



موسسه تحقیقات علوم دامی کشور



وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

تولید فرآورده‌های لبنی و دامی سالم و ایمن با استفاده از فرآورده‌های زیستی

نویسندگان: فرگس واسجی، حدیث متشفی و ناهید مژگانی

همکار: مجید توکلی

۱۴۰۱

عنوان: تولید فرآورده‌های لبنی و دامی سالم و ایمن با استفاده از فرآورده‌های زیستی

نویسندگان: نرگس واسجی، حدیث متشفی و ناهید مژگانی

همکار: مجید توکلی

طراح روی جلد: مجید توکلی

صفحه‌آرا: رقیه شکری

مدیر داخلی: ویدا همتی

تهیه شده در: مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور- دفتر شبکه دانش و رسانه‌های ترویجی

ناشر: نشر آموزش کشاورزی

شمارگان: ۱۰۰۰

نوبت چاپ: اول / ۱۴۰۱

قیمت: رایگان

مسئولیت صحت مطالب با نویسندگان است.

شماره ثبت در مرکز فن‌آوری اطلاعات و اطلاع‌رسانی کشاورزی ۶۲۴۳۹ به تاریخ ۱۴۰۱/۰۸/۱۲ است.

نشانی: تهران، بزرگراه شهید چمران، خیابان یمن، پلاک ۱ و ۲، معاونت ترویج،

صندوق پستی: ۱۱۱۳-۱۹۳۹۵، تلفکس: ۰۲۱-۲۲۴۱۳۹۲۳

مخاطبان:

- کارشناسان صنعت غذا
- بهره‌برداران و محققان حوزه صنایع غذایی
- شرکتهای لبنی
- شرکتهای دانش بنیان

اهداف:

- ۱- آشنائی با رویکردهای جدید و ایمن در تولیدات لبنی و دامی
- ۲- معرفی و بررسی نقش پروبیوتیک، پری بیوتیک، پست بیوتیک جهت تولید محصولات فراسودمند
- ۳- معرفی باکتریوسین به عنوان نگهدارنده طبیعی
- ۴- معرفی باکتریوفاژها به عنوان عوامل کنترل زیستی

فهرست مطالب

مقدمه	۱
پروبیوتیک‌ها: باکتری‌های سودمند	۳
پست‌بیوتیک‌ها: محصولات سودمند باکتری‌های مفید	۸
پری‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک: ترکیبات سودمند برای لبنیات فراسودمند	۱۲
نگهدارنده‌های طبیعی	۱۵
باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک	۱۵
باکتریوفازها: ویروس‌های سودمند	۱۷
نتیجه‌گیری	۲۰
منابع	۲۳

جمعیت رو به رشد انسانی در حال حاضر با چالش بی‌سابقه‌ای در رابطه با پایداری جهانی غذا مواجه است. بنابراین، حفظ تولید و کیفیت غذا در عین اجتناب از تأثیر منفی بر تغییرات آب و هوا و محیط زیست از اهمیت بالایی برخوردار است. موارد متعددی در طول زنجیره غذایی می‌تواند ایمنی غذا و سلامت انسان را به خطر بیندازد. یکی از نمونه‌ها استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها و ضدعفونی‌کننده‌ها در تولید لبنیات است که به بحران فعلی و رو به گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی کمک کرده است. علاوه بر این، انتشار غیرقابل کنترل مواد ضد میکروبی در محیط زیست، تهدید قابل توجهی برای اکوسیستم‌های طبیعی است. به این دلایل، تحقیقات اخیراً بر بهره‌برداری از ضد میکروبی‌های طبیعی با هدف دستیابی به زنجیره تولید لبنیات ایمن‌تر و پایدارتر متمرکز شده است. غذاها علاوه بر ارزش غذایی، به عنوان ابزاری در حفظ سلامت جسمی و روحی و پیشگیری از بیماری‌ها استفاده می‌شوند. غذاهای فراسودمند به عنوان غذاهایی که ممکن است مزایای سلامتی فراتر از تغذیه معمول داشته باشند، تعریف می‌شود. در دهه‌های گذشته، بازار رو به رشد غذاهای فراسودمند، فرصت‌ها و چالش‌هایی را برای تولیدکنندگان مواد غذایی و همچنین بخش‌های تحقیقاتی برای پوشش چنین تقاضایی ایجاد کرده است. در این زمینه پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، متابولیت‌های میکروبی مانند پست بیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها و همچنین باکتریوفازها (ویروس‌هایی که باکتری‌های مضر را از بین می‌برند) ممکن است به متحدان خوبی برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها در گاوهای شیری بدل شوند و به عنوان نگهدارنده در محصولات لبنی و یا حتی برخی از آن‌ها به عنوان ضدعفونی‌کننده در کارخانه‌های لبنی استفاده شوند. دو دهه گذشته شاهد

افزایش جهانی در کاربرد پروبیوتیک‌ها به عنوان ترکیبات کاربردی در غذا، خوراک دام و محصولات دارویی بوده‌ایم. در میان صنایع غذایی، صنایع لبنی بزرگترین مصرف‌کننده پروبیوتیک‌ها در تعدادی از محصولات لبنی از جمله شیر تخمیری، ماست، پنیر، کره/خامه، بستنی و شیر خشک است. این پروبیوتیک‌ها یا به‌عنوان کشت استارتر به تنهایی و یا در ترکیب با استارترهای سنتی استفاده می‌شوند، یا پس از تخمیر در محصولات لبنی ترکیب می‌شوند. حضور آنها ویژگی‌های عملکردی زیادی به عنوان مثال، بهبود عطر، طعم و ویژگی‌های بافتی و همچنین خواص ارتقاء دهنده سلامتی به محصول می‌دهد. با این حال، هنوز چالش‌های زیادی در رابطه با پایداری و عملکرد پروبیوتیک‌ها در محصولات لبنی وجود دارد. در این متن از مفهوم سنتی استفاده از پروبیوتیک‌ها در محصولات لبنی فراتر رفته و پست‌بیوتیک‌ها را به عنوان یک مفهوم جدید مرتبط با پروبیوتیک‌ها معرفی می‌شوند (شکل ۱). همچنین استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیکی و سین‌بیوتیکی برای تولید غذاهای فراسودمند و استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مانند باکتریوسین و باکتریوفاژ مورد بررسی قرار می‌گیرد.



شکل ۱- شکل مفهومی برای بیان ارتباط پروبیوتیک، پری‌بیوتیک و پست‌بیوتیک

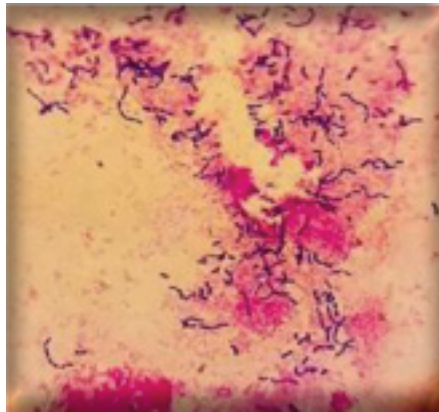
۱. پروبیوتیک‌ها: باکتری‌های سودمند

هدف اصلی تولید مواد غذایی فراسودمند، ورود میکروارگانیسم‌ها یا ترکیبات مفید به داخل بدن، از طریق مصرف روزانه غذا می‌باشد. امروزه مصرف‌کنندگان، به این حقیقت آگاه هستند که وجود پروبیوتیک‌ها در محصولات لبنی، باعث بهره‌مندی آن‌ها از فواید سلامتی بخش پروبیوتیک‌ها می‌شود. پروبیوتیک‌ها با مکانیسم‌های مختلفی مانند تعدیل پاسخ‌های ایمنی مخاطی و مجموعه میکروبی روده، بهبود یکپارچگی سد اپیتلیال روده، تغییر ترشح مخاط، حذف رقابتی و تولید مواد ضد میکروبی و تعدیل‌کننده ایمنی، اثرات مفید خود را بر سلامت انسان و دام اعمال می‌کنند (Li و همکاران، ۲۰۱۸).

شیر و فرآورده‌های لبنی، بهترین وسیله برای انتقال پروبیوتیک‌ها از طریق رژیم غذایی به شمار می‌آیند. در بین فرآورده‌های لبنی، ماست و پنیر به سبب دارا بودن خواص حسی ویژه از جایگاه ویژه‌ای برخوردار بوده و محیط مناسبی برای انتقال پروبیوتیک‌ها به بدن می‌باشند. فاکتورهای زیادی از جمله سویه باکتری، غلظت متابولیت‌ها مثل اسید لاکتیک، اسید استیک و پراکسید هیدروژن، pH و محل نگهداری بر پایداری و بقاء لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و گونه‌های بیفیدوباکتریوم در ماست تاثیر می‌گذراند. با توجه به گسترش فزاینده محصولات لبنی صنعتی به جای محصولات سنتی، امکان از دست دادن بسیاری از باکتری‌های پروبیوتیک وجود دارد. بنابراین، ضروری است این باکتری‌ها، از منابع سنتی جداسازی و شناسایی شده و شرایط کاربرد آنها در تولید محصولات لبنی صنعتی نیز فراهم شود. در صورتی که فرآورده‌های حرارتی حین تولید صنعتی،

باعث آسیب به سلول‌های پروبیوتیک نشوند و زنده‌مانی و عملکرد آنها با استفاده از روش‌های مختلف پوشش‌دهی^۱ تضمین شود، فرآورده‌های لبنی می‌توانند به عنوان یک حامل مناسب برای انتقال پروبیوتیک‌ها به کار روند (Chen و همکاران، ۲۰۰۲). امروزه مصرف پروبیوتیک‌ها با هدف کاهش مصرف یا حتی حذف آنتی‌بیوتیک‌ها در برنامه غذایی انسان و حیوانات اهلی و خانگی در بسیاری از کشورهای جهان مورد تایید قرار گرفته است (Sanchez و همکاران، ۲۰۰۹).

در یک پروژه تحقیقاتی، جداسازی و شناسایی باکتری‌های دارای پتانسیل پروبیوتیکی از فلور میکروبی موجود در ماست و پنیر بومی منطقه البرز و نیز دستگاه گوارش جوجه، انجام شد. پس از نمونه‌گیری و کشت نمونه‌ها، بررسی اثرات ضد میکروبی باکتری‌ها و تست کاتالاز جهت ارزیابی اولیه میکروارگانیسم‌ها، انجام گردید. سپس آزمایشات مقاومت به اسید، حساسیت به آنتی‌بیوتیک، بررسی مقاومت باکتری‌ها در اسیدهای صفراوی، اتصال به سلول‌های اپی‌تلیال دستگاه گوارش و عدم فعالیت همولیتیک انجام شدند. در نهایت، ۸ نمونه باکتری که همگی سویه‌های مختلف جنس لاکتوباسیلوس بودند، خصوصیات پروبیوتیکی داشتند. برای اطمینان از سویه‌های شناسایی شده باکتری‌ها، از روش استخراج 16s rDNA استفاده گردید. باکتری‌هایی که در این تحقیق جداسازی و شناسایی شدند، مربوط به باکتری‌های اسید لاکتیک و متعلق به لاکتوباسیلوس‌ها شامل لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس لاکتیس، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم بودند که بهترین سویه ارزیابی شده در این تحقیق لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود (واسجی و همکاران، ۱۳۹۶).

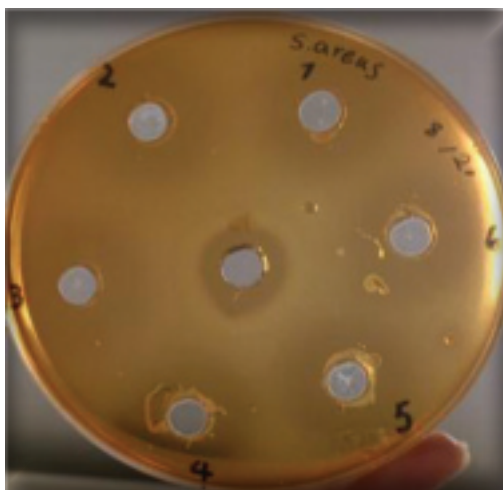


شکل ۲- تصویر مربوط به اتصال باکتری‌ها به سلول‌های اپیتلیال

با این که پروبیوتیک‌ها به طور سنتی از طریق غذاهای تخمیری توسط انسان مصرف می‌شوند، اما ارزیابی ایمنی سویه‌های جداسازی و شناسایی شده برای استفاده بعنوان دارو یا مکمل انسانی و دامی از نظر انتقال ژن‌های بیماری‌زا، تولید متابولیت‌های مضر و تعدیل ایمنی باید بررسی شود (Borase و همکاران، ۲۰۲۲). استفاده از پروبیوتیک‌ها در مکمل‌های دامی نیز به طور پیوسته در حال افزایش است و نیاز به توجه ویژه دارد، زیرا این سویه‌ها می‌توانند از حیوان به انسان منتقل شود. بنابراین، تلاش‌های ویژه‌ای مثل انتخاب مناسب سویه‌ها، نظارت بر اثرات نامطلوب و اعمال مقررات سخت‌گیرانه، در سطح بین‌المللی و ملی جهت ایمنی و بهبود کیفیت پروبیوتیک‌ها انجام می‌شود. اطلاعات در مورد اثرات نامطلوب پروبیوتیک بر روی گروه‌های سالم خاص مانند شیرخواران، کودکان، زنان باردار و شیرده، سالخوردگان و بیماران دارای نقص ایمنی و سرطان و غیره نیز باید بیشتر شود. به طور کلی، نسبت خطر به فایده پروبیوتیک‌ها، باید قبل از استفاده به ویژه با دوز درمانی به دقت مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد. در مطالعه‌ای که توسط خطیبی و همکاران انجام گرفته است، بی‌ضرری و

ایمنی گونه‌های انتروکوک جدا شده از شیر بز، پنیر سنتی و نمونه‌های شیر مادر تعیین گردید. نمونه‌های انتروکوکوس جدا شده، به وسیله ویژگی‌های فنوتیپی و تعیین توالی 16s rDNA تا سطح جنس شناسایی شدند و خواص پروبیوتیکی آن‌ها، زنده‌مانی در شرایط اسیدی و حضور در درصد‌های مختلف نمک صفراوی در زمان‌های مختلف، بررسی گردید. فعالیت ضد میکروبی این باکتری‌ها بر علیه باکتری‌های بیماری‌زا (شکل ۴) و مقاومت آن‌ها نسبت به انواع آنتی‌بیوتیک‌ها نیز ارزیابی شد. جهت بررسی ایمنی انتروکوک‌های شناسایی شده، حضور یا عدم حضور تعدادی از ژن‌های عامل بیماری، *asa1*, *efaAfm*, *efaAfs*, *hyl*, *esp*, *agg*, *gelE*, *cylA*, *cylB*, *cylM*, و مقاومت به ونکومايسين (*vanA*, *vanH*, *vanR*, *vanY*)، با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی سنجیده شد. مقاومت فنوتیپی انتروکوک‌های انتخاب شده در برابر لیپاز، *DNase* و همولیز گلبول‌های قرمز نیز تعیین گردید. نتایج این تحقیق، خصوصیات پروبیوتیکی بعضی از این گونه‌ها را مشخص کرد. ۴ جدایه در این تحقیق، تحمل در برابر اسید و نمک صفرا را نشان دادند و اثرات ضد میکروبی چشمگیری داشتند. تمامی سویه‌های انتروکوکوس فسیوم جدا شده از شیر مادر، فاقد ژن‌های بیماری‌زا بودند. در آزمایشات فنوتیپی بیماری‌زائی در سویه‌ها، همه سویه‌ها از نظر فعالیت همولیزی، آلفاهمولیتیک بودند. همه سویه‌ها به تتراسایکلین، سفالوتین، آموکسی سیلین، سفازولین و داکسی سایکلین حساسیت نشان دادند و همه آن‌ها، نسبت به نالیدیکسیک اسید و تری متوپریم سولفامتوکسازول، مقاوم بودند (خطیبی و همکاران، ۱۳۹۷). به طور مشابه در تحقیقی دیگر، ارزیابی ایمنی زیستی سویه‌های باسیلوس بومی (سویه‌های حاصل از نمونه‌های مرغ

گوشتی و زنبور عسل داخل کشور)، جهت اطمینان از ایمنی آن‌ها انجام شد. در ابتدا، تعدادی از گونه‌های باسیلوس جدا شده از روده مرغ گوشتی (باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس لشنی فورمیس) و زنبور عسل (باسیلوس سوبتیلیس و باسیلوس مگاتریوم)، با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی شناسایی شدند. تمامی جدایه‌ها، از نظر خواص پروبیوتیکی از جمله مقاومت در برابر اسید (به ترتیب در pH های ۴، ۳، ۲/۵، ۲) و غلظت‌های مختلف صفرا (۰/۳، ۰/۷، ۱ درصد نمک صفرا)، فعالیت ضد میکروبی در برابر گروهی از عوامل بیماری‌زا (استرپتوکوکوس آگالاکتیه، انتروکوکوس فکالیس، استافیلوکوکوس اورئوس، سودوموناس اریژنوسه، سالمونلا تیفی موریوم، لیستریا مونوسیتوزنز و اشریشیا کولای) و الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی، مورد ارزیابی قرار گرفتند. فعالیت همولیتیک، DNase، لسیتیناز، لیپاز، ژلاتیناز و کوآگولاز نیز مطالعه شدند. در نهایت، حضور یا عدم حضور تعدادی از ژن‌های عامل بیماری از جمله hbl, Nhe, cytK, bceT, lipA, ces به روش مولکولی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. طبق نتایج بدست آمده، از ۱۱ گونه باسیلوس مورد مطالعه، ۸ سویه باسیلوس سوبتیلیس، ۲ سویه باسیلوس لشنی فورمیس و ۱ سویه باسیلوس مگاتریوم تحمل قابل توجهی را نسبت به اسید صفراوی، نشان دادند و به تمام آنتی‌بیوتیک‌های ذکر شده، حساس بودند. در میان سویه‌های باکتریایی تست شده، ۷ سویه بتاهمولیتیک و لسیتیناز مثبت بوده و یک سویه باسیلوس، DNase مثبت بود. ژن ویرولانسی cytK و LipA در تعدادی از سویه‌های مورد بررسی، مشاهده شد. در میان ۱۱ سویه جدا شده، تنها دو سویه از دستگاه گوارش مرغ گوشتی، فاقد ژن‌های ویرولانسی بوده و بعنوان پروبیوتیک ایمن، شناخته شدند (رضوانیان و همکاران، ۱۳۹۸)



شکل ۳- هاله شفاف نشان‌دهنده فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین (علیه استافیلوکوکوس) (خطیبی وهمکاران، ۱۳۹۷)

۲. پست‌بیوتیک‌ها: محصولات سودمند باکتری‌های مفید

ترکیبات زیست فعالی که در طول تخمیر در محیط کشت تولید می‌شوند و ممکن است برای ارتقاء سلامت استفاده شود، به طور عمومی پست‌بیوتیک نامیده می‌شوند. به طور کلی اصطلاحات جدیدی، که تاکید بر زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها ندارد، مانند پاراپروبیوتیک‌های (غیرزنده یا غیرفعال) و پست‌بیوتیک (متابوتیک، بیوژنتیک) به متابولیت‌ها و محصولات یا فرآورده‌های جانبی متابولیک ترشح شده توسط باکتری‌های زنده در روماند عاری از سلول و یا بعد از لیز سلولی اشاره دارند. بسیاری از این ترکیبات مرتبط با تخمیر، از جمله انواع متابولیت‌ها، اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه، اجزا سلول‌های میکروبی، پروتئین‌ها، پپتیدهای فعال، پلی‌ساکاریدهای خارج سلولی، ترکیبات لیز سلول، اسید تیکوئیک، مشتقات ساختار پتیدوگلیکان و ساختارهای پلی، زیر شاخه این تعریف جدید قرار می‌گیرند. نتایج

تحقیقات نشان می‌دهد که پست‌بیوتیک‌ها می‌توانند از نظر بالینی با تعدیل ایمنی مرتبط باشند. شواهدی در مورد استفاده از پست بیوتیک در افراد سالم برای بهبود سلامت عمومی و برای تسکین علائم در طیف وسیعی از بیماری‌ها مانند قولنج نوزادان و درماتیت آتوپیک بزرگسالان وجود دارد (Aguilar-Toalá و همکاران، ۲۰۱۸). تخمیر شیر روش اصلی تولید پست بیوتیک‌هاست. پروتئین‌های شیر یکی از مهم‌ترین منابع پپتیدهای زیست فعال محسوب می‌شوند (Zanutto-Elgui و همکاران، ۲۰۱۹). فراتر از پپتیدها، سایر ترکیبات تولید شده در طی تخمیر شیر شامل اگزوپلی ساکاریدها، باکتریوسین‌ها، اسیدهای آلی که خالص‌سازی آنها موجب اتلاف فعالیت زیستی و افزایش هزینه‌های تولید خواهد بود، می‌توانند اثرات سلامت بخش مانند تعدیل ایمنی و فعالیت ضد میکروبی ایجاد کنند (Dunand و همکاران، ۲۰۱۹). در سال‌های اخیر، افزودنی‌های خوراک مانند پری‌بیوتیک، پروبیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها، پست‌بیوتیک‌ها و ترکیبی از پری و پست بیوتیک به عنوان محرک رشد برای جایگزینی آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده شده‌اند. نحوه عملکرد این مواد افزودنی متفاوت است. پروبیوتیک‌ها در سیستم هضم‌کننده میزبان کلونیزه می‌شوند، میکروبیوتای طبیعی را افزایش داده و از غلبه ارگانسیم‌های بیماری‌زا جلوگیری می‌کنند. علیرغم تأثیرات مفید آنها، اکثر پروبیوتیک‌ها بویژه پروبیوتیک‌های پلاسמידی دارای ژنهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک هستند که می‌توانند بین ارگانسیم‌ها منتقل شوند. در نتیجه، پروبیوتیک‌ها به عنوان باکتری‌های زنده ممکن است در آینده نزدیک کمتر مورد استفاده قرار گیرند. به عنوان جایگزینی برای پروبیوتیک‌ها، می‌توان از محصولات متابولیت سنتز شده از پروبیوتیک یا پست‌بیوتیک استفاده

کرد. اعتقاد بر این است که پست‌بیوتیک‌ها دارای اثرات پروبیوتیکی بدون اثر سلول‌های زنده هستند. از طرفی، استفاده از پست‌بیوتیک‌ها در مواد غذایی و مکمل‌های دام و طیور به جای میکروارگانیسم‌های زنده مانند پروبیوتیک‌ها ممکن است مزایای تکنولوژیکی نیز داشته باشد، زیرا عملکرد آنها به زنده ماندن سلول‌ها متکی نیست. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، استفاده از این نوع ترکیبات امکان دستیابی به ماندگاری طولانی‌تر، نگهداری آسان‌تر، حمل و نقل و کاهش نیاز به ذخیره‌سازی در یخچال را نیز فراهم می‌کند. پست‌بیوتیک‌ها ممکن است یک جایگزین جذاب برای تولید غذاهای کاربردی باشد به ویژه هنگامی که خصوصیات ماتریکس مواد غذایی مساعد افزودن سلول‌های زنده میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نیستند (Vinderola و همکاران، ۲۰۰۸).



کل ۴- مزایای استفاده از پست‌بیوتیک‌ها در مقایسه با پروبیوتیک‌ها

پست‌بیوتیک تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها لاکتوباسیلوس پلانتاروم به عنوان یک ماده افزودنی خوراک به منظور جایگزین آنتی‌بیوتیک‌های خوراکی مورد مطالعه قرار گرفته است. بعنوان مثال، استرس گرما یک مسئله جدی در تولید مرغ گوشتی تجاری در کشورهای گرم و مرطوب است. استرس گرمایی بر سلامتی و بهره‌وری جوجه‌های گوشتی تأثیر می‌گذارد. در این زمینه، آنتی‌بیوتیک‌ها به طور گسترده، البته در کمتر از دوز درمانی و به عنوان محرک رشد جهت کاهش استرس، بیماری‌های عفونی و پایداری بهره‌وری در مزارع مرغ گوشتی تجاری استفاده می‌شوند. با این حال، استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها به عنوان محرک رشد در مدت زمان طولانی، منجر به ایجاد باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک و احتمال انتقال ژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک در بین ارگانیسم‌ها می‌شود. همچنین سطوح بالای باقیمانده آنتی‌بیوتیک در گوشت و تخم‌مرغ می‌تواند خطر سلامتی انسان و حیوان را در پی داشته باشند. وجود متابولیت‌های ضد میکروبی مانند اسیدهای آلی و باکتریوسین‌ها می‌توانند باعث کاهش pH روده شده و تکثیر عوامل بیماری‌زای فرصت طلب در خوراک و روده را کاهش دهند (Humam و همکاران، ۲۰۱۹). افزودن ترکیبات متابولیت به خوراک جوجه‌های گوشتی (Kareem و همکاران، ۲۰۱۶) و مرغ تخم‌گذار (Loh و همکاران، ۲۰۱۴) باعث بهبود عملکرد رشد، افزایش جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک و طول پرزهای روده و افزایش تولید تخم‌مرغ شده است. ترکیب پست بیوتیک و اینولین باکتری‌های بیماری‌زا مقاوم در برابر ونکومايسين را مهار می‌کند (Cuevas-González و همکاران، ۲۰۲۰).

۳. پری‌بیوتیک و سین‌بیوتیک: ترکیبات سودمند برای لبنیات فراسودمند

به دلیل تقاضای مصرف‌کنندگان برای غذاهایی با مزایای عملکردی و داشتن رژیم غذایی سالم، بازار مواد غذایی فراسودمند به طور مداوم در حال گسترش و به روزرسانی است. غذاهای کاربردی معمولاً به عنوان غذاهای غنی شده با ترکیبات ویژه‌ای توصیف می‌شوند که اثرات مفیدی برای سلامت انسان دارند. از جمله غذاهایی که سابقه طولانی مدت استفاده دارند، محصولات لبنی غنی شده با پری‌بیوتیک‌ها یا سین‌بیوتیک‌ها هستند. مصرف روزانه پری‌بیوتیک‌ها و/یا سین‌بیوتیک‌ها به طور قابل توجهی به سلامت انسان و پیشگیری یا درمان سندرم روده تحریک‌پذیر، سرطان روده بزرگ، چاقی، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی عروقی کمک می‌کند. علاوه بر این، بازار تقاضای زیادی برای نوآوری در غذاهای فراسودمند وجود دارد. با به روز شدن و روشن شدن تعاریف کنونی پری‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک‌ها، کاوش و ایجاد محصولات جدید پری‌بیوتیک/سین‌بیوتیک برای صنعت و محققان بسیار آسان‌تر شده است.

پری‌بیوتیک‌ها ابتدا به عنوان مواد غذایی غیرقابل هضم تعریف شدند که به طور انتخابی رشد یک نوع محدود از باکتری را در روده بزرگ به نفع میزبان تحریک می‌کند. در حال حاضر، پری‌بیوتیک به عنوان "سوبسترای که به طور انتخابی توسط میکروارگانیسم‌های میزبان استفاده و منافع سلامتی بخش ایجاد می‌کند" تعریف می‌شود. به گفته متخصصان کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم (الیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها)، برخی از پپتیدها و پروتئین‌ها، ترکیبات فنلی و برخی لیپیدها (استرها) نیز طبق تعریف جدید می‌توانند مواد پری‌بیوتیک در نظر گرفته شوند. بنابراین، هنگامی که پری

بیوتیک‌ها به طور انتخابی توسط میکروبیوتای دستگاه گوارش مصرف می‌شوند، در بهبود خواص فیزیولوژیکی میزبان، جذب مواد معدنی، عملکرد روده، کاهش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ و تنظیم متابولیسم گلوکز و لیپید موثر خواهند بود. علاوه بر این، آنها با پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رژیم غذایی مانند کلسترول بالا، دیابت، عفونت‌های گوارشی و التهاب روده و آلرژی موثر هستند. براساس پیش‌بینی‌ها بازار پری بیوتیک از سال ۲۰۱۶ تا ۲۰۲۴ با نرخ رشد سالانه مرکب ۸٪ در حال توسعه است (Barros و همکاران، ۲۰۲۲).

فروکتو-الیگوساکاریدها، گالاکتو-الیگوساکاریدها رایج‌ترین پری بیوتیک‌ها هستند. تخمیر پری بیوتیک‌ها توسط میکروبیوتای روده اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه از جمله اسید لاکتیک، اسید بوتیریک و اسید پروپیونیک تولید می‌کند. پپتیدوگلیکان یکی دیگر از پری بیوتیک‌ها است که می‌تواند موجب تقویت سیستم ایمنی ذاتی در برابر میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شود (Davani-Davari و همکاران، ۲۰۱۹).

ساختار پری بیوتیک‌ها و جمعیت باکتریایی روده، محصولات تخمیر پری بیوتیک را تعیین می‌کند. اثرات پری بیوتیک‌ها بر سلامت انسان از طریق مصرف آنها توسط میکروارگانیسم‌های مفید میزبان و تولید متابولیت‌های سودمند مشخص می‌شود. مثلاً، بوتیرات بر رشد اپیتلیال روده تأثیر می‌گذارد (Hamer و همکاران، ۲۰۰۸).

پروبیوتیک‌ها، پری بیوتیک‌ها یا ترکیب آنها (سین بیوتیک‌ها) سه دسته اولیه محصولات لبنی فراسودمند هستند. از آنجاکه پری بیوتیک‌ها می‌توانند با اجزای ماتریس محصولات لبنی تعامل داشته باشند، ویژگی‌های

کیفی محصولات را تغییر می‌دهند. اینولین و الیگو فروکتوز اصلی‌ترین پری‌بیوتیک‌های مورد استفاده در محصولات لبنی هستند و اثر آن‌ها به درجه پلیمریزاسیون آنها وابسته است. اینولین می‌تواند بعنوان جایگزین چربی بدون ایجاد اثر نامطلوب در خواص رئولوژیکی، طعم، بو و ... و الیگو فروکتوز با شیرینی کمتر نسبت به ساکارز (۳۰ تا ۳۵ درصد و کالری ۱ تا ۲ کیلو کالری در گرم) می‌توانند در محصولات لبنی فراسودمند از جمله ماست، پنیر و بستنی استفاده شوند.

مفهوم سین‌بیوتیک برای اولین بار حدود ۲۵ سال پیش معرفی شد و شامل ترکیبی از پروبیوتیک‌ها و مواد غیرقابل هضم (پری بیوتیک‌ها) بود که می‌توانستند به طور انتخابی تخمیر شوند. بنابراین، سین‌بیوتیک‌ها به‌عنوان مخلوطی از «پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌هایی که تأثیر مفیدی بر میزبان دارند» شناخته می‌شوند. مزیت اصلی سین بیوتیک‌ها افزایش ماندگاری و بهبود عملکرد پروبیوتیک‌ها در محیط دستگاه گوارش است (Swanson و همکاران، ۲۰۲۰).

نوشیدنی‌های لبنی و ماست ماتریس‌هایی هستند که بیشتر مورد بررسی قرار گرفته‌اند، زیرا استفاده از سین‌بیوتیک در محصولات لبنی می‌تواند اثرات مثبت این نوع غذا بر میزبان را چند برابر کند بعنوان مثال ماست سین‌بیوتیک ممکن است دارای خواص تعدیل‌کننده ایمنی نیز باشد. همچنین، دسرهای شکلاتی لبنی می‌توانند محصولات سین بیوتیکی نوآورانه‌ای باشند. افزودن اینولین به پنیر خامه‌ای سین‌بیوتیک و بستنی فرآوری‌شده با شیر بز منجر به بهبود ویژگی‌های بافتی و ظرفیت بالای نگهداری آب و در نتیجه باعث تغییرات مهم در بافت و ویسکوزیته شد. به

این ترتیب می‌توان از پروبیوتیک‌ها و اینولین برای تولید پنیر خامه‌ای از شیر بز با حفظ ویژگی‌های کیفی کلی محصول و بهبود پتانسیل عملکردی آن استفاده کرد (Valencia و همکاران، ۲۰۱۶).

۴. نگهدارنده‌های طبیعی

انتظار می‌رود صنعت فرآوری مواد غذایی به طور فزاینده‌ای لیست نگهدارنده‌های شیمیایی مورد استفاده را کوتاه‌تر کرده تا "ایمنی مواد غذایی" تضمین شود. در نتیجه، سرمایه‌گذاری در نوآوری به سمت روش‌های ساده تر و طبیعی‌تر برای افزایش ماندگاری و محافظت در برابر پاتوژن‌های غذایی افزایش یافته است. این امر منجر به افزایش چشمگیر تقاضا برای مواد ارگانیک یا نگهدارنده‌های زیستی، میکروب‌های مفید و مواد ضد میکروبی طبیعی شده است که ماندگاری و ایمنی غذاها را بدون استفاده از مواد شیمیایی افزایش می‌دهند.

۴-۱. باکتریوسین‌های تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک

در طول تاریخ، باکتری‌های اسیدلاکتیکی در تخمیرهای غذایی مختلف (شیر، گوشت، سبزیجات و غیره) نقش داشته‌اند و به دلیل تولید اسیدهای آلی (عمدتاً اسید لاکتیک) و کاهش pH به طور هم زمان، میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد را مهار می‌کنند. فعالیت بازدارندگی آن‌ها با تولید باکتریوسین‌ها (پپتیدهای ضد میکروبی ریبوزومی)، افزایش می‌یابد. باکتریوسین‌ها، به عنوان متابولیت‌های تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک، دارای تأییدیه GRAS (شناخته شده به عنوان

ایمن) بوده و برای مصرف‌کنندگانی که تمایل به مصرف غذاهای طبیعی با کیفیت بالا دارند، نگهدارنده‌های غذایی سالم و جذاب‌تری نسبت به مواد شیمیایی می‌باشند (Balciunas و همکاران، ۲۰۱۳). امروزه بیش از ۱۰۰ باکتریوسین شناخته شده که بیشتر آن‌ها پپتیدهای کاتیونی پایدار در برابر حرارت با ۲۰ تا ۱۰۰ اسید آمینه و ساختار ساده هستند (<http://bactibase.pfba-lab-tun.org/main.php>). باکتری‌های اسیدلاکتیک تولیدکننده باکتریوسین از غذاهایی مثل گوشت و محصولات لبنی جداسازی می‌شوند. اگرچه نایسین در حال حاضر تنها باکتریوسین تأیید شده است، بسیاری از باکتریوسین‌های تولید شده توسط اعضای باکتری‌های اسیدلاکتیک پتانسیل کاربرد در محصولات غذایی را دارند. تولید نایسین صنعتی در حال حاضر با استفاده از سویه‌های تولیدکننده مشکلاتی مانند خلوص نسبتاً پایین محصول و در نتیجه محدود کردن کاربرد آن در نگهداری محصولات لبنی می‌شود. مطالعاتی جهت بهینه‌سازی بازده محصول و انتقال تولید به بسترهای پایدار و خالص‌سازی نایسین جهت استفاده دارویی در حال انجام است (Weixler و همکاران، ۲۰۲۲). ترکیب شیمیایی و شرایط فیزیکی ماده غذایی، می‌تواند روی فعالیت باکتریوسین تأثیر قابل توجهی داشته باشد. به عنوان مثال، حل‌شوندگی نایسین در pH ۲، ۲۲۸ بار بیشتر از pH ۸ است (Cleveland و همکاران، ۲۰۰۱).

۴-۲. باکتریوفازها: ویروس‌های سودمند

باکتریوفازها (فازها) ویروس‌هایی هستند که دشمنان طبیعی باکتری‌ها هستند اما برای انسان، حیوانات و گیاهان بی‌ضرر هستند. آن‌ها در همه جای طبیعت حاضر هستند و می‌توانند از تمام زیستگاه‌های باکتری‌ها، از جمله غذاها، از محصولات لبنی، محصولات گوشتی و سایر محصولات جداسازی شوند (Principi و همکاران، ۲۰۱۹). البته گاهی وجود فازهای باکتری‌های استراتر در کارخانجات لبنی، مشکل‌ساز می‌شود. در تحقیقی که به منظور بررسی آلودگی شیر به باکتریوفازهای استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (که موجب اختلالاتی در عمل انعقاد شیر در تولید ماست یا پنیر حاصل از عمل این باکتری‌ها می‌گردد) انجام شد، مورفولوژی باکتریوفازها و درصد آن‌ها با استفاده از روش‌های پلاک سنجی در نمونه‌های شیر بررسی گردید. همچنین با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، تصاویر فازهای مربوطه بدست آمد. نتایج، وجود فاز در نمونه‌های شیر را نشان دادند. کنترل فازهای لاکتیک اسیدی در کارخانجات لبنی و بخصوص پنیرسازی، یک وظیفه خطیر و اصلی می‌باشد. با توجه به این که در صورت حضور فاز به میزان زیاد در نمونه شیر، انعقاد شیر و تشکیل ماست یا پنیر صورت نمی‌گیرد بنابراین کنترل آلودگی فازی در کارخانه حائز اهمیت می‌باشد (واسجی و همکاران، ۱۳۸۴). از طرف دیگر، فازها به دلیل ویژگی خاص، به عنوان عوامل کنترل زیستی مزیت زیادی دارند. این بدان معنی است که می‌توان از فازهایی که برای میکروارگانیسم‌های مفید مانند کشت‌های استراتر یا میکروفلور معمولی روده انسان، مضر نیستند، جهت از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده کرد. افزایش مقاومت به

آنتی‌بیوتیک‌ها باعث شده که علاقه به استفاده از باکتریوفازها به عنوان عوامل ضد میکروبی، افزایش یابد. بنابراین، برای کنترل گسترش عفونت‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، معرفی رویکردهای جایگزین مانند فاز درمانی ضروری است (Majdani, ۲۰۲۱). در سال‌های اخیر، استفاده از باکتریوفازهای لیتیک برای ریشه‌کن کردن اسنیتوباکتر مقاوم به چند دارو در محیط‌های بیمارستانی مورد توجه قرار گرفته است (Shaykh-Baygloo و همکاران، ۲۰۱۹). علاوه بر استفاده در فاز درمانی، می‌توان از آن‌ها به عنوان نگهدارنده مواد غذایی نیز استفاده کرد. مطالعات زیادی اثربخشی باکتریوفازها را در مهار رشد پاتوژن‌ها در فرآورده‌های لبنی و همچنین در محصولات گوشتی و غذاهای آماده^۱، نشان می‌دهند. مخلوطی از فازهای لیتیک (متلاشی‌کننده سلول) phiIPLA88 و phiIPLA35 که از شیر جدا شده‌اند، استافیلوکوکوس اورئوس را در کشک‌های اسیدی و آنزیمی (García و همکاران، ۲۰۰۷) و در پنیرها (Bueno و همکاران، ۲۰۱۲)، به طور کامل مهار کرده یا کاهش می‌دهند. اثر فازها همراه با فشار هیدروستاتیک بالا در شیر پاستوریزه افزایش می‌یابد (Tabla و همکاران، ۲۰۱۲). با این حال، چون تکثیر استافیلوکوکوس اورئوس آلوده شده با فاز در شیر خام، در مقایسه با شیر پاستوریزه به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد، کاربرد آن در محصولات لبنی پاستوریزه محدود می‌شود (O'Flaherty و همکاران، ۲۰۰۵). بهینه سازی غلظت فاز نیز برای هر سیستم غذایی به منظور حذف کامل عوامل بیماری‌زا در غذاها ضروری است (Hagens و Offerhaus، ۲۰۰۸). علاوه بر این، لازم است کارایی فاز در هر سیستم غذایی ارزیابی شود تا عملکرد مناسب در محیط غذا و تحت شرایط فرآوری خاص تضمین شود (García و همکاران

1- ready-to-eat

(۲۰۰۸). فاژها به عنوان ابزار درمانی و پیشگیری در دام نیز مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند، به این ترتیب به طور غیر مستقیم از حضور عوامل بیماری‌زا در فرآورده‌های دامی جلوگیری می‌شود. تعداد قابل توجهی از کارآزمایی‌ها، روی پاتوژن‌های مشترک بین انسان و دام (اشریشیا کولای، جنس‌های سالمونلا، کمپیلوباکتر و لیستریا)، متمرکز شده و فاژ درمانی برای کاهش بار میکروبی حیوانات قبل از مصرف فرآورده‌های گوشتی مشتق شده انجام شده است (Atterbury, ۲۰۰۹). در حال حاضر، چندین محصول مبتنی بر باکتریوفاژ، برای استفاده در صنایع غذایی تجاری شده‌اند. به عنوان مثال، در ایالات متحده، محصولات مناسبی برای کاربرد خارجی برای دام (طیور، خوک، گوسفند و گاو)، قبل و بعد از کشتار، برای کاهش یا حذف آلودگی توسط اشریشیا کولای، سالمونلا و لیستریا توسعه داده شده است (<http://www.omnilytics.com>). در شکل ۵ کاربرد باکتریوفاژها در زنجیره تامین لبنیات مشاهده می‌شود.



شکل ۵- کاربرد باکتریوفاژها در زنجیره تامین لبنیات (Gutiérrez و همکاران، ۲۰۱۹)

نتیجه‌گیری

رژیم غذایی، نقش مهمی در سلامتی بشر ایفاء می‌کند. رژیم غذایی فرد می‌تواند باعث ابتلاء به بیماری شده یا از آن پیشگیری کند. در سال‌های اخیر، توجه خاصی صرف تولید مواد غذایی فراسودمند گردیده است. از مهم‌ترین غذاهای فراسودمند، غذاهای حاوی پروبیوتیک‌ها و متابولیت‌های سودمند آنها هستند. سویه‌های پروبیوتیک، به صورت تجاری در دسترس هستند ولی در تحقیقات مختلف با جداسازی سویه‌های بومی و انجام آزمایشات مختلف، از این سویه‌ها نیز در ایجاد غذاهای فراسودمند استفاده می‌شود. بنابراین، لازم است ایمنی سویه‌های جدا شده از منابع مختلف به عنوان پروبیوتیک، با استفاده از تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی و مولکولی تأیید گردد. باکتری‌های تأیید شده از نظر ایمنی، دارای خواص پروبیوتیکی بوده و می‌توانند در آینده به عنوان پروبیوتیک در محصولات انسانی و دام و طیور مورد استفاده قرار گیرند. در کشور ما نیز استفاده از پروبیوتیک‌ها و تولید محصولات فراسودمند به ویژه در صنعت لبنیات رو به گسترش بوده و شناسایی و ارائه باکتری‌های پروبیوتیکی بومی ایمن، تحقیقات در زمینه اثربخشی متابولیت‌های سودمند و روش تولید اقتصادی و نحوه کاربرد آنها می‌تواند در بهبود و ارتقا زنجیره غذایی کشور موثر باشد. همچنین افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای غذاهای ایمن با حداقل مقادیر افزودنی‌های شیمیایی، صنایع غذایی را به سمت استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی هدایت می‌کند. با این حال، علی‌رغم وجود اطلاعات علمی زیاد در مورد استفاده موفقیت‌آمیز از چندین باکتریوسین به عنوان ابزار کنترل زیستی، تنها نایسین به عنوان افزودنی غذایی مجاز شناخته شده است که شاید به دلیل هزینه نسبتاً بالای

استفاده از باکتریوسین‌های خالص و تایید آن‌ها توسط مقامات قانونی باشد. تحقیقات بیشتر در مورد تولید باکتریوسین‌ها با هزینه تولید کمتر، ضروری است. همچنین، مقاومت باکتریوسین و تأثیر آن در اکوسیستم‌های پیچیده مثل مجموعه میکروبی روده، موضوعی است که کمتر به آن پرداخته شده است. از سوی دیگر، استفاده از باکتریوفازها و اندولیزین‌ها به عنوان عوامل کنترل زیستی و نگهدارنده‌های زیستی اخیراً مورد توجه قرار گرفته است و برخی از محصولات تجاری آن‌ها در حال حاضر در دسترس هستند. با این حال، علیرغم این که هیچ گونه عوارض جانبی از تجویز خوراکی فازها گزارش نشده است، مهم‌ترین اشکال در استفاده از محصولات مشتق شده از فاز، ممکن است پذیرش آن‌ها توسط مصرف‌کنندگان باشد. بنابراین، لازم است علاوه بر اعمال نظارت مناسب بر تولید و استفاده از این محصولات، فرهنگ‌سازی لازم نیز انجام شود.

منابع

- ۱- خطیبی م، واسجی ن، صالحی ب، مژگانی ن. ۱۳۹۷. بررسی بی‌ضرری انتروکوک‌های پروبیوتیکی بومی جدا شده از محصولات لبنی و شیر انسان با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و مولکولی. نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی)، شماره ۱۲۰، صفحات ۱۰۲-۸۹.
- ۲- رضوانیان ن، مژگانی ن، واسجی ن. ۱۳۹۸. بررسی ایمنی زیستی باکتری‌های جنس باسیلوس جدا شده از روده مرغ‌های گوشتی و زنبور عسل به عنوان پروبیوتیک به کمک شناسایی ژن‌های تهدیدگر و آزمون‌های بیوشیمیایی. نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی)، شماره ۱۲۵، صفحات ۱۸۴-۱۶۷.
- ۳- واسجی ن، مژگانی ن، حسینی ف، مصوری ن. ۱۳۹۹. ارزیابی متابولیت‌های باکترهای اسیدلاکتیک به عنوان نگهدارنده بیولوژیک: بررسی امکان تولید نگهدارنده طبیعی باکتریوسین حاصل از سویه‌های بومی لاکتوباسیلوس از شیر شتر و بز. گزارش نهائی. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور-موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، مرکز فناوری اطلاعات و اطلاع رسانی کشاورزی.
- ۴- واسجی ن، مژگانی ن، متشی ح. ۱۴۰۰. ارزیابی کاربرد لاکتوباسیلوس پلانتاروم و باکتریوسین پلانتارسین درماندگاری پنیر لاکتیکی. نشریه علوم دامی (پژوهش و سازندگی). (پذیرش شده و در نوبت چاپ). موسسه تحقیقات علوم دامی کشور.
- ۵- واسجی ن، سیدآبادی ح، میرهادی س.ا، امیری نیا س، مژگانی ن، قره داغی ع.ا، عاملی م، حسینی س.ع، میمندی پورا، فرهنگ خ، حسینی ا.ر، مهدی‌زاده س.م. ۱۳۹۶. جداسازی و شناسایی باکتری‌های اسید

لاکتیکی پروبیوتیکی از مواد لبنی و دستگاه گوارش جوجه. گزارش نهائی. موسسه تحقیقات علوم دامی کشور. مرکز فناوری اطلاعات و اطلاع‌رسانی کشاورزی.

۶- واسجی ن. ۱۳۸۴. بررسی باکتریوفازهای لاکتیک اسیدی در شیر. اولین همایش بین‌المللی علوم زیستی ایران، ۲۴-۲۳ آذر ماه.

1- Ackermann, H.W. (2007). 5500 Phages examined in the electron microscope. Archives in Virology, 152, 227–243.

-Balciunas, E.M., Castillo Martínez, F.A., Todorov, S.D., Gombossy de Melo Franco, B.D., Converti, A. and Pinheiro de Souza Oliveira, P. (2013) Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. Food Control, 32, 134–142.

2- Bigwood, T., Hudson, J.A., Billington, C., Carey□Smith, G.V. and Heinemann, J.A. (2008) Phage inactivation of food-borne pathogens on cooked and raw meat. Food Microbiology, 25, 400–406

3- Borase, H., Dwivedi, M.K., Krishnamurthy, R., Patil, S. (2022). Probiotics: health safety considerations. A Scientific Perspective. 449–463.

4- Breukink, E., Wiedemann, I., van Kraaij, C., Kuipers, O.P., Sahl, H.G. and de Kruijff, B. (1999) Use of the cell wall precursor lipid II by a pore□forming peptide antibiotic. Science, 286, 2361–

5- Bueno, E., García, P., Martínez, B. and Rodríguez, A. (2012). Phage inactivation of Staphylococcus aureus in fresh and hard-type cheeses. International Journal of Food Microbiology, 158, 23–27.

6- Chen, C. N., Sung, H. W., Liang, H. F and Chang, W. H.

- (2002). Feasibility study using a natural compound (reuterin) produced by *Lactobacillus reuteri* in sterilizing and crosslinking biological tissues. *Journal of Biomedical Materials Research*, 61(3), 360-369.
- 7- Chen, H. and Hoover, D. (2003) Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews of Food Science and Food Safety*, 2, 82-100.
- 8- Cleveland, J., Montville, T.J., Nes, I.F and Chikindas, M.L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of food microbiology*, 71, 1-20.
- 9- Cotter, P.D., Hill, C. and Ross, R.P. (2005) Food microbiology: Bacteriocins: Developing innate immunity for food. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 777-788.
- 10- Deasy, T., Mahony, J., Neve, H., Heller, K.J. and van Sinderen, D. (2011) Isolation of a virulent *Lactobacillus brevis* phage and its application in the control of beer spoilage. *Journal of Food Protection*, 74, 2157-2161.
- 11- Di Criscio, T., A. Fratianni, R. Mignogna, L. Cinquanta, R. Coppola, E. Sorrentino, and G. Panfili. (2010). Production of functional probiotic, prebiotic. *Journal of Dairy Science*, 93:4555-4564.
- 12- Diep, D.B., Skaugen, M., Salehian, Z., Holo, H. and Nes, I.F. (2007) Common mechanisms of target cell recognition and immunity for class II bacteriocins. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 104, 2384-2389.
- 13- Field, D., Begley, M and O'Connor, P.M. (2012). Bioengineered nisin a derivative with enhanced activity against Gram positive and Gram negative pathogens. *PLoS ONE*, 7, e46884.
- Flint, H.J., Scott, K.P., Duncan, S.H., Louis, P. and Forano, E. (2012) Microbial degradation of complex carbohydrates in the

gut. Gut Microbes, 3, 289–306.

14- Ganegama□Arachchi, G.J., Cridge, A.G and Dias□Wanigas-ekera, B.M. (2013). Effectiveness of phages in the decontamination of *Listeria monocytogenes* adhered to clean stainless steel, Stainless steel coated with fish protein, and as abiofilm. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 40, 1105–1116.

15- García, P., Madera, C., Beatriz Martínez, B. and Rodríguez, A. (2007). Biocontrol of *Staphylococcus aureus* by lytic-derived phages in curd manufacturing processes. International Dairy Journal, 17, 1232–1239.

16- García, P., Martínez, B., Obeso, J.M. and Rodríguez A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. Letters in Applied Microbiology, 47, 479–485.

17- Guenther, S. and Loessner, M.J. (2011). Bacteriophage biocontrol of *Listeria monocytogenes* on soft ripened white mold and red□smear cheeses. Bacteriophage, 1, 94–100.

18- Gutiérrez, D., Fernández, L., Rodríguez, A., García, P. (2019). Role of Bacteriophages in the Implementation of a Sustainable Dairy Chain. Frontiers in Microbiology, 10, 12

19- Hagens, S. and Offerhaus M.L. (2008). Bacteriophages: New weapons for food safety. Food Technology, 62, 46–54.

20- Havärstein, L.S., Diep, D.B. and Nes, I.F. (1995). A family of bacteriocin ABC transporters carryout proteolytic processing of their substrates concomitant with export. Molecular Microbiology, 16, 229–240.

21- Hamer, H.M.; Jonkers, D.; Venema, K.; Vanhoutvin, S.; Troost, F.; Brummer, R.J. Review article: The role of butyrate on colonic function. Aliment. Pharmacol. Ther. 2008, 27, 104-119.

22- Heng, N.C. and Tagg, J.R. (2006). What's in a name? Class

- distinction for bacteriocins. *Nature Reviews Microbiology*, 4. doi:10.1038/nrmicro1273-c1.
- 23- Klaenhammer, T.R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12, 39–86.
- 24- Kareem, K. Y., Hooi Ling, F., Teck Chwen, L., May Foong, O., & Anjas Asmara, S. (2014). Inhibitory activity of postbiotic produced by strains of *Lactobacillus plantarum* using reconstituted media supplemented with inulin. *Gut Pathogens*, 6, 23-23.
- 25- Kareem, K. Y., Loh, T. C., Foo, H. L., Akit, H., & Sam-sudin, A. A. (2016). Effects of dietary postbiotic and inulin on growth performance, IGF1 and GHR mRNA expression, faecal microbiota and volatile fatty acids in broilers. *BMC Veterinary Research*, 12(1), 163-163.
- 26- Kumariya, R., Kumari, A., Rajput, Y.S., Sood, S.K., Akhtar, N., Patel, S. (2019). Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteri. Volume 128, Pages 171-177.
- 27- Loh, T. C., Choe, D. W., Foo, H. L., Sazili, A. Q., & Bejo, M. H. (2014). Effects of feeding different postbiotic metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* strains on egg quality and production performance, faecal parameters and plasma cholesterol in laying hens. *BMC Veterinary Research*, 10(1), 149.
- 28- Li, H., Ma, M.L., Xie, H.J. and Kong, J. (2012). Biosafety evaluation of bacteriophages for Treatment of diarrhea due to intestinal pathogen *Escherichia coli* 3□2 infection of chickens. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 1–6.
- 29- Li, H.Y., Zhou, D.D., Gan, R.Y., Huang, S.Y., Zhao, C.N., Shang, A., Xu, X.Y., Li, H.B. (2021). Effects and Mechanisms of

Probiotics, Prebiotics, Synbiotics, and Postbiotics on Metabolic Diseases Targeting Gut Microbiota: A Narrative Review. *Nutrients*. 2021 Sep 15;13(9):3211. doi: 10.3390/nu13093211.

30- Li, M., Yoneyama, F., Toshimitsu, N., Zendo, T., Nakayama, J. and Sonomoto, K. (2013). Lethal hydroxyl radical accumulation by a lactococcal bacteriocin, lacticin Q. *Antimicrobials Agents and Chemotherapy*, 57, 3897–3902.

31- Li, Z.; Wang, W.; Liu, D.; Guo, Y. (2018). Effects of *Lactobacillus acidophilus* on the Growth Performance and Intestinal Health of Broilers Challenged with *Clostridium perfringens*. *Journal of Animal Science. Biotechnol.* 9, 25.

32- Loc Carrillo, C., Atterbury, R.J and el Shibiny, A. (2005). Bacteriophage therapy to reduce *Campylobacter jejuni* colonization of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 6554–6563.

33- Majdani. (2021). Isolation and Characterization of Lytic Bacteriophages Infecting *Escherichia coli* Antibiotic-Resistant Isolates from Urinary Tract Infections in North-west of Iran. *Journal of cell and molecular research* . 13 (1); 81 - 91.

34- McAuliffe, O., Hill, C. and Ross, R.P. (1999). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cottage cheese manufactured with lacticin 3147 producing starter culture. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 251–256.

35- Modi, R., Hirvi, Y., Hill, A. and Griffiths, M.W. (2001). Effect of phage on survival of *Salmonella Enteritidis* during manufacture and storage of Cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. *Journal of Food Protection*, 64, 927–933.

36- Morgan, S.M., O'Sullivan, L., Ross, R.P. and Hill, C. (2002). The design of a three strain starter system for Cheddar cheese manufacture exploiting bacteriocin-induced starter lysis. *Inter-*

national Dairy Journal, 17, 760–769.

37- Muñoz, A., Maqueda, M., Rodríguez, A. and Valdivia, E. (2004). Control of psychrotrophic *Bacillus cereus* in a non-fat hard type cheese by an enterococcal strain producing enterococcal strain producing enterococin AS-48. *Journal of Food Protection*, 67, 1517–1521.

38- Neffe-Skocińska K, Jaworska D, Kołozyn-Krajewska D, Dolatowski Z and Jachacz-Jówko L. 2016. The effect of LAB as probiotic starter culture and green tea extract addition on dry-fermented pork loins quality. *BioMed Research International*, vol. Article ID 452757.

39- Obeso, J.M., Martínez, B., Rodríguez, A. and García P. (2008). Lytic activity of the recombinant staphylococcal bacteriophage ΦH5 endolysin active against *Staphylococcus aureus* in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 128, 212–218.

40- O'Sullivan, L., O'Connor, E.B., Ross, R.P. and Hill, C. (2006). Evaluation of live-culture-producing lacticin 3147 as a treatment for the control of *Listeria monocytogenes* on the surface of smear-ripened cheese. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 135–143.

41- Park, S.C. and Nakai, T. (2003). Bacteriophage control of *Pseudomonas plecoglossicida* infection in ayu *Plecoglossus altivelis*. *Disease of Aquatic Organisms*, 53, 33–39.

42- Principi, N., Silvestri, E., Esposito, (2019). Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. *Front Pharmacol.* 10: 513.

43- Rashid, M.H., Revazishvili, T and Dean, T. (2012). A *Yersinia pestis*-specific, lytic phage preparation significantly reduces viable *Y. pestis* on various hard surfaces experimentally contaminated with the bacterium. *Bacteriophage*, 2, 168–177.

- 44- Rehaïem, A., Martínez, B., Manai, M. and Rodríguez, A. (2012). Technological performance of the enterocin a Producer *Enterococcus faecium* MMRA as a protective adjunct culture to enhance hygienic and sensory attributes of traditional fermented milk 'Rayeb'. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2140–2150.
- 45-Rodríguez-Rubio, L., Martínez, B., Donovan, D.M., García, P. and Rodríguez, A. (2013). Potential of the virion-associated peptidoglycan hydrolase HydH5 and its derivative fusion proteins in milk biopreservation. *PLoS ONE*, 8, e54828.
- 46- Sahl, H.G. and Bierbaum, G. (1998). Lantibiotics: Biosynthesis and biological activities of uniquely modified peptides from gram-positive bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*, 52, 41-79.
- 47-Sanchez, B., C. G. De Los Reyes-Gavilan, A. Margolles, and M. Gueimonde. (2009). Probiotic fermented milks: Present and future. *International Journal of Dairy Technology*. 62:472–483.
- 48- Shaykh-Baygloo, N., Bouzari, M. (2019). isolation of lytic bacteriophage ab72p against multidrug resistant *acinetobacter baumannii* isolates obtained from burn infection. *Urmia Medical Journal*, Vol. 30(7).
- 49- Simões, L., Fernandes, N., de Souza, A., dos Santos, L and Magnani, M. (2022). Probiotic and Antifungal Attributes of Lactic Acid Bacteria Isolates from Naturally Fermented Brazilian Table Olives. *Fermentation* 2022, 8, 277. <https://doi.org/10.3390/fermentation8060277>.
- 50- Spricigo, D.A., Bardina, C., Cortes, P. and Llagostera, M. (2013). Use of a bacteriophage cocktail to control *Salmonella* in food and the food industry. *International Journal of Food Microbiology*, 165, 169–174.
- 51- Swanson, K.S., Gibson, G.R., Hutkins, R. et al. (2020). The

International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 17, 687–701

52- Tabla, R., Martínez, B and Rebollo, J.E. (2012). Bacteriophage performance against *Staphylococcus aureus* in milk is improved by high hydrostatic pressure treatments. *International Journal of Food Microbiology*, 156, 209–213.

53- Vinderola, G. (2008) Dried cell-free fraction of fermented milks: new functional additives for the food industry. *Trends Food Science Technology*. 19:46-49

54- Viazis, S., Akhtar, M., Feirtag, J. and Diez-Gonzalez, F. (2011a). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 viability on leafy green vegetables by treatment with a bacteriophage mixture and trans-cinnamaldehyde. *Food Microbiology*, 28, 149–157.

55-Valencia, M.S., Salgado, S.M., Andrade, S.A, Vivianne Montarroyos Padilha, V, M., Livera A.V., Tânia Lúcia Montenegro Stamford, T.L. (2016). Development of creamy milk chocolate dessert added with fructo-oligosaccharide and *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 81, *LWT - Food Science and Technology*, 69, 104-109

56- Viazis, S., Akhtar, M., Feirtag, J. and Diez-Gonzalez, F. (2011b). Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 viability on hard surfaces by treatment with a bacteriophage mixture. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 37–42.

57- Waseh, S., Hanifi-Moghaddam, P and Coleman, R. (2010). Orally administered P22 phage tailspike protein reduces *Salmonella* colonization in chickens: Prospects of a novel therapy against bacterial infections. *PLoS ONE*, 5, e13904.

58- Weidemann, I., Breukink, E and van Kraaij, C. (2001). Specific binding of nisin to the peptidoglycan precursor lipid II com-

bines pore formation and inhibition of cell wall biosynthesis for potent antibiotic activity. Journal of Biological Chemistry, 276, 1772–1779.

59- Weixler D., Berghoff M., Ovchinnikov KV., Reich S., Goldbeck O., Seibold GM., Wittmann C., Bar NS., Eikmanns BJ., Diep DB., Riedel CU. (2022). Recombinant production of the lantibiotic nisin using *Corynebacterium glutamicum* in a two-step process. Microb Cell Fact. 17;21(1):24.

60- Yadav, M.K ., Kumar, M., Singh, D., Sirohi, U, Sharma, V.R, Tiwari, S.K. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. Apply Microbiology Biotechnology ;106(2).

61- Yazdi, M. H., M. M. Soltan Dallal, Z. M. Hassan, M. Holakuyee, S. Agha Amiri, M. Abolhassani and M. Mahdavi. (2010). Oral administration of *Lactobacillus acidophilus* induces IL-12 production in spleen cell culture of BALB/c mice bearing transplanted breast tumour. British Journal of Nutrition. 104(2):227-232.

62- Zhang, H., Bao, H., Billington, C., Hudson, J.A. and Wang, R. (2012). Isolation and lytic activity of the *Listeria* bacteriophage endolysin LysZ5 against *Listeria monocytogenes* in soya milk. Food Microbiology, 31, 133–136.

63- Zhang, T., Zhang, Y., Li, L., Jiang, X., Chen, Z., Zhao, F and Yi , Y.(2022). Biosynthesis and Production of Class II Bacteriocins of Food-Associated Lactic Acid Bacteria. Fermentation, 8,217-221