





دانشکده کشاورزی

گروه علوم و صنایع غذایی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی علوم و صنایع غذایی

عنوان

بررسی اثر نیسین و ناتامایسین در افزایش ماندگاری

دوغ

استاد راهنما

دکتر جواد حصارى

استادان مشاور

دکتر سید هادی پیغمبر دوست

مهندس شیوا قیاسی فر

پژوهشگر:

شهلا نصیر پور

Surname: Nasirpour		Name: Shahla
Thesis title: Application of Nisin and Natamycin as Bacteriocins for Extending Shelf Life of Doogh		
Supervisor: Dr.Javad hesar		
Advisor: Dr.Seyed Hadi Peighamardoust		
Degree: MSc	Major: Food Technology	University: Tabriz
Faculty: Agriculture	Graduationdate:	Page:
Key word: nisin, natamycin,bacteriocin, doogh		
<p>oogh Due to the low pH has tendency to microbial spoilage especially at ambient temperature. This research has been done to determination of the effects of two bacteriocin nisin and natamycin on Physical - chemical, icrobiological, sensory and pattern Proteolysis properties of doogh.. Nisin was added at three levels :150, 500 and 750 ppm and Natamaysin at two levels: 5 and 10 ppm with 3 reapplications to the dough, The samples were kept at two temperatures, 4 °c and 21°c. Acidity Percent, lipolize, salt percent, viscosity, Yeast and mold count starter count, and coliform were determined at days 1, 15,30,45,60,75 and 90. The used experimental design was Split-plot, based on completely randomized design . The results showed that time, temperature, and the interaction of these factors have a significant effect on acidity.</p> <p>lt Percent, dry matter, fat, and viscosity of Lypolyz did not change during the maintenance period at two different temperatures . Generally within 90 days the dooghs contains 150 ppm nisin, 5 ,10 ppm natamycin, starter bacteria decreased over time like the control sample.The number of starter bacteria in the 4 °c were more than 21°c.But Nisin at 500 and 700ppm levels, caused significant reduce of starter bacteria. Mold and yeast count in the control sample increased over time that this increasing in the 4°c were more than 21 °c and the sample contains 150 ppm Nisin was not significantly different with control sample. Nisin at 500 and 700ppm levels, natamaysin at level 5 and 10ppm, to control molds and yeasts in the two storage temperatures. Proteolysis Dough patterns showed that In all samples, the percentage of soluble and insoluble nitrogen increased with time and analyze of α1-casein results more than β- casein. Proteolysis samples were same in two temperatures.</p> <p>Sensory evaluation of samples showed that the type of preservative did not affect the color and texture of doogh. Mouth feeling in Samples that contain 500and 750 ppm nisin and natamycin was more than control samples in 4°c .</p>		



نام خانوادگی: نصیرپور	نام: شهلا
عنوان پایان نامه: بررسی کاربرد دو باکتریوسین نیسین و ناتامایسین در افزایش ماندگاری دوغ	
استاد راهنما: دکتر جواد حصارى	
استادان مشاور: دکتر سید هادی پیغمبر دوست- مهندس شیوا قیاسی فر	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد رشته: مهندسی کشاورزی-علوم و صنایع غذایی گرایش: تکنولوژی دانشگاه: تبریز دانشکده: کشاورزی	
کلید واژه: باکتریوسین، دوغ، ناتامایسین، نیسین	
<p>دوغ به علت pH پایین تمایل زیادی به فساد میکروبی به ویژه در دمای محیط نشان می دهد. این تحقیق به منظور تعیین اثر دو باکتریوسین نیسین و ناتامایسین بر ویژگی های فیزیک و- شیمیایی، میکروبیولوژی، حسی و الگوی پروتئولیز دوغ انجام گرفت. نیسین در سه سطح $150 ppm$، 500 و 750 و ناتامایسین در دو سطح $5 ppm$ و 10 در سه تکرار به دوغ اضافه شد و در دماهای $4^{\circ}C$ و 21 نگهداری گردید. پس از گذشت 1، 15، 30، 45، 60، 75 و 90 روز، میزان اسیدیته، لیپولیز، درصد نمک، درصد چربی، ماده خشک، ویسکوزیته، تعداد کپک و مخمر و باکتری های آغازگر و کلیفرم تعیین گردیدند. مقایسه داده های خام به دست آمده بر پایه طرح آزمایشی اسپلیت پلات در قالب طرح کامل تصادفی بررسی شد. نتایج نشان داد زمان، دما، باکتریوسین و اثر متقابل این فاکتورها اثر معنی داری بر اسیدیته دوغ دارند. درصد نمک، ماده خشک، درصد چربی، شدت لیپولیز و ویسکوزیته در طول مدت زمان نگهداری در دو دمای $4^{\circ}C$ و $21^{\circ}C$ ثابت بودند. به طور کلی طی 90 روز، در دوغ های حاوی $150 ppm$ نیسین و $5 ppm$ و 10 ناتامایسین همانند نمونه شاهد تعداد باکتری های آغازگر در طول زمان کاهش یافت. تعداد باکتری های آغازگر در دمای $4^{\circ}C$ در مقایسه با $21^{\circ}C$ بیشتر بود. ولی نیسین در سطح $500 ppm$ و $750 ppm$ سبب کاهش قابل توجه باکتری های آغازگر شد. در نمونه شاهد تعداد کپک و مخمر در طول زمان افزایش یافت. این افزایش در دمای $21^{\circ}C$ بیشتر از $4^{\circ}C$ بود. نمونه حاوی $150 ppm$ نیسین با نمونه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. نیسین در سطح $500 ppm$ و $750 ppm$، ناتامایسین در سطح $5 ppm$ و $10 ppm$ سبب کنترل کپک و مخمر در دو دمای نگهداری گردیدند. الگوی پروتئولیز دوغ نشان داد، در همه نمونه ها با گذشت زمان درصد ازت محلول و غیر محلول افزایش می یابد و الگوی فتوگرام الکتروفورز نشان داد، در تمام نمونه ها تجزیه as_1-کازئین نسبت به β-کازئین بیشتر بود. دما تأثیری بر پروتئولیز نداشت و در دو دمای $4^{\circ}C$ و 21 پروتئولیز نمونه ها یکسان بود. با ارزیابی حسی نمونه ها مشخص شد، نوع نگهدارنده تأثیری بر رنگ و بافت دوغ ندارد، اما احساس دهانی در نمونه های حاوی ناتامایسین و نیسین $500 ppm$ و $750 ppm$ نسبت به نمونه شاهد در دمای $4^{\circ}C$ بیشتر بود.</p>	



مقدمه

تخمیر یکی از قدیمی‌ترین فرایندهای تبدیل مواد خام با منشأ گیاهی یا حیوانی به محصولاتی با ماندگاری بالا می‌باشد. فراوری شیر با استفاده از تخمیر احتمالاً در حدود ۱۵-۱۰ هزار سال قبل باز می‌گردد که انسان مسیر زندگی خود را از حالت مصرف محصولات تازه به سوی تولید محصولاتی با ماندگاری بالا تغییر داد. تولید فراورده‌های لبنی تخمیری در همین راستا و با هدف تولید و توسعه محصولات لبنی به همراه افزایش ارزش غذایی و تولید محصولاتی جدید با خواص ارگانولپتیکی ویژه صورت گرفته است (بولر، یک و همکاران، ۲۰۰۳).

در حال حاضر تقریباً ۴۰۰ نوع محصول لبنی تخمیری مختلف در سراسر جهان تولید و مصرف می‌شود. تخمیر باعث حفظ ترکیبات مغذی و حیاتی شیر گردیده و هم‌زمان سبب افزایش ارزش تغذیه‌ای آن و بهبود اثرات سلامتی در محصول می‌شود (چاندان و همکاران، ۲۰۰۶).

اصطلاح شیر تخمیری یا شیر کشت داده شده طبق تعریف استاندارد کدکس به محصول لبنی اطلاق می‌گردد که در آن شیر توسط می‌کروارگانوسم‌های مناسب تا رسیدن به pH ایزو الکترونیک پروتئین‌های شیر تخمیر می‌گردد (استاندارد کدکس، ۲۰۰۳).

فراورده‌های تخمیری معمول شیر شامل ماست، کفیر، دوغ، کره ترش، خامه پرورده، کومیس و کشک است. منشأ و محل اولیه تولید فراورده‌های تخمیری شیر در دنیا، کشورهای خاور نزدیک می‌باشد. تهیه این محصولات بعدها در اروپای مرکزی و شرقی نیز مورد توجه و محبوبیت قرار گرفت. در محصولات تخمیری تبدیل لاکتوز به اسد لاکتیک با محافظت کننده‌ای بر روی شیر دارد.

دوغ یک نوشیدنی سنتی ایرانی است که در صنعت از ترکیب ماست با آب و نمک تهیه شده، به صورت پاستوریزه و هموژنیزه مصرف می‌شود. تخمیر در آن تا $pH=4/4-4/6$ ادامه می‌یابد و pH نهایی

به ۴/۳ - ۴/۲ می‌رسد. در آسیا، کشورهای خاور نزدیک و کشورهای عربی با نام‌های مختلفی مثل لاسی^۱، دوغ^۲، آیران^۳، ویلی^۴ و تافل^۵ مصرف می‌شود (کوکسوی و همکاران، ۲۰۰۳).

دوغ به علت pH پایین و غنی بودن از مواد مغذی، به خصوص در دمای محیط مستعد آلودگی با کپک و مخمره^۱ و بعضی از باکتری‌ها است که سبب افت کیفیت دوغ و کاهش زمان ماندگاری آن می‌شود. این موضوع به عنوان یک چالش مهم در صنعت لبنیات مطرح است. پس ارائه راهکاری برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری دوغ در صنعت اهمیت ویژه‌ای دارد. روش‌های مختلفی در صنعت جهت نگهداری مواد غذایی وجود دارد. یکی از روش‌های افزایش مدت زمان ماندگاری مواد غذایی استفاده از حرارت، نگهدارنده‌های شیمیایی و ترکیبات ضد میکروبی است. در صنعت هر چند استفاده از حرارت سبب از بین بردن پاتوژن‌ها و میکروب‌های بیماری‌زا می‌شود اما جهت افزایش ماندگاری محصول و از بین بردن میکروارگانیسم‌های مقاوم و اسپورها به حرارت بالا نیاز است که استفاده از حرارت بالا علاوه بر هزینه اقتصادی بالا، موجب افت کیفیت غذا می‌شود. استفاده از نگهدارنده‌های شیمیایی هم علاوه بر محدودیت در کاربرد آن‌ها، اثراتی مثل سمی بودن بسیاری از نگهدارنده‌های شیمیایی و تغییر در خصوصیات تغذیه‌ای و ارگانولپتیک غذا روشن شده است.

امروزه تمایل مصرف‌کنندگان به غذاهای سالم با ظاهری تازه و طعم طبیعی سبب شده است که استفاده از مواد ضد میکروبی طبیعی جایگزین استفاده از مواد افزودنی شیمیایی شود (الین دوویل، ۲۰۰۶).

¹-Lassi

²-Doogh

³-Ayran

⁴-Villi

⁵-Tophil

مواد ضد میکروبی ترکیباتی هستند که در غذا وجود دارند و یا به غذا اضافه می‌گردند که سبب ممانعت از رشد میکروبهای عامل فساد و بیماری زا و طی نابودی آنها می‌شوند. از جمله ترکیبات ضد میکروبی طبیعی می‌توان نیسین و ناتامایسین را نام برد . نیسین و ناتامایسین باکتریوسین با منشأ میکروبی هستند و کاربرد گسترده‌ای در نگهداری مواد غذایی دارند . پژوهش‌های زیادی در مورد نیسین و ناتامایسین و قدرت نگهدارندگی آنها در ماست، پنیر و سایر مواد غذایی انجام شده است ولی تاکنون هیچ پژوهشی در مورد تأثیر نیسین و ناتامایسین بر روی دوغ انجام نشده است . بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثر دو باکتریوسین نیسین و ناتامایسین در ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی، میکروبیولوژیکی، حسی و الگوی پروتئولیز دوغ بوده و معرفی روشی جهت افزایش ماندگاری دوغ می‌باشد.

فصل اول

کلیات

-کلیات

۱-۱- تعریف دوغ

نوشیدنی حاصل از تخمیر لاکتیکی شیر که ماده خشک آن از راه رقیق کردن ماست دوغ سازی (پس از تخمیر) یا شیر دوغ سازی (پیش از تخمیر) استاندارد شده باشد (استاندارد ملی ایران، شماره ۲۴۵۳).

۱-۲- طبقه بندی دوغ

دوغ ساده از نقطه نظرات مختلف، به صورت زیر قابل تقسیم بندی است:

۱-۲-۱- گازدار بودن

از این نظر، دوغ بر دو نوع است : دوغ گازدار و بدون گاز . دوغ گاز دار خود بر دو نوع است : دوغ گازدار تخمیری و دوغ گازدار تزریقی.

۱-۲-۲-۱- گرما دیدن دوغ پس از تخمیر

از این نظر دوغ به دو دسته گرما دیده^۱ و گرما ندیده^۲ طبقه بندی می شود.

۱-۲-۳-۱- مقدار چربی

از نظر مقدار چربی دوغ بر دو نوع است: دوغ با چربی ($>0.5\%$ حجمی / وزنی) دوغ بدون چربی ($<0.5\%$ حجمی / وزنی).

^۱ -Heat treated doogh

^۲ -Un-heat treated doogh

۴-۲-۱- همگن شدن ماده خشک

از نظر همگن شدن دوغ، این فراورده به دوغ همگن شده و همگن نشده تقسیم می‌شود (استاندارد ملی ایران، شماره ۲۴۵۳).

بر اساس گاز دار بودن و گرما دیدن، انواع دوغ به شرح زیر طبقه بندی می‌شود:

الف- دوغ بدون گاز گرما ندیده

ب- دوغ بدون گاز گرما دیده

پ- دوغ گازدار گرما ندیده

ت- دوغ گازدار گرما دیده (استاندارد ملی ایران، شماره ۲۴۵۳).

۳-۱- دوغ و ارزش غذایی آن

دوغ محصول حاصل از تخمیر لاکتیکی بوده و حاوی کلسیم و ویتامین‌های گروه B است. فرایند تخمیر سبب تولید انواع مختلفی از ترکیبات تغذیه ای مفید مانند اسیده ای آمینه ضروری، پلی ساکاریدهای فیبری و ویتامین‌های گروه B می‌گردد. در طی تخمیر در شیر مواد ضد میکروبی مختلف توسط باکتری‌های لاکتیک تولید می‌شود که شامل اسیدهای مختلف، آنتی بیوتیک‌ها و باکتریوسین‌ها است. این مواد موجب کاهش و یا نابودی میکروب‌های مسمومیت‌زا و عفونت‌زا در دستگاه گوارش می‌شوند. علاوه بر این تبدیل بخشی از لاکتوز به اسیدلاکتیک در دوغ موجب کاهش عوارض ناشی از عدم تحمل لاکتوز می‌گردد.

۴-۱- تکنولوژی تولید دوغ

دوغ از شیر گاو، گوسفند، بز و مخلوط این شیرها به دست می‌آید که بیشتر از شیر گاو تهیه می‌شود. در صنعت دوغ با دو روش افزودن آب به ماست یا اضافه کردن استارتر به شیر که قبلاً با آب رقیق شده و از نظر چربی و مواد جامد استاندارد شده است، تهیه می‌گردد. در دو روش تولید، تفاوت

زیادی در ترکیبات اصلی محصول نهایی مشاهده نمی شود. در حالی که محتوای استالدئید دوغ تهیه شده از رقیق کردن ماست نسبت به دوغ حاصل از شیر رقیق شده کمتر می باشد. در مدت زمان نگهداری ممکن است در دوغ ضایعاتی چون آلودگی به کپک و مخمر ایجاد شود که سبب کاهش کیفیت و مدت ماندگاری دوغ گردد (کاجاک و همکاران، ۲۰۱۰). آبی که به دوغ اضافه می شود بایستی آب شرب بوده و بدون آلودگی باشد (استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۵۳).

۱-۵- میکروارگانیزم های استارتر دوغ

باکتری های ماست *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* و *Streptococcus*

salivarius subsp. thermophilus در تخمیر شیر دوغ به کار می روند. تشکیلی ل طعم و خصوصیات بافت بستگی به فعالیت این میکروب ها دارد. مشارکت این باکتری های آغازگر در تهیه ماست را اصطلاحاً همزیستی می نامند. این همزیستی ممکن است به صورت همزیستی تقویت کننده و یا ممانعت کننده صورت پذیرد. در حالت نخست، رشد هر باکتری زمینه ساز و تشدید کننده رشد و یا فعالیت باکتری های دیگر می شود، در حالی که در حالت دوم، باکتری اثر بازدارنده روی رشد و یا فعالیت باکتری های دیگر دارد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۷۵). دمای مناسب رشد این باکتری ها 45°C - 40 بوده و اپتیمم دمای رشد 42°C می باشد. با افزودن آغازگرها به شیر در دمای مناسب، ابتدا رشد باکتری های استرپتوکوک آغاز شده و حاصل فعالیت آن تولید مقداری مواد طعم دار، تولید اسید فرمیک، اسید لاکتیک و کاهش pH شیر از $6/7$ به حدود $5/5$ است. کاهش pH و تولید مواد یاد شده موجب تحریک رشد باکتری های لاکتوباسیلوس می گردد. در حین فعالیت این باکتری علاوه بر تولید مواد معطر و طعم دار و رایحه مطلوب، تولید اسید بیشتر صورت می گیرد. در این مرحله همزیستی تقویت کننده به وقوع می پیوندد. به تدریج با ادامه رشد و فعالیت باکتری ها، لاکتوباسیلوس باکتری غالب محیط را تشکیل می دهد. علت وقوع این پدیده افزایش اسید سازی و کاهش pH به کمتر از $5/5$ می باشد؛ بنابراین در این مرحله اثر همزیستی ممانعت کننده مشاهده می شود. با تداوم رشد

لاکتوباسیلوس و کاهش شدید pH محیط، در اثر افزایش مقدار اسید، رشد این باکتری نیز کاهش یافته و در نهایت متوقف می‌گردد (چا ندان و همکاران، ۲۰۰۶، تمیم و همکاران، ۲۰۰۶).

۱-۶- روش‌های نگهداری مواد غذایی

رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب در مواد غذایی، به خطر انداختن سلامتی مصرف‌کننده و زیان‌های اقتصادی را هم در نتیجه فساد مواد غذایی به دنبال دارد (دنیدسون و همکاران، ۲۰۰۱). غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌ها، تأخیر در رشد آن‌ها یا پیشگیری از رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد و بیماری‌زا باعث افزایش زمان ماندگاری و حفظ کیفیت غذا می‌شود. تکنولوژی نگهداری غذا، مواد غذایی را از تأثیر میکروارگانیسم‌ها و خرابی آن‌ها محافظت می‌کند. فناوری‌های عمده نگهداری مواد غذایی به چندین روش دسته‌بندی می‌شوند: الف- کند کردن رشد میکروب یا ممانعت از رشد آن‌ها (دمای پایین، کاهش فعالیت آب^۱، تبخیر، بسته‌بندی در اتمسفر اصلاح شده^۲ و افزودن ضد میکروب‌ها و ...).

ب- غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌ها (حرارت پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون، حرارت مایکروویو، اشعه، فشار بالا، میدان الکتریکی و اولتراسوند و ...).

ج- جلوگیری از میکروارگانیسم‌ها یا به حداقل رساندن ورود آن‌ها (بسته‌بندی اسپتیک، سانتریفیوژ و تصفیه و.....) (سوفوز، ۱۹۹۸؛ گلد، ۲۰۰۲).

¹ - a_w

² - Modified control atmosphere

به کار بردن تکنولوژی‌های مختلف اساس مفهوم تکنولوژی با مانع^۱ می‌باشد. این تکنولوژی‌ها ممکن است بسته به ترکیبی از موانع اعمال شده سبب مهار و یا غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌ها، جهت افزایش زمان ماندگاری غذا شود (لوپز و همکاران، ۲۰۰۵).

۷-۱ - ترکیبات ضد میکروبی

ترکیبات ضد میکروبی شامل عوامل طبیعی موجود در گیاهان، میکروب‌ها، حشرات و حیوانات هستند. ترکیبات ضد میکروبی جدا شده از این منابع به طور کلی فعالیت گسترده در برابر باکتری‌ها، قارچ‌ها، انگل‌ها و ویروس‌ها دارند (سوفو و همکاران، ۱۹۹۸).

۸-۱ - طبقه بندی ترکیبات ضد میکروبی

ترکیبات ضد میکروبی به دو دسته ترکیبات ضد میکروبی شیمیایی و طبیعی تقسیم می‌شوند. مواد شیمیایی زیادی برای افزایش مدت زمان نگهداری مواد غذایی وجود دارد که به دلایل زیر فقط تعداد نسبتاً کمی از آن‌ها برای مصرف در مواد غذایی مجاز شناخته شده‌اند:

- ۱- کنترل شدید مؤسسات و ادارات کنترل دارو و مواد غذایی.
- ۲- برخی ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی فعالیت ضد میکروبی دارند، در حالی که در مواد غذایی، خاصیت مذکور را بروز نمی‌دهند (دیوید سون و همکاران، ۲۰۰۳).

۱-۸-۱ - ترکیبات ضد میکروبی شیمیایی

از عمده ترین ترکیبات ضد میکروبی شیمیایی می‌توان اسید پروپیونیک، اسید سوربیک، اسید بنزوئیک و نیتريت و دی اکسید گوگرد را نام برد.

۱-۱-۸-۱ - اسید پروپیونیک

¹ -Hurdle technology

اسید پروپیونیک اسید آلی سه کربنه است. استفاده از این اسید و املاح کلسیم و سدیم آن در کیک، نان، بعضی پنیرها و سایر مواد غذایی عمدتاً ضد کپک مجاز شناخته شده است از این اسید به عنوان یک عامل ضد کپک در خمیر نان بهره می جویند. از اسید پروپیونیک به عنوان بازدارنده اختصاصی کپک ها استفاده می شود و فعالیت آن ها بیش از آن که باعث نابودی قارچ ها شود اغلب موجب ممانعت از رشد و نمو آن ها می گردد.

۱-۸-۱-۲- اسید سوربیک

میزان فعالیت اسید سوربیک نظیر سایر اسیدهای ضعیف جلوگیری کننده از رشد میکروب ها، با کاهش pH محیط افزایش می یابد. این نشان می دهد که این مواد در حالت یونیزه نشده خود دارای خاصیت ضد میکروبی می باشند. علت این است که این اسیدها اساساً در چنین حالتی قادر هستند که از غشا دیواره سلول عبور کنند و اثر تخریبی خود را در درون سلول ظاهر سازند. این اسید خاصیت ضد قارچی دارد.

۱-۸-۱-۳- اسید بنزوئیک

اپتیمم فعالیت آن در $pH=2/5-4$ است. از این نظر برای استفاده در مواد غذایی اسیدی مناسب می باشد. اثر ضد میکروبی آن، روی دیواره سلولی، آنزیم های سیکل کربس (دهیدروژناز) و همین طور روی آنزیم هایی که در فسفریلاسیون اکسیداتیو دخالت دارند، ظاهر می شود. اثر نابود کنندگی اسید بنزوئیک عمدتاً روی مخمرها و باکتری ها است و در مورد مخمرها مشخصاً کمتر می باشد.

نمک های سدیم و پتاسیم نیتريت و نیت رات در مخلوط های عمل آورنده گوشت مورد استفاده قرار می گیرند. منظور از به کار گیری این مواد، جلوگیری از رشد میکروارگانیسم ها به خصوص کلستریدیوم بوتولینوم، حفظ رنگ و ایجاد طعم می باشد.

۱-۸-۱-۴- دی اکسید گوگرد

در محدوده pH ۲-۳ دی اکسید گوگرد بهترین فعالیت را می‌باشد. این ترکیب در مواد غذایی خشک بیشتر کاربرد دارد با تقلیل فشار اکسیژن محیط و اثر بر روی رشد میکروارگانیسم های هوایی، باکتری ها را از بین می‌برد. دی اکسید گوگرد با اثر بر روی باندهای دی سولفیدی، باعث از بین رفتن فعالیت آنزیم‌ها می‌شود.

۱-۸-۲- ترکیبات ضد میکروبی طبیعی

ترکیبات ضد میکروبی طبیعی بر اساس منشأ آن‌ها به سه دسته تقسیم بندی می‌شوند:

الف- ترکیبات ضد میکروبی طبیعی با منشأ حیوانی

ب- ترکیبات ضد میکروبی طبیعی با منشأ گیاهی

ج- ترکیبات ضد میکروبی طبیعی با منشأ میکروبی

در تقسیم بندی دیگر ترکیبات ضد میکروبی طبیعی به سه دسته زیر تقسیم بندی می‌شوند

(گردون، ۲۰۰۷):

الف- باکتریوسین‌ها (نظیر نیسین و ناتامایسین)

ب- محصولات تخمیر و آنزیم (نظیر لیزوزیم)

ج- عصاره‌های طبیعی (مانند لاکتوفرین)

۱-۸-۲-۱- ترکیبات ضد میکروبی طبیعی با منشأ حیوانی

از ترکیبات ضد میکروبی طبیعی با منشأ حیوانی می‌توان لاکتوپراکسیداز، لیزوزیم، کیتوزان و لاکتوفرین را نام برد.

۱-۸-۲-۱-۱- لاکتوپراکسیداز

لاکتوپراکسیداز (LP)، هموپروتئین موجود در شیر، اشک و بزاق می‌باشد که فراوان ترین آنزیم

در شیر گاو است. واکنش لاکتوپراکسیداز -تیوسیانات-هیدروژن پراکسید به عنوان سیستم

لاکتوپراکسیداز می‌باشد که هیدروژن پراکسید به عنوان سوبسترا برای LP در اکسیداسیون تیوسیانات

(SCN) به یون هیپوتیوسیانات است (نایدو، ۲۰۰۳). باکتری های گرم منفی کاتالاز مثبت (پسودوموناس، کلیفرم ها، سالمونلا و شیگلا) نه تنها مهار می شوند بلکه بسته به pH ، دما و زمان انکوباسیون، تراکم سلولی آن ها از بین می رود. باکتری های گرم مثبت کاتالاز منفی (استرپتوکوکوس ها، لاکتوباسیلوس ۱۵) به طور کلی توسط سیستم LP مهار شده و از بین نمی روند و تفاوت در حساسیت آن ها را ممکن است با تفاوت در موانع بیولوژیکی توضیح داد (دی ویت و همکاران، ۱۹۹۶). محصولات سیستم LP به نظر می رسد سبب صدمه گسترده تر به غشاء داخلی باکتری های گرم منفی نسبت به گرم مثبت ها شوند (ریتر و همکاران، ۱۹۹۱). باکتری های گرم منفی به نظر می رسد حساسیت بیشتری به هیپوتیوسیانات در مقایسه با سلول های گرم مثبت، به خصوص در دماهای پایینی نسبت به pH دارند (نایدو، ۲۰۰۰). اثرات ضد قارچ سیستم LP در برابر کاندیدا تروپیکالیس^۱، کاندیدا آلبیکانس^۲، ساکارومایسس سرویزیه^۳، آسپرژیلوس نایجر^۴، رودوتورولا^۵، موکور روکسی^۶، بایسوکلامیس فولوا^۷ و گونه ژئوتریکوم^۸ نشان داده شده است (پاپر و همکاران، ۱۹۹۷).

۱-۸-۲-۱- لیزوزیم

لیزوزیم آنزیمی هست که سبب هیدرولیز پیوند ۱-۴ گلیکوزیدی بین N -استیل مورامیک اسید و N -استیل گلوکز آمین پپتید و گلیکان دیواره سلولی باکتری ها می شود. این ترکیب باعث لیز شدن دیواره باکتری ها می شود بر روی باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی تأثیر بیشتری

¹ - *Candida tropicalis*

² - *Candida albicans*

³ - *Saccharomyces cerevisiae*

⁴ - *Aspergillus niger*

⁵ - *Rhodotrolla*

⁶ - *Mucor rouxii*

⁷ - *Bysoclamis flova*

⁸ - *Geotrichum*