Archive of SID

بررسی خاصیت ضد میکروبی ناتامایسین به صورت آزاد و ریز پوشانی شده در دوغ پاستوریزه

سمیرا تیزچنگ[1]، محمود صوتی خیابانی[2*]، اویس قادرزاده[3]، یوسف جوادزاده[4]، رضا رضایی مکرم[2]، جواد حصاری[5]

۱- دانشجوی دکتری گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۲- دانشیار و عضو هیئت علمی گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
۳- دانش آموخته گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
٤- دانشیار و عضو هیئت علمی گروه فارماسینوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
۵- استاد و عضو هیئت علمی گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۹٤/۰۹/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۸/۰۸)

چکیده

لیپوزوم‌ها ذرات کروی شکل، شامل سیستم غشائی تشکیل شده از لایه‌های چربی هستند که بدلیل ساختار آمفی فیلیک خود، مولکول‌های آبدوست را داخل فضای درونی و مولکول‌های چربی دوست را بین غشاء لیپوفیلیک کپسول ریز پوشانی می‌کنند. یکی از کاربردهای لیپوزوم، درون پوشانی پپتیدهای ضدمیکروبی می‌باشد. درون پوشانی پپتیدهای ضدمیکروبی در لیپوزم‌ها یک روش جایگزینی و موثر در زمینه حفاظت مواد ضدمیکروبی، افزایش میزان کارایی درون پوشانی و پایداری این ترکیبات در کاربردهای غذایی به شمار می‌آید. در این تحقیق، لیپوزوم‌های حاوی ناتامایسین به روش حرارتی تولید شدند سپس اندازه ذرات نانولیپوزوم‌ها، درصد درون پوشانی و اثرات ضد میکروبی ناتامایسین آزاد و انکپسوله شده بر *رشد آسپرژیلوس نایجر* مورد بررسی قرار گرفت اندازه ذرات نانولیپوزم‌های حاوی ناتامایسین ۱/٤± ۸۹ نانومتر وکارایی درون پوشانی ناتامایسین ۸۰ درصد بود. نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد، استفاده از ناتامایسین به صورت آزاد و انکپسوله شده جمعیت باکتریایی را کاهش می‌دهد. اما تاثیر آنها نسبت به هم (آزاد و انکپسوله شده) مشابه است.

کلید واژگان: ناتامایسین، مواد ضدمیکروبی، روش حرارتی، نانولیپوزوم

*مسئول مکاتبات: m.sowti@tabrizu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱- مقدمه

فناوری نانو در علم مواد غذایی شامل استفاده از سیستم‌های نانوحامل جهت کپسوله کردن مواد زیست فعال در برابر طیف وسیعی از تغییرات زیست محیطی، شیمیایی همچنین بهبود خواص مواد کپسوله شده است از سیستم‌های کلوئیدی بر پایه لیپید می‌توان به نانومولسیون، میکرومولسیون، نانو ذرات لیپید جامد (SLN) و لیپوزوم‌ها و.... اشاره نمود. یکی از روش‌های کپسوله کردن رایج در صنایع غذایی و دارویی استفاده از سیستم کلوئیدی، لیپوزوم است. لیپوزوم‌ها ذرات کروی تشکیل شده از لیپیدهای قطبی هستند که به محض واکنش با آب به صورت سازمان یافته و به فرم غشاهای دو لایه‌ای، تجمع می‌یابند. لیپوزوم‌ها می‌توانند ترکیبات آبدوست را در هسته و ترکیبات آبگریز را در لایه لیپیدی به دام اندازند. به دلیل سازگاری، زیست تخریب پذیری، توزیع یکنواخت مواد زیست فعال نسبت به فرم آزاد آن، کاربردهای گسترده‌ای دارند. اخیرا به توانایی لیپوزوم‌ها درکپسوله کردن ترکیبات ضدمیکروبی طبیعی مانند باکتریوسین‌ها که قادر به محافظت از مواد غذایی در برابر آلودگی‌های میکروبی هستند پی برده‌اند [۱و۲]. ناتامایسین از جمله ترکیبات ضدمیکروبی می‌باشد. این ترکیب، یک پلی‌ان است که بر روی مخمرها و کپک‌ها کاملاً موثر بوده و حدود چندین سال است که در نوشیدنی‌ها و بعضی مواد غذایی خاص مانند پنیر، گوشت، آب میوه‌ها، محصولات نانوایی، ماست، شراب و سوسیس به صورت افزودن مستقیم، اسپری کردن و غوطه وری استفاده می شود [۳و٤]. در تحقیقی که توسط محمدی ثانی و همکاران [۵] صورت گرفت اثر ناتامایسین را در افزایش مدت ماندگاری پنیر UF مورد بررسی قرار دادند. این محققان مقادیر ۰/۵، ۱، ۲ و ٤ قسمت در میلیون ناتامایسین را در دو فصل بهار و تابستان و در شرایط مختلف ذخیره سازی مورد استفاده قرار دادند. نتایج این محققان نشان داد که ناتامایسین در مقادیر مورد استفاده هیچگونه تأثیر معنی‌داری بر pH، شمارش کل جمعیت میکروبی و ویژگی‌های حسی نداشته است اما اثر ناتامایسین در مقادیر ۱، ۲ و ٤ قسمت در میلیون بر شمارش کپک و مخمر معنی‌دار می‌باشد. همچنین میزان افزایش ماندگاری از نظر آماری معنی‌دار بوده و این مقدار برای تیمارهای فصل بهار بین ۲۵ تا ۵۰٪ و برای تیمارهای فصل تابستان بین ۵۰ تا ۵۰۰٪ بوده است همچنین در تحقیقی، کولاس و همکاران [٦]، با استفاده از روش حرارتی و با در نظر گرفتن نسبت‌هایی متفاوت فسفولیپید، لیپوزوم‌هایی با توزیع ذرات باریکتر، راندمان درون پوشانی بالاتر و پایداری بالا طی زمان و هدف‌گیری بهتر سلول باکتری تولید کردند. نیلسون و همکاران [۷]، اثر ناتامایسین و مایکوستاتین را در پنیر جهت جلوگیری از رشد قارچ ها مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که وجود این ترکیبات اثر معنی‌داری بر کاهش شمارش قارچ‌های *آسپرژیلوس نایجر و ساکارومیسس سرویزیه* دارد. همچنین بهترین نتایج در استفاده از این ترکیبات ضد قارچی در دماهای پایین نگهداری به دست آمده است. با توجه به اینکه استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی به صورت آزاد موجب تجزیه پروتئولیتیک و برهمکنش ماده ضدمیکروبی با ترکیبات ماده غذایی مانند چربی و پروتئین می‌شود که ممکن است منجر به کاهش فعالیت ماده ضدمیکروبی گردد. بنابراین استفاده از حامل-های لیپوزوم، یک روش موثر در کپسوله کردن مواد ضدمیکروبی می‌باشد. یکی از روش‌های تهیه لیپوزوم بدون استفاده از حلال-های آلی، روش حرارتی می‌باشد [۸و۹]. تحقیقات زیادی در مورد روش حرارتی انجام گرفته است. تیزچنگ و همکاران [۱۰]، با استفاده از روش حرارتی با در نظر گرفتن سه متغییر غلظت فسفولیپید (۰/۱٤تا ۲/۱٤ گرم)، سرعت فرآیند (۵۰۰ تا ۱۳٦۰ دور در دقیقه) و زمان فرآیند (۳۰ تا ۹۰ دقیقه) نانولیپوزوم-های حاوی نایسین تولید کردند، در این پژوهش مقادیر بهینه متغییرهای غلظت فسفولیپید، سرعت فرآیند و زمان فرآیند در بهینه سازی، به ترتیب ۲/۱٤ گرم، ۹۳۰ دور در دقیقه و ۹۰ دقیقه بود. و کارایی درون پوشانی کپسول‌های لیپوزومی۳۰٪ محاسبه گردید و نتایج حاصل از گرماسنجی اسکنی افتراقی (DSC)، تشکیل ساختارهای جدید را نشان داد. در تحقیقی دیگر که مارساناسکو و همکاران [۱۱]، بر روی لیپوزوم‌های حاوی ویتامین E و C (تولید شده به روش هیدراسیون لایهٔ نازک) در غنی سازی آب پرتقال به منظور افزایش پایداری لیپوزوم انجام دادند، از اسید استئاریک به جای کلسترول استفاده کردند و نتایج نشان داد که افزودن فرمولاسیون لیپوزومی به آب پرتقال، تغییری در خصوصیات ارگانولپتیکی محصول ایجاد نکرده و آب پرتقال پایداری میکروبی خوبی (طی مدت ۳۷ روز و در دمای$^{\circ}$C ٤)

www.SID.ir

Archive of SID

نشان داد. آنها همچنین اعلام کردند که اسید استئاریک می‌تواند جایگزین خوبی برای کلسترول در فرمولاسیون لیپوزومی باشد. در تحقیقی دیگر، کو و همکاران [١٢]، بر روی پایداری نانولیپوزوم‌های حاوی رتینول (تولید شده به روش هیدراسیون- اکستروژن) تحت شرایط تاریکی و نور UV در دماهای (٤ ، ٢٥، ٣٧ و ٥٠ درجه سانتی‌گراد) انجام دادند. نتایج نشان داد که پایداری نانو لیپوزوم‌های حاوی رتینول تحت شرایط تاریکی و نور UV افزایش یافته. و با توجه به اینکه رتینول در دماهای بالاتر سریعتر تجزیه شد، بیشترین حفاظت نانولیپوزوم حاوی ریتینول در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و تحت شرایط تاریکی بدست می‌آید. که احتمالاً به دلیل کاهش نفوذ پذیری غشا نسبت به اکسیژن، نور و کاهش اکسیداسیون و هیدرولیز فسفولیپید بوده است. با توجه به مطالعات انجام شده، نانولیپوزوم‌ها پتانسیل خوبی را برای غنی سازی مواد غذایی با ترکیبات زیست فعال آبگریز هستند. با توجه به معایب استفاده از ترکیبات ضدمیکروبی به صورت آزاد، در این تحقیق اثرات ضدمیکروبی ناتامایسین به صورت توآم و جداگانه، به دو فرم آزاد و نانولیپوزومی (تولید شده به روش حرارتی) مورد بررسی قرار می‌گیرد.

٢- مواد و روش ها

٢-١- مواد

لسیتین (با نام تجاری، ال- آلفا- لستین با درجه خلوص ٩٩٪ از شرکت Across، آمریکا)، ناتامایسین (DSM، دانمارک)، گلیسرول (با درجه خلوص ٨٠٪، شرکت Merck، آلمان) ، دی سدیم هیدروژن فسفات (Merck،آلمان)، و محیط کشت سابرو دگستروز آگار (شرکت Merck، آلمان).

٢-٢- دستگاه‌ها و تجهیزات مورد استفاده

دستگاه اندازه‌گیری، اندازه ذرات (مدل Sald-2010، ساخت شرکت Shimadzu، ژاپن)، دستگاه همزن برقی (مدل Rer، ساخت شرکت Ika، آلمان)، دستگاه سانتریفوژ (مدل ٣٠ Avanti ، ساخت شرکت Beckman، امریکا)، دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل ٢٠٠ Ultrospec، ساخت شرکت Pharmacia Biotech، انگلیس)، لام نئوبار (ساخت شرکت HBG، آلمان) ، آمیکون (فالکون فیلتردار) (Millipore، آمریکا) و دستگاه میکروسکوپ الکترونی گذاره (Leo 906)(TEM مدل Zeiss 100 KV، ساخت آلمان).

٢-٣- روش های تولید و آماده سازی سیستم لیپوزوم

برای تولید نانولیپوزوم‌های حاوی ناتامایسین، ابتدا ٣٠/٠١ میلی مولار لسیتین در بافر فسفات با pH=٧/٤ به مدت ٢ ساعت هیدراته کرده سپس مقدار ٠/٠١ گرم از ناتامایسین را در ٣ میلی لیتر گلیسرول حل کرده و در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد تحت نیروی برشی دستگاه همزن مغناطیسی ١٣٥٩ دور در دقیقه و مدت زمان فرآیند ٩٠/٣٤ دقیقه قرار گرفت. به منظور پایداری فرمولاسیون لیپوزومی به مدت ١٥ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و سپس در یخچال در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

٢-٤- تعیین اندازه ذرات

متوسط اندازه ذرات براساس میانگین قطر حجمی توسط معادله (١) محاسبه شد و کلیه نمونه‌ها در سه تکرار اندازه گیری شدند [١١].

معادله (١)

$$\overline{D}[4,3] = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3}$$

d_i: قطر ذرات، $\overline{D}[4,3]$: میانگین قطر حجمی (میانگین حجم معادل) یا DeBroukere mean

٢-٥- درصد درون پوشانی

تعیین درصد درون پوشانی ناتامایسین در دو مرحله انجام شد: در مرحله اول، به منظور تعیین راندمان درون پوشانی ناتامایسین، ابتدا رقت‌های مختلف ناتامایسین توسط بافر فسفات (pH=٧/٤) تهیه شد و مقادیر جذب آنها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، در طول موج ٣١٠ نانومتر محاسبه شد سپس منحنی کالیبراسیون ناتامایسین رسم گردید. در مرحله بعد، مقدار ٤-٣ میلی‌لیتر از لیپوزم‌های تولید شده به منظور جداسازی ناتامایسین آزاد از کپسوله شده توسط آمیکون (فالکون فیلتردار) در سانتریفوژ با

www.SID.ir

Archive of SID

سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. ناتامایسین آزاد از منافذ بسیار ریز فیلتر عبور کرده و ناتامایسین کپسوله شده در قسمت بالای فیلتر باقی‌ماند. مقدار جذب ناتامایسین آزاد موجود، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه گردید. مقدار ناتامایسین آزاد برای ٤ میلی‌لیتر و در نهایت برای حجم نمونه نهایی محاسبه گردید. مقدار ناتامایسین کپسوله شده بر اساس معادله (۲) محاسبه گردید [۱۳].

معادله(۲)

$$\text{درصد ناتامایسین آزاد} = \frac{\text{مقدار ناتامایسین آزاد}}{\text{مقدار کل ناتامایسین اضافه شده}} \times ۱۰۰$$

۲-٦- آزمون‌های میکروبی

۲-٦-۱- تأثیر ناتامایسین آزاد و لیپوزوم شده بررشد *آسپرژیلوس نایجر* در فرمولاسیون بهینه

ابتدا، توسط سانتریفیوژ با دور ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه، ناتامایسین کپسوله شده از ناتامایسین آزاد جدا شد و جهت حذف آلودگی میکروبی و قارچی از فیلترهای ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد. سپس نانولیپوزوم‌های حاوی غلظت‌های مختلف (۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم در یک کیلوگرم) از ناتامایسین کپسول پوشانی شده و ناتامایسین آزاد به نمونه‌های دوغ پاستوریزه شده ، اضافه گردید. در تمامی مراحل انجام پژوهش تمامی وسایل مورد استفاده استریل شده و سعی بر این شد که هیچگونه آلودگی با ساپروفیت‌های شایع در محیط صورت نگیرد و نمونه‌های دوغ فقط توسط *آسپرژیلوس نایجر* آلوده شدند (برای انجام این آزمون از سوسپانسیون اسپور به میزان $۱۰^{۶}$ اسپور بر میلی‌لیتر استفاده شد). و تأثیر ناتامایسین آزاد و لیپوزومی شده بررسی گردید. و در زمان‌های ۱، ۷، ١٤، ۲۱ و ۲۸ روز از نمونه‌های تلقیح شده و نمونه شاهد بدون *آسپرژیلوس نایجر* بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار به روش سطحی، کشت صورت گرفته و هر هفته از نظر رشد *آسپرژیلوس نایجر* بر روی محیط کشت بررسی گردید.

۲-۷-آزمون میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)

به منظور بررسی مورفولوژی نانو ذرات و تأیید اندازه ذرات، یک قطره از نمونه‌ی سوسپانسیونی ذرات لیپیدی بر روی گرید فیلم کربنی قرار داده شده و پس از خشک شدن آن در دمای آزمایشگاه با استفاده از دستگاه میکروسکوپ الکترونی گذاره تصویربرداری شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تعیین اندازه ذرات

نتایج حاصل از اندازه ذرات در فرمولاسیون با غلظت فسفولیپید ۳۰/۰۱ میلی مولار، نیروی برشی دستگاه همزن مغناطیسی ۱۳۵۹ دور در دقیقه و مدت زمان فرآیند ۹۰/۳٤ دقیقه، ذرات با اندازه ذره‌ای ۱/٤± ۸۹ نانومتر را نشان داد.

۳-۲-کارایی درون پوشانی

نتایج حاصل از تهیه رقت‌های مختلف ناتامایسین و تعیین جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتری و همچنین نتایج حاصل از منحنی کالیبراسیون ناتامایسین در شکل (۱) آورده شده است. نتایج حاصل از میزان محصورسازی کپسول‌های حاوی ناتامایسین، در حدود ۸۰٪ محاسبه گردید. در واقع ورود مواد هیدروفوب در لایه دوگانه لیپوزوم‌ها ناشی از برهمکنش ماده و فسفولیپید می-باشد و میزان درصد کپسولاسیون وابسته به حلالیت ماده در غشا لیپوزومی دارد [١٤]. با توجه به ماهیت لیپوفیل ناتامایسین و قرار گرفتن در لایه دوگانه لیپوزوم، توجه به این نکته ضروری است که انتخاب نسبت ماده به فسفولیپید از اهمیت فوق العاده‌ای برخوردار است زیرا ظرفیت بارگیری لیپوزوم‌ها جهت مواد لیپوفیل محدود می‌باشد به طوریکه بعضی از محققین مقدار بارگیری در لایه دوگانه را حداکثر تا ۱۰ درصد میزان فسفولیپید عنوان کرده‌اند [۱۵]. در نتیجه نسبت انتخاب شده (۰/۰۱گرم به ۰/۰۳) در این تحقیق سبب شده است که امکان کپسولاسیون قابل توجه فراهم شود.

www.SID.ir

Archive of SID

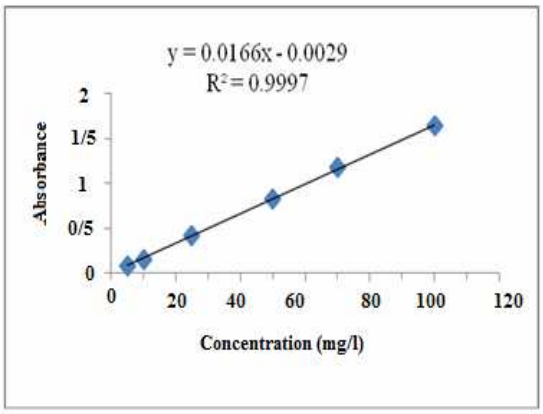

Fig 1 the results of the calibration curve of Natamycin

۳-۳- نتایج تأثیر ناتامایسین آزاد و لیپوزوم شده بر *آسپرژیلوس نایجر* در فرمولاسیون بهینه

جدول (۱) نتایج تاثیر ناتامایسین کپسوله شده و آزاد بر رشد *آسپرژیلوس نایجر* در نمونه های شاهد بدون *آسپرژیلوس نایجر*، نمونه شاهد تلقیح شده با *آسپرژیلوس نایجر* بدون ناتامایسین و نمونه حاوی ۱۰و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ناتامایسین را بیان می‌کند. با توجه به این جدول، در نمونه‌های شاهد بدون *آسپرژیلوس نایجر*، هیچگونه رشد قارچی صورت نگرفته است ولی در تمامی نمونه‌های دوغ تلقیح شده با *آسپرژیلوس نایجر* بدون ماده ضد میکروبی، رشد صورت گرفته است. در نمونه حاوی ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ناتامایسین آزاد و کپسوله شده و همچنین در نمونه حاوی ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ناتامایسین کپسوله شده، رشد *آسپرژیلوس نایجر* فقط در زمان اول صورت گرفته است که احتمالاً به دلیل عدم زمان کافی جهت تأثیر ناتامایسین بر *آسپرژیلوس نایجر* بوده است که در نهایت رشد *آسپرژیلوس نایجر* بر روی محیط کشت صورت گرفته است. در نمونه‌های حاوی ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم، ناتامایسین آزاد، به علت بالا بودن غلظت ماده ضد میکروبی، در زمان‌های ۱، ۷، ١٤، ۲۱ و ۲۸ روز، رشد *آسپرژیلوس نایجر* بر روی محیط کشت صورت نگرفته است و در نمونه کپسوله شده نیز رشد *آسپرژیلوس نایجر* مشاهده نشد.

در تحقیقی، تیلور وهمکاران [١٦]، اثرات ضد قارچی فیلمهای بیوپلیمری حاوی ناتامایسین و اسانس رزماری را در برابر *آسپرژیلوس نایجر* و *پنی سیلیوم روکفورتی* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد، حداقل غلظت برای مقابله با قارچ‌ها ۱و ۲ میلی‌گرم به ازای ۱۰گرم محلول فیلم می‌باشد. نتایج نشان داد، ناتامایسین در غلظتهای پایین اثر معنی داری بر شمارش کپک ها و مخمرها ندارد، ولی ترکیبی از ناتامایسین در غلظتهای پایین و اسانس روزماری تاثیر معنی داری بر کاهش شمارش میکروبی دارد. با توجه به این تحقیق، یکی از عوامل تاثیر گذار در فعالیت ضدمیکروبی نوع سیستم حامل می‌باشد و از عوامل تاثیر گذار دیگر، نوع و خلوص ماده اولیه بار سطحی ذرات و غیره میباشد.

Table 1 Impact of free and encapsulated Natamycin on the growth of *Aspergillus niger* in pasteurized doogh samples

Time/Days	Control (without *A.niger*)	Control (With *A.niger*)	Sample with 10ppm free NA	Sample with 10ppm en-NA*	Sample with 20ppm free NA	Sample with 20ppm en-NA
1	Inhibition	Growth	Growth	Growth	Inhibition	Growth
7	Inhibition	Growth	Inhibition	Inhibition	Inhibition	Inhibition
14	Inhibition	Growth	Inhibition	Inhibition	Inhibition	Inhibition
21	Inhibition	Growth	Inhibition	Inhibition	Inhibition	Inhibition
28	Inhibition	Growth	Inhibition	Inhibition	Inhibition	Inhibition

*en-NA:encapsulated Natamycin

۳-٤- میکروسکوپ الکترونی گذاره (TEM)

به منظور بررسی مورفولوژی ذرات، تصویر میکروسکوپ الکترونی از نمونه تهیه شد (شکل ۲). تصویر مربوطه، وجود وزیکول‌های کروی شکل، یونی لاملار[1] با اندازه ۱۸۰ نانومتر را نشان می‌دهد که این نتایج، تایید تشکیل نانو ذرات لیپیدی می-باشد.

1. ULVS (Unilamellar Vesicles)

www.SID.ir

Archive of SID

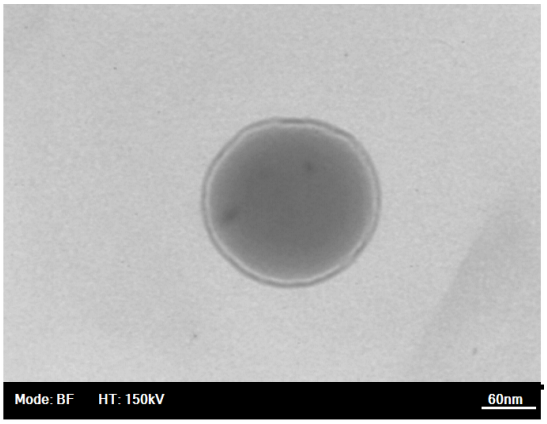

Fig 2 TEM micrographs of liposomes containing Natamycin

٤- نتیجه گیری

نتایج نشان داد، در فرمولاسیون با غلظت ۳۰/۰۱ میلی مولار، زمان فرآیند ۹۰/۳٤ دقیقه و سرعت فرآیند ۱۳۵۹ دور در دقیقه، اندازه ذرات ۱/٤± ۸۹ نانومتر بوده و کارایی درون پوشانی ۸۰٪ می‌باشد. در بررسی اثرات ضدمیکروبی ناتامایسین به صورت آزاد و انکپسوله شده، عدم رشد *آسپرژیلوس نایجر* در نمونه های دوغ پاستوریزه شده مشاهده گردید.

٥- منابع

[1] Mozafari M, Johnson C, Demetzos C. 2008. Nanoliposomes and their application in food nanotechnology. *In J Liposome*. 18: 309 – 327.

[2] Mozafari M, Flanagan J, Matia-merino L, Awati A. 2006. Recent trend in lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in food. *J scie food and agri*. **86:** 2038 – 2045.

[3] Zengin N, Yüzbaşıoğlu D, Ünal S, Yılmaz S, Aksoy H. 2011. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate. *Food Chem Toxico*.49: 763–769.

[4] Davidson P, John N, Sofos AL. 2004. Antimicrobials in Food. *Food Sci Technol*. 145: 273-291.

[5] Mohamadi Sani A, Ehsani MR. 2007. Effect of natamycin on UF-Feta-cheese shelf life. *J Pajo Sazandegi*.71:150-158.

[6] Colas JC, Wanlong S, Malleswara VSN, Omri A, Mozafari MR. 2007. Microscopical investigations of nisin-loaded nanoliposomes prepared by Mozafari method and their bacterial targeting. *Micron*. 38, 841–847.

[7] Nilson KM, Shahani KM, Vakil JR, Kilara A. 1975. Pimaricin and mycostain for retarding cottage cheese spoilage. *J Dairy Sci*. 58: 668-71.

[8] Da silva Malheiros P, Micheletto Y.M.S, Silveira N.P.D. 2011. Development and characterization of phosphatidylcholine nanovesicles containing the antimicrobial peptide nisin. *Food Res Int*. 43: 1198–1203.

[9] Were LM, Bruce B, Davidson P. Weiss G. 2003. Size, Stability and Entrapmentefficiency of phospholipid nanocapsules containing polypeptide antimicrobial. *Food Chem*, 57: 8073-8079.

[10] Tizchang S, Sowti M, Rezai R, Ganbarzadeh B, Javadzadeh Y. 2013. Optimization and Study of physical properties of liposomes containing nisin. *J Food sci New tech*. **2**: 59-68.

[11] Marsanasco M, Márquez AL, Wagner JR, Alonso S, Chiaramoni NS. 2011. Liposomes as vehicles for vitamins E and C: An alternative to fortify orange juice and offer vitamin C protection after heat treatment. *Food Res Int*. 44: 3039-3046.

[12] Ko S, Lee S-ch. 2010. Effect of nanoliposomes on the stabilization of incorporate retinol. *Afr. J. Biotechnol*. **9**: 6158-6161.

[13] Zayerzade E, Mortazavi SA, Jafari MR, Afsharnejhad S, TabatabaiYazdi F, Nasiri Mahalati M. 2011. Study antibacteri- ial effect of nisin form Nanolipos and free form, in liposomes on the survival and population decline Listerian Iranian white ultrafiltration cheese. *Iran Food Scie Tech Res J*. 7(3):191-199.

[14] Schote U, Ganz P, Fahr A, Seelig J. 2002. Interactions of cyclosporine with lipid mambranes as studied by solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy and high sensitivity titration calorimetry. *J Pharmaceutical Scie*. 91:856-867.

[15] Xiong Y, Guo D, Wang L, Zheng X, Chen J. 2009. Development of nobilisid a loaded liposomal formulation using response surface methodology. *Int J Pharmaceutical Scie*. 371: 197-203.

[16] Taylor M, Bruce D. 2008. *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O154:H7 inhidition in vitro by liposome- encapsulated nisin and ethylene diamineteraacetic acid. *J Food Safety*, 28:183-197.

www.SID.ir

Archive of SID

Study of antimicrobial character of encapsulated and free form of natamycin in pasteurized doogh

Tizchang, S. [1], Sowti Khiabani, M. [2*], Ghaderzadeh, O. [3], Javadzadeh, Y. [4], Rezay Mokaram, R.[2], Hesari, J. [5]

1. PhD student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz
2. Associated Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz
3. M. Sc. of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz
4. Associated Professor of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of medical sciences
5. Professor of Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz

(Received: 2015/12/18 Accepted: 2016/10/29)

Liposomes are spherical shape particles including a membrane system formed from bilayer lipids, due to its amphiphilic structure; liposomes are able to encapsulate hydrophilic molecules into the interior space and lipophilic molecules between lipophilic membranes .One of the applications of liposome has been encapsulated antimicrobial peptides into liposomes. Encapsulation of antimicrobial peptides into liposomes may offer a potential alternative to protect antimicrobials, enhancing their efficacy and stability for food applications. In this research, liposomes containing natamycin was produced by heating method. Then, particle size of nano-liposome, encapsulation efficiency and antimicrobial effects of free and nano-encapsulated natamycin against the growth of *Aspergillus niger* were investigated. The results showed that particle size was 89±4/1 nm. The encapsulation efficiency of natamaycin was 80%. The result of antimicrobial shown that use of encapsulated natamycin and free form of it decreased the growth of bacterial population. But, the influence of them to each other was as well as.

Keywords: Natamycin, Antimicrobial agent, Heating method, Nanoliposom

* Corresponding Authors E-Mail Address: m.sowti@tabrizu.ac.ir

www.SID.ir