



Production of active electrospun nanofibers based on kefiran containing purified postbiotics derived from kefir microflora and silver nanoparticles

Zahra Sheykhpour¹, Hadi Almasi²✉, Saber Amiri³ and Saeedeh Azizi⁴

¹MSc graduate, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran

²Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran

³Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran

⁴PhD student, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran

✉ Corresponding author: h.almasi@urmia.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: July 4, 2023

Accepted: November 25, 2023

Published: July 4, 2024

Keywords:

Kefiran, silver nanoparticles, electrospinning, antimicrobial effect, antioxidant activity

ABSTRACT

Background: Kefir as a probiotic product, in addition to its special taste and aroma, has a biodegradable polymer called kefiran, which has attracted the attention of researchers in recent years. Nanofibers containing silver nanoparticles and kefir postbiotic microflora have suitable properties for use in active packaging.

Aims: For this purpose, kefir obtained from fermentation of kefir grains was used as electrospinning base for production of active nanofibers.

Methods: Kefir postbiotic with constant concentration and silver nanoparticles in three concentrations of 1, 2.5 and 4% of kefir weight were added and the physicochemical and antimicrobial/antioxidant properties of nanofibers were analysed.

Results: The results of the FTIR test proved the physical connection and the lack of chemical bonding between silver nanoparticles and nanofibers. Good and uniform surface morphology was observed in kefir nanofibers in SEM test, but silver nanoparticles were observed in aggregated form. The XRD test showed no effect of nanosilver on the structure of kefiran nanofibers, but in the DSC test, the weakening of the thermal properties of kefiran nanofibers was reported with an increase in the concentration of nanosilver. The control nanofibers of kefir that had only postbiotics also had antioxidant and antimicrobial properties, but these functional properties were enhanced by increasing the concentration of silver nanoparticles, and nanofibers containing 4% nanosilver showed the best antimicrobial and antioxidant properties.

Conclusions: In general, the results of this study showed that kefir nanofibers containing postbiotic kefir and silver nanoparticles have favorable physical and functional characteristics and can be used as active food packaging and can be used for the purposes of increasing the shelf life of food and preventing microbial and oxidative spoilage.



Extended Abstract

Introduction: Kefir is a dairy that contains lactic acid, carbon dioxide, and other volatile aromatics traditionally produced by the by the microbial flora of this grain, and exopolysaccharide called kefiran is one of them. Radhouani *et al.* (2018)

Postbiotic is distinguished by having a product with the same functionality as probiotics, without side effects. Postbiotic kefir is kefir that offers potentially beneficial effects on food sensitivity from the gut microbiome to the immune system. In this context, it is essential to know the main component promoting this functional effect. This review examines the benefits that kefir, and especially its postbiotic, Kefiran can bring health and food allergies. Also, the use of kefir as an alternative treatment in food allergies. Kefir/Kefir by stimulating the growth of beneficial bacteria, lactobacillus and bifidobacterium, and inhibiting the proliferation of pathogenic bacteria in the intestinal tract, maintaining the integrity of the intestinal barrier, reducing exposure to allergens and anti-allergens. Modulates the intestinal microbiota

showed that kefir is a suitable material for use in the field of biomaterials production, film and tissue formation. The most prominent biodegradable biopolymers used in food packaging from the group of biopolymers produced by microorganisms are bacterial cellulose and kefir (Rhim *et al.*, 2013 and Sabatino *et al.*, 2020). Kefiran is able to produce transparent films with relatively good mechanical resistance. Recently, the antimicrobial effect of postbiotics has attracted the attention of researchers. Postbiotics are actually a byproduct of the fermentation process done by probiotics (Moradi *et al.*, 2019). Silver nanoparticle is one of the nanomaterials that has been mentioned in many studies for its antimicrobial effect as well as the effect of improving the mechanical and barrier properties of biodegradable films (Ajitha *et al.*, 2021; Blosi *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2023). One of the new methods in the production of biopolymer films that has recently attracted the attention of researchers is

activity of kefir dunkers (Gaware *et al.*, 2011). One of the constituent components of kefir grain are mucoid substances that are produced

the electrospinning method. Electrospinning is a process in which continuous polymer fibers with diameters in the sub-micrometer range are produced through the action of a high-voltage electric field applied to a solution

Material and methods: To cultivate kefir seeds, kefir grains were first cultured in fresh cow's milk for activation and growth and milk was replaced every 24 hours. In order to increase the activation speed, greenhouse was used at a temperature of 27°C. To extract kefiran from kefir grains, kefir grains were mixed with distilled water at a ratio of 1:10 at a temperature of 81°C for 30 minutes and then the resulting mixture was centrifuged at 10000×g in temperature of 20°C for 20 minutes 10000×g. Then, the kefir supernatant was centrifuged using 96% cold ethanol at a ratio of 1:1 using a refrigerated centrifuge at a speed of 10,000 g at a temperature of 4°C for 20 minutes, and the precipitates from the centrifuge were centrifuged at a ratio of 1:5 with distilled water. It was mixed at a temperature of 80°C. This washing step was repeated twice until a white precipitate was obtained. Next, kefir drying was done using a fan oven for 24 hours at a temperature of 60°C. At this stage, the weight of kefir reached less than a quarter of the initial value and a white, fragile solid was obtained and it was kept in the refrigerator until use.

In order to extract the postbiotic extract, first, 5 g of kefir seeds were inoculated in the milk culture medium and placed in a greenhouse at 35°C for 48 hours. Then the culture medium was centrifuged and the supernatant was filtered with a needle filter. In this study, a concentration of 4% kefir was used to produce electrospun nanofibers. In this way, 0.04 g of kefir was added to 10 ml of postbiotic extract and electrospun (Ethnaashri *et al.* 2024). To prepare the next treatments, three levels of silver nanoparticles (1, 2.5, and 4% by weight of kefir) were added to the previous solution

and treated with an ultrasonic probe for 5 minutes (40 kHz, 100W).

The biopolymer solution was loaded in a plastic syringe equipped with a needle. The electrospun nanofibers were collected on an aluminum foil wrapped on a rotating collector. The conditions of the electrospinning process were voltage of 17 kV with an injection rate of 0.5 ml/h and the distance between the needle and the collector was 150 mm (Ethnaashri et al. 2014). The produced nanofibers were immediately used for subsequent tests. Also, in order to study the properties of the nanofibers, FTIR, XRD, DSC and SEM analysis were performed and the contact angle, antioxidant activity and antimicrobial activity of them were studied.

Results and discussion: This research was designed and implemented with the aim of developing an active electrospun nanofiber substrate for use in food preservation. Kefiran nanofibers containing kefir postbiotics in constant concentration and silver nanoparticles in different concentrations were prepared and their structural, morphological and functional properties were evaluated. Comparison of FTIR spectra of nanofibers containing nanosilver shows that the addition of nanoparticles had no effect on the chemical structure of nanofibers. Due to the small amount of nanosilver in the formulation of nanofibers, the peak related to the nanoparticles itself was not observed. The lack of change in the spectrum of kefir chemical groups due to the addition of nanosilver means that the nanoparticles are physically bound in the polymer network of kefir nanofibers. SEM images show that nanofibers had a uniform cylindrical shape with a smooth surface and no knots. The average diameter of kefir nanofibers without nanosilver was about 245 nm. Also, by increasing the concentration of silver nanoparticles to 2.5%, the size of nanoparticle clusters on the surface of nanofibers increased and the average diameter of kefir nanofibers decreased to 205 nm. XRD analysis of kefir nanofibers showed a sharp peak at the angle of $2\theta=44.5^\circ$. The results indicate the semi-crystalline nature of kefir

nanofibers. With the increase of silver nanoparticles, there is no change in the intensity and location of the main peak at the angle of 44.5° , but a new peak is created at the angle of $2\theta = 1.38^\circ$ and the highest intensity is observed in the sample containing 4% nanosilver. The control nanofibers of kefir containing postbiotics showed three ranges of changes in the DSC test. The main melting peak of this nanofiber was observed at 73°C . By adding silver nanoparticles, the thermal properties of kefir nanofibers were weakened. The results show that silver nanoparticles affected the thermal properties of kefir and reduced its resistance to temperature. The contact angle of nanofibers by adding of silver nanoparticles at a concentration of 1%, showed no significant change ($p>0.05$). But when the amount of silver nanoparticles reached 2.5% and 4%, the contact angle decreased significantly ($p<0.05$) and in fact the hydrophilic property of nanofibers increased. The antibacterial activity of electrospun kefir nanofibers containing postbiotics and nanosilver was investigated against *E. coli* and *S. aureus*. By increasing the amount of silver nanoparticles, the antimicrobial property increased and the sample containing 4% nanosilver showed the highest antibacterial activity against both bacteria. In this research, kefir nanofibers containing postbiotic showed an antioxidant activity of 5.65%, which is due to the low amount of postbiotic in the nanofiber formulation. By increasing the concentration of silver nanoparticles, the antioxidant activity increased significantly, and the highest inhibitory activity was observed at a concentration of 4% with a power of 59.21%.

Conclusion: The results of the FTIR test proved the physical connection and the lack of chemical bonding between silver nanoparticles and nanofibers. Good and uniform surface morphology was observed in kefir nanofibers in SEM test, but silver nanoparticles were observed in aggregated form. The XRD test showed no effect of nanosilver on the structure of kefir nanofibers, but in the DSC test, the weakening of the thermal properties of kefir

nanofibers was reported with an increase in the concentration of nanosilver. The control nanofibers of kefir that had only postbiotics also had antioxidant and antimicrobial properties, but these functional properties were enhanced by increasing the concentration of silver nanoparticles, and nanofibers containing 4% nanosilver showed the best antimicrobial and antioxidant properties. In general, the results of this study showed that kefir nanofibers containing postbiotic kefir and silver nanoparticles have favorable physical and functional characteristics and can be used as active food packaging and can be used for the purposes of increasing the shelf life of food and preventing microbial and oxidative spoilage.

تولید نانوالیاف الکتروریسی شده فعال بر پایه کفیران حاوی پست بیوتیک تخلیص شده حاصل از میکروفلور کفیر و نانوذرات نقره

زهرا شیخ‌پور^۱، هادی الماسی^۲✉، صابر امیری^۳، سعیده عزیزی^۴

^۱ فارغ التحصیل کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه

^۲ استاد گروه علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه

^۳ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه

^۴ دانشجوی دکتری گروه علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه، دانشگاه ارومیه

✉ مسئول مکاتبه: h.almasi@urmia.ac.ir

چکیده

مشخصات مقاله

زمینه مطالعاتی: نانوالیاف حاوی نانوذرات نقره و پست بیوتیک میکروفلور کفیر دارای خصوصیات مناسب جهت استفاده در بسته‌بندی فعال می‌باشد.

نوع مقاله:

علمی پژوهشی

هدف: هدف از این مطالعه تولید نانوالیاف فعال الکتروریسی شده بر پایه کفیران با هدف استفاده در بسته‌بندی فعال مواد غذایی بود.

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۲/۴/۱۳

پذیرش: ۱۴۰۲/۹/۴

انتشار: ۱۴۰۳/۴/۱۴

روش کار: برای این منظور از کفیران حاصل از تخمیر دانه‌های کفیر به عنوان بیوپلیمر پایه الکتروریسی استفاده شد و از پست بیوتیک کفیر در غلظت ثابت و نانوذرات نقره در سه غلظت ۱، ۲/۵ و ۴ درصد وزن کفیران به عنوان عوامل فعال استفاده شد. خواص فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی/آنتی اکسیدانی نانوالیاف تهیه شده مورد بررسی قرار گرفت.

کلید واژگان:

کفیران، نانوذرات نقره،

الکتروریسی، اثر

ضدمیکروبی، خاصیت

آنتی اکسیدانی

نتایج: آزمون FTIR نشان داد که بین نانوذرات نقره و بیوپلیمر کفیران اتصالات شیمیایی برقرار نشده و تثبیت تنها به روش فیزیکی انجام می‌شود. نتایج آزمون SEM موفقیت تولید نانوالیاف با مورفولوژی مطلوب و بدون ایجاد گره را نشان داد. قطر نانوالیاف کفیران در همه‌ی نمونه‌ها کمتر از ۲۴۵ نانومتر بود. با افزایش میزان نانوذرات نقره، قطر نانوالیاف کمتر شد. نتایج آزمون XRD ماهیت نیمه بلورین نانوالیاف کفیران را اثبات کرد. آزمون DSC نشان داد که نانوذرات نقره باعث تضعیف خصوصیات حرارتی نانوالیاف کفیران می‌شود. همچنین نانوذرات نقره باعث کاهش زاویه تماس و افزایش آب‌دوستی نانوالیاف شدند. نانوالیاف کفیران حاوی پست بیوتیک کفیر دارای خاصیت ضدمیکروبی بودند اما افزودن نانوذرات نقره به تقویت این خصوصیت کمک کرد. نانوالیاف حاوی نقره در برابر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* اثر ضدمیکروبی بیشتری در مقایسه با *اشرشیاکلی* داشتند. همچنین نانوالیاف کفیران-نانونقره خاصیت آنتی اکسیدانی مطلوبی نشان دادند.

نتیجه‌گیری نهایی: نانوالیاف کفیران حاوی پست بیوتیک کفیر و نانوذرات نقره از پتانسیل خوبی برای استفاده در بسته‌بندی مواد غذایی برخوردار بوده و می‌توان از آن به عنوان بسته‌بندی آنتی اکسیدانی و ضدمیکروبی مواد غذایی استفاده کرد.

مقدمه

کفیر یک محصول لبنی و یک نوشیدنی تخمیری از شیر است که حاوی اسید لاکتیک، دی اکسید کربن و سایر مواد معطر فرار می باشد که به طور سنتی توسط فعالیت دانک های کفیر تولید می شود (گاویر و همکاران ۲۰۱۱). کفیر به عنوان یک محصول پروبیوتیک از تخمیر همزیست شیر توسط باکتری های اسید لاکتیک و مخمرها تولید می شود و علاوه بر طعم و عطر خاص، برای سلامتی انسان نیز مفید باشد. از اجزای سازنده دانه کفیر مواد موکوتیدی هستند که توسط فلور میکروبی این دانه تولید می گردد و آگزوپلی ساکارییدی به نام کفیران از آن جمله است. میکروارگانیسم ها در طول رشد خود پلیمرهای زیستی تولید می کنند که می توانند به خارج از دیواره سلولی باکتری آزاد شوند و گروه ناهمگنی از مواد به نام آگزوپلی ساکاریدها را تشکیل دهند (سلیمانی فرد و همکاران ۱۳۹۲ و زولکیویکز و همکاران ۲۰۲۰). رادهوانی و همکاران (۲۰۱۸) نشان دادند که کفیران یک ماده مناسب برای استفاده در زمینه تولید بیومواد، تشکیل فیلم ها و بافت ها است و حتی می تواند در پزشکی به عنوان زخم پوش مورد استفاده قرار گیرد. شاخص ترین بیوپلیمرهای زیست تخریب پذیر مورد استفاده در بسته بندی مواد غذایی از دسته بیوپلیمرهایی که توسط میکروارگانیسم ها تولید می شوند، سلولز باکتریایی و کفیران است (ریم و همکاران ۲۰۱۳ و ساباتینو و همکاران ۲۰۲۰). کفیران قادر است فیلم هایی شفاف و با مقاومت مکانیکی نسبتاً خوب تولید کند. اخیراً مطالعاتی در زمینه ارزیابی قابلیت کفیران در تولید فیلم های زیست تخریب پذیر صورت گرفته است (داداشی و همکاران ۲۰۱۹ و شکرای و همکاران ۲۰۲۱ و دکاروالهو و همکاران ۲۰۲۱).

یکی از کاربردهای نوین بیوپلیمرها، تولید بسته بندی فعال مواد غذایی است. بسته بندی فعال نوعی بسته بندی است که علاوه بر دارا بودن خواص بسته بندی معمولی، قابلیت برهمکنش مستقیم با ماده غذایی یا محیط اطراف آن را داشته و با آزاد کردن ترکیبات مفید یا جذب ترکیبات نامطلوب، به افزایش ماندگاری ماده غذایی کمک می کند. اخیراً اثر ضد میکروبی پست بیوتیک ها مورد توجه محققین قرار گرفته است.

پست بیوتیک ها در واقع محصول جانبی فرآیند تخمیر انجام شده توسط پروبیوتیک ها هستند. پست بیوتیک مخلوطی پیچیده از انواع متابولیت های با وزن مولکولی متفاوت است که در حین رشد میکروارگانیسم ها تولید شده و پس از حذف میکروارگانیسم از محیط، به صورت خالص قابل استحصال است (مرادی و همکاران ۲۰۱۹). توریستا و همکاران (۲۰۲۳) مطالعه ای را با هدف تعیین فعالیت کفیر شیر بز و شیر گاو در مهار رشد *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *باسیلوس سوبتیلیس* انجام دادند. نتایج نشان داد که کفیر شیر گاو و بز از رشد باکتری های مورد آزمون جلوگیری می کند. با توجه به اثبات اثر ضد میکروبی نوشیدنی کفیر، ترکیبات پست بیوتیک آن که پس از جداسازی کفیران باقی می ماند و دارای وزن مولکولی کمتری نسبت به کفیران است، به عنوان یکی از ترکیبات ضد میکروبی مورد استفاده در این تحقیق انتخاب شد. نانوذرات ضد میکروبی یکی دیگر از دسته مواد مورد استفاده در تولید بسته بندی فعال هستند. نانوذرات دسته ای از مواد هستند که ابعادی بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر دارند. نانوذره نقره از جمله نانومواد است که در پژوهش های متعدد به اثر ضد میکروبی آن و همچنین اثر بهبود دهنده ویژگی های مکانیکی و بازدارندگی فیلم های زیست تخریب پذیر اشاره شده است (آزیتا و همکاران ۲۰۲۱ و بلوسی و همکاران ۲۰۲۱ و لی و همکاران ۲۰۲۳).

یکی از روش های نوین که در تولید فیلم های بیوپلیمری اخیراً مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است، روش الکتروریسی است. الکتروریسی فرآیندی است که در آن الیاف پلیمری پیوسته با قطر در محدوده زیر میکرومتر از طریق عمل یک میدان الکتریکی با ولتاژ بالا که بر محلول اعمال می شود، تولید می گردد (خلیفه زاده و شهابی قهرخی ۱۳۹۸). الکتروریسی شامل یک فرآیند الکترو هیدرودینامیکی است که طی آن یک قطره مایع تولید یک جت الکتریکی می کند و به دنبال آن کشش جت در جهت میدان الکتریکی، به تولید الیاف منجر می شود. نسبت سطح به حجم بالا، ایجاد شبکه متخلخل با قابلیت بارگذاری ترکیبات مختلف و مورفولوژی یک دست و یکنواخت از جمله مزایای نانوالیاف تولید شده به روش

۱۰۰۰۰g در دمای 4°C و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و رسوبات حاصل از سانتریفیوژ به نسبت ۱:۵ با آب مقطر در دمای 80°C مخلوط شد. این مرحله شستشو تا حاصل شدن رسوب سفید رنگ کفیران دوبار تکرار شد. در ادامه، خشک کردن کفیران با استفاده از آون فن دار به مدت ۲۴ ساعت در دمای 60°C انجام شد. در این مرحله وزن کفیران به کمتر از یک چهارم مقدار اولیه رسیده و جامد سفید رنگ شکننده‌ای حاصل گردید و تا زمان استفاده در یخچال نگهداری شد.

استخراج عصاره پست‌بیوتیک

ابتدا ۵ گرم دانه کفیر در محیط کشت شیر پس چرخ تلقیح شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای 35°C گرمخانه گذاری شد. سپس محیط کشت سانتریفیوژ شد و مایع رویی با فیلتر سرسرنگی فیلتر شد. سپس برای تغلیظ به مدت نیم ساعت تحت عملیات با تبخیر کننده چرخان قرار گرفت و عصاره پست بیوتیک تهیه شد (مرادی و همکاران ۲۰۱۹).

آماده سازی محلول الکتروریسی

در این مطالعه از غلظت ۴ درصد کفیران برای تولید نانوالیاف الکتروریسی شده استفاده گردید. به این صورت که مقدار ۰/۴ گرم از کفیران به ۱۰ سی سی عصاره پست بیوتیک که از دانه کفیر استخراج شده بود اضافه شد و به مدت دو ساعت در حال هم زدن ملایم حل شد. پس از آماده سازی محلول کفیران، ماده مورد نظر الکتروریسی شد (اثنا عشری و همکاران ۲۰۱۴). برای تهیه تیمارهای بعدی، مقدار سه سطح از نانوذره نقره (۱، ۲/۵ و ۴ درصد وزنی کفیران) به محلول قبلی اضافه شد و با استفاده از پروب اولتراسونیک، به مدت ۵ دقیقه در فرکانس ۴۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ وات تحت تیمار قرار گرفت تا از توده شدن نانوذرات نقره جلوگیری شود. سپس محلول کفیران حاوی نانوذرات نقره تحت فرآیند الکتروریسی قرار گرفت.

فرآیند الکتروریسی

تولید نانوالیاف با استفاده از دستگاه الکتروریسی شرکت فناوران نانو مقیاس (تهران، ایران) انجام شد. محلول بیوپلیمری در یک سرنگ پلاستیکی مجهز به یک سوزن گیج ۱۸ (قطر داخلی ۰/۸۳ میلی‌متر)، به عنوان نازل بارگذاری شد. نانوالیاف

الکتروریسی است (زمانی و همکاران ۱۴۰۱ و آژیتا و همکاران ۲۰۲۱ و آلون و همکاران ۲۰۲۱).

در زمینه تولید نانوالیاف کفیران با استفاده از روش الکتروریسی مطالعات محدودی وجود دارد (ضیادی و همکاران ۲۰۲۱ و اثنا عشری و همکاران ۲۰۱۴). اما تاکنون از این بیوپلیمر برای تولید نانوالیاف فعال دارای خاصیت ضد میکروبی بر پایه نانوذره نقره استفاده نشده است. در این تحقیق نانوالیاف کفیران حاوی نانوذرات نقره و پست بیوتیک میکروفلور کفیر به روش الکتروریسی تولید شد و خصوصیات مورفولوژیکی، ساختاری، حرارتی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آنها مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

دانه کفیر از شرکت پریبیوتیک (زنجان) و شیر تازه از شرکت میهن (تهران) تهیه شد. نانوذره نقره به شکل محلول کلئیدی و با میانگین قطر ۴۰ نانومتر از شرکت پیشگامان نانوموان ایرانیان تهیه شد. محیط کشت‌ها و تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت Merck خریداری شدند.

کشت دانه کفیر

ابتدا دانک‌های کفیر به منظور فعال‌سازی و رشد، در شیر تازه گاو کشت داده شد. به منظور افزایش سرعت فعال‌سازی از گرم‌خانه گذاری در دمای 27°C استفاده شد و به منظور پاساژ دادن دانه‌ها، شیر افزوده شده به آن‌ها پس از گذشت هر ۲۴ ساعت تعویض گردید.

استخراج کفیران از دانه‌های کفیر

آگزوپلی ساکاریدهای موجود در دانه‌های کفیر یا همان کفیران با اصلاحاتی در روش پیرماریا و همکاران (۲۰۰۹) استخراج شد. به این صورت که دانه‌های کفیر به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر در دمای 81°C مخلوط شد و سپس مخلوط حاصل با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار (Hettich Mikro 200R) با دور \times ۱۰۰۰۰g در دمای 20°C و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ماده رویی کفیران با استفاده از اتانول سرد ۹۶ درصد به نسبت ۱:۱ با استفاده از سانتریفیوژ یخچال دار با دور \times

خصوصیات حرارتی نانوالیاف با استفاده از دستگاه DSC مدل (Mettler Toledo DSC1، سوییس) تعیین شد. محدوده دمایی ۲۵ تا ۳۰۰ °C و سرعت حرارت دهی ۱۰ °C در دقیقه بود. از گاز نیتروژن به عنوان اتمسفر استفاده شد و نمونه شاهد نیز پن خالی در نظر گرفته شد.

زاویه تماس

به منظور بررسی خصوصیات آبدوستی نانوالیاف از روش تعیین زاویه تماس با آب استفاده شد. برای تعیین زاویه تماس با آب، نمونه‌های نانوالیاف روی فویل قرار گرفته و یک قطره (۵ میکرولیتر) آب مقطر به آرامی روی سطح نانوالیاف قرار داده شد. سپس از قطره آب روی سطح نانوالیاف با استفاده از یک دوربین دیجیتال (Microsoft, 185 LifeCam, H5D-) (00013, zoom 24×) عکسبرداری شد. در نهایت، زاویه تماس سطح نانوالیاف با آب با استفاده از نرم افزار ImageJ 1.48 تعیین شد.

فعالیت ضد میکروبی

از روش انتشار دیسک آگار برای تعیین خواص ضد میکروبی نانوالیاف فعال استفاده شد. از دو سویه باکتریایی شامل باکتری *E. coli* (ATCC 13706) و *S. aureus* (ATCC 6538) در آزمون‌های ضد باکتریایی استفاده شد. این دو باکتری در محیط کشت مولر-هیتون آگار با غلظت 10^6 تلقیح شدند و سپس نمونه‌های نانوالیاف به شکل دیسک‌هایی با قطر ۶ میلی متر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت تلقیح شده با باکتری قرار داده شده و انکوباسیون در دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ ساعت انجام شد. در نهایت، قطر ناحیه شفاف اطراف الیاف با میکرومتر دیجیتال اندازه‌گیری شد و به عنوان ناحیه بازدارندگی برحسب میلی‌متر گزارش شد. این آزمون در سه تکرار انجام شد و میانگین مقادیر به دست آمده گزارش گردید (روئیز و همکاران ۲۰۱۳).

خاصیت آنتی اکسیدانی

روش الماسی و همکاران (۲۰۲۰) برای ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی نانوالیاف مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا محلول

الکترورسی شده روی یک فویل آلومینیومی پیچیده شده روی یک کلکتور چرخان جمع آوری شد. شرایط فرآیند الکترورسی عبارت بود از ولتاژ ۱۷ کیلوولت با نرخ تزریق ۰/۵ میلی‌لیتر بر ساعت و فاصله سوزن تا کلکتور ۱۵۰ میلی‌متر (اثنا عشری و همکاران ۲۰۱۴). نانوالیاف تولید شده بلافاصله برای آزمون‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی خصوصیات نانوالیاف

آزمون پراش پرتو ایکس (XRD¹)

مطالعه بلورینگی و خصوصیات ساختاری نانوالیاف با استفاده از آزمون پراش پرتو ایکس و توسط دستگاه (TD-3700 ساخت چین) در ۴۰ کیلوولت و ۴۰ میلی آمپر انجام شد. الگوهای پراش در زاویه ۲θ بین ۱۰ تا ۸۰ درجه با سرعت حرکت ۱ درجه در دقیقه به دست آمد. همچنین اندازه گام در این آزمون ۰/۰۲ درجه بود.

طیف سنجی تبدیل فوریه مادون سرخ (FTIR²)

از دستگاه طیف سنج مادون سرخ مدل TENSOR 27 (آلمان) برای تعیین طیف در محدوده بین ۴۰۰۰ تا ۴۰۰ cm^{-1} استفاده شد. طیف FTIR نمونه‌ها در ۳۲ اسکن متوالی و با دقت cm^{-1} ثبت و گزارش شد. از روش قرص KBr برای تهیه نمونه‌ها استفاده شد.

میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM³) و تعیین قطر نانوالیاف

بررسی ریزساختار فیلم‌ها با استفاده از دستگاه SEM (مدل MIRA3-FEG، چک) انجام شد. ابتدا نمونه‌ها با طلا پوشش داده شد و سپس تصویر برداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی انجام شد. برای تعیین قطر نانوالیاف، از آنالیز تصاویر SEM با استفاده از نرم افزار ImageJ 1.48 استفاده شد. تعداد ۵۰ نانوالیاف برای هر نمونه به صورت تصادفی انتخاب شد و میانگین قطر آنها به عنوان قطر متوسط نانوالیاف در هر نمونه گزارش شد.

گرماسنجی روبشی افتراقی (DSC⁴)

³ Scanning electron microscopy

⁴ Differential scanning calorimetry

¹ X-ray diffraction

² Fourier transforms infrared

نگاره‌های FTIR نانوالیاف کفیران/پست بیوتیک و نانوالیاف حاوی درصد‌های مختلف نانونقره را نشان می‌دهد. در طیف نانوالیاف کفیران چندین پیک شاخص مشاهده شد که عبارتند از: پیک بزرگ در محدوده 3427 cm^{-1} مربوط به گروه‌های هیدروکسیل (OH-) موجود در ساختار قندهای کفیران، یک پیک در عدد موجی 2924 cm^{-1} مربوط به نیروهای کششی گروه C-H، پیک عدد موجی 1636 cm^{-1} مربوط به نیروهای خمشی گروه O-H در آب باند شده به پلیمر، پیک ظاهر شده در 1422 cm^{-1} مربوط به نیروهای کششی گروه C-O- و C-C، پیک ظاهر شده در 1066 cm^{-1} مربوط به نیروهای کششی گروه C-O در ساختار پلی‌ساکاریدهای کفیران و ترکیبات پست بیوتیک (جناب و همکاران ۲۰۱۷ و داداشی و همکاران ۲۰۱۹). مقایسه طیف FTIR نانوالیاف حاوی نانونقره نشان می‌دهد که افزودن نانوذرات تأثیری بر روی ساختار شیمیایی نانوالیاف نداشته است و تغییری در الگوی طیف کفیران در هیچکدام از نمونه‌ها مشاهده نشد. به دلیل کم بودن مقدار نانونقره در فرمولاسیون نانوالیاف، پیکی مربوط به خود نانوذرات مشاهده نشد. عدم تغییر طیف گروه‌های شیمیایی کفیران در اثر افزودن نانونقره بدین معنی است که اتصالات شیمیایی قوی بین نانوذرات و نانوالیاف کفیران برقرار نشده و نانوذرات تنها به صورت اتصال فیزیکی در شبکه پلیمری نانوالیاف کفیران محبوس شده‌اند. در خصوص افزودن نانوذرات نقره به نانوالیاف پلی وینیل الکل، نتایج مشابهی توسط بلوسی و همکاران (۲۰۲۱) گزارش شده است. همچنین در خصوص افزودن داکسی سایکلین به نانوالیاف کفیران نیز نتایج مشابهی گزارش شده است (داداشی و همکاران ۲۰۱۹).

استاندارد DPPH با افزودن ۴ میلی‌گرم DPPH به ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. سپس ۷ میلی‌گرم از هر نمونه نانوالیاف برداشته و به مدت دو دقیقه در ۲ میلی‌لیتر اتانول حل شده و ۱ میلی‌لیتر پس از سانتریفیوژ کردن محلول، یک میلی‌لیتر از مایع رویی برداشته و یک میلی‌لیتر محلول DPPH به آن افزوده شد و پس از همزدن، به مدت ۳۰ دقیقه در یک مکان تاریک و در دمای اتاق قرار گرفت. در نهایت جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. ظرفیت مهار رادیکال آزاد توسط نانوالیاف با استفاده از معادله ۱ و به صورت درصد تعیین شد:

(۱)

$$= \frac{Abs_c - Abs_s}{Abs_c} \times 100 = \text{فعالیت آنتی‌اکسیدانی}$$

در این معادله Abs_c و Abs_s به ترتیب بیانگر جذب نمونه شاهد و جذب هر یک از نمونه‌های مورد آزمون در طول موج ۵۱۷ نانومتر است.

تجزیه و تحلیل آماری

به‌جز آزمون‌های دستگاهی، همه آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 23 در سطح احتمال ۹۵٪ ($p < 0.05$) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام شد.

نتایج و بحث

آنالیز FTIR

به منظور بررسی خصوصیات شیمیایی و نوع پیوندهای موجود در ساختار نانوالیاف از آزمون FTIR استفاده شد. شکل ۱ طیف

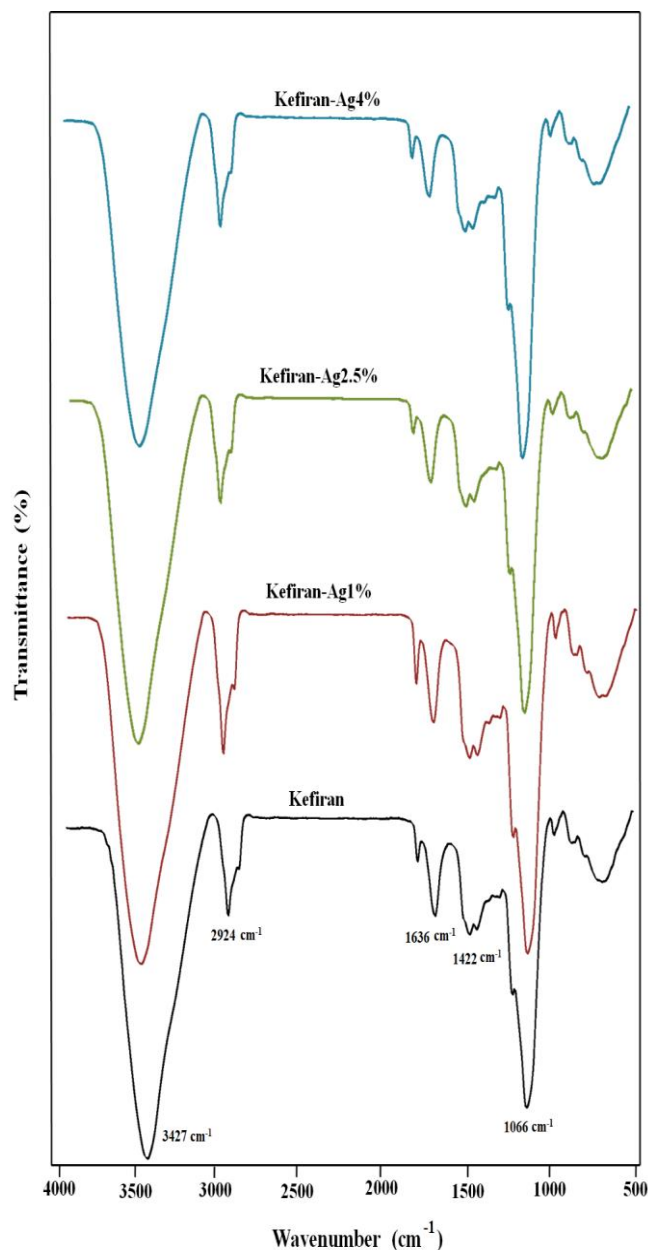


Figure 1- FTIR spectra of kefir/postbiotic nanofibers and nanofibers containing different concentrations of silver nanoparticles

مورفولوژی نانوالیاف

مورفولوژی نانوالیاف الکترورسی شده از اهمیت زیادی برخوردار است چراکه همه‌ی خصوصیات فیزیکی و عملکردی نانوالیاف به قطر و مورفولوژی الیاف تولید شده بستگی دارد. آزمون SEM برای ارزیابی خصوصیات مورفولوژیکی نانوالیاف کفیران مورد استفاده قرار گرفت. شکل ۲ تصاویر SEM نانوالیاف را در دو بزرگنمایی مختلف نشان می‌دهد. نانوالیاف کفیران حاوی پست‌بیوتیک و فاقد نانوذرات نقره از مورفولوژی

و مطلوبی برخوردار بود. همه‌ی الیاف شکل استوانه‌ای یکنواخت با سطحی صاف و بدون گره داشتند. قطر متوسط نانوالیاف کفیران بدون نانوقره در حدود ۲۴۵ نانومتر بود. چنین نتیجه مطلوبی نشان دهنده قابلیت بالای بیوپلیمر کفیران جهت استفاده در تولید نانوالیاف به روش الکترورسی می‌باشد. این نتیجه مطلوب توسط محققین قبلی نیز گزارش شده است (جناب و همکاران ۲۰۲۰ و زیادی و همکاران ۲۰۲۱). این

(۲۰۰ نانومتر). همچنین گره‌هایی در الیاف مشاهده گردید که نشان دهنده تغییر خصوصیات محلول الکتروریسی و تأثیر آن بر روی مورفولوژی نانوالیاف است. در این نمونه نیز توده‌های نانوذرات نقره در برخی قسمت‌های نانوالیاف مشخص بودند.

آنالیز پراش پرتو ایکس (XRD)

به منظور مطالعه خصوصیات ساختاری و بلورینگی نانوالیاف کفیران از آزمون XRD استفاده شد. شکل ۳ پراش نگاره‌های XRD نانوالیاف کفیران حاوی پست بیوتیک (شاهد) و نانوالیاف حاوی نانوذرات نقره را نشان می‌دهد. نانوالیاف کفیران یک پیک تیز در زاویه $2\theta = 44/5^\circ$ نشان داد. همچنین یک پیک کوچک در زاویه پراش $18/9^\circ$ مشاهده شد که چندان قابل اهمیت نبود. لوپرستی و همکاران (۲۰۲۱) در مورد خصوصیات بلورینگی نانوالیاف کفیران به نتایج مشابهی دست یافتند. همان طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، با افزایش نانوذرات نقره تغییر در شدت و محل پیک اصلی در زاویه $5/44^\circ$ مشاهده نمی‌شود اما یک پیک جدید در زاویه $1/38^\circ = 2\theta$ ایجاد می‌شود. با افزایش غلظت نانوذرات نقره شدت این پیک نیز بیشتر شده و در نمونه حاوی ۴ درصد نانونقره بیشترین شدت مشاهده می‌شود. آژیتا و همکاران (۲۰۲۱) این پیک را به صفحات بلورین (۱۱۱) در نانونقره متالیک نسبت دادند. این نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات نقره به صورت موفقیت آمیز به سطح نانوالیاف کفیران متصل شده‌اند اما اتصال فیزیکی مانع ایجاد تغییر در خصوصیات بلورینگی خود نانوالیاف کفیران می‌شود.

درحالی است که شکرایی و همکاران (۲۰۲۱) تشکیل دانک^۱ و گره در نانوالیاف الکتروریسی شده کفیران را گزارش نمودند. این امر نشان می‌دهد که خلوص کفیران و شرایط فرآیند عوامل موثری در کارایی روش الکتروریسی در تولید نانوالیاف با خصوصیات مطلوب است. با افزودن نانوذرات نقره در غلظت ۱/۵ درصد تغییر مشهودی در مورفولوژی نانوالیاف رخ نداد. نانوالیاف در این نمونه صاف و بدون گره بودند و میانگین قطر آنها ۲۳۸ نانومتر بود. در بزرگنمایی بیشتر، خوشه‌های نانوذرات نقره بر روی الیاف کفیران مشهود بود. قطر متوسط نانوذرات نقره ۵۵ نانومتر بود اما این نانوذرات به صورت یکنواخت پخش نشده بودند و توده‌هایی روی سطح نانوالیاف تشکیل شده بود. این توده شدن نانونقره و قرارگیری در سطح نانوالیاف موید نتایج FTIR است مبنی بر اینکه اتصال شیمیایی قوی بین نانوذرات نقره و نانوالیاف کفیران برقرار نشده است. مورفولوژی مشابه یافته‌های این تحقیق، در نانوالیاف پلی وینیل پیرولیدین/نانونقره (آژیتا و همکاران ۲۰۲۱)، نانوالیاف سلولز/نانونقره (فان و همکاران ۲۰۲۱) و نانوالیاف پلی اتیلن اکسید/نانونقره (حسن و همکاران ۲۰۲۱) گزارش شد.

با افزایش غلظت نانوذرات نقره به ۲/۵ درصد، اندازه توده‌های نانوذرات روی سطح نانوالیاف افزایش یافت و میانگین قطر نانوالیاف کفیران به ۲۰۵ نانومتر کاهش یافت. کاهش ویسکوزیته محلول الکتروریسی دلیل کاهش قطر نانوالیاف در فرآیند الکتروریسی گزارش شده است (لوپرستی و همکاران ۲۰۲۱). زمانی که غلظت نانوذرات نقره به ۴ درصد افزایش یافت. بیشترین تغییرات در مورفولوژی نانوالیاف کفیران مشاهده شد. کمترین میانگین قطر در این نمونه مشاهده شد

¹ Beads

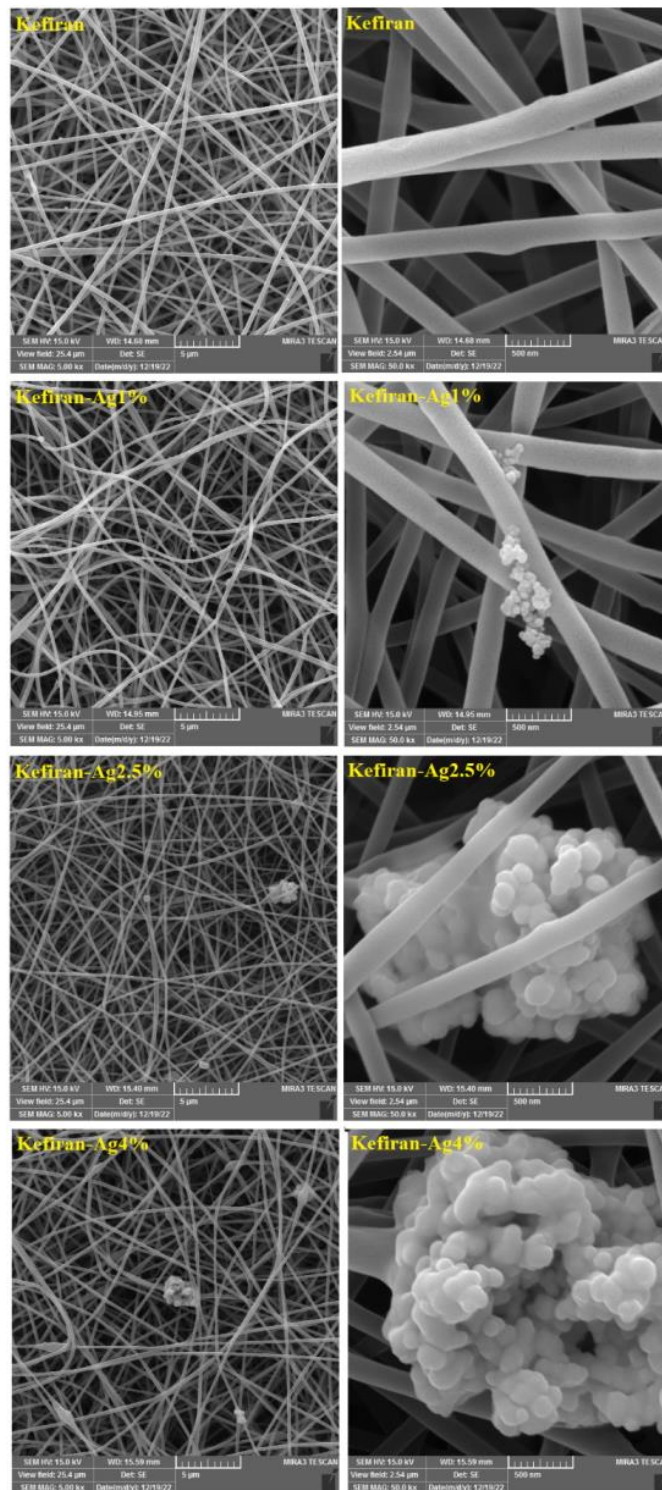


Figure 2- SEM images of kefir/postbiotic nanofibers containing silver nanoparticles in different concentrations

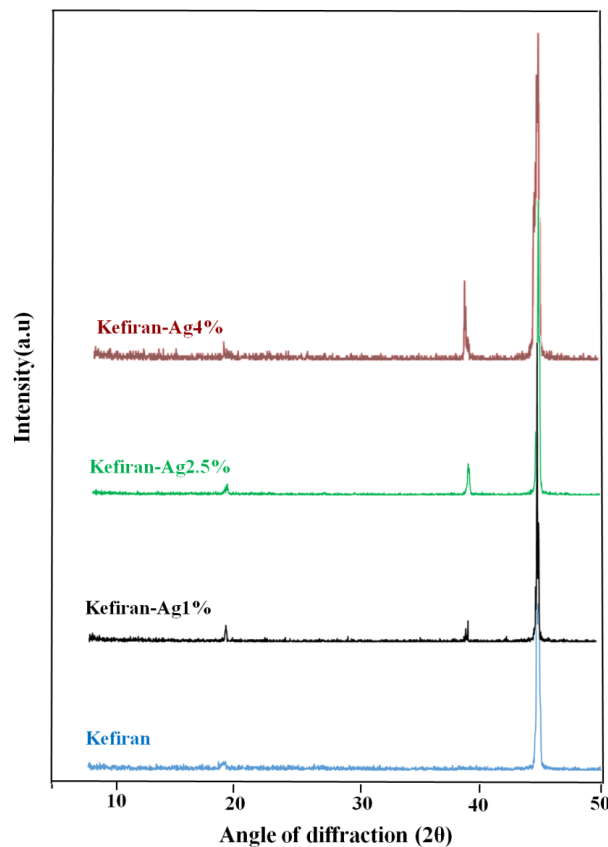


Figure 3- XRD diffraction patterns of kefir/postbiotic nanofibers containing silver nanoparticles in different concentrations

فلور میکروبی در فرایند تولید و خلوص کفیران و همچنین شرایط سنتر نانوالیاف در خصوصیات حرارتی آنها تأثیرگذار است. با توجه به شکل ۴ مشخص است که با افزودن نانوذرات نقره، خصوصیات حرارتی نانوالیاف کفیران تضعیف شد. در غلظت ۱ درصد نانوذرات نقره، پیک اولین محدوده ذوب کوچکتر شد و پیک مربوط به محدوده ذوب دوم در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۲۳۸ نیز ناپدید شد. در غلظت ۲/۵ درصد نانونقره، پیک محدوده سوم نیز ناپدید شد و در نهایت در غلظت ۴ درصد نانونقره پیک اصلی ذوب شدت بسیار کمی داشت. این نتایج نشان می‌دهد که نانوذرات نقره هرچند که به صورت فیزیکی به سطح نانوالیاف کفیران متصل شده‌اند، اما همین نوع اتصال قادر است خصوصیات حرارتی کفیران را تحت تأثیر قرار دهند و مقاومت آن به دما را کمتر کرده و ذوب نواحی بلورین بیوپلیمر را با میزان آنتالپی ذوب مورد نیاز کمتر، تسریع کنند. این نوع اثر نانوذرات نقره، بر روی خواص سایر نانوالیاف

آنالیز خواص حرارتی با کالریتری روبشی تفاضلی (DSC) خصوصیات حرارتی یک پلیمر و بیوپلیمر تعیین کننده شرایط استفاده از آن برای کاربردهای مختلف است. خواص حرارتی نانوالیاف کفیران با آنالیز DSC مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۴ ترموگرام DSC نانوالیاف کفیران را نشان می‌دهد. نانوالیاف شاهد کفیران حاوی پست بیوتیک سه محدوده تغییرات در آزمون DSC نشان داد. پیک ذوب اصلی این نانوالیاف در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۷۳ مشاهده شد. دو تغییر کوچک در ترموگرام نیز در دماهای $^{\circ}\text{C}$ ۲۳۸ و $^{\circ}\text{C}$ ۲۶۱ مشاهده شد. با این حال مهمترین تغییر رفتار حرارتی نانوالیاف کفیران در $^{\circ}\text{C}$ ۷۳ مشاهده شد که به تبخیر آب و تغییر ساختار مولکولی کفیران مربوط می‌شود. لوبرستی و همکاران (۲۰۲۱) دمای ذوب نانوالیاف کفیران را $^{\circ}\text{C}$ ۱۳۸/۵ گزارش کردند. در حالیکه محققین دیگر نتایج مشابه این تحقیق و دمای ذوب بین ۷۰ تا $^{\circ}\text{C}$ ۹۰ بدست آورده بودند (رادهورنی و همکاران ۲۰۱۸ و شهابی و همکاران ۲۰۱۹ و زولفی و همکاران ۲۰۱۵). این تفاوت نشان می‌دهد که نوع

الکتروریسی شده مانند پلی وینیل الکل و پلی لاکتیک اسید نیز گزارش شده است (بلوسی و همکاران ۲۰۲۱).

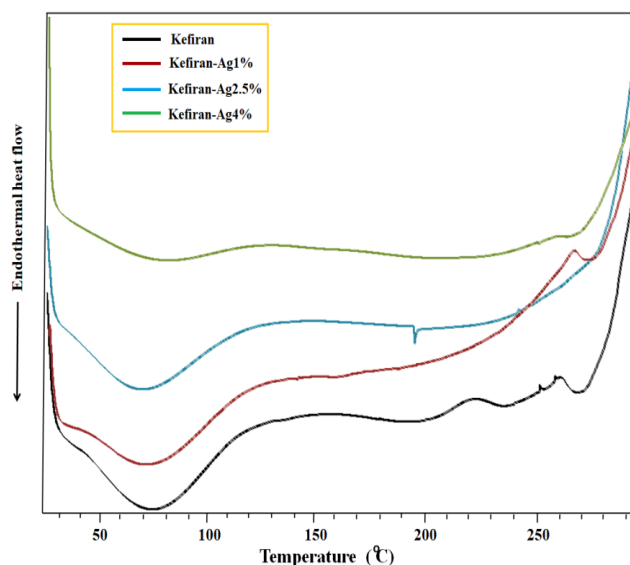


Figure 4- DSC thermogram of kefir/postbiotic nanofibers containing different concentrations of silver nanoparticles

زاویه تماس

آزمون زاویه تماس با آب برای ارزیابی میزان آبگریزی و یا آب دوست بودن نانوالیاف انجام می‌شود. بسته به میزان آب‌دوستی، نوع کاربرد نانوالیاف در صنایع غذایی متفاوت است و بنابراین این آزمون از اهمیت زیادی در تولید مواد بسته‌بندی برخوردار است. شکل ۵ اثر نانوذرات نقره را بر زاویه تماس آب بر روی سطح نمونه‌های نانوالیاف کفیران نشان می‌دهد. زاویه تماس نانوالیاف کفیران شاهد برابر ۲۵/۰۷ درجه بود. این عدد پایین نشان دهنده ماهیت آب‌دوست نانوالیاف کفیران است و این نتایج با مطالعات قبلی همخوانی دارد (جناب و همکاران

۲۰۱۵). با افزودن نانوذرات نقره در غلظت ۱ درصد تغییر معنی‌داری در زاویه تماس اتفاق نیفتاد ($p > 0.05$). اما زمانیکه میزان نانوذرات نقره به ۲/۵ درصد و ۴ درصد رسید، زاویه تماس با آب به طور معنی‌داری کمتر شد ($p < 0.05$) و در واقع خاصیت آب‌دوستی نانوالیاف بیشتر شد. نانوذرات نقره محلول در آب هستند و همین امر باعث افزایش آب‌دوستی ذاتی نانوالیاف فعال می‌شود. از طرف دیگر، با کاهش قطر نانوالیاف در حضور غلظت‌های زیاد نانونقره، نسبت سطح به حجم نانوالیاف بیشتر شده است و با افزایش میزان کفیران در واحد حجم، آب‌دوستی تقویت می‌شود.

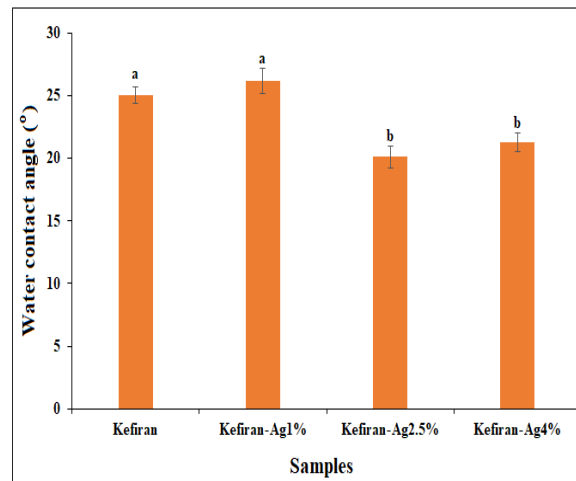


Figure 5- Water contact angle for kefiran/postbiotic nanofibers containing different concentrations of silver nanoparticles

Different letters indicate a significant difference at the 5% level ($p < 0.05$)

افزودن نانوذره نقره این فعالیت بیشتر شده و کارایی آنها افزایش می‌یابد.

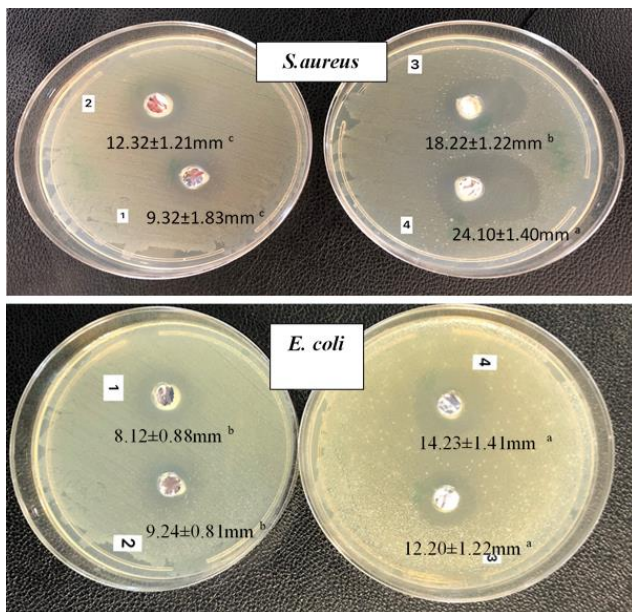


Figure 6- Antimicrobial properties of kefiran/postbiotic nanofibers containing different concentrations of silver nanoparticles against *S. aureus* and *E. coli* bacteria; 1: Kefiran nanofibers, 2: Kefiran nanofibers containing 1% nanosilver, 3: Kefiran nanofibers containing 2.5% nanosilver, 4: Kefiran nanofibers containing 4% nanosilver

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط نانوالیاف، خواص آنتی‌اکسیدانی آنها و همچنین پتانسیل آنها

فعالیت ضد باکتریایی

فعالیت ضد باکتریایی نانوالیاف الکترووریسی شده کفیران حاوی پست بیوتیک و نانونقره در مقابل *اشرشیاکلی* (گرم منفی) و *استافیلوکوکوس اورئوس* (گرم مثبت) مورد بررسی قرار گرفت. همانگونه که در شکل ۶ مشاهده می‌شود، نمونه شاهد با میانگین قطر بازدارندگی در سه تکرار ۹ میلیمتر و ۸ میلیمتر به ترتیب برای باکتری گرم منفی و مثبت، فعالیت ضد باکتریایی کمتری نسبت به نمونه‌های دیگر دارد. فعالیت ضد میکروبی در نمونه نانوالیاف کفیران شاهد مربوط به حضور ترکیبات پست‌بیوتیک است که اثر ضد میکروبی آنها در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است (جناب و همکاران ۲۰۱۷). با افزایش میزان نانوذرات نقره، خاصیت ضد میکروبی بیشتر شد و نمونه حاوی ۴ درصد نانونقره بیشترین فعالیت ضد باکتریایی را در برابر هر دو باکتری با میانگین قطر بازدارندگی ۲۴ میلیمتر و ۱۲ میلیمتر به ترتیب برای باکتری گرم مثبت و منفی، نشان داد. نانوذرات نقره با تخریب غشای سلولی، تغییر در DNA سلول و همچنین تولید گونه‌های اکسیژنی فعال قادرند باعث مرگ میکروارگانیسم‌ها شوند (فان و همکاران ۲۰۲۱).

این نتیجه در مطالعات پیشین بر روی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره نیز به اثبات رسیده است (حسن و همکاران ۲۰۲۱). بطور کلی این یافته‌ها نشان داد که نانوالیاف کفیران حاوی پست بیوتیک به تنهایی دارای فعالیت ضد میکروبی هستند اما با

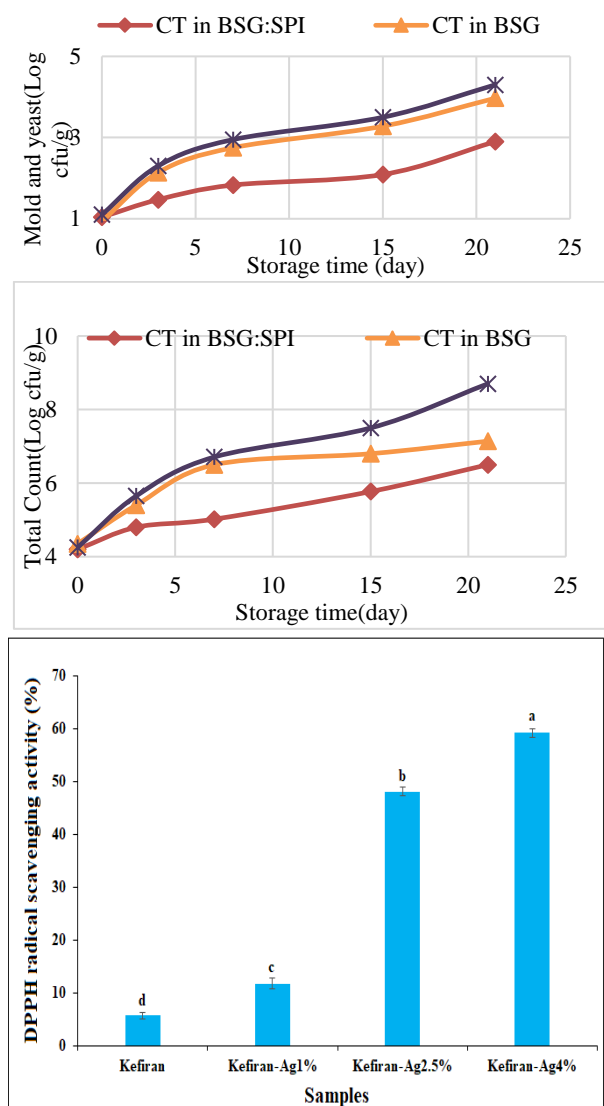


Figure 7- Antioxidant activity of kefir/postbiotic nanofibers containing different concentrations of nanosilver

Different letters indicate a significant difference at the 5% level ($p < 0.05$)

نتیجه گیری

این تحقیق با هدف توسعه یک بستر نانوالیاف الکتروریسی شده فعال به منظور استفاده در نگهداری مواد غذایی طراحی و اجرا شد. نانوالیاف کفیران حاوی پست بیوتیک کفیر در غلظت ثابت و نانوذرات نقره در غلظت‌های مختلف تهیه شد و خصوصیات ساختاری، مورفولوژیکی و عملکردی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمون FTIR اتصال فیزیکی و عدم برقراری پیوند شیمیایی بین نانوذرات نقره و نانوالیاف را به اثبات رساند. مورفولوژی سطحی خوب و یکنواختی در نانوالیاف کفیران در آزمون SEM مشاهده شد اما نانوذرات نقره به صورت توده

را برای استفاده به عنوان بسته‌بندی فعال نشان می‌دهد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد بسته‌بندی می‌تواند واکنش‌های اکسیداتیو مواد غذایی بسته‌بندی شده را کند کرده و عمر ماندگاری آنها را افزایش دهد. همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نانو الیاف با افزایش مقادیر نانوذره افزایش یافته است. این افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی با توجه به فعالیت سطحی نانوذرات نقره قابل پیش بینی بود. ترکیبات موجود در پست بیوتیک کفیران با قدرت مهار رادیکال آزاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی از خود نشان می‌دهند و این امر در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است (بیادانا و آدزاهان، ۲۰۲۱).

در این پژوهش، نانوالیاف کفیران حاوی پست بیوتیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی برابر ۵/۶۵ درصد نشان داد که دلیل آن کم بودن مقادیر پست بیوتیک در فرمولاسیون نانوالیاف است. با افزایش غلظت نانوذرات نقره، فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌داری بیشتر شد و در غلظت ۴ درصد بیشترین میزان فعالیت مهارکنندگی با قدرت ۵۹/۲۱ درصد مشاهده شد. نانوذرات نقره به دلیل فعالیت سطحی بالا قادر به جذب و اتصال به مهار رادیکال‌های آزاد هستند و از این طریق می‌توانند به مهار رادیکال DPPH کمک کنند. از طرف دیگر، با کاهش قطر نانوالیاف در غلظت‌های بالای نانونقره، نسبت سطح به حجم نانوالیاف بیشتر شده و از این طریق نیز می‌توان افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی در غلظت‌های بالای نانونقره را توجیه نمود.

ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند. بطور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که نانوالیاف کفیران حاوی پست‌بیوتیک کفیران و نانوذرات نقره از خصوصیات فیزیکی و عملکردی مطلوبی برخوردار بوده و قابلیت استفاده به عنوان بسته‌بندی فعال مواد غذایی را دارد و می‌تواند برای اهداف افزایش ماندگاری مواد غذایی و ممانعت از فساد میکروبی و اکسیداتیو مورد استفاده قرار گیرد.

شده مشاهده شدند. آزمون XRD عدم تأثیر نانونقره بر ساختار نانوالیاف کفیران را نشان داد اما در آزمون DSC، تضعیف خواص حرارتی نانوالیاف کفیران با افزایش غلظت نانونقره گزارش شد. نانوالیاف شاهد کفیران که فقط پست‌بیوتیک داشتند نیز خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی داشتند اما با افزایش غلظت نانوذرات نقره این خصوصیات عملکردی تقویت شد و نانوالیاف حاوی ۴ درصد نانونقره بهترین خاصیت

References

- خلیفه زاده ف و شهابی قهفرخی الف، ۱۳۹۸. بررسی خصوصیات نانوالیاف پلی‌کاپرولاکتون-دی‌اکسید تیتانیوم به عنوان نانو جاذب اکسیژن در بسته‌بندی فعال مواد غذایی در حضور پرتو UV-C، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹ (۲) ۷۹-۶۵.
- زمانی الف، الماسی ه و پیروزی فرد خ، ۱۴۰۱. تهیه و ارزیابی خصوصیات نانوالیاف فعال الکترووریسی شده بر پایه پلی‌کاپرولاکتون حاوی کمپلکس اسانس دارچین/بتاسیکلودکسترین، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۳۲ (۳)، ۱۷۸-۱۵۹.
- سلیمانی فرد م، اعلمی م، خدایان چگنی ف، نجفیان گ، صادقی ماهونک ع و خمیری م، ۱۳۹۲. تأثیر کفیران بر ویژگی‌های فیزیکی - شیمیایی گندم و آرد و خواص رئولوژیکی خمیر، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۳ (۲) ۱۷۷-۱۶۵.
- Ajitha B, Ahn C W, Yadav PK, and Reddy, Y A K, 2021. Silver nanoparticle embedded polymethacrylic acid/polyvinylpyrrolidone nanofibers for catalytic application. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), p.106291.
- Almasi H, Azizi S, and Amjadi S, 2020. Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana L.*) essential oil. *Food Hydrocolloids*, 99, p.105338.
- Alven S, Buyana B, Feketschane Z and Aderibigbe B A, 2021. Electrospun nanofibers/nanofibrous scaffolds loaded with silver nanoparticles as effective antibacterial wound dressing materials. *Pharmaceutics*, 13(7), p.964.
- Biadała A and Adzahan, N M, 2021. Storage Stability of Antioxidant in Milk Products Fermented with Selected Kefir Grain Microflora. *Molecules*, 26(11), p.3307.
- Blosi M, Costa A L, Ortelli S, Belosi F, Ravegnani F, Varesano A, ... & Vineis C, (2021). Polyvinyl alcohol/silver electrospun nanofibers: Biocidal filter media capturing virus-size particles. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(46), 51380.
- Dadashi S, Boddohi S, and Soleimani N, 2019. Preparation, characterization, and antibacterial effect of doxycycline loaded kefir nanofibers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 52, pp.979-985.
- de Carvalho A P A and Conte-Junior C A, 2021. Food-derived biopolymer kefir composites, nanocomposites and nanofibers: Emerging alternatives to food packaging and potentials in nanomedicine. *Trends in Food Science & Technology*, 116, pp.370-386.
- Esnaashari S S, Rezaei S, Mirzaei E, Afshari H, Rezayat S M. and Faridi-Majidi R, 2014. Preparation and characterization of kefir electrospun nanofibers. *International journal of biological macromolecules*, 70, pp.50-56.
- Gaware V, Kotade K, Dolas R, Dhamak K, Somwanshi S, Nikam V, Khadse A and Kashid V, 2011. The magic of kefir: a review. *Pharmacology*, 1, pp.376-386.
- Hasan M T, Gonzalez R, Chipara M, Materon L, Parsons J and Alcoutlabi, M 2021. Antibacterial activities of centrifugally spun polyethylene oxide/silver composite nanofibers. *Polymers for Advanced Technologies*, 32(6), pp.2327-2338.

- Jenab A, Roghanian R and Emtiazi, G 2015. Encapsulation of platelet in kefir polymer and detection of bioavailability of immobilized platelet in probiotic kefir as a new drug for surface bleeding. *Journal of Medical Bacteriology*, 4(3-4), pp.45-55.
- Jenab A, Roghanian R, Ghorbani N, Ghaedi K and Emtiazi, G, 2020. The efficacy of electrospun PAN/Kefiran nanofiber and kefir in mammalian cell culture: promotion of PC12 cell growth, anti-MCF7 breast cancer cells activities, and cytokine production of PBMC. *International journal of nanomedicine*, pp.717-728.
- Jenab A, Roghanian R, Emtiazi G and Ghaedi, K 2017. Manufacturing and structural analysis of antimicrobial kefir/polyethylene oxide nanofibers for food packaging. *Iranian Polymer Journal*, 26, pp.31-39.
- La Riviere J W M, Kooiman P and Schmidt K, 1967. Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. *Archiv für Mikrobiologie*, 59, pp.269-278.
- Li J, Xu J, Pan Y, Zhu Y, Wang Y, Chen S and Wei X, 2023. Au@ Ag-labeled SERS lateral flow assay for highly sensitive detection of allergens in milk. *Food Science and Human Wellness*, 12(3), pp.912-919.
- Lopresti F, Campora S, Tirri G, Capuana E, Pavia F C, Brucato V, Ghersi G and La Carrubba V, 2021. Core-shell PLA/Kef hybrid scaffolds for skin tissue engineering applications prepared by direct kefir coating on PLA electrospun fibers optimized via air-plasma treatment. *Materials Science and Engineering: C*, 127, p.112248.
- Moradi Z, and Kalanpour N. 2019. Kefiran, a branched polysaccharide: Preparation, properties and applications: A review. *Carbohydrate polymers*, 223, 115100
- Sabatino M A, Pavia F C, Rigogliuso S, Giacomazza D, Ghersi G, La Carrubba V, & Dispenza C, 2020. Development of injectable and durable kefir hydro-alcoholic gels. *International journal of biological macromolecules*, 149, 309-319.
- Phan D N, Khan M Q, Nguyen V C, Vu-Manh H, Dao A T, Thanh Thao P, Nguyen N M, Le V T, Ullah A, Khatri M and Kim I S, 2021. Investigation of mechanical, chemical, and antibacterial properties of electrospun cellulose-based scaffolds containing orange essential oil and silver nanoparticles. *Polymers*, 14(1), p.85.
- Piermaria J A, Pinotti A, Garcia M A and Abraham, A G, 2009. Films based on kefir, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. *Food hydrocolloids*, 23(3), pp.684-690.
- McClennen J C, 2005. Domestic violence between same-gender partners: Recent findings and future research. *Journal of interpersonal violence*, 20(2), pp.149-154.
- Radhouani H, Gonçalves C, Maia F R, Oliveira J M and Reis R L, 2018. Kefiran biopolymer: Evaluation of its physicochemical and biological properties. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 33(5), pp.461-478.
- Rhim J W, Park H M and Ha C S, 2013. Bio-nanocomposites for food packaging applications. *Progress in polymer science*, 38(10-11), pp.1629-1652.
- Ruiz-Navajas Y, Viuda-Martos M, Sendra E, Perez-Alvarez J A and Fernández-López J, 2013. In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control*, 30(2), pp.386-392.
- Shahabi-Ghahfarrokhi I and Babaei-Ghazvini A, 2019. Using photo-modification to compatibilize nano-ZnO in development of starch-kefir-ZnO green nanocomposite as food packaging material. *International journal of biological macromolecules*, 124, pp.922-930.
- Shokraei S, Mirzaei E, Shokraei N, Derakhshan M A, Ghanbari H and Faridi-Majidi R, 2021. Fabrication and characterization of chitosan/kefir electrospun nanofibers for tissue engineering applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(24), p.50547.
- Turista D D R, Hermawati A H, Puspitasari E, Lathifah Q, Pratiwi C D, Cahyariza N I and Irfanah L, 2023. Antibacterial Activity of Dairy Kefir for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus subtilis*. *Malaysian Journal of Medicine & Health Sciences*, 19.
- Ziyadi H, Baghali M, Bagherianfar M, Mehrali F and Faridi-Majidi R, 2021. An investigation of factors affecting the electrospinning of poly (vinyl alcohol)/kefir composite nanofibers. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, 4, pp.768-779.

- Zolfi M, Khodaiyan F, Mousavi M and Hashemi M, 2015. Characterization of the new biodegradable WPI/clay nanocomposite films based on kefiran exopolysaccharide. *Journal of Food Science and Technology*, 52, pp.3485-3493.
- Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M and Feleszko W, 2020. Postbiotics—a step beyond pre-and probiotics. *Nutrients*, 12(8), p.2189.