بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

پایان نامه‌ي کارشناسي ارشد رشته رشته‌ی زیستشناسی گرایش میکروبیولوژی

جداسازی باکتریوفاژهای باکتری های لاکتیک از صنایع لبنی

اساتید راهنما:
دکتر مجید بوذری
دکتر ایرج نحوی
دکتر روحا کسری کرمانشاهی

پژوهشگر:
الناز شکرانی

اسفند ماه ۱۳۸۸

کلیه حقوق مادي مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوري هاي ناشي از تحقیق موضوع این

پایان نامه متعلق به دانشگاه
اصفهان است.

تقدیم به آنان که دوستشان دارم:

مادر و پدر بزرگوار و دلسوزم
خواهر و برادر عزیزم
و همسر مهربانم

تقدیر و تشکر

سپاس مي‌گويم پروردگار مهربان را كه انديشه‌ام را سامان داد و تمام زيبائيهايش را در اختيارم نهاد تا زيبا ببينم و زيبا بينديشم.

تشكر مي‌كنم از مادرم، كه همواره در تمام مراحل زندگي پشتيبانم بوده است.

از پدرم، كه محبتهاي بي‌دريغ‌اش همواره با من بوده،

و خواهر و برادر عزيزم، كه حضورشان و همراهيشان هميشه باعث دلگرميم است.

تشكر مي‌كنم از اساتيد راهنماي عزيزم:

آقاي دكتر مجيد بوذري كه صبورانه و صميمانه، راهنمايي مرا در اين مدت به عهده داشتند و با دلگرمي و حمايت مستمر ايشان بود كه اين پروژه به نتيجه رسيد.

آقاي دكتر ايرج نحوي، كه كمكها و راهنمايهاي بي‌دريغ و پدرانه‌شان، ستودني و فراموش نشدني است.

خانم دكتر كرمانشاهي، كه نظرات و كمكشان همراه و ياور من در اين پروژه بود.

تشكر مي‌كنم از خانم دكتر اعتمادي فر و آقاي دكتر محزونيه كه داوري اين پايان نامه را تقبل فرمودند.

و همچنين از تمامي اساتيد گروه زيست شناسي به خصوص بخش ميكروبيولوژي كه در اين مدت افتخار شاگردیشان را داشتم سپاسگزاري مي‌كنم..

با قدرداني از كمك‌هاي همكلاسي‌ها و دوستان و همراهان خوبم خانم‌ها: ولي‌زاده، رهبري، مفاخر، زمانزاده، حسين‌خاني و آقايان شاكري، آشنگرف، بهشتي مآل، رحيمي.

مديريت و پرسنل محترم شركت پگاه كه در تهيه نمونه‌ها همكاري كردند.

و تمامي عزيزاني كه دراين مدت همراهم بودند.

چکیده

لاکتوکوکوس یکی از مهمترین میکروارگانیسم های مورد استفاده به عنوان استارتردر صنایع لبنی برای تولید محصولات تخمیری شیر نظیر پنیر و کره است. اسید لاکتیک تولید شده توسط استارتر نقش اصلی را در تولید محصول دارد. بنابراین، باکتریوفاژ های مربوط به این میکروارگانیسم به دلیل تاثیرات منفی روی فرآیند تخمیر، تهدیدی جدی برای صنایع لبنی می باشند. زیرا با حمله به کشت استارتر باعث کاهش سرعت و یا توقف کامل تولید اسید لاکتیک توسط استارتر می شوند. براساس کمیته بین المللی طبقه بندی ویروس ها ، فاژهای لاکتوکوکوس لاکتیس اعضاء راسته *Caudovirales* هستند، یک گروه بسیار بزرگ با تنوع ریخت شناسی و ژنتیکی که بالای ۹۵% از تمام فاژ های شناخته شده را شامل می شوند. این راسته شامل سه خانواده به نام های میوویریده (با دم های بلند و منقبض شونده)، سیفوویریده (با دم های بلند غیر منقبض شونده)وپودوویریده (با دم های کوتاه) است. فاژهای لاکتوکوکوسی بر اساس مورفولوژی ، همولوژی DNA، پروفایل پروتئین، الگوی محدودیت DNA و سرولوژی، به ۱۲گونه مجزای ژنتیکی طبقه بندی شده اند. سه تا از آن ها(۹۳۶، P335 و c2) عوامل اصلی و مشکل ساز برای صنایع لبنی اند. چون اعضاء این گونه ها در سطح جهانی جداسازی شده اند. فاژهای لاکتوکوکوسی بیشتر از اعضاء خانواده سیفوویریده هستند، تعداد کمی نیز متعلق به خانواده پودوویریده می باشند. فاژ های لاکتوکوکوسی منحصر به فرد هستند، از آنجا که در شیر خام یافت می شوند و در برابر پاستوریزاسیون مقاومت می کنند.در این تحقیق نمونه های زیاد شیر خام از نظر آلودگی باکتریوفاژی باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس(PTCC 1336)مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه ها پس از سانتریفیوژ، با فیلتر های سر سرنگی با اندازه منافذ۰/۴۵ میکرو متر فیلتر شدند. هر کدام از فیلترات ها به کشت باکتری در محیط M17 که در ابتدای فاز رشد لگاریتمی بود اضافه شدند. از روش آگار دو لایه برای بررسی ایجاد پلاک استفاده شد. پس از جداسازی فاژ ها از پلاک و تغلیظ آن ها، از روش تهیه سریال رقت برای تعیین میزان فاژ استفاده شد. از میکروسکوپ الکترونی برای مشاهده و بررسی جزئیات ساختاری باکتریوفاژ ها استفاده شد. در نهایت دو نوع باکتریوفاژ جداسازی شد که یکی متعلق به خانواده سیفوویریده و دیگری

متعلق به خانواده پودوویریده بود. با توجه به جداسازی و شناسایی فاژ های لاکتوکوکوس لاکتیس از شیر های تهیه شده از یک مرکز تولید محصولات لبنی و مطابقت آن ها با فاژ هایی که به طور عمده باعث ایجاد آلودگی و خسارت در صنایع لبنی می شوند لذا باید به نقش این فاژ ها در کاهش راندمان تولید توجه کافی مبذول گردد.
کلمات کلیدی: لاکتوکوکوس لاکتیس، باکتریوفاژ، صنایع لبنی

فهرست مطالب

عنوان
صفحه

فصل اول: کلیات
۱-۱- باکتری های لاکتیک اسید ---------- ۱
۱-۱-۱- لاکتوکوکوس لاکتیس ---------- ۲
۱-۱-۱-۱- مشخصات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و اکولوژیکی ---------- ۳
۱-۱-۲- کشت های استارتر(آغازگر) ---------- ۳
۱-۱-۲-۱-تعریف بنیادین ---------- ۳
۱-۱-۲-۲- انتخاب کشت ---------- ۴
۱-۱-۲-۳- فاکتورهای موثر در عملکرد استارترها ------- ۴
۱-۲- محصولات مختلف لبنی ---------- ۵
۱-۳- باکتریوفاژ ها ---------- ۶
۱-۳-۱- چرخه های رشد ---------- ۷
۱-۳-۲- تاریخچه ---------- ۷
۱-۳-۳- مورفولوژی ---------- ۷
۱-۴- آلودگی باکتریوفاژی در صنایع لبنی ---------- ۸
۱-۴-۱- تاریخچه ---------- ۸
۱-۴-۲- طبقه بندی ---------- ۸
۱-۴-۳- منشا ورود باکتریوفاژها ---------- ۱۱
۱-۴-۳-۱- شیوع باکتریوفاژها ---------- ۱۱
۱-۴-۳-۲- انتشار باکتریوفاژها ---------- ۱۱
۱-۴-۴- ردیابی و شناسایی باکتریوفاژ ها ---------- ۱۲
۱-۵- مکانیسم های طبیعی مقاومت ---------- ۱۲
۱-۵-۱- مکانیسم آلودگی بی ثمر ---------- ۱۴
۱-۶- میانکنش های میان فاژ ها و سطح سلول لاکتوکوکوسی و مکانیسم مقاومت فاژی که روی این میانکنش ها تاثیر می گذارد ---------- ۱۵
۱-۶-۱- نقش محصول ژن *pip* در عفونت فاژی ---------- ۱۵

عنوان
صفحه

۱-۷- کارایی سیستم های ضد فاژ ---------- ۱۶
۱-۸- سیستم های ضد فاژی که از لحاظ ژنتیکی اصلاح شده اند ---------- ۱۷
۱-۹- چرخش استارتر ---------- ۱۷

۱-۱۰- استرپتوکوکوس ترموفیلوس ---------- ۱۸
۱-۱۱- استفاده از بیوسایدها ---------- ۱۹
۱-۱۲- مطالعه باکتریوفاژ های لاکتوکوکوسی ---------- ۲۰
۱-۱۲-۱- Plaque Assay ---------- ۲۰
۱-۱۲-۲- انتشار فاژ در محیط مایع و جامد ---------- ۲۱
۱-۱۲-۳- مزایای متد سنجش دو لایه ---------- ۲۲
فصل دوم: مواد و روش ها
۲-۱- مواد و وسایل به کار رفته ---------- ۲۳
۲-۱-۱- دستگاههاي مورد استفاده ---------- ۲۳
۲-۱-۲ مواد به کار رفته ---------- ۲۴
۲-۱-۳ وسایل شیشه اي و پلاستیکي ---------- ۲۵
۲-۲- تعیین مرحله تصاعدی رشد باکتری میزبان ---------- ۲۵
۲-۲-۱- تعیین و تهیه محیط کشت مناسب ---------- ۲۵
۲-۲-۲- بدست آوردن منحنی رشد باکتری ---------- ۲۶
۲-۳- بررسی نمونه ها جهت حضور فاژ ---------- ۲۶
۲-۳-۱-Pour plate assay ---------- ۲۷
۲-۳-۲- Spot test assay ---------- ۲۸
۲-۴- برداشت پلاک ها از سطح پلیت ---------- ۲۸
۲-۴-۱- روش پلیت ---------- ۲۹
۲-۴-۱-۱- شستشوی سطح پلیت ---------- ۲۹
۲-۴-۱-۲- خراش دادن سطح پلیت ---------- ۲۹
۲-۴-۲- روش کشت مایع ---------- ۲۹
۲-۵- غنی سازی ---------- ۳۰
۲-۶- عیارسنجی ---------- ۳۰
عنوان
صفحه
۲-۷- تغلیظ و رسوب فاژ ها ---------- ۳۱
۲-۸- مشاهده باکتریوفاژ ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ---------- ۳۲
فصل سوم: نتایج
۳-۱- تعیین منحنی رشد باکتری میزبان ---------- ۳۳
۳-۲- بررسی نمونه ها از لحاظ وجود باکتریوفاژ ---------- ۳۵
۳-۲-۱- روش نقطه ای (spot test) ---------- ۳۵
۳-۲-۲- روش pour plate ---------- ۳۶
۳-۳- خالص سازی ---------- ۳۹
۳-۳-۱- خالص سازی به روش شستشوی سطحی ---------- ۳۹

۳-۳-۲- روش کشت مایع ---------- ۴۰
۳-۴-عیارسنجی ---------- ۴۱
۳-۵- شناسایی باکتریوفاژها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ---------- ۴۴

فصل چهارم: بحث

۴-۱-بررسی نمونه از لحاظ حضور باکتریوفاژ ---------- ۴۷
۴-۲- جدا سازی و خالص سازی باکتریوفاژ ها ---------- ۴۸
۴-۲-۱-بررسی اثر گلایسین ---------- ۴۸
۴-۲-۲- بررسی روش استریل کردن محیط ---------- ۵۰
۴-۳- شناسایی باکتریوفاژ های لاکتوکوکوسی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ---------- ۵۱
پیشنهادات ---------- ۵۳
منابع و مآخذ ---------- ۵۴

فهرست جدول ها

عنوان
صفحه

۱-۱- باکتریوفاژ های لاکتوکوکوسی ---------- ۱۰
۲-۱- اجزاء تشکیل دهنده محیط M17 ---------- ۲۶
۲-۲- اجزای تشکیل دهنده محلول SM ---------- ۳۲

فهرست شکل ها

عنوان
صفحه

۱-۱- ساختار اصلی باکتریوفاژ ---------- ۶
۱-۲- سه گونه اصلی فاژ های لاکتوکوسی ---------- ۹
۱-۳- پلاک های لاکتوکوسی روی محیطM17 ---------- ۲۰
۱-۴- سنجش پلاک با استفاده از روش آگار دو لایه -------
۲۲
۳-۱- منحنی رشد باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس که به عنوان میزبان مورد استفاده قرار گرفت ---------- ۳۴
۳-۲- کلنی باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس در محیط M17 ------- ۳۴
۳-۳- پلاک های ظاهر شده به روش نقطه گذاری مربوط به فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس ------- ۳۵
۳-۴- پلاک های لیتیک که با روش pour plate مربوط به فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس حاصل شده اند. ---------- ۳۷
۳-۵- پلاک های لیزوژنیک مشاهده شده در پلیت شماره۳۶ (مربوط به فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس) ---------- ۳۸
۳-۶- مشاهده پلاک های لیتیک در دستگاه استریومیکروسکوپ با بزرگنمایی بیشتر ---------- ۳۸
۳-۷- منطقه شفاف لیز حاصل از خالص سازی به روش شستشوی سطحی مربوط به فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس ---------- ۳۹
۳-۸- منطقه شفاف لیز حاصل از خالص سازی به روش شستشوی سطحی مربوط به فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس ---------- ۴۰
۳-۹- مقایسه کدورت لوله شاهد(سمت راست) و لوله مربوط به نمونه حاوی فاژ(سمت چپ)در محیط M17براث پس از ۶ساعت انکوباسیون در دمای اتاق ---------- ۴۰
۳-۱۰- پلیت مربوط به رقت 10^{-4} حاصل از فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس -- ۴۱
۳-۱۱- پلیت مربوط به رقت10^{-5} حاصل از فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس ------ ۴۲

عنوان
صفحه

۳-۱۲- پلیت مربوط به رقت$^{-۶}$۱۰ حاصل از فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس -- ۴۲
۳-۱۳- پلیت مربوط به رقت$^{-۷}$۱۰ حاصل از فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس ------ ۴۳
۳-۱۴- پلیت مربوط به رقت$^{-۸}$۱۰ حاصل از فاژ تهیه شده از نمونه شیر و باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس ------ ۴۳
۳-۱۵- میکروگراف الکترونی باکتریوفاژ جدا شده از نمونه شیر خام از خانواده سیفوویریده ---------- ۴۴
۳-۱۶- میکروگراف الکترونی باکتریوفاژ جدا شده از نمونه شیر خام از خانواده پودوویریده ---------- ۴۵
۳-۱۷- میکروگراف الکترونی تعدادی از فاژ های خانواده سیفوویریده که به قسمتی از دیواره باکتریایی متصل هستند ---------- ۴۶

فصل اول

کلیات

۱-۱- باکتری های لاکتیک اسید[1]

باکتری های لاکتیک اسید گروهی از میکروارگانیسم های گرم مثبت و بیهوازی اختیاری[2] اند که قادرند کربوهیدرات ها را از طریق متابولیسم هوموفرمنتاتیو یا هتروفرمنتاتیو به اسید لاکتیک تبدیل کنند. بنابراین ویژگی اخیر، بسیاری از گونه های باکتری های لاکتیک اسید (لاکتوباسیلوس، لوکونوستوک، پدیوکوکوس، استرپتوکوکوس و لاکتوکوکوس) میکروارگانیسم های مفیدی در بسیاری از فرایند های بیوتکنولوژیکی و در صنایع غذایی و تغذیه اند و کاربرد وسیعی در تولید مواد غذایی تخمیری دارند، جایی که این باکتری ها هم مسئول حفاظت وهم مسئول ویژگی های حسی محصول نظیر رنگ، طعم و بافت آن هستند. در واقع، باکتری های اسید لاکتیک، میکروارگانیسم های اصلی مورد استفاده برای تولید محصولات غذایی تخمیری سنتی و جدید هستند (Miyoshi et al., 2003).

تخمیر شیر بستگی به میزان سودمندی این کشت های آغازگر در تولید اسید لاکتیک و طعم های خاص مربوط به یک محصول خاص دارد. ترکیبات متنوعی از سویه ها و گونه های مختلف کشت های استارتر را می توان تنظیم کرد که میزان قابل قبولی از تنوع را در تولید اسید و طعم ایجاد کنند (Bhimani et al., 1993). تشکیل اسید لاکتیک کافی توسط این باکتری ها در حین تولید محصولات لبنی تخمیری بیشترین اهمیت را دارد (Bhimani et al., 1991).

---

[1] Lactic acid bacteria
[2] Facultative anaerobic

۱-۱-۱- لاکتوکوکوس لاکتیس[1]

لاکتوکوکوس لاکتیس که در میان باکتری های لاکتیک اسید بیشتر مورد بررسی قرار گرفته و بیش از همه از لحاظ ژنتیکی شناسایی شده است، یک میکروارگانیسم مزوفیلیک و میکروائروفیلیک است که کاربرد بسیار وسیعی در تولید محصولات غذایی تخمیری دارد. رشد بهینه این میکروارگانیسم در حدود C ۳۰° است. این میکروارگانیسم ژنوم نسبتا کوچکی دارد. غالبا در طبیعت، درسطوح گیاهان و حیوانات یافت می شود و کاربرد گسترده ای در صنایع لبنی برای تولید محصولات تخمیری نظیر پنیر و ماست و دوغ دارد. از آنجا که بیش از ۱۰[7] تن انواع پنیر سالیانه در سطح جهان تولید می شود، لاکتوکوکوس لاکتیس از اهمیت اقتصادی عظیمی برخوردار است (Miyoshi et al., 2003). این باکتری ها از لحاظ تغذیه ای مشکل پسندند[2] و به یک محیط کشت کمپلکس برای رشد بهینه نیازمندند (Terzaghi et al., 1975) .

سویه های لاکتوکوکوس لاکتیس در بسیاری موارد به عنوان کشت های آغازگر برای تخمیر شیر در حین تولید بسیاری از انواع پنیرها، دوغ، کفیر،.... مورد استفاده قرار می گیرند (Szczepanska et al., 2007) . لاکتوکوکوس لاکتیس برای تولید انواع پنیر ها نظیر پنیر چدار[3] ، کلبی[4]، پنیر روستایی[5]، پنیر خامه ای[6]، کامبرت[7]، روکئوفورت[8] همراه با سایر محصولات لبنی مثل کره کشت شده[9]، شیر کره ای[10]، سرشیر ترش[11] و کفیر[12] حیاتی است (Todar, 2009) .

به دلیل فعالیت های در حال گسترش در صنایع لبنی، کشت های آغازگر لاکتوکوکوس لاکتیس تحت فشار برای عملکرد در استانداردهای صنعتی از لحاظ پایداری، کارایی و سرعت هستند (Emond et al., 1997). فاکتورهایی که در کاهش سرعت کشت های آغازگر دخالت دارند عبارتند از: ترکیب شیر، میکروارگانیسم های آلوده کننده، تغییرات در رفتار تخمیر،

---

[1] *Lactococcus lactis*
[2] Fastidious
[3] Cheddar
[4] Colby
[5] Cottage
[6] Cream cheese
[7] Camembert
[8] Roquefort
[9] Cluttered butter
[10] Buttermilk
[11] Sour cream
[12] Kefir

و همچنین رایج ترین آنها که تهاجم باکتریوفاژهاست(Bhimani et al., 1991) .

۱-۱-۱-۱- مشخصات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و اکولوژیکی:

لاکتوکوکوس ها عموما سلول های کروی یا تخم مرغی شکل ، به اندازه تقریبا ۱/۲ تا ۱/۵ میکرون هستند که به شکل جفت جفت و یا زنجیره های کوتاه دیده می شوند. گرم مثبت و غیر متحرک اند و اسپور تولید نمی کنند. لاکتوکوکوس ها بصورت همراه با مواد گیاهی ، اغلب چمن و علف ها هستند و از طریق آنها براحتی وارد شیر حیوان می شوند. از این رو بطور عادی در شیر یافت می شوند و می توانند یک عامل طبیعی ترشیدگی باشند.

این باکتری دو زیرگونه دارد: لاکتیس و کرموریس، که هر دو در تولید انواع مختلف پنیر و سایر محصولات تخمیری شیر نقشی اساسی دارند . لاکتوکوکوس لاکتیس از لحاظ تحمل pH، نمک و حرارت با بسیاری از سایر باکتری های لاکتیک اسید فرق دارد، که ویژگی های مهم مرتبط با کاربرد آن به عنوان کشت استارتر در صنعت تولید پنیر می باشد. این باکتری به شکل استارتر تک سویه ای و یا کشت های مخلوط چند سویه ای با سایر باکتری های لاکتیک اسید نظیر لاکتوباسیلوس و استرپتوکوکوس مورد استفاده قرار می گیرد (Todar, 2009) . این میکروارگانیسم، یک گروه منحصر به فرد از مکانیسم های پاسخ به استرس ها دارد، اما می تواند مورد تهاجم باکتریوفاژ های بسیاری قرار گیرد (Sitohi et al., 2005) .

۱-۱-۲- کشت های استارتر(آغازگر)

۱-۱-۲-۱-تعریف بنیادین:

استارترها میکروارگانیسم هایی اند که به طور هدفمندی به شیر اضافه می شوند تا نتیجه مطلوبی در محصول نهایی بدست بیاید، که نتیجه مطلوب اغلب از طریق رشد این میکروارگانیسم ها و فرآیندهای تخمیر حاصل می شود. رایج ترین کاربرد کشتهای استارتر برای تولید اسید لاکتیک از لاکتوز(قند شیر) است، که در اکثر موارد عامل اصلی یا کمکی در انعقاد پروتئین های شیر از طریق کاهش pH آن می باشد.

ارگانیسم های استارتر خاص بطور ویژه ای برای توانایی آنها در تولید ترکیبات معطر نظیر دی استیل افزوده می

شود. گرچه لاکتیک اسید و سایر ترکیبات تولید شده توسط کشت نیز در پیدایش طعم مشارکت دارند.
میکروارگانیسم های استارتر همچنین می توانند از طریق تجزیه پروتئین ها، چربی ها و سایر اجزاء سازنده شیر و نیز از طریق تاثیرpH بافت محصول را تحت تاثیر قرار دهند. pH پایین تر محصولات می تواند عامل مهارکننده در برابر میکروارگانیسم های عامل فساد باشد؛ گرچه مهار توسط محصولات جانبی رشد برخی استارترها نیز انجام می شود (Wiedmann, M. 2008).
زمانی که لاکتوکوکوس لاکتیس به شیر اضافه می شود، باکتری آنزیم هایش را برای تولید ملکول های انرژی(ATP) از لاکتوز(قند شیر)بکار می برد. محصول جانبی تولید ATP، اسید لاکتیک است. اسید لاکتیک باعث لخته شدن شیر می شود که پس از آن از هم جدا شده و لخته هایی که برای تولید پنیر به کار می روند از آب پنیر[1] جدا می شوند. اما لخته شدن شیر تنها نقش باکتری در تولید پنیر نیست. اسید لاکتیک تولید شده توسط باکتری، pH محصول را کاهش می دهد و از آن در برابر رشد باکتری های ناخواسته و قارچ ها، محافظت می کند و سایر محصولات متابولیک و آنزیم های تولید شده توسط باکتری در تولید عطرها و طعم های خاصی مشارکت می کنند وجه تمایز انواع پنیر ها ست(Todar, 2009) .
اخیرا کشت های پرو بیوتیک راه خود را در تولید محصولات لبنی یافته اند. اینها ارگانیسم هایی هستند که ادعا می شود برای مصرف کننده فواید خاصی نظیر هضم بهتر، ترکیبات ضد سرطان ، و جلوگیری از بیماری های قلبی دارند .

۱-۱-۲-۲- انتخاب کشت:

نوع کشت استارتر مورد استفاده بستگی به نوع محصول مورد نظر دارد. شرکت های فراهم کننده این کشت ها آنها را بصورت منجمد یا آبزدایی شده عرضه می کنند. در حالت کلی کشت ها دو دسته اند: مزوفیلیک (میانه دوست) و ترموفیلیک (گرما دوست) (Wiedmann, M., 2008).

۱-۱-۲-۳- فاکتورهای موثر در عملکرد استارترها:

تولید آهسته اسید توسط استارتر می تواند منجر به محصول معیوب یا حتی از دست رفتن کامل شیر شود. فعالیت استارتر

[1] Whey

می تواند توسط فاکتورهایی شامل سن کشت، روش های کار کردن و نگهداری، دمای انکوباسیون، کیفیت شیر خام، باکتریوفاژها و حضور مهارکننده هایی نظیر داروها یا ضد عفونی کننده ها تحت تاثیر قرار گیرد(Wiedmann, M. 2008).

۱-۲- محصولات مختلف لبنی:

پنیر: تولید پنیر اساسا یک فرآیند آبگیری است که در آن کازئین (پروتئین شیر) ، چربی ها و مواد معدنی شیر بر اساس واریته پنیر ۶تا ۱۲ برابر تغلیظ می شود. مراحل اصلی مرسوم برای اغلب واریته ها شامل اسیدی شدن، کوآگولاسیون (انعقاد)، آب زدایی و نمک زدایی است. تولید اسید عملکرد مهم باکتری های استارتر است. اسید لاکتیک مسئول طعم اسیدی پنیر عمل آوری نشده است و در انعقاد کازئین شیر مهم می باشد، چیزی که با عمل ترکیبی رنت[1] (آنزیم) و اسید لاکتیک تولید شده توسط باکتری انجام میگیرد. درحین فرآیند عمل آوری[2] باکتری ها نقش های اساسی دیگری ایفا می کنند که شامل تولید ترکیبات معطر فرار (از قبیل دی استیل و آلدهیدها)، رها کردن آنزیم های پروتئولیتیک و لیپولیتیک درگیر در عمل آوری پنیر و تولید مواد آنتی بیوتیک طبیعی که رشد پاتوژن ها و سایر میکروارگانیسم های عامل فساد را مهار می کند، می باشد (Todar, 2009).

سرشیر ترش: از سرشیری تهیه می شود که به آن یک استارتر لاکتوکوکوس لاکتیس برای انعقاد سرشیر و بهبود طعم آن افزوده شده است.

شیر کره ای: از لاکتوکوکوس لاکتیس برای اسیدی کردن، حفاظت و طعم دهی شیر استفاده می شود. دی استیل که توسط لاکتوکوکوس از سیترات ساخته می شود مزه مشخصی به محصول می دهد و امکان نگهداری آن را بیشتر می کند. در این فرآیند، لاکتوکوکوس لاکتیس یا کشت های مخلوط که حاوی لاکتوکوکوس لاکتیس همراه با یک گونه لوکو نوستوک اند مورد استفاده قرار می گیرند.

شیر کره ای کشت شده: در تهیه این فرآورده، چربی (سر شیر) از طریق سانتریفیوژ شیر از آن جدا می شود. سپس آن را پاستوریزه کرده و کشت های استارتر منتخب را تلقیح می کنند. سر شیر عمل آوری شده ر ا از طریق دستگاه هایی مورد تکانهای پیوسته و شدید قرار می دهند. در نتیجه سرشیر مجددا

[1] Rennet
[2] Ripening

به شیر کره ای و محصول جانبی اش (سرشیر ترش) تجزیه می گردد (Todar, 2009).

۱-۳- باکتریوفاژ ها

ویروس ها انگل های درون سلولی اند که برای تکثیر نیاز به یک میزبان خاص دارند. باکتریوفاژ(فاژ) ها، ویروس هائی هستند که منحصرا سلول های باکتریائی را هدف قرار می دهند و بزرگ ترین گروه از بین تمام ویروس ها محسوب می شوند(Beaudoin et al., 2007). ساختار تمام فاژ ها به شکل اسید نوکلئیکی(ژنوم) است که با یک پوشش پروتئینی(کپسید) احاطه شده است. ژنوم فاژها می تواند DNA دو رشته ای، DNA تک رشته ای ، یا RNA تک رشته ای باشد

در کل، فاژ ها از طریق ساختار های ویژه بنام فیبر های دمی(tail fibers) به سطح سلول میزبان متصل می شوندشکل(۱-۱). پس از آن، اسید نوکلئیک خود را به درون سلول باکتری تزریق می کند. با استفاده از ماشین همانند سازی، رونویسی و ترجمه سلول های میزبان، اسید نوکلئیک ویروسی تکثیر یافته و به پروتئین های کپسیدی اش می پیوندد. رهایی ویروس های بالغ از سلول میزبان، استرسی بر غشاء پلاسمائی سلول وارد می کند که منجر به مرگ احتمالی باکتری می گردد (Beaudoin et al., 2007).