

مروری بر نانوانکپسولاسیون باکتریوسین ها به عنوان رویکردی نوین در نگهداری زیستی مواد

غذایی و دارویی

حامد عزیزنیا، مرضیه حسینی نژاد^{*}، صفیه رجب زاده شانندیز

گروه زیست فناوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد

چکیده

باکتریوسین ها ترکیبات ضدباکتریایی از جنس پروتئین هستند که توسط باکتری های گوناگون تولید شده و به منظور نگهداری مواد غذایی به عنوان عوامل جلوگیری کننده از تشکیل بیوفیلم، افزودنی و حتی جایگزین ترکیب های آنتی بیوتیک استفاده می شوند. بهره گیری از باکتریوسین ها به منظور عوامل ضدباکتریایی و یا نگهدارنده با محدودیت هایی در صنایع غذایی و دارویی مواجه است. یکی از راهکارهای مناسب به منظور غلبه بر این محدودیت ها استفاده از فناوری نانو می باشد. در این مطالعه مروری به بررسی استفاده از فناوری نانو جهت بهبود خواص فیزیکیوشیمیایی و همچنین افزایش فعالیت های ضد میکروبی باکتریوسین ها پرداخته شده است.

واژه های کلیدی: باکتریوسین، ضد میکروبی، نگهدارنده، فناوری نانو

ایمیل نویسنده مسئول : m.hosseininezhad@rifst.ac.ir

۱- مقدمه

باکتریوسین ها گروهی از ترکیبات پلی پپتیدی هستند که توسط انواعی از باکتری های گرم منفی و گرم مثبت تولید شده و فعالیت ضدباکتریایی یا باکتریواستاتیک از خود نشان می دهند؛ این فعالیت ضد میکروبی معمولاً علیه گونه های بسیار نزدیک به باکتری تولیدکننده باکتریوسین است [۱ و ۲]. بیشتر باکتریوسین ها در برابر آنزیم های گوارشی حساس و تجزیه پذیرند. این قابلیت هضم باکتریوسین ها سبب شده است که از آن ها به عنوان ترکیبات نگهدارنده طبیعی استفاده شود. به همین جهت این ترکیبات جایگزین مناسبی به منظور مواد نگهدارنده در مواد غذایی با توجه به محدودیت های استفاده از آنتی بیوتیک ها هستند [۳]. مطالعات نشان داده است که بهینه سازی شرایط تولید باکتریوسین ها، روش های مختلف خالص سازی، ترکیب با مواد ضد میکروبی دیگر و همچنین فناوری هردل^۱ توان افزایش عملکرد باکتریوسین ها را دارند. استفاده از فناوری نانو به منظور افزایش عملکرد باکتریوسین های مختلف یکی از این روش ها است که در سال های اخیر پژوهش های گسترده ای در ارتباط با آن انجام شده است [۴]. در این مطالعه به بررسی استفاده از فناوری نانو به منظور بهبود خصوصیات و همچنین افزایش فعالیت ضد میکروبی باکتریوسین ها پرداخته شده است.

۲- مزایای باکتریوسین های نانو فرموله شده

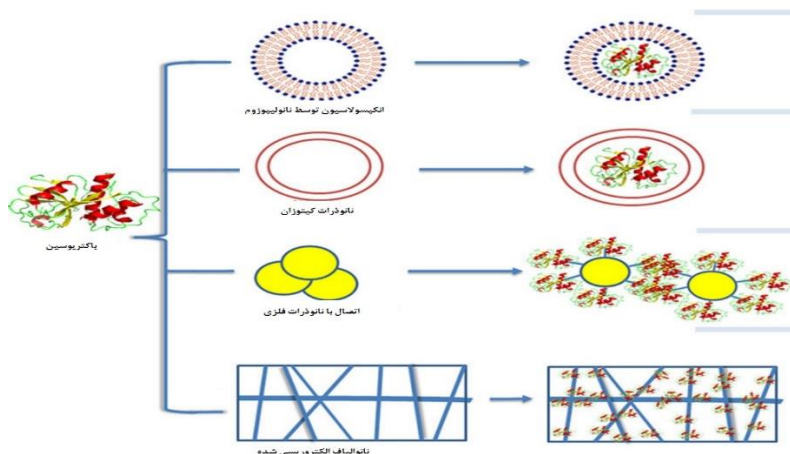
به طور کلی فناوری نانو استفاده از ساختارها و مواد مختلف در مقیاس نانو می باشد (با اندازه ۱ تا کمتر از ۱۰۰۰ نانومتر). این یک فناوری کاملاً جدید است که به دلیل ویژگی های منحصر- به فرد نانوذرات تولید شده دارای کاربردهای بسیار در زمینه های مختلف

علوم می باشد [۵]. ترکیب فناوری نانو و زیست فناوری^۲ دری به سمت فرصت های فراوان جهت حل مشکلات مربوط به بسیاری از محصولات بیولوژیکی گشوده است که سبب تاثیرگذاری بیشتر، رهایش کنترل شده مواد انکپسوله شده، حفاظت از تجزیه و همچنین بهبود خواص دارویی و فیزیکیوشیمیایی این ترکیبات شده است [۶]. باکتریوسین ها یکی از مواردی هستند که توان بهره مندی از فناوری نانو را دارا هستند. به عنوان مثال نانوانکپسولاسیون باکتریوسین هایی که به منظور نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی و دارویی مختلف استفاده می شوند سبب حفاظت آن ها در برابر تجزیه توسط آنزیم های پروتئولیتیک، جلوگیری از واکنش های نامطلوب با یکدیگر و همچنین دیگر اجزای تشکیل دهنده مواد غذایی و دارویی می شود. از طرفی نانوانکپسولاسیون منجر به افزایش عمر نگهداری و پایداری بیشتر باکتریوسین ها در مواد غذایی و دارویی می گردد [۷]. مطالعات اخیر نشان داده است که استفاده از باکتریوسین ها در نانوذرات سبب افزایش فعالیت این ترکیبات پپتیدی علیه میکروارگانیسم های ایجاد کننده فساد در مواد غذایی و همچنین کاهش مقاومت آن ها شده است [۸]. شکل ۱ روش های متداول نانوانکپسولاسیون باکتریوسین ها با کمک فناوری نانو را نشان داده است. همچنین در جدول ۱ خلاصه ای از مزایای عمده باکتریوسین های نانوفرموله شده با روش های مختلف نانوفناوری ذکر شده است [۹].

² Biotechnology

³ Controlled Release

¹ Hurdle Technology



شکل ۱. روش‌های متداول نانوانکپسولسیون باکتریوسین‌ها توسط فناوری نانو [۹]

جدول ۱: برخی از روش‌های بکارگیری باکتریوسین‌ها با استفاده از فناوری نانو در صنایع غذایی و دارویی [۹]

روش مورد استفاده	باکتریوسین	کاربرد	مزایای اصلی	نکات
انکپسولسیون با نانولیپوزوم	نایسین، پدیوسین	صنایع غذایی	پایداری بیشتر، بازده بالا نانوانکپسولسیون	انتخاب بخش لیپیدی نانولیپوزوم‌ها نقش مهمی در عملکرد محصول نهایی دارد
ترکیب با نانوذرات کیتوزان	نایسین	صنایع غذایی	درصد بسیار بالا تولید نانوذرات حاوی باکتریوسین، فعالیت طولانی، قدرت ضد میکروبی بالا و تاثیر بسیار کم بر کیفیت مواد غذایی	ترکیب کیتوزان با دیگر پلیمرهای غیریونی اثر مثبت بر خاصیت ضدمیکروبی دارد
اتصال با نانوذرت فلزی	نایسین، اتروسین و غیره	صنایع غذایی و دارویی	طیف فعالیت ضد میکروبی بالا	در رابطه با پایداری و سمیت این نانوذرات تحقیقات زیادی صورت گرفته است
اتصال با نانو الیاف الکتروپرسی شده	نایسین، پلانتاریسین	صنایع غذایی و دارویی	رهایش اولیه بالا و سپس رهایش پایدار و همچنین خاصیت ضدمیکروبی بالا و طولانی‌تر	دقت در انتخاب مواد اولیه الکتروپرسی و استفاده از مواد ضدمیکروبی دیگر سبب افزایش خاصیت ضدمیکروبی مخصوصا در صنایع دارویی می‌شود.

پوشش باکتریوسین‌ها (تقریباً ۱۰۰ درصد) از خود نشان داده‌اند [۱۱]. در یک مطالعه نانولیپوزوم‌های متشکل از ترکیبات مختلف لیپیدی و فسفولیپیدی با نسبت‌های متفاوت تهیه شده و به منظور ظرفیت انکپسوله کردن نایسین، پایداری و تاثیر بر باکتری‌ها مورد آزمون قرار گرفتند. بیشترین ظرفیت انکپسوله کردن نایسین توسط تیمار نانولیپوزوم متشکل از دی پالمیتویل فسفاتیدیل کولین/دی استیل فسفات/کلسترول^۳ با نسبت‌های ۷:۲:۱ که حدود ۵۵ درصد بود ثبت شد. همچنین این تیمار بیشترین پایداری را از خود نشان داد [۱۲]. در مطالعه‌ای مشابه de Mello و همکاران (۲۰۱۳)، پدیوسین^۴ به طور موفق با ۸۰ درصد بازده انکپسوله شدن، پایداری بالا و همچنین خاصیت ضدمیکروبی مناسب در مدت زمان حداقل ۱۳ روز از زمانی که توسط نانو و زیکول‌های فسفاتیدیل کولین احاطه شدند را از خود نشان دادند. اگرچه باید یادآور شد که در مقایسه با نمونه‌های

۳- رویکردهای نانوفناوری مورد استفاده در فرمولاسیون باکتریوسین‌ها

۳-۱-۱-۳- نانولیپوزوم‌ها

لیپوزوم‌ها دارای ساختار کروی متشکل از یک یا چند غشای دولایه فسفولیپیدی هستند که یک محیط آبی در مقیاس نانومتر تا میکرومتر را احاطه کرده است. لیپوزوم‌ها علاوه بر غیرسمی بودن، زیست تخریب پذیر هستند و به منظور انکپسولسیون مواد آبدوست و آبگریز استفاده می‌شوند [۱۰]. هنگامی که از لیپوزوم‌ها در مقیاس نانو استفاده می‌شود به عنوان پوششی با قابلیت عملکردی بالا برای مواد دارویی و ترکیبات زیست فعال از جمله باکتریوسین‌ها فراهم می‌آورند. به عنوان مثال نانولیپوزوم‌های بر پایه فسفاتیدیل کولین^۲ درصد بالایی از قابلیت

^۳ dipalmitoylphosphatidylcholine/dicetylphosphate/cholesterol

^۴ Pediocin

^۱ Nanoliposomes

^۲ phosphatidylcholine

کنترل که فاقد پوشش فسفاتیدیل کولین بودند، در مدت زمان کمتری دارای خاصیت ضد میکروبی مطلوب را نشان دادند که مشکل مزبور از طریق انکپسولاسیون نایسین توسط این نوع از لیپوزومها برطرف گردید [۱۳].

این مطالعات نشان داد که باکتریوسینهای محصور شده توسط نانولیپوزومها علاوه بر بالابردن توان عملکردی، عوارض زیست محیطی و شیمیایی نداشته و می‌توان از آنها به راحتی و با ایمنی بالا در مواد غذایی و دارویی بهره برد.

۳-۱-۲- نانوذرات لیپیدی جامد^۱

نانوذرات لیپیدی جامد انواعی دیگر از ترکیبات بر پایه لیپید هستند که به منظور انکپسولاسیون ترکیبات زیست فعال از جمله باکتریوسینها به کار گرفته می‌شوند. این نانوذرات از یک هسته تری گلیسیریدی با پوشش فسفولیپیدی دارای نقطه ذوب بالا تشکیل شده‌اند که سبب نگه داشتن آنها به صورت جامد در دمای اتاق و بدن شده است [۱۴]. هسته جامد این نوع از نانوذرات مبتنی بر لیپید سبب توان بالای تولید نانوذرات در مقیاس تجاری شده و همچنین خاصیت رهایش با سرعت پایین^۲ مواد زیست فعال را به این نانوذرات می‌افزاید [۱۵]. نتایج یک پژوهش که بر رهایش نایسین نانوانکپسوله شده توسط نانوذرات لیپیدی جامد طی ۲۵ روز نشان‌دهنده وابستگی رهایش به pH و غلظت نمک محلول محلول بافر بود. همچنین نایسین نانوکپسوله شده علیه باکتری لیستریا مونوسیژن^۳ به مدت بیش از ۲۰ روز و علیه باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم^۴ بیش از ۱۵ روز گزارش شد که در نمونه کنترل که از نایسین فاقد پوشش استفاده شده بود، این مقدار برای باکتری لیستریا مونوسیژن^۳ ۳ روز و لاکتوباسیلوس پلانتاروم فقط یک روز گزارش شد. نتایج فوق نشان داد که نانوذرات لیپیدی جامد سبب محافظت از باکتریوسینها در برابر تجزیه و همچنین افزایش طول دوره فعالیت ضد میکروبی آنها را شده است [۱۶].

۳-۲- استفاده از نانوذرات مبتنی بر کربوهیدرات

۳-۲-۱- نانوذرات کیوزان/آلژینات

کربوهیدراتها ترکیبات زیست تخریب پذیر با ویژگیهای متنوع هستند که در صنایع غذایی، دارویی و زیست محیطی به صورت گسترده مورد استفاده قرار گرفته می‌شوند. کیتوزان بیوپلیمر طبیعی است که توسط دی استیل کردن کیتین تولید می‌گردد و یکی از پلی‌ساکاریدهای معمول در تولید نانوذرات می‌باشد [۱۷]. خاصیت ضد میکروبی کیتوزان، غیرسمی بودن و سازگاری زیستی آن با بدن در کنار قابلیت انکپسولاسیون مواد فعال زیستی و دارویی، زمینه را برای استفاده فراوان از آن در صنایع مختلف فراهم کرده است. به عنوان مثال نانوذرات کیتوزان حاوی انسولین، واکسنهای مختلف و دیگر ملکولها ظرفیت مناسب و کارایی بالایی از خود نشان داده‌اند [۱۸]. ترکیب کیتوزان با آلژینات به منظور انکپسولاسیون نایسین کارایی بیشتری (۹۵)

درصد) را نشان داده است. نایسین در حالت نانوانکپسوله شده توسط آلژینات و کیتوزان نسبت به استفاده از نایسین به تنهایی دارای ۲ برابر خاصیت ضد میکروبی و MIC^۵ به میزان ۴ برابر بیشتر بوده است. همچنین این نانوذرات علیه لیستریا مونوسیژن^۶ و استافیلوکوکوس اورئوس^۷ اثر ضد میکروبی بیشتری را از خود نشان دادند [۱۹]. بنابراین از نانوذرات کیتوزان و آلژینات در صنایع غذایی و دیگر زمینهها به منظور افزایش کارایی باکتریوسینها با حداقل تاثیرات نامطلوب بر محیط مورد استفاده و همچنین بدن می‌توان بهره برد.

۳-۲-۲- نانوذرات فیتوگلیکوژن^۸

فیتوگلیکوژن پلی‌ساکاریدی است که در گیاهان یافت می‌شود و اخیراً در تهیه نانوذرات مختلف از جمله باکتریوسینها استفاده شده است [۲۰]. زمانی که توان مشتقات مختلف فیتوگلیکوژن به عنوان پوشش نایسین مورد آزمون قرار گرفت، تمامی آنها اثر ضد میکروبی در مدت زمان طولانی علیه لیستریا مونوسیژن^۶ نشان دادند. این زمان برای نانوذرات فیتوگلیکوژن حاوی نایسین ۲۱ روز و برای نمونه کنترل که حاوی نایسین بدون پوشش بود ۷ روز گزارش شده است. پژوهشگران به منظور انکپسولاسیون باکتریوسینها نانوذرات سازگار با محیط غذایی و همچنین ایمن را ترجیح می‌دهند که نانوذرات فیتوگلیکوژن از این موارد هستند [۲۱].

۳-۳- ترکیب با نانوفلزلز

۳-۳-۱- ترکیب با نانوذرات طلا

نانوذرات از جنس فلز مانند طلا، نقره، مس و روی اثر ضد میکروبی خوبی علیه باکتریهای پاتوژن از خود نشان داده‌اند. معمولاً این اثر به دلیل سطح زیاد این نانوذرات و بار مثبت این سطوح است که اتصال به غشای باکتریایی دارای بار منفی را تسهیل می‌کند. در ادامه باکتریهای هدف در اثر تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط واکنشهای اکسایشی همراه با خاصیت سمی بودن این نانوذرات بر آنها از بین می‌روند [۲۲]. با استفاده از خاصیت ضد میکروبی نانوذرات فلزی در کنار باکتریوسینها می‌توان بر مقاومت ضد میکروبی باکتریهای پاتوژن غلبه کرد. بنابراین از ترکیب باکتریوسینها با نانوذرات فلزی انتظار اثر سینرژیستی بر خصوصیات ضد میکروبی می‌رود. نتایج یک مطالعه نشان داد که نانوذرات طلا متصل به نایسین و یا یک باکتریوسین دیگر حاصل از لاکتوباسیلوس پلانتاروم علیه استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس^۹ و اش‌ریشیا کلی^{۱۰} به طور معنی داری اثر ضد میکروبی بالاتر در مقایسه با این باکتریوسینها در حالت عادی نشان دادند [۲۳]. نتایج این پژوهش بیانگر اثر مثبت ترکیب باکتریوسینها و نانوذرات فلزی به منظور افزایش عمر ماندگاری محصولات غذایی توسط غیرفعال‌سازی میکروارگانیسمهای غذازا

^۵ Minimum Inhibitory Concentration

^۶ *L. monocytogenes*

^۷ *S. aureus*

^۸ Phytoglycogen

^۹ *B. cereus*

^{۱۰} *E. coli*

^۱ Solid Lipid Nanoparticles

^۲ Slow-Release

^۳ *L. monocytogenes*

^۴ *L. plantarum*

روز این اثر را از خود نشان داد. این نتایج نشان‌دهنده توان بالای نانوالیاف پلی لاکتیک اسید حاوی باکتریوسین‌ها به منظور استفاده در صنایع غذایی به عنوان ترکیبات نگه‌دارنده است [۲۷].

۴- نتیجه‌گیری

در حال حاضر باکتریوسین‌ها به عنوان یک جایگزین امیدوارکننده برای آنتی‌بیوتیک‌هایی مطرح هستند که بسیاری از میکروارگانیسم‌ها در برابر آن‌ها مقاومت نشان می‌دهند. اگرچه استفاده از باکتریوسین‌ها به عنوان ترکیبات ضد میکروبی و نگهدارنده طبیعی با محدودیت‌هایی در صنایع غذایی و دارویی مواجه است اما سیستم‌های نانویی مختلف مانند لیپیدی، کربوهیدراتی، فلزی و بر پایه نانوذرات پلیمری که در این پژوهش ذکر شد، زمینه را برای حداکثر استفاده از باکتریوسین‌ها فراهم آورده است. نمونه‌هایی از ترکیبات نانو که در این پژوهش اشاره گردید نشان دهنده پایداری بیشتر و همچنین طیف گسترده‌تر اثر ضد میکروبی باکتریوسین‌ها در مقایسه با استفاده از آن‌ها به تنهایی بود. به طور کلی تحقیقات کاربردی در خصوص باکتریوسین‌ها با رویکردهای مبتنی بر فناوری نانو پهنه‌ای را به سمت فرمولاسیون و تولید این ترکیبات پیتیدی ضد میکروبی در سطح صنعتی و تجاری گشوده است.

۵- منابع

1. Castellano, P., Aristoy, M. C., Sentandreu, M. A., Vignolo, G., and Toldrá, F. (2012). *Lactobacillus sakei* CRL1862 improves safety and protein hydrolysis in meat systems. *J. Appl. Microbiol.* 113, 1407–1416.
2. El-Gendy, A. O., Essam, T. M., Amin, M. A., Ahmed, S. H., and Nes, I. F. (2013). Clinical screening for bacteriocinogenic *Enterococcus faecalis* isolated from intensive care unit inpatient in Egypt. *J. Microb. Biochem. Technol.* 4, 161–167.
3. Zacharof, M., and Lovitt, R. (2012). Bacteriocins produced by lactic acid bacteria a review article. *APCBEE Procedia* 2, 50–56.
4. Saraniya, A., and Jeevaratnam, K. (2014). Optimization of nutritional and nonnutritional factors involved for production of antimicrobial compounds from *Lactobacillus pentosus* SJ65 using response surface methodology. *Braz. J. Microbiol.* 45, 81–88.
5. Chou, L. Y., Ming, K., and Chan, W. C. (2011). Strategies for the intracellular delivery of nanoparticles. *Chem. Soc. Rev.* 40, 233–245.
6. Farokhzad, O. C., and Langer, R. (2009). Impact of nanotechnology on drug delivery. *ACS Nano* 3, 16–20.

معمول بود. در یک مطالعه مشابه، باکتریوسین‌های تولید شده توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس^۱ به نانوذرات طلا متصل شدند و نتایج آن درمورد روده موش که از نظر میکروبی دچار نقص ایمنی بود بررسی شد. این ترکیب باکتریوسین-نانوذرات طلا ۸۹/۷ درصد کاهش در تعداد سلول‌های آلوده روده و همچنین ۹۳/۶۵ درصد کاهش در اسپورهای مدفوعی در مقایسه با ۷۳/۵ درصد و ۸۱/۲۹ درصد به ترتیب برای سلول‌های آلوده روده و اسپورهای مدفوعی را نشان داد. به علاوه پایداری بالای ترکیب باکتریوسین-نانوذرات طلا (۹۴/۲۶ درصد) طی درمان موش به اثبات رسید. این ترکیب ایمنی بالا و غیر سمی بودن را طی آزمایشات بیوشیمیایی و بالینی بر موش نشان داد [۸].

۳-۲- ترکیب با نانوذرات نقره

نانوذرات نقره دارای طیف گسترده‌ای از فعالیت ضد میکروبی حتی علیه باکتری‌های پاتوژن مقاوم هستند [۲۴]. حداکثر خاصیت ضد میکروبی این نانوذرات زمانی است که با دیگر عوامل ضد میکروبی مانند باکتریوسین‌ها ترکیب شوند. این رویکرد توسط Sharma و همکاران (۲۰۱۲) مورد مطالعه قرار گرفت. آن‌ها از انتریوسین^۲ متصل به نانوذرات نقره به منظور علیه طیف گسترده‌ای از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی پاتوژن استفاده کردند که از اثر ضد میکروبی بالایی نشان داد. بیشترین سطح فعالیت ضد میکروبی نانوذرات نقره-انتریوسین علیه سه میکروارگانیسم مسمومیت‌زای اشریشیاکلی، لیستریا مونوسیتوژنز و استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. MIC ترکیب نانوذرات نقره-انتریوسین علیه باکتری‌های مورد آزمون ۲ تا ۱۶ برابر نسبت به ترکیب نانوذرات نقره-سیترات بیشتر بود. این نتایج می‌تواند مشوق پژوهشگران به منظور پژوهش در رابطه با ترکیب نانوذرات نقره با دیگر باکتریوسین‌ها باشد. باید این نکته را در نظر داشت که پژوهش‌های بیشتری مورد نیاز است تا ایمنی این ترکیب به منظور استفاده در صنایع غذایی و دارویی به اثبات برسد [۲۵].

۳-۴- اتصال با نانوالیاف‌های پلیمری

نانوالیاف‌ها توسط الکتروریسی با استفاده از یک میدان الکتریکی با پتانسیل بالا تشکیل می‌شوند. نانوالیاف‌ها با توجه به داشتن سطح زیاد، منافذ کوچک، پایداری بالا و توان انکپسولاسیون زیاد به طور گسترده‌ای به منظور محیط‌های حامل مواد دارویی و زیست فعال در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی استفاده می‌گردند [۲۵]. در همین راستا از نانوالیاف‌های حاوی نایسین و پلی اتیلن اکسید به منظور پانسیمان زخم استفاده شده است [۲۶]. Salmaso و همکاران (۲۰۰۴) اثر ضد میکروبی نایسین که توسط نانوالیاف پلی لاکتیک اسید پوشانده شده بودند علیه باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی^۳ را بررسی کردند. نتایج نشان داد که نانوالیاف حاوی نایسین دارای اثر ضد میکروبی پایدار در مدت زمان بیش از ۴۵ روز بود در حالی که نایسین به تنهایی فقط ۷

^۱ *L. acidophilus*

^۲ enterocin

^۳ Polymeric Nanofibers

^۴ *L. delbrueckii*

18. Zhang, N., Li, J., Jiang, W., Ren, C., Li, J., Xin, J., et al. (2010). Effective protection and controlled release of insulin by cationic β -cyclodextrin polymers from alginate/chitosan nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 393, 213–219.
19. Zohri, M., Shafiee Alavidjeh, M., Mirdamadi, S. S., Behmadi, H., Hossaini Nasr, S. M., Eshghi Gonbaki, S., et al. (2013). Nisin-Loaded chitosan/alginate nanoparticles: a hopeful hybrid biopreservative. *J. Food Saf.* 33, 40–49.
20. Chen, H., Narsimhan, G., and Yao, Y. (2015). Particulate structure of phytyglycogen studied using beta-amylolysis. *Carbohydr. Polym.* 132, 582–588.
21. Bi, L., Yang, L., Narsimhan, G., Bhunia, A. K., and Yao, Y. (2011a). Designing carbohydrate nanoparticles for prolonged efficacy of antimicrobial peptide. *J. Control. Release* 150, 150–156.
22. Seil, J. T., and Webster, T. J. (2012). Antimicrobial applications of nanotechnology: methods and literature. *Int. J. Nanomedicine* 7, 2767.
23. Thirumurugan, A., Ramachandran, S., and Gowri, A. S. (2013). Combined effect of bacteriocin with gold nanoparticles against food spoiling bacteria-an approach for food packaging material preparation. *Int. Food Res. J.* 20, 1909–1912.
24. Zinjarde, S. S. (2012). Bio-inspired nanomaterials and their applications as antimicrobial agents. *Chron. Young Sci.* 3, 74.
25. Sharma, R., Singh, H., Joshi, M., Sharma, A., Garg, T., Goyal, A. K., et al. (2014). Recent advances in polymeric electrospun nanofibers for drug delivery. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 31, 187–217.
26. Heunis, T. D., Smith, C., and Dicks, L. M. (2013). Evaluation of a nisin-eluting nanofiber scaffold to treat *Staphylococcus aureus*-induced skin infections in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 57, 3928–3935.
27. Salmaso, S., Elvassore, N., Bertuccio, A., Lante, A., and Caliceti, P. (2004). Nisin-loaded poly-L-lactide nano-particles produced by CO₂ anti-solvent precipitation for sustained antimicrobial activity. *Int. J. Pharm.* 287, 163–173.
7. Brandelli, A. (2012). Nanostructures as promising tools for delivery of antimicrobial peptides. *Mini Rev. Med. Chem.* 12, 731–741.
8. Mossallam, S. F., Amer, E. I., and Diab, R. G. (2014). Potentiated antimicrosporidial activity of *Lactobacillus acidophilus* CH1 bacteriocin using gold nanoparticles. *Exp. Parasitol.* 144, 14–21.
9. Fahim, H. A., Khairalla, A. S., & El-Gendy, A. O. (2016). Nanotechnology: a valuable strategy to improve bacteriocin formulations. *Frontiers in Microbiology*, 7.
10. Kulkarni, S. B., Betageri, G. V., and Singh, M. (1995). Factors affecting microencapsulation of drugs in liposomes. *J. Microencapsul.* 12, 229–246.
11. da Silva Malheiros, P., Sant'Anna, V., Utpott, M., and Brandelli, A. (2012a). Antilisterial activity and stability of nanovesicle-encapsulated antimicrobial peptide P34 in milk. *Food Control* 23, 42–47.
12. Colas, J.-C., Shi, W., Rao, V. M., Omri, A., Mozafari, M. R., and Singh, H. (2007). Microscopical investigations of nisin-loaded nanoliposomes prepared by Mozafari method and their bacterial targeting. *Micron* 38, 841–847.
13. de Mello, M. B., da Silva Malheiros, P., Brandelli, A., da Silveira, N. P., Jantzen, M. M., and da Motta Ad, S. (2013). Characterization and antilisterial effect of phosphatidylcholine nanovesicles containing the antimicrobial peptide pediocin. *Probiotics Antimicrob. Proteins* 5, 43–50.
14. Puri, A., Loomis, K., Smith, B., Lee, J.-H., Yavlovich, A., Heldman, E., et al. (2009). Lipid-based nanoparticles as pharmaceutical drug carriers: from concepts to clinic. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 26, 523–580.
15. Feng, L., and Mumper, R. J. (2013). A critical review of lipid-based nanoparticles for taxane delivery. *Cancer Lett.* 334, 157–175.
16. Prombutara, P., Kulwatthanasal, Y., Supaka, N., Sramala, I., and Chareonpornwattana, S. (2012). Production of nisin-loaded solid lipid nanoparticles for sustained antimicrobial activity. *Food Control* 24, 184–190.
17. Nitta, S. K., and Numata, K. (2013). Biopolymer-based nanoparticles for drug/gene delivery and tissue engineering. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 1629–1654.