Pamukkale Univ Muh Bilim Derg, 31(7), 1327-1334, 2025

Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi

Pamukkale University Journal of Engineering Sciences

Elektro üretim tekniği kullanılarak postbiyotik içeren nanoliflerin üretimi

Production of nanofibers containing postbiotics using electrospinning method

Aleyna Sure Öztürk[1*], *Ahmet Koluman*[2]

[1]Biyomedikal Cihaz Teknolojisi Programı, Elektronik ve Otomasyon Bölümü, Patnos Meslek Yüksekokulu, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Ağrı, Türkiye.
ozturkaleynasure@gmail.com

[2]Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, Teknoloji Fakültesi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.
akoluman@pau.edu.tr

Geliş Tarihi/Received: 26.08.2024 Düzeltme Tarihi/Revision: 18.02.2025 doi: 10.5505/pajes.2025.23429
Kabul Tarihi/Accepted: 08.04.2025 Araştırma Makalesi/Research Article

Öz

Postbiyotikler, çeşitli yöntemler ile üretilen ve canlı hücre içermeyen metabolitlerdir. İçerdikleri biyoaktif ajanlar ile bulundukları ortamda antimikrobiyal, antiviral ve antienflamatuar gibi çeşitli fizyolojik aktiviteleri teşvik ederler. Canlı hücre içermedikleri için antibiyotik direnci oluşturmazlar, bağışıklığı düşük bireylerde kullanımı güvenlidir ve soğuk zincir gerektirmeyen taşıma ve depolama kolaylıkları ile probiyotiklere kıyasla birçok üstün özelliklere sahiptir. Nanolifler geniş yüzey alanı ve yüksek gözenekli yapıları ile birçok kullanım alanına sahiptir. Nanoliflerin üretiminde en sık kullanılan yöntemlerden biri elektro üretimdir. Bu çalışma kapsamında elektro üretim tekniği ile üretilen polimer nanolif örtülerin yapılarına Lactobacillus acidophilus ve Lactobacillus rhamnosus suşlarından elde edilen postbiyotiklerin dahil edilebilirliği ve nanoliflerin antimikrobiyal aktivitesi analiz edilmiştir. Yapılan analizlerden elde edilen bulgularda postbiyotiklerin nanolif örtülere dahil edilebildiği ve bununla birlikte 5 farklı patojen mikroorganizmaya karşı iyi bir antimikrobiyal etki sağladığı ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: Postbiyotik, Probiyotik, Nanolif, Antimikrobiyal Elektro üretim.

Abstract

Postbiotics are metabolites produced by various methods that do not contain live cells. These metabolites promote various physiological activities, such as antimicrobial, antiviral, and anti-inflammatory effects, through the bioactive agents they contain. Since they do not contain live cells, they do not contribute to antibiotic resistance, making their use safe for individuals with compromised immune systems. Moreover, they offer several advantages over probiotics, such as not requiring a cold chain for transport and storage. Nanofibers, known for their large surface area and highly porous structure, have a wide range of applications. One of the most commonly used methods for producing nanofibers is the electrospinning technique. In this study, the incorporation of postbiotics derived from Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus rhamnosus strains into polymer nanofiber mats produced by electrospinning was investigated, along with the antimicrobial activity of these nanofibers. The findings from the analyses demonstrated that postbiotics could be successfully incorporated into nanofiber mats and provided significant antimicrobial effects against five different pathogenic microorganisms

Keywords: Postbiotic, Probiotic, Nanofiber, Antimicrobial Electrospinning.

1 Giriş

Dünya sağlık örgütü (WHO), probiyotikleri "yeterli miktarda alındığında, konakçı sağlığına yarar sağlayan canlı mikroorganizmalardır" şeklinde tanımlamıştır. Probiyotikler fizyolojik aktivitelerin problemsiz bir şekilde gerçekleşmesine katkıda bulunarak vücudun sağlıklı ve dengede kalmasını sağlar. Probiyotiklerin insan sağlığına olan yararları çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur ancak bir ürünün probiyotik ürün sayılabilmesi için minimum 10^6 kob/g ya da ml canlı probiyotik bakteri içermesi ve bunu koruyabilmesi gerekmektedir [1]. Fakat çevre koşullarına duyarlılıkları sebebiyle uzun vadede metabolik aktivitelerini ve canlılıklarını koruyabilmeleri oldukça güçtür [2]. Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda ortaya konmuştur ki probiyotiklerin sağladığı klinik faydalar ve fizyolojik mekanizmaların gerçekleşmesi için mikrobiyal canlılığa gerek yoktur [3]. Tüm bu veriler göz önünde bulundurulduğunda postbiyotik kavramı öne çıkmaktadır.

Postbiyotikler, bakterilerin metabolik faaliyetleri sonucu ortaya çıkan, enzim, peptid, bakteriyosin gibi çeşitli moleküllerdir. Canlı mikroorganizma içermedikleri halde probiyotikler ile özdeşleştirilmiş benzer mekanizmalar sayesinde sağlığa faydalı etkiler göstermekle birlikte vücuda canlı mikroorganizma alımının getirdiği riskleri de minimalize etmektedir [4]. Canlının fizyolojik fonksiyonlarını iyileştirerek sağlığına olumlu yönde etki yapan postbiyotikler, antimikrobiyal, antiinflamatuar, antiproliferatif ve antioksidan gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri teşvik etmektedir [5]. Sharma ve diğ. (2018) yapmış oldukları bir çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biyofilmine karşı probiyotik mikroorganizmalardan izole edilen bakteriyosin ve ekzopolisakkarit postbiyotiklerinin anti-biyofilm potansiyel etkisi incelenmiştir. Filogenetik analiz ile izole bakterilerin *Lactobacillus fermentum* olduğu belirlenmiştir. Çalışmada plakalar çeşitli bakteriyosin, ekzopolisakkarit ve bunların kombinasyonu ile kaplanmıştır. Biyofilm oluşumunu gözlemlemek için lazer tarama mikroskobu kullanılmış ve akış sitometrisi ile biyofilm oluşturan canlı hücrelerin ölçümü yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda kaplanan plakalarda biyofilm oluşumuna sebep olan canlıların sayısında önemli seviyede azalma olduğu ortaya konmuştur [6]. Yordshahi ve diğ. (2020), bakteriyel nanoselülozdan (BNC) ürettikleri antimikrobiyal özellikte nanokağıt üretmiş ve içerisine liyofilize postbiyotik dahil ederek et sarma kâğıdı olarak kullanımını araştırmışlardır. *L. plantarum* suşundan elde edilen postbiyotikler, emdirme ile BNC filmlere katkılanmıştır.

Postbiyotik içeren filmlerin *L. monocytogenes'e* karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ve bu etkinin artan postbiyotik konsantrasyonu ile arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca postbiyotiklerin BNC kâğıttan gıdaya hızla salınarak et yüzeyinde çözünmesi, istenmeyen duyusal değişikliklere sebep olmadan gıdanın raf ömrünü uzatmayı başarmıştır [7].

Biyolojik açıdan incelendiğinde doğada kendiliğinden var olan ipek, selüloz, kolajen gibi birçok biyomalzemenin lif formunda biriktirilmesinden yola çıkılarak biyomimetik bir yaklaşımla biyolojik sistemleri taklit etmek için polimer nanoliflerin kullanımı oldukça uygun bir yaklaşımdır [8]. Nanolifler, teorik olarak sınırsız uzunluğa sahip ve genel olarak çapı 1000 nm' den küçük olan katı liflerdir. Çok küçük gözenek boyutu ve yüksek yüzey alanına sahip olmaları, nanolifleri çeşitli alanlardaki uygulamalar için çekici hale getirmektedir [9].

Nanoliflerin üretim teknikleri arasında elektro üretim, düşük maliyetli oluşu, geniş polimer yelpazesine sahip olması ve kolay uygulanabilirliği ile sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Yüksek voltaj sağlayan bir güç kaynağı, polimer çözeltisinin beslenmesi ve biriktirme alanından oluşan elektro üretim, kontrollü bir şekilde nano boyutlarda liflerin elde edilmesine imkân vermektedir [10]. 2023 yılında yapılmış bir çalışmada elektro üretim tekniği kullanılarak antimikrobiyal ajan içeren PVA nanolifler üretilmiş ve karakterizasyon testleri ile morfolojik yapısı ve yara örtüsü olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Antimikrobiyal ajan olarak nerolidol (NER) kullanılmıştır. Yapılan analizlerde NER konsantrasyonunun artması ile temas açısında da artış olduğu görülmüş, böylelikle NER moleküllerinin varlığı doğrulanmıştır. Disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal etkisi araştırılan nanoliflerde, saf PVA'nın antimikrobiyal özellik göstermemesine bağlı olarak NER içermeyen liflerde inhibisyon bölgesi oluşmamakla birlikte, NER içeren matların hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı değişik oranlarda inhibisyon alanı oluşturarak antimikrobiyal aktivite göstermiştir [11]. Böylelikle PVA nanoliflere antimikrobiyal ajan dahil edilmiş ve başarılı bir biçimde elektro üretim ile antimikrobiyal etki gösteren nanolifler elde edilmiştir.

Bitki özleri ve esansiyel yağlar, içerdikleri kimyasal bileşenler sayesinde yara iyileşmesini hızlandıran ve nanoliflerin yapısına dahil edilen antimikrobiyal ajanlardan biridir. Bu kapsamda yapılan çalışmalardan birinde Güler ve diğ. (2019) tarçın uçucu yağı içeren PVP nanolifler üretmişlerdir. Genel olarak üniform yapıda nanolifler elde edilmiş, uçucu yağ ilavesinin lif çapını arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca disk difüzyon testi uygulandığında yalnızca PVP içeren nanoliflerin antibakteriyel etki göstermediği, uçucu yağ içeren örneklerin iyi birer antibakteriyel etki gösterdiği ortaya konmuştur. Ek olarak nanolifli malzemenin artışıyla daha iyi antibakteriyel etki gözlemlenmesi uçucu yağ dağılımının nanolif yüzeyinde tekdüze olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla PVP nanolifler, antibakteriyel ajan dağılımı için iyi bir polimer olabilmektedir [12].

Bu çalışmada iki farklı bakteriden termal inaktivasyon sonrasında santrifüj tekniği ile üretilen postbiyotiklerin, nanoliflere dahil edilebilirliği araştırılmıştır. Bu kapsamda, üretilen postbiyotikler elektro üretim tekniği kullanılarak polivinil alkol (PVA) ve polivinil pirolidon (PVP)' a entegre edilmiş ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir.

2 Gereç ve yöntem

2.1 Gereç

Nanoliflerin elde edilmesinde kullanılan Polivinil alkol (PVA) (125.000 MW, %99 hidrolize), Polivinilpirolidon (PVP) K90 ve Etanol, Sigma-Aldrich Co. (St Louis, A.B.D.) firmasından temin edilmiştir. Postbiyotik elde edilen *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) ve *Lactobaciluus rhamnosus* (ATCC 7469) suşları ATCC kültürler olarak alınmıştır. Bakterilerin ekildiği Tyriptic Soy Broth sıvı besiyeri Lab M (Heywood, UK) firmasından tedarik edilmiştir.

2.2 Yöntem

2.2.1 PVA çözeltisinin hazırlanması

1 g PVA tartılıp üzerine 9 g distile su eklenmesiyle %10 (a/a) polimer çözeltileri elde edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler manyetik karıştırıcıda 90°C'de 500 rpm hızında homojenize oluncaya dek karıştırılmıştır.

2.2.2 PVP çözeltisinin hazırlanması

1 g PVP polimeri tartılıp üzerine 9 g Etanol eklenerek %10 (a/a) PVP çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler manyetik karıştırıcıda 50°C'de 500 rpm hızında homojenize oluncaya dek karıştırılmıştır.

2.2.3 Sıvı besiyerin hazırlanması

Bakterilerin üremesi için gerekli Tyriptic Soy Broth (TSB) çözeltisi 300 ml hazırlanarak dispenser ile her birine 9 ml olacak şekilde cam tüplere dağıtılmıştır. Cam tüpler içerisindeki TSB çözeltileri otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

2.2.4 Fizyolojik tuzlu su (FTS) hazırlanması

Fizyolojik tuzlu suyun hazırlanması için hassas terazi ile 9 g tartılmış ve steril cam şişe içerine konmuştur. Üzerine 1 litre distile su eklenerek %0.9 (a/h) konsantrasyona sahip çözelti karışım elde edilmiştir. Hazırlanan karışım homojenize oluncaya dek manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Homojenize çözelti otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

2.2.5 Probiyotiklerin zenginleştirilmesi

L. acidophilus ve *L. rhamnosus* suşları referans kültür olarak kullanılmıştır. Her işlem iki suş için ayrı ayrı yapılmıştır. Suştan 1 öze dolusu alınıp öncesinde hazırlanan TSB içerisine aktarılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından mikropipet ile 1 ml alınarak ayrı ayrı sıvı besiyeri içerisine aktarılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilerek zenginleştirme yapılarak bakteriler hazırlanmıştır.

2.2.6 Pelet Eldesi

Zenginleştirilmiş probiyotik kültürü, 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek probiyotik hücreleri besi ortamından ayrıştırılmıştır. Dibe çöken pelet (probiyotik hücreleri) korunarak üstte kalan solüsyon (besi ortamı) atılmıştır.

2.2.7 Yıkama işlemi

Elde edilen pelet üzerine 5 ml FTS eklenmiş ve vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım tekrardan 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve bu işlem toplamda 4 kez tekrar edilerek probiyotikler daha da saflaştırılmıştır. Son yıkamadan sonra 1 ml FTS eklenmiş ve vorteks ile homojenize edilmiştir.

2.2.8 Probiyotiklerin parçalanması ve elektro üretim işlemi için nihai çözeltinin hazırlanması

Homojenize edilmiş probiyotik süspansiyonu, hazırlanmış olan PVP ve PVA çözeltisinden 9 g alınıp üzerine eklenmiş ve 90°C'de 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcı ile homojenize edilmiştir. Böylelikle canlı bakteriler ısı yoluyla patlatılmış ve postbiyotik içeren polimer çözeltisi hazırlanmıştır.

2.2.9 Elektro üretim

Hazırlanan boş polimer çözeltileri ve postbiyotik içeren çözeltiler ucunda metal iğne bulunan enjektöre doldurulmuş ve metal iğne güç kaynağına bağlanarak elektriksel olarak yüklenmiştir. Yüklü çözelti, toprağa bağlı metal toplayıcı plaka üzerine çekilerek nanolifler elde edilmiştir. Çekim işlemi 15 cm mesafeden 5 saat boyunca 15 kV uygulanarak 1 ml/sa. besleme hızı ile gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen nanoliflerin isimleri ve içerikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Nanolif örneklerine ait içerikler.

Table 1. Contents of nanofiber samples.

Nanolif Örneği	Polimer	Bakteri
PVA0	PVA	-
PVP0	PVP	-
PVA/LA	PVA	*Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356)

3 Karakterizasyon

3.1 Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FESEM)

Üretilen nanolifler, alan emisyonlu elektron mikroskobu (FESEM) kullanılarak morfolojik analizi yapılmıştır. Tüm numuneler, %80 altın ve %20 paladyum ile 400 saniye boyunca kaplanarak iletken hale getirilmiştir. Tüm görüntüler, 20 kV ile çalışılıp 5000x ve 10000x büyütme oranları ile alınmıştır. Image J programı kullanılarak elde edilen görüntülerden ortalama nanolif çapları hesaplanmıştır.

3.2 Nanoliflerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi

Çalışma kapsamında üretilen PVA0, PVP0, PVA/LA, PVP/LA, PVA/LR ve PVP/LR nanoliflerinin antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Bu kapsamda Uluslararası Standartlar Teşkilatı (International Organization for Standardization, ISO) 20645 (Tekstil Ürünleri için agar difüzyon antimikrobiyal testi standardı) çerçevesinde analizler yapılmış ve Tablo 2'de belirtilen mikroorganizmalar ile 8 log kob/ml'lik bakteri stoğu hazırlanmış, sonrasında 100 µL agar yüzeyine aktarılmış ve drigalski spatülü ile yayılmıştır. Bu bağlamda, PVA0, PVA/LA, PVA/LR, PVP, PVP/LA ve PVP/LR nanoliflerinden numuneler (25±5mm çaplı) hazırlanıp yüzeye konularak 37 °C'de 24 saat boyunca inkübasyon sağlanmıştır.

4 Bulgular ve tartışma

Shankhwar ve diğ. (2016) yaptıkları bir çalışmada elektro üretim tekniği ile antibiyotik yüklü PVA/PVP kompozit membranlar üretmiş ve bunların ilaç salınım kapasitesini, antimikrobiyal özelliğini ve biyouyumluluklarını incelemişlerdir. Ayrıca kompozit membranların üretiminde PVA: PVP oranı değiştirilerek mekanik özellikleri nasıl etkilediğine bakılmıştır. Sonuçlar membranların, kapsüllenmiş antibiyotiğin sürekli salınımını sergilediği ve ayrıca patojen mikroorganizmalara karşı lokal antimikrobiyal özellik gösterdiği ortaya konmuştur. Fibroblast ve keratinosit hücrelerinin in vitro kültürü, nanolif membranların biyouyumlu olduğunu doğrulamıştır. PVP ilavesi, membranların mekanik özelliklerini önemli seviyede iyileştirdiği mekanik testler sonucu ortaya konmuştur. Tüm bu sonuçlara bakıldığında PVP/PVA membranların antimikrobiyal ajan salımı ve mekanik açıdan uygun birer etkileşimli nanolif olarak kullanılabilirliğini doğrulamaktadır [13].

4.1 PVA0, PVA/LA ve PVA/LR nanoliflerinin FESEM analiz sonuçları

FESEM analizi sonucu elde edilen görüntülerden rastgele 30 adet lif seçilerek çapları ölçülmüş ve ardından ortalama lif çapı hesaplanmıştır. Bu prosedür tüm numuneler için gerçekleştirilmiştir. PVA nanoliflerine ait ortalama lif çapı sırayla; PVA0 = 335.146 nm, PVA/LA = 450.338 nm ve PVA/LR=263.177 nm. Tablo 3'te nanoliflere ait çap ölçümleri verilmiştir.

Bu çalışmada tüm numuneler göz önüne alındığında PVA nanoliflerin çapları 222.785 nm ile 612.323 nm arasında olup ortalama 349.553 nm'dir. Yapılan bir çalışmada sarı kantaron yağı içeren PVA nanoliflerinin ortalama çapının 82 ± 17 nm ile 208 ± 105 nm arasında olduğu bildirilmiştir [14]. Benzer bir çalışmada kitosan içeren PVA nanoliflerinin ortalama çaplarının 172 ± 60 ile 257 ± 63 arasında değiştiği bildirilmiştir [15]. Ek olarak jelatin içeren PVA nanoliflerinin çapının 177 nm ile 340 nm arasında değiştiği bildirilmiştir [16].

PVA0, PVA/LA ve PVA/LR nanolif örneklerine ait FESEM görüntüleri sırasıyla Şekil 1, Şekil 2 ve Şekil 3 'te verilmiştir.

Tablo 2. Antimikrobiyal aktivite analizinde kullanılan mikroorganizma kültürleri.

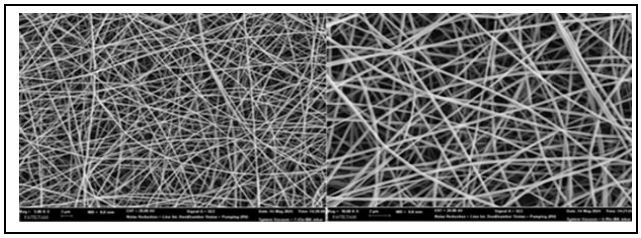
Table 2. Microorganism cultures used in antimicrobial activity analysis.

Mikroorganizma	Türü	Gram Türü	ATCC No
Listeria monocytogenes	Bakteri	Pozitif	35152
Staphylococcus epidermidis	Bakteri	Pozitif	14990
Bacillus cereus	Bakteri	Pozitif	14579
Aspergillus brasiliensis	Mantar		16404
Salmonella typhimurium	Bakteri	Negatif	14028

Tablo 3. PVA nanoliflerin ortalama çapları

Table 3. Average diameters of PVA nanofibers

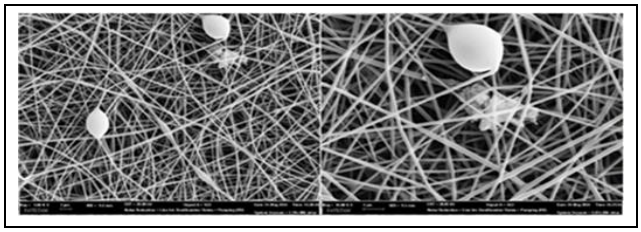
Nanolif Örneği	Maksimum Çap (nm)	Minimum Çap (nm)	Ortalama Çap (nm)
PVA0	561.637	222.785	335.146
PVA/LA	612.323	317.012	450.338
PVA/LR	320.973	160.486	263.177



(a) (b)

Şekil 1. PVA0 nanolif örneğine ait FESEM görüntüleri. (a): 5000X-PVA0. (b): 10000X-PVA0.

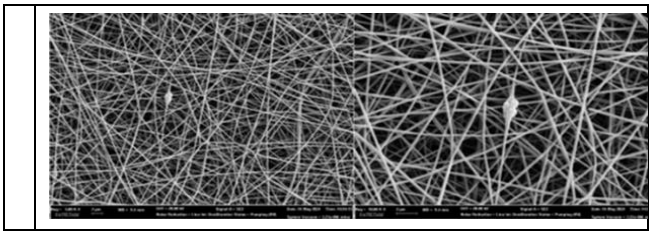
Figure 1. FESEM images of PVA0 nanofiber sample. (a): 5000X-PVA0. (b): 10000X-PVA0.



(a) (b)

Şekil 2. PVA/LA nanolif örneğine ait FESEM görüntüleri. (a): 5000X-PVA/LA. (b): 10000X-PVA/LA.

Figure 2. FESEM images of PVA/LA nanofiber sample. (a): 5000X-PVA/LA. (b): 10000X-PVA/LA.



(a) (b)

Şekil 3. PVA/LR nanolif örneğine ait fESEM görüntüleri. (a): 5000X-PVA/LR. (b): 10000X-PVA/LR.

Figure 3. FESEM images of PVA/LR nanofiber sample. (a): 5000X-PVA/LR. (b): 10000X-PVA/LR.

Postbiyotiklerin nanoliflere dahil edilmesi üzerine yapılan çalışmada, *Bacillus coagulans*'tan elde edilen ve yeni bir postbiyotik türü olan Lactosporin kullanılmıştır. Lactosporin, Hyaluronik asit (HA)/PVA/Kitosan (CS) bazlı nanoliflere dahil edilmiş ve 6 farklı bakteri türüne karşı antibakteriyel etkisi araştırılmıştır. Üretilen nanolif membranların tekdüze ve boncuksuz yapıya sahip olduğu görülmüştür. Membranlar, minimum inhibisyon konsantrasyonu testinde tüm mikroorganizmalara karşı aktif etki göstermiş ve *Escherichia coli, Micrococcus Luteus, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermis ve Klebsiella pneumonia* dahil olmak üzere altı bakteri türüne karşı üstün antibakteriyel özellikler göstermiştir [17]. Yapmış olduğumuz çalışmada da PVA/LA nanolif örneği hariç tamamının boncuksuz olduğu gözlemlenmiştir. Boncuklu yapıya sebebiyetin örneğin hazırlanması ve üretim aşamasındaki dış koşullardan veya homojenizasyondan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

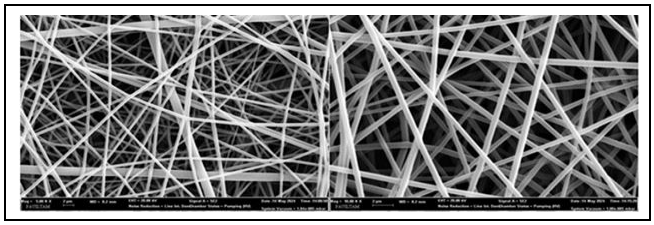
4.2 PVP0, PVP/LA ve PVP/LR nanoliflerinin FESEM analiz sonuçları

FESEM analizi sonucu elde edilen görüntülerden rastgele 30 adet lif seçilerek çapları ölçülmüş ve ardından ortalama lif çapı hesaplanmıştır. Bu prosedür tüm numuneler için gerçekleştirilmiştir. PVP nanoliflerine ait ortalama lif çapı sırayla; PVP0=608.069 nm, PVP/LA=535.513 nm ve PVP/LR=490.929 nm. Tablo 4'te nanoliflere ait çap ölçümleri verilmiştir. PVP nanolif örneklerine ait FESEM görüntüleri Şekil 4, Şekil 5 ve Şekil 6'da verilmiştir.

Tablo 4. PVP nanoliflerin ortalama çapları.

Table 4. Average diameters of PVP Nanofibers.

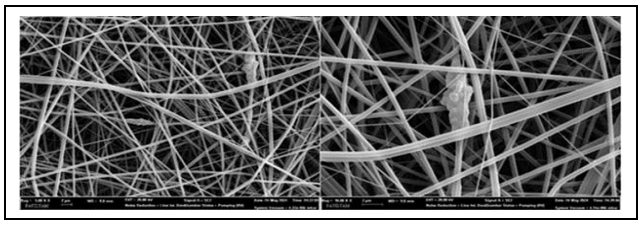
Nanolif Örneği	Maksimum Çap (nm)	Minimum Çap (nm)	Ortalama Çap (nm)
PVP0	755.217	500.807	608.069
PVP/LA	781.520	346.678	535.513
PVP/LR	762.056	335.584	490.929



(a) (b)

Şekil 4. PVP0 nanolif örneğine ait FESEM görüntüleri. (a): 5000X-PVP0. (b): 10000X-PVP0.

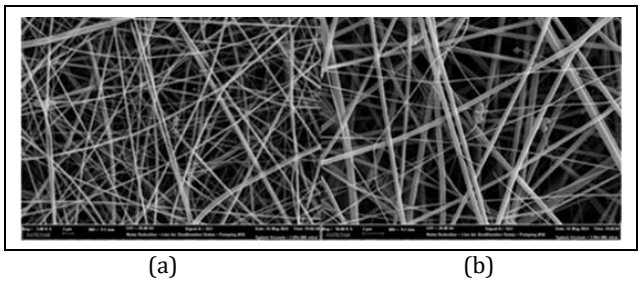
Figure 4. FESEM images of PVP0 nanofiber sample. (a): 5000X-PVP0. (b): 10000X-PVP0.



(a) (b)

Şekil 5. PVP/LA nanolif örneğine ait FESEM görüntüleri. (a): 5000X-PVP/LA. (b): 10000X-PVP/LA.

Figure 5. FESEM images of PVP/LA nanofiber sample. (a): 5000X-PVP/LA. (b): 10000X-PVP/LA.



(a) (b)

Şekil 6. PVP/LR nanolif Örneğine ait FESEM görüntüleri. (a): 5000X-PVP/LR. (b): 10000X-PVP/LR.

Figure 6. FESEM images of PVP/LR nanofiber sample. (a): 5000X- PVP/LR. (b): 10000X- PVP/LR.

4.3 Antimikrobiyal aktivite analiz sonuçları

Test sonuçları değerlendirilirken ISO 20645'te belirtilen prosedür uygulanmıştır. Bu bağlamda nanolif numunesi çevresinde 1 mm'den fazla bölgenin oluşması, 0-1 mm'lik bölgenin oluşması ve numunenin doğrudan altında büyümenin olmaması antimikrobiyal etkinin oluştuğunu göstermektedir. Mikroorganizma gelişiminin baskılanmış ve zayıf oluşu sınırlı aktivite, geri kalan durumlar ise antimikrobiyal aktivitenin olmayışını belirtmektedir. ISO 20645'te belirtilen değerlendirme kriterleri Tablo 5'te listelenmiştir.

Tablo 5. Antibiyogram sonuç değerlendirmesi.

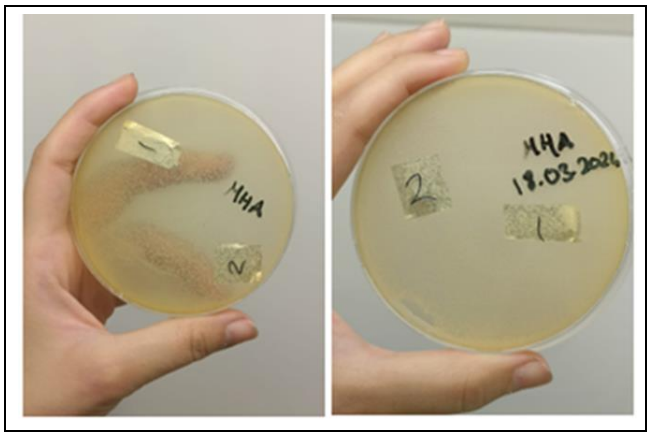
Table 5. Antibiogram result evaluation.

İnhibasyon Bölgesi (mm) Ortalama Değeri	Üreme[a)]	Açıklama	Yorum
>1	Yok	1 mm'den fazla inhibisyon alanı, mikroorganizma artışı yok [b)]	İyi etki
0-1	Yok	1 mm'ye kadar oluşan inhibisyon alanı, mikroorganizma artışı yok [b)]	İyi etki
0	Yok	Hem mikroorganizma artışı hem de inhibisyon alanı yok [c)]	İyi etki
0	Az	İnhibisyon bölgesi bulunmamakla birlikte, sınırlı koloni mevcut olup, büyüme neredeyse tamamen durdurulmuştur.	Sınırlı etki
0	Orta	İnhibasyon alanı oluşmamakla birlikte, kontrol grubu ile kıyaslandığında büyüme yarı yarıya baskılanmıştır [e)]	Yetersiz etki
0	Yoğun	İnhibisyon alanı yok, kontrol grubuna göre üremede baskılanma yok veya çok az var	Yetersiz etki

(a): Örneğin altındaki besi yerinde bakteri gelişimi,
(b): İnhibisyonun kapsamı yalnızca kısmen değerlendirilmelidir. Geniş inhibisyon alanı, aktif maddelerin belirli kaynaklarını veya bir ürünün substrat üzerinde zayıf biçimde bağlandığını ortaya koyabilir,
(c): İnhibisyon alanının oluşmaması, aktif maddenin düşük yayılabilirliğinden kaynaklanabileceğinden, inhibisyon bölgesi oluşmadan üremenin baskılanması iyi etki olarak tanımlanabilir.
(d): Tamamen büyümenin engellenmesi kadar etkili olması" aktivite sınırlarını ortaya koymaktadır.
(e): Mikrobiyal büyümenin azaltılması ya koloni çapı ya da koloni sayısı anlamına gelmektedir.

Üretilen tüm nanolif örneklerinin *Listeria monocytogenes* (LM), *Staphylococcus epidermidis* (SE), *Bacillus cereus* (BC), *Aspergillus brasiliensis* (AB) ve *Salmonella typhimurium* (ST)'a karşı antimikrobiyal analizi yapılmıştır.

Değerlendirme kapsamında elde edilen PVA0 ve PVP0 nanolif örnekleri, daha önce bilinen bir antimikrobiyal özelliğe sahip olmamalarına bağlı olarak antimikrobiyal analizde kontrol numuneleri olarak kullanılmış ve antimikrobiyal etki göstermemişlerdir. Şekil 7'de PVA0 ve PVP0 nanolif örneklerinin altında ve çevresinde üreme oluştuğu açıkça görülmektedir.



(a) (b)

Şekil 7. PVA0 ve PVP0 nanolif örneklerine ait antimikrobiyal analiz görüntüsü.

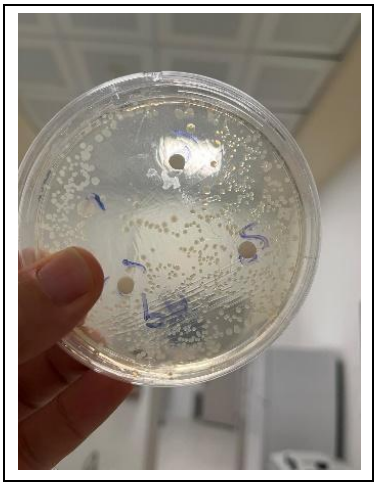
(a) : PVA0. (b): PVP0.

Figure 7. Antimicrobial analysis image of PVA0 and PVA0 nanofiber samples.

(a) : PVA0. (b): PVP0.

PVA/LA nanolif örneği LM hariç diğer tüm (SE, BC, AB ve ST) mikroorganizmalara karşı iyi antimikrobiyal etki göstermiş, LM ye karşı etki göstermemiştir. PVP/LA ve PVP/LR nanolif örnekleri tüm mikroorganizmalara karşı iyi seviyede antimikrobiyal etki göstermiş, örneklerin üzerinde hiçbir üreme gözlemlenmemiştir. PVA/LR nanolif örneği tüm mikroorganizmalara karşı iyi seviyede antimikrobiyal etki göstermiş, ST'ye karşı ayrıca inhibisyon bölgesi oluşturmuştur.

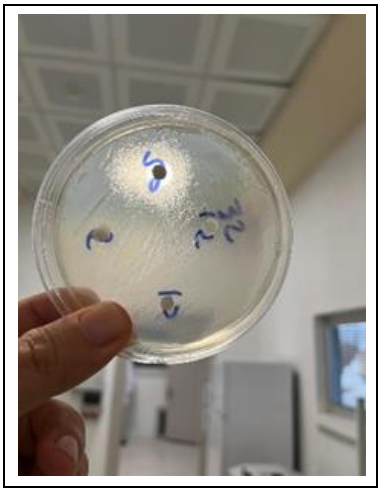
Şekil 8'de PVA/LR, PVA/LA, PVP/LR ve PVP/LA nanolif örneklerinin *Staphylococcus epidermidis* patojenine karşı gösterdiği antimikrobiyal etki görülmektedir. Numunelerin altında mikroorganizma gelişiminin gözlemlenmemesi, nanoliflerin iyi seviyede antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Sol üst numune PVA/LA, sağ üst numune PVA/LR, sağ alt numune PVP/LA ve sol alt numune PVP/LR nanolif örneklerine aittir.



Şekil 8. Postbiyotik içeren nanoliflerin *Staphylococcus epidermidis'e* karşı gösterdiği antimikrobiyal etki.

Figure 8. Antimicrobial effect of postbiotic containing nanofibers against Staphylococcus epidermidis.

Şekil 9, PVA/LR, PVA/LA, PVP/LR ve PVP/LA nanolif örneklerinin *Salmonella typhimurium* patojenine karşı gösterdiği antimikrobiyal etkiyi ortaya koymaktadır. Sol üst numune PVA/LA, sağ üst numune PVA/LR, sağ alt numune PVP/LA ve sol alt numune PVP/LR nanolif örneklerine aittir. Tüm numunelerin altında üreme gözlenmemekle birlikte sağ üstteki numunenin (PVA/LR) oluşturduğu inhibisyon bölgesi açıkça görülmektedir.



Şekil 9. Postbiyotik içeren nanoliflerin *Salmonella typhimurium*'a karşı gösterdiği antimikrobiyal etki.

Figure 9. *Antimicrobial effect of postbiotic containing nanofibers against Salmonella typhimurium.*

Yara ve yanık yüzeyinden izole edilen patojen mikroorganizmalara karşı farklı bakteri türlerinin antimikrobiyal etkisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus GG* ve *Lactobacillus acidophilus*' tan elde edilen bakteriyosinlerin, 70 hastadan toplanan sürüntü örneklerinden elde edilen *P. aeruginosa'* ya karşı antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Elde edilen tüm *P. aeruginosa* izolatları proteaz üretebilmektedir. *P. aeruginosa*, çoklu antibiyotik direnci gösterdiği halde elde edilen bakteriyosinlerin proteaz üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği gözlemlenmiş, ayrıca *L. acidophilus*'un en yüksek antimikrobiyal etki bölgesi 25 mm, *L. rhamnosus*'un ise 32 mm olarak ölçülmüştür [18]. Yapmış olduğumuz çalışma ile aynı bakteri suşlarının kullanıldığı bu çalışma, kullanılan türlerin antimikrobiyal etkisini açıkça ortaya koymaktadır.

5 Sonuçlar

Nanoteknolojinin de ilerlemesi ile özellikle son birkaç on yıldır birçok farklı özellikte nanolif membranlar geliştirilmektedir. Nanolifler, sahip oldukları geniş yüzey alanı ve yüksek gözeneklilikleri ile çeşitli biyoaktif ajanların entegrasyonuna ve bunların salınımı için uygun yapıdadırlar. Postbiyotikler mikroorganizma kaynaklı metabolitlerdir. Çeşitli yöntemler kullanılarak inaktive edilen bakterilerden elde edilen postbiyotikler, canlı hücre içermemeleri sebebiyle kullanımları güvenlidir ve probiyotiklerin tabi tutulduğu sınırlamalara dahil değildirler. Yapılan birçok araştırma postbiyotiklerin birçok fizyolojik aktivite ile konağın olağan sağlık durumuna iyi yönde etki ettiği kanıtlanmıştır. Jamaran ve diğ. (2021) yaptıkları bir çalışmada solvent döküm tekniğini kullanarak *Lactobacillus reuteri* 'den elde ettikleri hücresiz süpernatant ile postbiyotik/kitosan/polietilen glikol (PEG) bazlı bir biyobozunur film üreterek hayvan deneyleri ile yara örtüsü olarak kullanımını araştırmışlardır. Hayvan deneyleri; bir kontrol grubu, bir kitosan grubu ve bir postbiyotik grubu olmak üzere 3 gruba ayrılan 45 erkek sıçan üzerinde tam kalınlıkta eksizyonel yaralar açılarak yapılmıştır. Üretilen filmlerle antimikrobiyal analiz ve gen ekspirasyonu analizi yapılmıştır. Yapılan incelemelerde postbiyotik içeren filmlerin, yaralarda enfeksiyona sebep olan patojenleri inhibe ettiği ve antimikrobiyal özellik sergilediği görülmüştür [19].

Postbiyotiklerin yara iyileşmesine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada ise Golkar ve diğ. (2021) *Lactobacillus fermentum, Lactobacillus reuteri ve Bacillus subtilis sp. natto* olmak üzere farklı probiyotik suşlarından elde edilen postbiyotikleri içeren 3 farklı topikal soğuk krem formülasyonu hazırlayarak sıçan modeli üzerinde etkinlikleri araştırılmıştır. Bu kapsamda yapılan deneylerde postbiyotik içeren kremler, postbiyotik içermeyen krem uygulanan ve hiçbir tedavi uygulanmayan kontrol grubu sıçanlarla kıyaslanarak test edilmiştir. Postbiyotik içeren formülasyonların, kontrol grubuna göre iyileşme sürecinde hızlı oldukları göstermiştir. Ayrıca *Bacillus subtilis natto* postbiyotiği içeren krem formülasyonları arasında en iyi iyileşme gösteren grup olmuştur. Hidroksiprolin, doku onarımı ve kolajen sentezinin göstergesi olan bir parametredir. *Bacillus subtilis natto* ile üretilen postbiyotik içeren krem, diğerlerine kıyasla en fazla hidroksiprolin üreten formülasyon olmuştur. Çalışmada, 14 gün sonunda yara iyileşmesinin detaylı değerlendirilmesi için yapılan histolojik analizde epitelizasyon, inflamasyon, granülasyon ve fibrozis gibi süreçler puanlanarak değerlendirme yapılmıştır. Postbiyotik içermeyen soğuk krem ile tedavi edilen, *Lactobacillus fermentum* postbiyotiği içeren ve tedavi uygulanmayan sıçanlarda eksik epitelizasyon gelişirken, *Lactobacillus reuteri* ve *Bacillus subtilis sp. natto* suşlarından elde edilen postbiyotikle hazırlanan kremler ile tedavi edilen sıçanlarda tam epitelizasyon görülmüştür. Enflamasyon derecesi gruptan gruba değişiklik göstermiştir. Postbiyotik içermeyen ve herhangi bir tedavi uygulanmayan soğuk kremle tedavi edilen gruplarda en yüksek enflamasyon görülürken, *Lactobacillus reuteri* soğuk kremi ile tedavi edilen grupta enflamasyon gelişmemiştir. Genel olarak histolojik değerlendirme sonuçlarına bakıldığında postbiyotik içeren soğuk kremlerin yara iyileşmesini desteklediği ortaya konmuştur [20].

Bu çalışma kapsamında elektro üretim tekniği kullanılarak postbiyotiklerin nanolif formuna entegrasyonu ve antimikrobiyal etkinliği araştırılmıştır. Bu bağlamda *Lactobacillus acidophilus* ve *Laactobacillus rhamnosus* suşlarından elde edilen postbiyotikler, polimer çözeltilerine karıştırılarak nanolif formuna dönüştürülmüştür. Postbiyotiklerin, FESEM tekniği ile morfolojik analizi yapılan nanoliflere dahil edildiği görüntülenmiştir. Ayrıca üretilen nanolif membranlar, 5 farklı patojen mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkinliği araştırılmış ve iyi seviyede antimikrobiyal özellik sergiledikleri ortaya konmuştur.

6 Conclusions

With the advancement of nanotechnology, various nanofiber membranes with different properties have been developed, particularly over the past few decades. Nanofibers, characterized by their large surface area and high porosity, are well-suited for the integration of various bioactive agents and their subsequent release. Postbiotics are metabolites derived from microorganisms. Postbiotics obtained from bacteria that have been inactivated using various methods are safe for use

due to their lack of live cells and are not subject to the limitations imposed on probiotics. Numerous studies have demonstrated that postbiotics positively influence the host's physiological activities and overall health. Jamaran et al. (2021) utilized the solvent casting technique to produce a biodegradable postbiotic/chitosan/polyethylene glycol (PEG)-based film incorporating cell-free supernatant obtained from *Lactobacillus reuteri* and investigated its potential application as a wound dressing in animal experiments. The animal experiments were conducted by creating full-thickness excisional wounds on 45 male rats, which were then divided into three groups: a control group, a chitosan group, and a postbiotic group. Antimicrobial analysis and gene expression analysis were performed on the produced films. The findings revealed that the films containing postbiotics inhibited pathogens responsible for wound infections and exhibited antimicrobial properties [19].

In a study investigating the effects of postbiotics on wound healing, three different topical cold cream formulations containing postbiotics derived from various probiotic strains—*Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus reuteri*, and *Bacillus subtilis sp. natto*—were prepared and tested for their efficacy using a rat model. The postbiotic-containing creams were compared with a control group treated with a postbiotic-free cream and another group that received no treatment. The findings demonstrated that the postbiotic-containing formulations accelerated the healing process compared to the control group. Among the tested formulations, the cream containing *Bacillus subtilis natto* postbiotic exhibited the most effective wound healing properties. Hydroxyproline, a key indicator of tissue repair and collagen synthesis, was measured in the study. The formulation containing *Bacillus subtilis natto* postbiotic produced the highest hydroxyproline levels compared to the other formulations. To further evaluate wound healing, a histological analysis was conducted on day 14, assessing parameters such as epithelialization, inflammation, granulation, and fibrosis. Incomplete epithelialization was observed in rats treated with the postbiotic-free cold cream, the *Lactobacillus fermentum* postbiotic-containing cream, and the untreated group. In contrast, complete epithelialization was achieved in rats treated with creams formulated with postbiotics derived from *Lactobacillus reuteri* and *Bacillus subtilis sp. natto*. The degree of inflammation varied among the groups, with the highest levels observed in the untreated and postbiotic-free cold cream-treated groups, while no inflammation was detected in the group treated with *Lactobacillus reuteri* cold cream. Overall, the histological evaluation results demonstrated that postbiotic-containing cold creams effectively promoted wound healing [20].

In this study, the integration of postbiotics into nanofiber form and their antimicrobial efficacy were investigated using the electrospinning technique. In this context, postbiotics derived from *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus* strains were mixed with polymer solutions and converted into nanofiber form. The inclusion of postbiotics in the nanofibers was confirmed through morphological analysis using the FESEM technique. Additionally, the produced nanofiber membranes were evaluated for their antimicrobial activity against five different pathogenic microorganisms, and they exhibited significant antimicrobial properties.

7 Yazar katkı beyanı

Yapılan bu çalışmada Ahmet Koluman; fikrin oluşması ve yöntem tasarımında, Aleyna Sure Öztürk literatür taraması, deneylerin gerçekleştirilmesi ve makalenin düzenlenmesinde katkı sunmuşlardır.

8 Etik kurul onayı ve çıkar çatışması beyanı

"Hazırlanan makalede etik kurul izni alınmasına gerek yoktur".

"Hazırlanan makalede herhangi bir kişi/kurum ile çıkar çatışması bulunmamaktadır".

9 Kaynaklar

[1] Uğur E, Öner Z, Bektaş A, Ulusoy M. "Paraprobiyotikler, postbiyotikler ve sağlık üzerine etkileri". *Gıda*, 46(2), 428-442, 2021.

[2] Coghetto CC, Brinques GB, Ayub MAZ. "Probiotics production and alternative encapsulation methodologies to improve their viabilities under adverse environmental conditions". *International journal of food sciences and nutrition*, 67(8), 929-943, 2016.

[3] Cuevas-González PF, Liceaga, AM, Aguilar-Toalá, JE. "Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications". *Food research international,* 136, 109502, 2020.

[4] Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński, M, Feleszko W, "Postbiotics-a step beyond pre-and probiotics". *Nutrients*, 12(8), 2189, 2020.

[5] Açar Y, Sökülmez Kaya P. "Postbiyotikler ve sağlık üzerine etkileri: sistematik derleme". *Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi*, 10(2), 276-284, 2021.

[6] Sharma V, Harjai K, Shukla G. "Effect of bacteriocin and exopolysaccharides isolated from probiotic on P. aeruginosa PAO1 biofilm". *Folia Microbiologica*, 63, 181-190, 2018.

[7] Yordshahi AS, Moradi M, Tajik H, Molaei R. "Design and preparation of antimicrobial meat wrapping nanopaper with bacterial cellulose and postbiotics of lactic acid bacteria". *International Journal of Food Microbiology*, 321, 108561, 2020.

[8] Zhang Y, Lim CT, Ramakrishna S, Huang ZM "Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications". *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16, 933-946, 2005.

[9] Rošic R, Kocbek P, Pelipenko J, Kristl J, Baumgartner S. "Nanofibers and their biomedical use". *Acta Pharmaceutica*, 63(3), 295-304, 2013.

[10] Coşkun Üstündağ G. Elektrospinning Yöntemi ile Biyomedikal Kullanıma Yönelik Nanolif Yüzey Üretimi ve Uygulaması. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye, 2009.

[11] Machado PA, Fraga GN, Medeiros AR, Pellá MC, Colauto NB, Linde GA, Cavalheiro FN, Faria MGI, Dragunski DC, Caetano J. "Poly (vinyl alcohol)-Based electrospun nanofibers with ımproved antimicrobial activity". *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 34, 1852-1862, 2023.

[12] Kesici Güler H, Cengiz Çallıoğlu F, Sesli Çetin E. "Antibacterial PVP/cinnamon essential oil nanofibers by emulsion electrospinning". *The journal of the Textile Institute*, 110(2), 302-310, 2019.

[13] Shankhwar N, Kumar M, Mandal BB, Robi PS, Srinivasan A. "Electrospun polyvinyl alcohol-polyvinyl pyrrolidone nanofibrous membranes for interactive wound dressing application". *Journal of Biomaterials science, Polymer edition*, 27(3), 247-262, 2016.

[14] Pala N, Aral N, Nergıs B. "Emulsion electrospinning of PVA nanofibers containing hypericum perforatum oil". *Tekstil ve Mühendis*, 29(128), 267-271, 2022.

[15] Koosha M, Mirzadeh H. "Electrospinning, mechanical properties, and cell behavior study of chitosan/PVA nanofibers". *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 103(9), 3081-3093, 2015.

[16] Yang D, Li Y, Nie J. "Preparation of gelatin/PVA nanofibers and their potential application in controlled release of drugs". *Carbohydrate Polymers*, 69(3), 538-543, 2007.

[17] Ekrami E, Mahmoudifard M, Shahraky MK. "Lactosporin loaded electrospun nanofibrous membrane: Novel antibacterial and wound dressing patch". *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 96, 105635, 2024.

[18] Al-Malkey MK, Ismeeal MC, Al-Hur FJA, Mohammed SW, Nayyef HJ. "Antimicrobial effect of probiotic *Lactobacillus* spp. on *Pseudomonas aeruginosa*". *Journal of Contemporary Medical Sciences*, 3(10), 218-223, 2017.

[19] Jamaran S, Jafari P, Marjani A, Akbari N, Feizabad, MM. "Novel wound dressing based on postbiotic/chitosan film accelerates cutaneous wound healing". *Jundishapur Journal of Microbiology*, 14(12), 1-13, 2021.

[20] Golkar N, Ashoori Y, Heidari R, Omidifar N, Abootalebi SN, Mohkam M, Gholami A. "A novel effective formulation of bioactive compounds for wound healing: preparation, in vivo characterization, and comparison of various postbiotics cold creams in a rat model". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 1-13, 2021.