле идентификувани родовите *Lactobacillus*, *Enterococcus* и *Pediococcus* (Медина и сор. - Medina et al., 2011). Во студијата на Черигене и сор. - Cheriguene et al. (2006) биле изолирани 120 соеви на млечнокисели бактерии во сурово млеко од Западен Алжир, од изолатите 37,33% биле класифицирани како *Lactobacillus*; 34,66% како *Enterococcus*; 25,33% *Lactococcus* и 2,66% како *Streptococcus thermophilus*. Во студијата на Писано и сор. - Pisano et al. (2019) во примероците од сурово млеко собрани во северна Сардинија од 289 изолати 29,41% припаѓале на родот *Lactococcus*, 32,52% биле идентификувани како *Lactobacillus*, 23,53% *Enterococcus*, 8,30% *Pediococcus*, 4,84% *Leuconostoc* и 7% *Streptococcus*.

Во студијата на Нунез Силва и сор. - Nunes Silva et al. (2023) од 232 изолати од занаетчиско козјо сирење од сурово млеко 35% припаѓале на родот *Lactococcus*, 27,5% на *Leuconostoc*, 17,5% *Lacticaseibacillus*, 15% *Enterococcus*, и по 2,5% на родовите *Loigolactobacillus* и *Lactobacillus*. *Lc. lactis* бил најзастапен вид во две шпански традиционални сирења од козјо млеко (41,9% во Quesailla Arochena - тврдо сирење и 26,4% во Torta Arochena - меко сирење), проследено со различни видови *Lactobacillus* како *Lb. paracasei* и *Lb. plantarum* (38,2% во Quesailla Arochena и 14,6% во Torta Arochena). Сојовите *Leuconostoc* исто така биле застапени во двете сирења (7,8% во Quesailla Arochena и 0,002% во Torta Arochena), а ентерококите биле застапени со 6,7% во Quesailla Arochena и 20,01% во Torta Arochena (Мартин-Платеро и сор. - Martín-Platero et al., 2009). Во примероци на сирење од термички обработено козјо млеко произведени во Србија мнозинството (87,3%) од анализирани изолати (55 изолати) припаѓале на родот *Lactobacillus*, 9,1% на *Lactococcus* и 3,6% биле *Enterococcus* (Николиќ и сор. - Nikolic et al., 2008). Грујовиќ и сор. - Grujović et al. (2024) во традиционално српско козјо сирење ги идентификуваа следните микроорганизми: *Enterococcus faecalis* (49 изолати), *Enterococcus faecium* (13 изолати), *Enterococcus hirae* (9 изолати), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (89 изолати), *Lacticaseibacillus paracasei* (46 изолати) и *Lactiplantibacillus plantarum* (32 изолати).

Ентерококите се широко распространети во бели саламурирани сирења, бидејќи тие се група на LAB отпорна на сол (Елкенани и сор. - Elkenany et al., 2018) и тие се исто така добро прилагодени на целиот процес на производство на сирење (Едалатиан и сор. - Edalatian et al., 2012). *E. faecalis* и *E. faecium* се приближно подеднакво застапени во бели саламурени сирења, проследено со *E. durans* (Бегович и сор. - Begovic et al., 2011; Јокович и сор. - Jokovic et al., 2011; Николиќ и сор. - Nikolic et al., 2008; Терзич-Видојевич и сор. - Terzic-Vidojevic et al., 2007). Ентерококите може да бидат присутни во голем број во млечните производи (до  $10^8$  CFU  $g^{-1}$ ) (Гирафа - Giraffa, 2002). Тие се меѓу најчестите млечнокисели бактерии во суровото млеко (Гао и сор. - Gao et al., 2018), до кое „пристапуваат“ од средината, изворите на вода, опремата за молзење, животните и луѓето (Гирафа - Giraffa, 2002; Гарг & Митал - Garg & Mital, 1991; Гелсомино и сор. - Gelsomino et al., 2002; Кагли и сор. - Kagkli et al., 2007). И покрај присуството на ентерооки во цревната микробиота на луѓето и животните кои се одгледуваат за производството на млеко, овие микроорганизми често се разгледуваат од аспект на фекална контаминација во синцирот на производство на млечни производи (Дапкевициус и сор. - Darkevicius et al., 2021). Во студијата на Кагли и сор. - Kagkli et

al. (2007) само еден *Enterococcus* (сој на *E. casseliflavus*) од вкупно 76 наводни ентерококни изолати (1,31%) од фецесот на говеда имал слични модели на PFGE (Гел електрофореза со пулсивно поле) како ентерококите изолирани од млекото. Наместо тоа, опремата за молзење се смета за главен извор на сурово млеко. (Кагли и сор. - Kagkli et al., 2007). Студијата на Гелсомино и сор. –Gelsomino et al. (2002) покажа дека машината за молзење и резервоарот (контејнерот) на млеко се важни извори на ентерококи за млеко и млечни производи. Во нашето истражување во примероците земени од алатките за производство на сирење се пронајдени само LAB од родот *Enterococcus*, што се смета дека довело до високо ниво на овие млечнокиселински бактерии во млекото и сирењето.

Потеклото и квалитетот на млекото, условите на животната средина како добиточната храна (трева, сено итн.), годишните времиња, надморската височина на пасиштата и процесот на производство на млечни производи и хигиенските услови за време на манипулацијата со млекото имаат значително влијание врз присуството на микробната популација на овие производи (Гобети и сор. - Gobetti et al, 2015; Сизен и сор. - Siezen et al., 2010; Тилока и сор. - Tilosca et al., 2020), што може да ги објасни разликите во горенаведените истражувања.

Во оваа студија, генот *hdcA* беше откриен само во еден изолат (примерок од сирење) идентификуван како *Companilactobacillus alimentarius*. Кластерот на гените, вклучувајќи го генот *hdcA*, ја кодира активноста на хистидин декарбоксилазата, одговорна за производството на хистамин (Диас и сор. - Diaz et al., 2016). Хистаминот претставува опасност за храната која е предизвикувачки агенс на широк спектар на болести кои се пренесуваат преку храна, вклучувајќи главоболка, пореметувања на крвниот притисок и дијареа (Ладеро и сор. – Ladero et al., 2010). Според ЕФСА - EFSA (2011) по рибата, сирењето е храна која најчесто се поврзува со труење со хистамин. Пријавените епидемии вклучуваат сирења направени од сурово, како и од пастеризирано млеко (Молер и сор. - Møller et al., 2020). Сепак, содржината на хистамин во млечните производи не е предмет на никаква регулатива од страна на Европската Унија (Мониенте и сор. - Moniente et al., 2021). Откривањето на млечнокисели бактерии кои произведуваат хистамин претставува превентивна стратегија за избегнување на нивната употреба како стартер или помошни култури, со што се штити здравјето на потрошувачите (Ди Рензо и сор. - Di Renzo et al., 2023; Осимани и сор. - Osimani et al., 2023). Соеви на *Companilactobacillus alimentarius* кои произведуваат хистамин веќе се откриени од страна на Табанели и сор. - Tabanelli et al. (2024) во Шпански спонтано ферментирани колбаси. Во сирење се пронајдени соеви кои произведуваат хистамин кои припаѓаат на видот *Lentilactobacillus buchneri*, *Lent. parabuchneri*, *Lacticaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus helveticus* и *Latilactobacillus curvatus* (Мониенте и сор. - Moniente et al., 2021).

Во табела 2 се претставени резултатите за ензимска активност (липаза и протеаза) на изолатите од сите примероци. Сите изолати (67) покажаа силна позитивна реакција на активноста на протеазата, главно припаѓајќи на видовите ентерококи и стрептококи со повисока активност на протеза. Протеолитичкиот систем на млечнокиселините бактерии се состои од три главни компоненти: (i) протеиназа на клеточниот ѕид, која ги хидролизира екстрацелуларните казеини; (ii) транспортери на пептиди, одговорни за носење олигопептиди во клетката; и (iii) интрацелуларни пептидази, кои ги разградуваат пептидите на пократки пептиди и аминокиселини (Лиу и сор. - Liu et al., 2010). Овие механизми се од суштинско значење за опстанокот и размножувањето на клетките за време на ферментацијата бидејќи овозможуваат снабдување со аминокиселини неопходни за раст на бактериите (Савијоки и сор. - Savijoki et al., 2006; Гарциа-Кано и сор. - García-Cano et al., 2019).

ЛАВ (бр. на изолати)	Активност на липаза* (бр. на изолати)	Активност на протеза* (бр. на изолати)
<i>Enterococcus</i> (46)	- (5)	
	+ (21)	+ (26)
	++ (17)	++ (20)
	+++ (3)	
<i>Lactococcus</i> (6)	+ (4)	+ (4)
	++ (2)	++ (2)
<i>Levilactobacillus</i> (1)	+++	+
<i>Lactiplantibacillus</i> (2)	- (1)	
	++ (1)	+ (2)
<i>Streptococcus</i> (9)	+ (8)	+ (3)
	+++ (1)	++ (6)
<i>Companilactobacillus</i> (1)	+	+
<i>Lacticaseibacillus</i> (2)	++	+

\*+, позитивен (1 mm); ++, позитивен (1-2 mm); +++, позитивен (>2 mm).

Табела 2: Ензимска активност на изолатите

Во производството на сирење, се смета дека протеолизата на казеинот игра клучна улога, бидејќи аминокиселините што произлегуваат од протеолизата се главните прекурсори на специфичните соединенија за вкус, како што се различни алкохоли, алдехиди, киселини, естри и сулфурни соединенија (Смит и сор. - Smit et al., 2005). Покрај тоа, протеолитичката активност на млечнокиселите бактерии може да обезбеди потенцијални здравствени придобивки за потрошувачите, вклучително и подобрена сварливост, подобро здравје на цревата (антимикробна активност) и ослободување на биоактивни пептиди (Савијоки и сор. - Savijoki et al., 2006; Гарциа-Кано и сор. - García-Cano et al., 2019). Општо земено, млечнокиселите бактерии се слабо протеолитички во споредба со другите микробни групи кои се наоѓаат во микробиотата на млечните производи (МкСвинеу & Соуза - McSweeney & Sousa, 2000). Сепак, ова својство може да варира во зависност од видот, подвидот, па дури и специфичниот сој (Киелзек и сор. - Kieliszek et al., 2021). Меѓу лактококите, *L. cremoris* обично покажува повисока протеолитичка активност во споредба со *L. lactis* (Киелзек и сор. - Kieliszek et al., 2021). Покрај тоа, протеолитичката активност на *Enterococcus* spp. е добро документирана во литературата (Линарес-Моралес и сор. - Linares-Morales et al., 2020; Саиди и сор. - Saidi et al., 2020). Во сирењето Batzos (сирење од сурово козјо млеко), *E. durans* и *E. faecium* покажаа екстрацелуларна протеолитичка активност (Псони и сор. - Psoni et al., 2006). Нивната способност да ги разградуваат казеините и да формираат прекурсори на ароматични соединенија и да ги инхибираат несаканите микроорганизми може да придонесат за квалитетот на сирењата со зреење (Литополоу-Тзанетаки и сор. - Litoroulou-Tzanetaki et al., 1993; Сарантинополос и сор. - Sarantinopoulos et al., 2002a; Сарантинополос и сор. - Sarantinopoulos et al., 2002b).

Многу изолати покажаа активност на липаза, главно припаѓајќи на групата ентерококи. Липазите се ензими кои ја катализираат хидролизата на триглицеридите до глицерол и слободни масни киселини преку интерфејсот масло-вода (Медина и сор. - Medina et al., 2004; Треихел и сор. - Treichel et al., 2010). Ензимската хидролиза (липолиза) на триацилглицериди (триглицериди) до слободни масни киселини (FFAs-Free Fatty Acids) и глицерол, моно- или диглицериди се смета за суштинска за развојот на вкусот на сирењето (Колинс и сор. - Collins et al., 2003; МкСвинеу & Соуза - McSweeney & Sousa, 2000). Познато е дека млечнокиселите бактерии се слабо

липолитички во споредба со другите микробни групи (на пр. *Pseudomonas*, *Bacillus* и *Achromobacter*) (Медина и сор. - Medina et al., 2004). Всушност, липолитичката активност на *Lactococcus* spp. изолирани од млечни производи ретко се пријавени (Никосиа и сор. - Nicosia et al., 2023; Јерликаја - Yerlikaya, 2019; Катз и сор. - Katz et al., 2002). Наместо тоа, има повеќе докази за липолитичката активност на *Enterococcus* spp. (Псомас и сор. - Psomas et al., 2023; Моранди и сор. - Morandi et al., 2006; Грахам и сор. - Graham et al., 2020), иако податоците често се контрадикторни (Graham et al., 2020). Контрадикторните податоци во врска со липолитичките активности на ентерококите се рефлектираат во наодите на Дурлу-Озкаја и сор. - Durlu-Ozkaya et al. (2001) кои заклучил дека ентерококите покажуваат изразена липолитичка активност, и Вилани & Копола - Villani & Coppola (1994), кои пријавиле дека ентерококите покажуваат ниска липолитичка активност. Затоа, липолитичката активност меѓу ентерококите се чини дека е специфична за сојот и/или регионот (Грахам и сор. - Graham et al., 2020).

## 5. Заклучок

Козјото млеко содржи богата и сложена микробиота, вклучувајќи млечнокисели бактерии кои се главно одговорни за природната ферментација на млечните производи, вклучувајќи го и традиционалното бело саламурено козјо сирење, кое се произведува без термички третман на млекото и без додавање стартер култури. Автохтоната микрофлора од суровото млеко, како и микроорганизмите што потекнуваат од изложеноста на животната средина за време на производството на сирењето, исто така, играат важна улога во процесот на ферментација, биохемиските својства и конечниот развој на сирењето.

Во ова истражување беше утврден диверзитет на млечнокисели бактерии во сирењето, при што доминантен идентификуван род беше *Enterococcus*, проследен со претставници од родот *Streptococcus*. *Enterococcus* исто така беше доминантен род во суровото козјо млеко и примероците од алатките. Ова укажува на големо влијание на ентерококите во процесот на правење сирење, особено кај белите саламурени традиционални сирења, благодарение на нивната отпорност на сол. Резултатите исто така сугерираат дека алатките за правење сирење се значајни извори на овие бактерии. Генот *hdcA* беше детектиран само кај видот *C. alimentarius* во примерок од сирење, што ја потврдува загриженоста во врска со присуството на бактерии кои можат да произведуваат хистамин, како потенцијален ризик за здравјето на потрошувачите. Млечнокиселите бактерии, особено ентерококите и стрептококите, покажуваат значителна активност на протеаза, што е од клучно значење за процесите на ферментација и производството на сирење. Протеолизата на казеин не само што ја подобрува сварливоста на млечните производи, туку може да придонесе и за развој на специфични соединенија кои влијаат на вкусот на сирењата. Исто така, протеолитичката активност на овие бактерии може да обезбеди здравствени придобивки, како што се подобрување на здравјето на цревата и ослободување на биоактивни пептиди. Овие наоди укажуваат на важноста на изборот на соеви со висока протеолитичка активност за производство на квалитетни млечни производи. Ентерококите покажуваат значителна липолитичка активност, која е важна за развојот на вкусот на сирењето преку хидролиза на триглицериди во слободни масни киселини и глицерол. Иако, млечнокиселите бактерии генерално се помалку липолитички активни од другите микроорганизми ентерококите се меѓу оние кои најчесто ја покажуваат оваа активност. Сепак, врз основа на резултатите, потребни се дополнителни истражувања за да се разјасни влијанието на липолитичката активност на изолатите врз квалитетот на анализираните млечни производи.

## Благодарност

Изразуваме голема благодарност до професорите и соработниците на Земјоделски Факултет, Политехнички Универзитет во Марке (Department of Agricultural, Food and Environmental Sciences, Marche Polytechnic University), Анкона, Италија за континуираната соработка во текот на истражувањето и за дадената поддршка за изведување на анализите потребни за докторската теза. Исто така, благодарност изразуваме и до производителите на бело саламурено козјо сирење по традиционална технологија од село Селце, Тетово за целосната поддршка при производството на сирењето употребено во нашето истражување.

## Користена литература

- Aquilanti, L., Kahraman, Ö., Zannini, E., Osimani, A., Silvestri, G., Ciarrocchi, F., Garofalo, C., Tekin, E. & Clementi, F. (2012). Response of lactic acid bacteria to milk fortification with dietary zinc salts. *International Dairy Journal*, 25(1), 52-59. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2011.12.006>
- Asteri, I., Kittaki, N. & Tsakalidou, E. (2010). The effect of wild lactic acid bacteria on the production of goat's milk soft cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 63(2), 234-242. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00564.x>
- Axelsson, L. (2004). Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects. In S. Salminen, & A. von Wright (Eds.), *Lactic Acid Bacteria* (3rd edition ed., Vol. 139, pp. 1-66). CRC Press. doi:<https://doi.org/10.1201/9780824752033>
- Bachmann, H. P., Frohlich-Wyder, M. T., Jakob, E., Roth, E., Wechsler, D., Beuvier, E. & Buchin, S. (2011). Raw milk cheeses. In J. W. Fuquay, P. F. Fox, & P. L. Mc Sweeney (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (2 ed., Vol. 1). Academic Press, Elsevier Ltd. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00519-7>
- Balciunas, E., Martinez, F., Todorov, S., Franco, B., Converti, A. & Oliveira, R. (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 32(1), 134-142. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.11.025>
- Begovic, J., Brandsma, J., Jovicic, B., Tolinacki, M., Veljovic, K., Meijer, W. & Topisirovic, L. (2011). Analysis of dominant lactic acid bacteria from artisanal raw milk cheeses produced on the mountain Stara Planina, Serbia. *Archives of Biological Sciences*, 63(1), 11-20. doi:<https://doi.org/10.2298/ABS1101011B>
- Belleggia, L., Milanović, V., Cardinali, F., Garofalo, C., Clementi, F., Aquilanti, L. & Osimani, A. (2021). Prevalence of Histidine Decarboxylase Genes of Gram-Positive Bacteria in Surströmming as Revealed by qPCR. *Indian journal of microbiology*, 61(1), 96–99. doi:<https://doi.org/10.1007/s12088-020-00907-1>
- Ben Braïek, O. & Smaoui, S. (2019). Enterococci: between emerging pathogens and potential probiotics. *BioMed Research International*, 2019(1), 1-13. doi:<https://doi.org/10.1155/2019/5938210>
- Bin Masalam, M., Bahieldin, A., Alharbi, M., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S., Harakeh, S. & Al-Hindi, R. (2018). Isolation, Molecular Characterization and Probiotic Potential of Lactic Acid Bacteria in Saudi Raw and Fermented Milk. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 7970463. doi:<https://doi.org/10.1155/2018/7970463>
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4(4), 665–684. doi:<https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.4.665>
- Blaya, J., Barzideh, Z. & LaPointe, G. (2018). Symposium review: Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3611–3629. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13345>
- Castro, R.D., Oliveira, L.G., Sant'Anna, F.M., Luiz, L.M., Sandes, S.H., Silva, C., Silva, A.M., Nunes, Á.C., Penna, C. & Souza, M.R. (2016). Lactic acid microbiota identification in water, raw milk, endogenous starter culture, and fresh Minas artisanal cheese from the Campo das Vertentes region of Brazil during the dry and rainy seasons. *Journal of dairy science*, 99 8, 6086-6096 .

- (2016). Lactic acid microbiota identification in water, raw milk, endogenous starter culture, and fresh Minas artisanal cheese from the Campo das Vertentes region of Brazil during the dry and rainy seasons. *Journal of dairy science*, 99(8), 6086–6096. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2015-10579>
- Cheriguene, A., Chougrani, F. & Bensoltane, A. (2006). Identification and Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Algerian Goat's Milk. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9, 1242-1249. doi:[10.3923/pjbs.2006.1242.1249](https://doi.org/10.3923/pjbs.2006.1242.1249)
- Collins, B., Cotter, P., Hill, C. & Ross, R. (2010). Applications of Lactic Acid Bacteria-Produced Bacteriocins. In F. Mozzi, R. Raya, & G. Vignolo (Eds.), *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications* (pp. 89-109). Blackwell Publishing. doi:<https://doi.org/10.1002/9780813820866.ch5>
- Collins, Y., McSweeney, P. & Wilkinson, M. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13(11), 841-866. doi:[https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00109-2)
- Colombo, E., Franzetti, L., Frusca, M. & Scarpellini, M. (2010). Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal italian goat cheese. *Journal of Food Protection*, 73(4), 657-662. doi:[https://doi.org/10.4315/0362-028x-73\\_4\\_657](https://doi.org/10.4315/0362-028x-73_4_657)
- Dapkevicius, M., Sgardioli, B., Câmara, S. & Poeta, P.M. (2021). Current Trends of Enterococci in Dairy Products: A Comprehensive Review of Their Multiple Roles. *Foods*, 10(4), 821. doi:<https://doi.org/10.3390/foods10040821>
- Delavenne, E., Mounier, J., Asmani, K., Jany, J., Barbier, G. & Le Blay, G. (2011). Fungal diversity in cow, goat and ewe milk. *International Journal of Food Microbiology*, 151(2), 247–251. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.029>
- Di Renzo, T., Osimani, A., Marulo, S., Cardinali, F., Mamone, G., Puppo, C., Garzón, A.G., Drago, S.R., Laurino, C. & Reale, A. (2023). Insight into the role of lactic acid bacteria in the development of a novel fermented pistachio (*Pistacia vera* L.) beverage. *Food Bioscience*, 53, 102802. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102802>
- Diaz, M., Ladero, V., Redruello, B., Sanchez-Llana, E., Del Rio, B., Fernandez, M., Martin, M.C. & Alvarez, M. A. (2016). Nucleotide sequence alignment of *hdcA* from Gram-positive bacteria. *Data in brief*, 6, 674–679. doi:<https://doi.org/10.1016/j.dib.2016.01.020>
- Domingos-Lopes, M., Stanton, C., Ross, P., Dapkevicius, M. & Silva, C. (2017). Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. *Food microbiology*, 63, 178-190. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.014>
- Durlu-Ozkaya, F., Xanthopoulos, V., Tunail, N. & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2001). Technologically important properties of lactic acid bacteria isolates from Beyaz cheese made from raw ewes' milk. *Journal of applied microbiology*, 91(5), 861-870. doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01448.x>
- Edalatian, M., Najafi, M., Mortazavi, A. & Mayo, B. (2012). The biodiversity and evolution of lactic flora during ripening of the Iranian semisoft Lighvan cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 65(1), 81-89. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00738.x>
- EFSA Panel on Biological Hazards (2017). Scientific Opinion on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA. *EFSA journal. European Food Safety Authority*, 15(3), e04664.
- EFSA Panel on Biological Hazards (2011). Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, 9(10), 2393. doi:<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2393>
- Elkenany, R., Elsayed, M., Eltaysh, R., Zakaria, A. & El-Baz, A. (2018). In vitro probiotic characteristics of enterococcus species isolated from raw cow milk. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*, 13(2), 117-126.
- Fernández, M., del Río, B., Linares, D., Martín, M. & Alvarez, M. (2006). Real-time polymerase chain reaction for quantitative detection of histamine-producing bacteria: use in cheese production. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 3763–3769. doi:[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72417-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72417-1)
- Foulquié Moreno, M., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E. & De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International journal of food microbiology*,

- 106(1), 1–24. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.026>
- Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A. & Poznanski, E. (2009). Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal*, 19(1), 3-11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.07.008>
- Franz, C., Cho, G., Holzapfel, W. & Gálvez, A. (2010). Safety of Lactic Acid Bacteria. In F. Mozzi, R. Raya, & G. Vignolo (Eds.), *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications* (pp. 341-359). Blackwell Publishing. doi:<https://doi.org/10.1002/9780813820866.ch19>
- Franz, C., Huch, M., Abriouel, H., Holzapfel, W. & Gálvez, A. (2011). Enterococci as probiotics and their implications in food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 151(2), 125-140. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.014>
- Gao, W., Howden, B. & Stinear, T. (2018). Evolution of virulence in *Enterococcus faecium*, a hospital-adapted opportunistic pathogen. *Current opinion in microbiology*, 41, 76-82. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.11.030>
- García-Cano, I., Rocha-Mendoza, D., Ortega-Anaya, J., Wang, K., Kosmerl, E. & Jiménez-Flores, R. (2019). Lactic acid bacteria isolated from dairy products as potential producers of lipolytic, proteolytic and antibacterial proteins. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(13), 5243–5257. doi:<https://doi.org/10.1007/s00253-019-09844-6>
- Garg, S. & Mital, B. (1991). Enterococci in milk and milk products. *Critical reviews in microbiology*, 18(1), 15-45. doi:<https://doi.org/10.3109/10408419109113508>
- Gelsomino, R., Vancanneyt, M., Cogan, T., Condon, S. & Swings, J. (2002). Source of enterococci in a farmhouse raw-milk cheese. *Applied and environmental microbiology*, 68(7), 3560-3565. doi:<https://doi.org/10.1128/AEM.68.7.3560-3565.2002>
- Giraffa, G. (2002). Enterococci from foods. *FEMS microbiology reviews*, 26(2), 163-171. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00608.x>
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Mancini, L. & Fox, P.F. (2015). Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. *Trends in Food Science and Technology*, 45, 167-178. doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.016>
- González, L., Sacristán, N., Arenas, R., Fresno, J. & Tornadijo, M. (2010). Enzymatic activity of lactic acid bacteria (with antimicrobial properties) isolated from a traditional Spanish cheese. *Food Microbiology*, 27(5), 592-597. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.01.004>
- Graham, K., Stack, H. & Rea, R. (2020). Safety, beneficial and technological properties of enterococci for use in functional food applications – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(22), 3836-3861. doi:<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1709800>
- Grujović, M., Marković, K., Morais, S. & Semedo-Lemsaddek, T. (2024). Unveiling the Potential of Lactic Acid Bacteria from Serbian Goat Cheese. (Basel, Switzerland), 13(13), 2065. . *Foods*, 13(13), 2065. doi:<https://doi.org/10.3390/foods13132065>
- Guessas, B. & Kihal, M. (2004). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Algerian arid zone raw goats' milk. *African Journal of Biotechnology*, 3(6), 339-342.
- Hammam, A., Salman, S., Elfaruk, M. & Alsaleem, K. (2021). Goat milk: compositional, technological, nutritional, and therapeutic aspects. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 41(4). doi:<http://doi.org/10.20944/preprints202108.0097.v1>
- Hanchi, H., Mottawea, W., Sebei, K. & Hammami, R. (2018). The Genus *Enterococcus*: Between Probiotic Potential and Safety Concerns-An Update. *Frontiers in microbiology*, 9, 1-16. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01791>
- Hatti-Kaul, R., Chen, L., Dishisha, T. & Enshasy, H. (2018). Lactic acid bacteria: from starter cultures to producers of chemicals. *FEMS microbiology letters*, 365(20). doi:<https://doi.org/10.1093/femsle/fny213>
- Hippe, B., Zwieler, J., Pirker, A., Smith, W. & Haslberger, A. (2011). Detection and Identification of Probiotic Microorganisms and Other Beneficial Organisms from the Human GI Tract. In M. Liong (Ed.), *Probiotics* (pp. 57-86). Springer. doi:[https://doi.org/10.1007/978-3-642-20838-6\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-20838-6_3)
- Jo, Y., Benoist, D.M., Barbano, D.M. & Drake, M.A. (2018). Flavor and flavor chemistry differences among milks processed by high-temperature, short-time pasteurization or ultra-pasteurization. *Journal of dairy science*, 101(5), 3812–3828. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2017-14071>
- Jokovic, N., Vukasinovic, M., Veljovic, K., Tolinacki, M. & Topisirovic, L. (2011). Characterization



- of non-starter lactic acid bacteria in traditionally produced home-made Radan cheese during ripening. *Archives of Biological Sciences*, 63(1), 1-10. doi:<https://doi.org/10.2298/ABS1101001J>
- Kagkli, D., Vancanneyt, M., Hill, C., Vandamme, P. & Cogan, T.M. (2007). Enterococcus and Lactobacillus contamination of raw milk in a farm dairy environment. *International journal of food microbiology*, 114(2), 243-251. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.09.016>
- Kagkli, D., Vancanneyt, M., Vandamme, P., Hill, C. & Cogan, T.M. (2007). Contamination of milk by enterococci and coliforms from bovine faeces. *Journal of applied microbiology*, 103(5), 1393-1405. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03338.x>
- Katz, M., Medina, R., Gonzalez, S. & Oliver, G. (2002). Esterolytic and lipolytic activities of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk and cheese. *Journal of food protection*, 65(12), 1997-2001. doi:<https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.12.1997>
- Kawęcka, A. & Pasternak, M. (2022). Nutritional and dietetic quality of milk and traditional cheese made from the milk of native breeds of sheep and goats. *Journal of Applied Animal Research*, 50(1), 39–46. doi:<https://doi.org/10.1080/09712119.2021.2020125>
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K. & Kot, A. (2021). Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules*, 26(7), 1858. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules26071858>
- Ladero, V., Calles-Enríquez, M. & Fernández, M.Á. (2010). Toxicological Effects of Dietary Biogenic Amines. *Current Nutrition & Food Science*, 6(2), 145-156. doi:<https://doi.org/10.2174/157340110791233256>
- Landete, J.M. (2017). A review of food-grade vectors in lactic acid bacteria: from the laboratory to their application. *Critical reviews in biotechnology*, 37(3), 296–308. doi:[10.3109/07388551.2016.1144044](https://doi.org/10.3109/07388551.2016.1144044)
- Lebreton, F.W. (2014). Enterococcus Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization. In M. Gilmore, D. Clewell, Y. Ike, & N. Shankar (Eds.), *Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection*. Massachusetts Eye and Ear Infirmary.
- Levkov, V., Mojsova, S., Nastova, R., Srbinovska, S. & Gjorgovska, N. (2017). Identification and Phenotypic Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Traditional Cheeses Produced in the Republic of Macedonia. *Macedonian Journal of Animal Science*, 7, 79-87.
- Linares-Morales, J., Cuellar-Nevárez, G., Rivera-Chavira, B., Gutiérrez-Méndez, N., Pérez-Vega, S. & Nevárez-Moorillón, G. (2020). Selection of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fresh Fruits and Vegetables Based on Their Antimicrobial and Enzymatic Activities. *Foods*, 9(10), 1399. doi:<https://doi.org/10.3390/foods9101399>
- Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N. & Vafopoulou-Mastrojiannaki, A. (1993). Effect of the type of lactic starter on microbiological, chemical and sensory characteristics of Feta cheese. *Food Microbiology*, 10(1), 31-41. doi:<https://doi.org/10.1006/fmic.1993.1004>
- Liu, M., Bayjanov, J., Renckens, B., Nauta, A. & Siezen, R. (2010). The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC genomics*, 11, 36. doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-36>
- Makete, G., Aiyegoro, O.A. & Thantsha, M.S. (2017). Isolation, Identification and Screening of Potential Probiotic Bacteria in Milk from South African Saanen Goats. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 9(3), 246-254. doi:<https://doi.org/10.1007/s12602-016-9247-5>
- Martín-Platero, A., Maqueda, M., Valdivia, E., Purswani, J. & Martínez-Bueno, M. (2009). Polyphasic study of microbial communities of two Spanish farmhouse goats' milk cheeses from Sierra de Aracena. *Food Microbiology*, 26(3), 294-304. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.12.004>
- Mateva, N., Levkov, V., Srbinovska, S., Santa, D., Mojsova, S. & Sulejmani, E. (2019). Characteristics of Traditional Cheeses Produced in the Republic of North Macedonia. *Current Developments in Food and Nutrition Research*, 1, 1-52.
- Mayo, B., Aleksandrak-Piekarczyk, T., Fernández, M., Kowalczy, M. & Bardowski, J. (2010). Updates in the Metabolism of Lactic Acid Bacteria. In F. Mozzi, R. Raya, & G. Vignolo (Eds.), *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications* (pp. 3-33). Blackwell Publishing. doi: <https://doi.org/10.1002/9780813820866.ch1>
- McSweeney, P. & Sousa, M. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80, 293-324. doi:

<https://doi.org/10.1051/ait:2000127>

- Medina, R., Katz, M., González, S. & Oliver, G. (2004). Determination of Esterolytic and Lipolytic Activities of Lactic Acid Bacteria. In J. Spencer, & A. Ragout de Spencer (Eds.), *Public Health Microbiology: Methods and Protocols* (Vol. 268, pp. 465-470). Humana Press. doi:<https://doi.org/10.1385/1-59259-766-1:465>
- Medina, R., Oliszewski, R., Mukdsi, M., Nieuwenhove, C. & González, S. (2011). Sheep and goat's dairy products from South America: Microbiota and its metabolic activity. *Small Ruminant Research*, 101(1-3), 84-91. doi:<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.09.028>
- Miftari, H., & Nikolovska Nedelkoska, D. (2024). Разновидност и динамика на автохтони млечно-кисели бактерии во традиционално произведено бело саламурено козјо сирење. *Годишна конференција на студентите на трет циклус студии*. Retrieved from <https://eprints.uklo.edu.mk/id/eprint/9773>
- Møller, C., Ücok, E. & Rattray, F. (2020). Histamine forming behaviour of bacterial isolates from aged cheese. *Food research international*, 128, 108719. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108719>
- Moniente, M., García-Gonzalo, D., Ontañón, I., Pagán, R. & Botello-Morte, L. (2021). Histamine accumulation in dairy products: Microbial causes, techniques for the detection of histamine-producing microbiota, and potential solutions. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 20(2), 1481–1523. doi:<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12704>
- Montel, M. C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N. & Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. *International journal of food microbiology*, 177, 136–154. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>
- Morandi, S., B. M., Andrighetto, C., Lombardi, A. & Lodi, R. (2006). Technological and molecular characterisation of enterococci isolated from north–west Italian dairy products. *International Dairy Journal*, 16(8), 868-875. doi:<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.09.005>
- Morandi, S., Brasca, M. & Lodi, R. (2011). Technological, phenotypic, and genotypic characterisation of wild lactic acid bacteria involved in the production of Bitto PDO Italian cheese. *Dairy Science & Technology*, 91, 341–359. doi:<https://doi.org/10.1007/s13594-011-0016-7>
- Mrkonjić Fuka, M., Wallisch, S., Engel, M., Welzl, G., Havranek, J. & Schloter, M. (2013). Dynamics of bacterial communities during the ripening process of different Croatian cheese types derived from raw ewe's milk cheeses. *PLoS one*, 8(11), e80734. doi:10.1371/journal.pone.0080734
- Nalepa, B. & Markiewicz, L. (2023). Microbiological Biodiversity of Regional Cow, Goat and Ewe Milk Cheeses Produced in Poland and Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria Isolated from Them. *Animals*, 13(1), 168. doi:<https://doi.org/10.3390/ani13010168>
- Nalepa, B., Ciesielski, S. & Aljewicz, M. (2020). The Microbiota of Edam Cheeses Determined by Cultivation and High-Throughput Sequencing of the 16S rRNA Amplicon. *Applied Sciences*, 10(12), 4063. doi:<https://doi.org/10.3390/app10124063>
- Nascimento, L., Casarotti, S., Todorov, S. & Penna, A. (2019). Probiotic potential and safety of enterococci strains. *Annals of Microbiology*, 69, 241-252. doi:<https://doi.org/10.1007/s13213-018-1412-5>
- Nero, L., De Mattos, M., De Aguiar Ferreira Barros, M., Ortolani, M., Beloti, V. & De Melo Franco, B. (2008). *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in raw milk produced in Brazil: Occurrence and interference of indigenous microbiota in their isolation and development. *Zoonoses and Public Health*, 55(6), 299-305. doi:10.1111/j.1863-2378.2008.01130.x
- Nicosia, F. D., Pino, A., Maciel, G., Sanfilippo, R., Caggia, C., de Carvalho, A. & Randazzo, C. (2023). Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Strains for Potential Use in Cheese Manufacture. *Foods*, 12(6), 1154. doi:<https://doi.org/10.3390/foods12061154>
- Nikolic, M., Terzic-Vidojevic, A., Jovicic, B., Begovic, J., Golic, N. & Topisirovic, L. (2008). Characterization of lactic acid bacteria isolated from Bukuljac, a homemade goat's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1-2), 162-170. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.075>
- Silva, B.N., Fernandes, N., Carvalho, L., Faria, A.S., Teixeira, J.A., Rodrigues, C., Gonzales-Barron, U. & Cadavez, V. (2023). Lactic acid bacteria from artisanal raw goat milk cheeses: technological properties and antimicrobial potential. *Italian Journal of Food Safety*, 12(4),

11559. doi:<https://doi.org/10.4081/ijfs.2023.11559>
- Osimani, A., Belleggia, L., Botta, C., Ferrocino, I., Milanović, V., Cardinali, F., Haouet, M.N., Garofalo, C., Mozzon, M., Foligni, R. & Aquilanti, L. (2023). Journey to the morpho-textural traits, microbiota, and volatilome of Ciauscolo PGI salami. *Food bioscience*, *53*, 102582. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102582>
- Osimani, A., Garofalo, C., Aquilanti, L., Milanović, V. & Clementi, F. (2015). Unpasteurised commercial boza as a source of microbial diversity. *International Journal of Food Microbiology*, *194*, 62–70. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.011>
- Perin, L. & Nero, L. (2014). Antagonistic lactic acid bacteria isolated from goat milk and identification of a novel nisin variant *Lactococcus lactis*. *BMC microbiology*, *14*, 36. doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2180-14-36>
- Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *2*, 86. doi:<https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00086>
- Pisano, M., Deplano, M., Fadda, M. & Cosentino, S. (2019). Microbiota of Sardinian goat's milk and preliminary characterization of prevalent LAB species for starter or adjunct cultures development. *BioMed Research International*, 6131404. doi:<https://doi.org/10.1155/2019/6131404>
- Powthong, P. & Suntornthiticharoen, P. (2015). Isolation, identification and analysis of probiotic properties of lactic acid bacteria from selective various traditional thai fermented food and kefir. *Pakistan Journal of Nutrition*, 67-74. doi: <https://doi.org/10.3923/pjn.2015.67.74>
- Psomas, E., Sakaridis, I., Boukouvala, E., Karatzia, M.-A., Ekateriniadou, L. & Samouris, G. (2023). Indigenous Lactic Acid Bacteria Isolated from Raw Graviera Cheese and Evaluation of Their Most Important Technological Properties. *Foods*, *12*(2), 370. doi:<https://doi.org/10.3390/foods12020370>
- Psoni, L., Kotzamanides, C., Andrighetto, C., Lombardi, A., Tzanetakis, N. & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2006). Genotypic and phenotypic heterogeneity in *Enterococcus* isolates from Batzos, a raw goat milk cheese. *International journal of food microbiology*, *109*(1-2), 109–120. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.027>
- Psoni, L., Kotzamanidis, C., Yiangou, M., Tzanetakis, N. & Litopoulou-Tzanetaki, E. (2007). Genotypic and phenotypic diversity of *Lactococcus lactis* isolates from Batzos, a Greek PDO raw goat milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, *114*(2).
- Saidi, Y., Del Rio, B., Senouci, D.E., Redruello, B., Martinez, B., Ladero, V., Kihal, M. & Alvarez, M.A. (2020). Polyphasic Characterisation of Non-Starter Lactic Acid Bacteria from Algerian Raw Camel's Milk and Their Technological Aptitudes. *Food technology and biotechnology*, *58*(3), 260–272. doi:<https://doi.org/10.17113/ftb.58.03.20.6598>
- Sánchez, I., Seseña, S., Poveda, J., Cabezas, L. & Palop, L. (2005). Phenotypic and genotypic characterization of lactobacilli isolated from Spanish goat cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, *102*(3), 355-362. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.041>
- Sanlibaba, P. & Senturk, E. (2018). Prevalence, characterization and antibiotic resistance of enterococci from traditional cheeses in Turkey. *International Journal of Food Properties*, *21*, 1955-1963. doi:<https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1489413>
- Santa, D., Atanasova-Pancevska, N. & Srbinovska, S. (2024). Microbial diversity in traditional cheeses from North Macedonia: Insights from existing studies. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences*, *78*(1), 103-109.
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G. & Tsakalidou, E. (2002b). Effect of *Enterococcus faecium* on microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Greek Feta cheese. *International journal of food microbiology*, *76*(1-2), 93-105. doi:[https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(02\)00021-1](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(02)00021-1)
- Sarantinopoulos, P., Leroy, F., Leontopoulou, E., Georgalaki, M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. & De, V.L. (2002a). Bacteriocin production by *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 in view of its application as adjunct starter in Greek Feta cheese making. *International journal of food microbiology*, *72* (1-2), 125–136. doi:[https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00633-x](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00633-x)
- Savijoki, K., Ingmer, H. & Varmanen, P. (2006). Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, *71*(4), 394–406. doi:<https://doi.org/10.1007/s00253-006->

- Schleifer, K. & Ludwig, W. (1995). Phylogenetic relationships of lactic acid bacteria. In B. Wood, & W. Holzappel (Eds.), *The Genera of Lactic Acid Bacteria* (Vol. 2, pp. 7-18). Springer. doi:[https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5817-0_2)
- Settanni, L. & Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food microbiology*, 27(6), 691–697. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.05.023>
- Settanni, L., Franciosi, E., Cavazza, A., Cocconcelli, P. & Poznanski, E. (2011). Extension of Tosèla cheese shelf-life using non-starter lactic acid bacteria. *Food microbiology*, 28(5), 883-890. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.12.003>
- Siezen, R.J., Tzeneva, V.A., Castioni, A., Wels, M., Phan, H.T., Rademaker, J.L., Starrenburg, M.J., Kleerebezem, M., Molenaar, D., & van Hylckama Vlieg, J.E. (2010). Phenotypic and genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches. *Environmental microbiology*, 12(3), 758–773. doi:10.1111/j.1462-2920.2009.02119.x
- Smit, G., Smit, B. & Engels, W. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS microbiology reviews*, 29(3), 591–610. doi:<https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.002>
- Srbínovska, S., Čizbanovski, T., Džabirski, V., Andonov, S. & Palasevski, B. (2001). Dynamics of salt diffusion and yield of three types of goat's milk cheese. *Mljekarstvo*, 1(1), 15-26.
- Tabanelli, G., Barbieri, F., Baños, A., Madero, J.M.G., Daza, M.V.B., Cortimiglia, C., Milani, G., Bassi, D., Gardini, F. & Montanari, C. (2024). *Companilactobacillus alimentarius*: An extensive characterization of strains isolated from spontaneous fermented sausages. *International journal of food microbiology*, 410, 110489. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110489>
- Terzic-Vidojevic, A., Mihajlovic, S., Uzelac, G., Veljovic, K., Tolinački, M., Nikolic, M., Topisirovic, L. & Kojic, M. (2014). Characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Travnik young cheeses, sweet creams and sweet kajmaks over four seasons. *Food microbiology*, 39, 27-38. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.10.011>
- Terzić-Vidojević, A., Veljović, K., Tolinački, M., Živković, M., Lukić, J., Lozo, J., Fira, Đ., Jovčić, B., Strahinić, I., Begović, J., Popović, N., Miljković, M., Kojić, M., Topisirović, L. & Golić, N. (2020). Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries - Technological and probiotic properties. *Food research international*, 136, 109494. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109494>
- Terzic-Vidojevic, A., Vukasinovic, M., Veljovic, K., Ostojic, M. & Topisirovic, L. (2007). Characterization of microflora in homemade semi-hard white Zlatar cheese. *International journal of food microbiology*, 114(1), 36-42. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.038>
- Tilocca, B., Costanzo, N., Morittu, V.M., Spina, A.A., Soggiu, A., Britti, D., Roncada, P. & Piras, C. (2020). Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production. *Journal of proteomics*, 210, 103534. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103534>
- Tomasino, E., Turbes, G., Lim, J., WaiteCusic, J. & Meunier Goddik, L. (2018). Flavor composition of raw and pasteurized milk Cheddar cheeses made from milk sourced from different producers. *Advances in Dairy Research*, 6(2).
- Treichel, H., de Oliveira, D., Mazutti, M., Di Luccio, M. & Oliveira, J. (2010). A Review on Microbial Lipases Production. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 182-196. doi:<https://doi.org/10.1007/s11947-009-0202-2>
- Villani, F. & Coppola, S. (1994). Selection of enterococcal strains for water-buffalo mozzarella cheese manufacture. *Annali Di Microbiologia Ed Enzimologia*, 44, 97-105.
- Yerlikaya, O. (2019). Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. *Journal of dairy science*, 102(1), 124-134. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2018-14983>
- Zhang, F., Wang, Z., Lei, F., Wang, B., Jiang, S., Peng, Q., Zhang, J. & Shao, Y. (2017). Bacterial diversity in goat milk from the Guanzhong area of China. *Journal of Dairy Science*, 100(10), 7812-7824. doi:<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13244>