

**Atf İçin:** Şakir, M., Kiremitler, N. B., Ceylan, A. (2023). Cu Nanoparçacık İçeren Polikaprolakton Nanofiberlerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13(3), 1937-1945.

**To Cite:** Şakir, M., Kiremitler, N. B., Ceylan, A. (2023). Antimicrobial Activities of Polycaprolactone Nanofibers Containing Cu Nanoparticles. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 13(3), 1937-1945.

### Cu Nanoparçacık İçeren Polikaprolakton Nanofiberlerin Antimikrobiyal Aktiviteleri

Menekşe ŞAKİR<sup>1\*</sup>, N. Burak KİREMİTLER<sup>1,2</sup>, Ahmet CEYLAN<sup>3</sup>

#### **Öne Çıkanlar:**

- Polikaprolakton nanofiberlerin üretimi
- Cu nanoparçacıkların sentezi
- PCL/Cu nanofiberlerin antimikrobiyal aktivitesi

#### **Anahtar Kelimeler:**

- Cu nanoparçacık,
- Polikaprolakton,
- Staphylococcus aureus,
- Escherichia coli,
- Candida albicans,
- Antimikrobiyal aktivite.

#### **ÖZET:**

Askorbik asit ve CTAC yardımı ile ıslak kimyasal yöntem kullanılarak Cu nanoparçacıkların sentezi başarılı bir şekilde gerçekleştirildi. Elektron mikroskobu ile morfolojileri karakterize edilen nanoparçacıkların 578 nm civarında bir absorpsiyon bandına sahip olduğu görüldü. Polikaprolakton (PCL) içerisine homojen bir şekilde dağıtılan Cu nanoparçacıklar ile elektroçirime yöntemiyle ortalama 624±216 nm çapında nanofiberler elde edildi. PCL/Cu nanofiberlerin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterileri ile *Candida albicans* türü üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri incelendi. Nanofiberler, sahip oldukları yüksek yüzey alanı sayesinde kontrol örnekleri ile kıyaslanabilir bir antimikrobiyal zon çaplarına sahip oldukları görüldü. Elde edilen PCL/Cu nanofiberlerin açık yaralarda kullanılan yara bandı veya bandaj gibi malzemelere, tıbbi tekstil ürünlerine entegre edilerek antimikrobiyal aktivitenin engellenmesi açısından faydalı olacağı düşünülmektedir.

### Antimicrobial Activities of Polycaprolactone Nanofibers Containing Cu Nanoparticles

#### **Highlights:**

- Fabrication of polycaprolactone nanofibers
- Synthesis of Cu nanoparticles
- Antimicrobial activity of PCL/Cu nanofibers

#### **Keywords:**

- Cu nanoparticles,
- Polycaprolactone,
- Staphylococcus aureus,
- Escherichia coli,
- Antimicrobial activity

#### **ABSTRACT:**

The synthesis of Cu nanoparticles was carried out successfully using the wet chemical method with the help of ascorbic acid and CTAC. It was observed that the nanoparticles, whose morphology was characterized by electron microscopy, had an absorbance band of around 578 nm. Nanofibers with an average diameter of 624±216 nm were obtained by electrospinning with Cu nanoparticles homogeneously dispersed in polycaprolactone (PCL). Antimicrobial activities of PCL/Cu nanofibers on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria and *Candida albicans* were investigated. The nanofibers were found to have an antimicrobial zone diameter comparable to the control samples, thanks to their high surface area. The obtained PCL/Cu nanofibers are thought to be useful in preventing antimicrobial activity by integrating into materials such as band-aids or bandages used in open wounds, and medical textiles.

<sup>1</sup> Menekşe ŞAKİR (Orcid ID: 0000-0003-3102-0947), N. Burak KİREMİTLER (Orcid ID: 0000-0001-6065-4899), ERNAM - Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Kayseri, Türkiye

<sup>2</sup> N. Burak KİREMİTLER (Orcid ID: 0000-0001-6065-4899), Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü, Mühendislik Fakültesi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye

<sup>3</sup> Ahmet CEYLAN (Orcid ID: 0000-0002-3087-066X), Farmasötik Biyoteknoloji, Eczacılık Fakültesi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Türkiye

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Menekşe ŞAKİR, e-mail: meneksesarihan@erciyes.edu.tr

## GİRİŞ

Antibiyotiğe karşı dirençli *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ve *Escherichia coli* (*E. coli*) gibi bakteri türlerine maruz kalınması halinde hem iyileşme süreci gecikmekte hem de antibiyotik kullanımı artmaktadır (Appelbaum, 2006; Asadi ve ark., 2014). Bu durum küresel ekonomileri ve halk sağlığını olumsuz etkilemektedir. Biyomedikal cihazlar, tıbbi giysiler, yara bandajları, yatak takımları veya battaniyeler gibi ortak kullanılan yüzeyler bir kez mikrobiyal bağlanma ile tehlikeye girdiğinde bakterilerin biyofilm oluşturarak ilerlemesi oldukça muhtemeldir. Böyle bir durumda antibiyotik kullanımından ziyade kolonizasyonu kontrol edebilecek veya önleyebilecek etkili antimikrobiyal malzemelerin geliştirmesi daha ekonomik ve yararlı bir stratejidir. Bu amaç doğrultusunda tıbbi tedavi, su arıtma, ahşap koruma gibi farklı alanlarda bakteri ve mantar büyümesini durdurmak veya yavaşlatmak için kullanılmak üzere çeşitli antimikrobiyal malzemeler geliştirilmiştir (Hajipour ve ark., 2012).

Bakırın geniş spektrumlu bir biyosit olduğu ve bakteri, mantar ve algerin büyümesini etkili bir şekilde engellediği yüzlerce yıldır bilinmektedir (Anyago ve ark., 2008; Cady ve ark., 2011; Cioffi ve ark., 2004). Eski Mısırlılar, gümüş (Ag) ve bakır (Cu) gibi metaller kullanarak içme suyunu ve yaraları sterilize ederken, ikinci dünya savaşında Japon askerleri dizanteriyi önlemek için su şişelerine bakır parçaları koydular (Korkmaz ve ark., 2021). Günümüzde ise hastanelerdeki kapı tokmakları veya diğer yüzeylerde bakır alaşımlarının kullanılmasının sebebi de budur. Bakır ve çinko amalgamları diş protezlerinde kullanılmış ve bunların tuz formları diş eti iltihabının tedavisi için ağız gargalarına dahil edilmiştir (Morrier ve ark., 1998; Santo ve ark., 2008). Dezenfektanların yapımında da bakır ve gümüş gibi antimikrobiyal ajanlardan yararlanılmaktadır. Bakır ve bileşikleri, ABD Çevre Koruma ajansı (EPA) tarafından antimikrobiyal malzemeler olarak kabul edilmiş ve 2008 yılında tehlikeli kontaminasyonlardan sorumlu mikroskobik organizmaların çoğalmasına karşı etkili antimikrobiyal malzeme olarak yaklaşık 300 tane bakır içeren karışım rapor edilmiştir (Rajeshkumar ve ark., 2019).

Antibakteriyel uygulamalar için yoğun olarak çalışılan gümüşten farklı olarak bakır canlı organizmalar için gerekli bir elementtir ve biyomedikal uygulamalar için kullanılabilir. Düşük konsantrasyonlarda bakır; metaloproteinler ve enzimler için bir kofaktördür, bu nedenle diğer metallerle karşılaştırıldığında düşük toksisite avantajına sahiptir (Rakhmetova ve ark., 2010; Tamayo ve ark., 2016). Ayrıca bakır, gümüş gibi antibakteriyel özelliklere sahip diğer metallerle kıyasla daha uygun maliyetlidir (Jia ve ark., 2012). Bunun yanı sıra polimerik çözeltilerle kolaylıkla karıştırılabileceği bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir (Borkow ve ark., 2009).

Bakır tuzlarına kıyasla Cu nanoparçacıkların daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilemesi, geniş yüzey/hacim oranına ve kristalografik yüzey yapısına atfedilmektedir (Chatterjee ve ark., 2012). Metal nanoparçacıkların ilgili metal iyonlarını saldırdığı varsayılmıştır. Bakır nanoparçacıkları ve bakır iyonları bakterinin hücre yüzeyinde birikir ve zarda çukurlar oluşturarak hücresel bütünlüğün bozulmasına; dolayısıyla sitoplazma bileşenlerine, DNA yapısına, hücre içi enzimlere zarar vererek hücre ölümüne neden olur (Din ve ark., 2017). Mallick ve ark. kitosan-Cu nanoparçacıklar ile hazırlanmış oldukları nanokompozitin *E. coli*'ye karşı antibakteriyel etkisini incelediklerinde bakırın hücre zarında onarılmaz bir hasara neden olduğunu gözlemlediler (Mallick ve ark., 2012). Ayrıca Cu nanoparçacıklardan kaynaklanan Cu iyonlarının, DNA ve protein gibi fosfor ve kükürt içeren biyomoleküllerle etkileşime girerek yapılarını bozabileceği öne sürüldü (Raffi ve ark., 2010; Ruparelia ve ark., 2008).

Antimikrobiyal özellik sergileyen Cu nanoparçacıklar genellikle bir polimer matrise dahil edilerek nanokompozit adı verilen yeni malzemeler üretilir. Burada polimer, sadece nanoparçacıklar için destekleyici bir matris görevi görmekle kalmaz aynı zamanda nanokompozitlerin antimikrobiyal

performansını da arttırabilir. Antimikrobiyal uygulamalarda matris olarak selüloz (Pinto ve ark., 2012), kitosan (Qi ve ark., 2005), pamuk (Perelshtein ve ark., 2009), naylon (Komeily-Nia ve ark., 2013), poliamin (Mahapatra ve Karak, 2009), polivinil alkol (Zhong ve ark., 2015), polivinil klorür (Becerra ve ark., 2013) ve silica (Kim ve ark., 2006) gibi farklı polimerler kullanılmıştır. Polikaprolakton (PCL), yarı kristal bir polimerdir ve yüksek biyoyumluluğu, yavaş biyobozunabilirliği, düşük maliyeti, kimyasal stabilitesi ve yüksek mukavemeti nedeniyle çeşitli biyomedikal uygulamalar için oldukça uygundur (Ahmed ve ark., 2020; Mohandesnezhad ve ark., 2020). Nanoparçacıkları iyi dağıtmak ve yüzey/hacim oranını arttırmak için ise nanoliflerden yararlanılabilir. Elektro-eğirme tekniği micron-nano ölçeği arasında değişen çapta polimer lifler oluşturmak için en etkili yöntemlerdendir (Bhardwaj ve Kundu 2010). Elektroeğrilmiş PCL nanolifler; yara iyileşmesi, yara pansumanı ve doku rejenerasyonu gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmıştır (Augustine ve ark., 2014). Bu çalışmada ıslak kimyasal sentez yöntemi ile elde edilen metalik Cu nanoparçacıklar (NPlar) PCL matris içerisine karıştırılarak elektro-eğirme tekniğiyle spinlenmiştir. Ardından elde edilen nanolifler kullanılarak Cu NPların *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri ile *Candida albicans* mantarı üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

## MATERYAL VE METOT

### Kimyasal Maddeler

Setiltrimetilamonyum klorür çözeltisi (CTAC;  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}(\text{Cl})(\text{CH}_3)_3$ ;  $M_n=320$  g/mol; %25 sulu çözelti), L+ askorbik asit (AA;  $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Na}$ ;  $M_n=198.11$  g/mol) ve bakır (II) asetat monohidrat (Cu As.;  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ;  $M_n=199.65$  g/mol) sırasıyla Sigma Aldrich, Carl Roth. ve Merck firmalarından satın alınmıştır. Bütün deneylerde saf su kullanılmıştır. Elektroeğirme için kullanılan 80000 g/mol molekül ağırlığında polikaprolakton (PCL) polimeri ile diklorometan ve dimetilformamid çözücüleri Sigma Aldrich firmalarından temin edilmiştir.

### Karakterizasyon

Sentezlenen Cu NPların ve cu nanoparçacıklar eklenerek elektroeğrilen PCL/Cu nanofiberlerin morfolojileri 25 keV'da taramalı elektron mikroskopuyla (SEM, Zeiss EVO LS 10) görüntülendi. PCL/Cu nanofiberler içerisine katılan Cu NPlarının incelenebilmesi için fiberler ayrıca SEM'in taramalı geçirimli elektron mikroskopisi (STEM) modu ile de karakterize edildi. PCL/Cu nanofiberlerinin çap dağılımları SEM görüntüleri kullanılarak ImageJ programları kullanılarak oluşturuldu. Cu NPların ve PCL/Cu nanofiberlerinin elementsel analizleri enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisiyle (EDX, Bruker) elde edildi. Sentezlenen Cu NPların kristal yapısını incelemek için  $35^\circ$ - $80^\circ$  arası 45 kV ve 40 mA'de Cu  $K\alpha$  radyasyonu kullanılarak X-ışını toz difraktometresiyle (XRD, Panalytical Empyrean) tarandı. Cu NPların absorpsiyon spektrumu UV-Vis spektrometresiyle (Perkin-Elmer Lambda 25) ile tayin edildi.

### Cu nanoparçacıkların sentezi

Cu NPların sentezi için 3 mL'lik saf su içerisine 20 mg Cu As., 40 mg AA ve 50 mg CTAC eklenerek 1.5 saat  $95^\circ\text{C}$ 'lik su banyosu içerisinde çalkalandı. Reaksiyon sonrası Cu NPlar 5 kez 15'er dakika 3000 rpm'de santrifüj edilerek yıkandı. Kuruması için ise  $70^\circ\text{C}$ 'lik etüv içerisinde 2 saat bekletildi. Ardından muhafaza edilmek üzere Argon gazı ortamında eldivenli kabinde bekletildi.

### PCL/Cu nanofiberlerin üretimi

Sentezlenen katı haldeki Cu NPları ile 80000 g/mol molekül ağırlığında PCL polimeri hacimce 3/1 oranında DCM/DMF içerisine eklendi ve manyetik karıştırıcıda bir manyetik balık yardımıyla yaklaşık 4 saat boyunca polimerin homojen bir şekilde çözülmesi için 800 rpm'de karıştırıldı.

Karıştırma sırasında yarım saatte bir 10 dakikalık ultrasonifikasyon işlemi ile NPların dağılımı sağlandı. Polimer ve Cu NPların konsantrasyonu çözücü hacminde sırasıyla 100 mg/mL ve 10 mg/mL olarak ayarlandı. Elde edilen PCL/Cu elektroğirme edilen çözeltiler 18G açıklığında düz kesilmiş şırınga iğnesi takılmış 5 mL hacmindeki şırıngalara alındı. Elektroğirme işlemi HOLMARC marka elektroğirme cihazında yatay olarak gerçekleştirildi. Fiber toplayıcısı olarak 10 cm çapında 200 mm uzunluğunda döner tambur üzerine sarılmış alüminyum folyo kullanıldı. Şırınga ile toplayıcı arasındaki biriktirme mesafesi yatay olarak 15 cm'ye ayarlandı. Elektroğirme işlemi şırınga ucu ile toplayıcı arasına 15 kV potansiyel fark altında, 1.5 mL/sa besleme hızında ve 600 rpm tambur dönme hızında gerçekleştirildi. Biriktirme, karakterizasyon parametrelerine bağlı olarak 15 dk ile 1 saat arasındaki sürelerde gerçekleştirildi.

### Antimikrobiyal test

PCL/Cu nanofiberlerin antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla, 1 gram-negatif (*Escherichia coli* ATCC 25922, ve 1 gram-pozitif (*Staphylococcus aureus* ATCT 25923) bakteri türü ile 1 mantar (*Candida albicans* ATCC 10231) türü olmak üzere 3 mikroorganizma kullanıldı.

Agar disk diffüzyon testi uygulanarak antimikrobiyal aktivite belirlendi. Bu yöntemde, test mikroorganizmasından elde edilen solüsyonun yayıldığı agar plakaların üzerine belirli sayılarda antimikrobiyal madde emdirilmiş kağıt diskler yerleştirdi. Bu sayede antimikrobiyal madde besiyeri içerisine yayıldı ve diskin çevresinde bakterilerin gelişemediği bir inhibisyon zonu oluştu. Çalışmada kullanılan 5 mg ve 15 mg Cu NP içeren PCL nanofiberler 6 mm çaplı boş steril disklerle (Oxoid, blank disc) sarıldı. Bakteriler için pozitif kontrol AMP: Ampicillin (10 µg/disk), fungus için NYS:nystatin (10 µg/disk), negatif kontrol olarak da ekstre içermeyen DMSO emdirilmiş diskler kullanıldı. Mikroorganizmaların katı besiyerlerinde üretilmiş 18-24 saatlik saf kültürlerinden alınan koloniler fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) içerisinde dağıtıldı. Bulanıklık ayarı McFarland 0.5 standardı ile kıyaslanarak yapıldı ve 5 x10<sup>5</sup> CFU/mL olacak şekilde solüsyonlar hazırlandı. Bakteriler için Muller Hinton Agar (Merck), fungus için Saburoud Dextrose Agar (Merck) içeren petrilere bu solüsyonlardan 100 µL ekim yapıldı. Daha sonra PCL/Cu nanofiber sarılı diskler aralarındaki mesafelere dikkat edilecek şekilde petrilere yerleştirildi. Bakteriler 37°C'de 24 saat, fungus ise 30°C'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası zon çapları ölçüldü. Çalışma iki kez tekrarlandı ve sonuçların aritmetik ortalamaları kullanıldı.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Cu NPların elde edilmesi için kimyasal indirgeme, mikro-emülsiyon, sonokimyasal indirgeme, elektrokimyasal indirgeme, hidrotermal sentez gibi farklı kimyasal teknikler kullanılmaktadır. Bu çalışmada Cu NPların kimyasal indirgenmesi için metal tuzu olarak Cu As., indirgeyici ajan olarak AA ve stabilizör olarak da CTAC kullanılmaktadır. Önceki çalışmalardan elde ettiğimiz verilere göre CTAC varlığının ve reaksiyon sıcaklığının Cu NP sentezi üzerinde ciddi öneme sahip olduğunu bilmekteyiz (Sakir, Yılmaz, and Onses 2020). Bu yüzden metal tuzu ve indirgeyici ajanın yanı sıra reaksiyon ortamına CTAC eklenerek 95°C'de 1.5 saat çalkalanarak Cu NPlar sentezlendi.

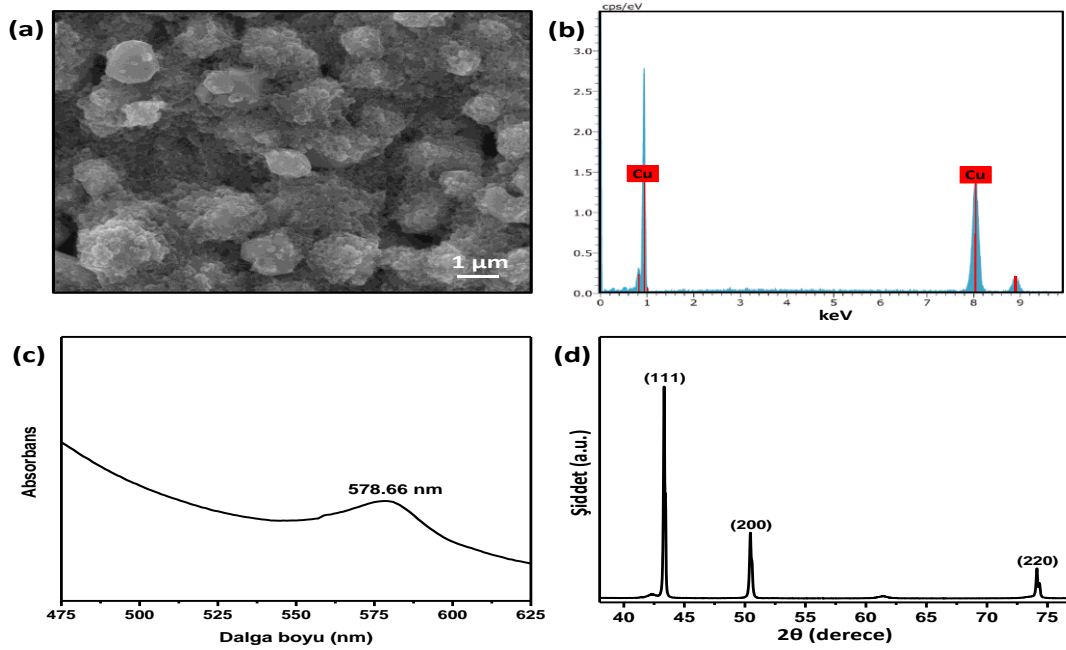
Cu NPların morfolojilerini görüntüleyebilmek için taramalı elektron mikroskopundan yararlanıldı. Şekil 1(a)' da görüldüğü üzere yoğun bir şekilde aglomera olmuş nano boyuttaki Cu NPların yanı sıra 1 µm civarında da Cu yapıları bulunmaktadır. Özellikle aglomera olmuş nanoboyuttaki Cu yapılarını ayrışması için sonraki aşamalarda bahsedeceğimiz PCL matris içerisinde çözünmesi oldukça yararlı olacaktır.

Şekil 1(b)' de görüldüğü gibi sentezlenen Cu NPların elementsel analizleri yapıldığında neredeyse sadece Cu elementi ile karşılaşmaktayız. Eser miktarda C ve O elementlerinin varlığı hem

Cu NPLarın sabitlenmesi için kullanılan karbon banttın hem de mikroskop içerisindeki karboksilik gazlardan kaynaklanıyor olabilir.

Cu NPLarın UV-Vis spektrumu incelendiğinde (Şekil 1(c)) 578.66 nm civarında bir absorbands bandına sahip olduğu görülür. Bu sonuç oksitlenmemiş Cu NPLarın yüzey plazmon rezonansı ile oldukça uyumludur (Henglein, 2000). Genellikle nano boyutlu bakır parçacıkları tipik olarak yaklaşık 556-580 nm arasında bir yüzey plazmon bandına sahiptirler (Zhao ve ark., 2004).

Cu NPLar için kaydedilen X-ışını kırınım deseni Şekil 1(d)' de gösterilmektedir. Sırasıyla (111), (200) ve (220) düzlemlerine ait  $43.3^\circ$ ,  $50.4^\circ$  ve  $74.1^\circ$ 'lik  $2\theta$  açılarıyla kırınımına uğrayan Cu NP literatürle kıyaslandığında metalik yüzey merkezli kübik yapıya sahiptir (JCPDS kart no.: 89-2838) (Ramyadevi ve ark., 2012). XRD desenindeki keskin pikler Cu NPLarının yüksek kristalin yapısına sahip olduğunu gösterir. Ayrıca XRD deseninde göre herhangi bir safsızlık gözlenmemiştir.



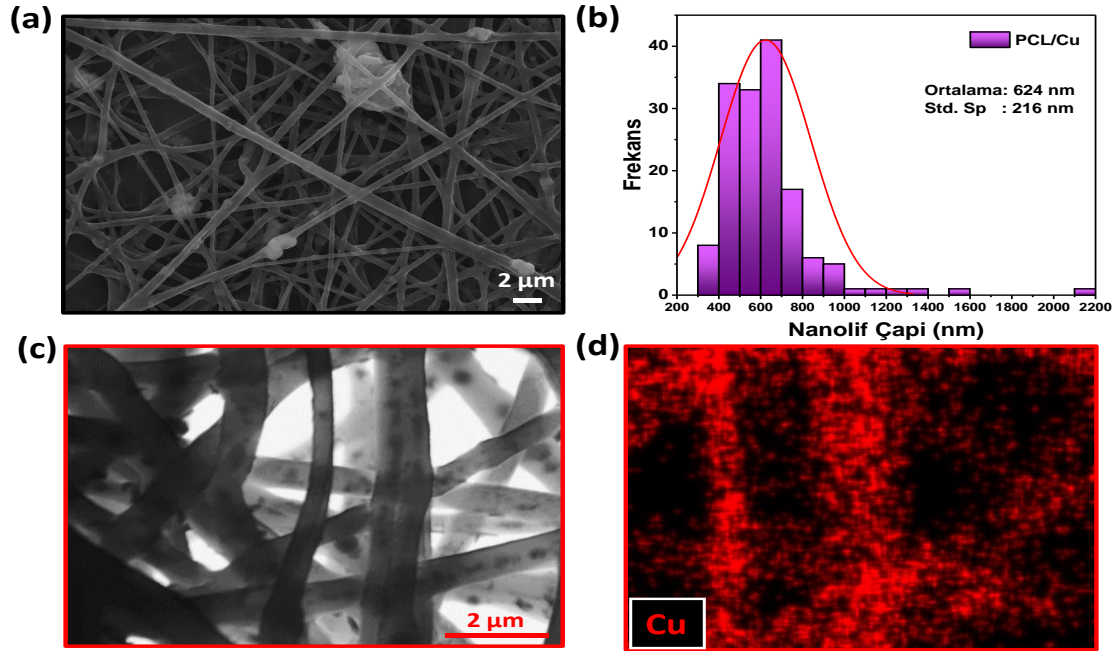
Şekil 1. Sentezlenen Cu NPLarın (a) SEM Resmi, (b) EDX Analizi, (c) UV-Vis Spektrumu ve (d) XRD Analizi

Antimikrobiyal çalışmalarda kullanılan NPLar genellikle bir polimer matris ile karıştırılarak nanokompozit elde edilir. Bunun birkaç sebebi vardır: 1) polimer matris nanoyapılar için hem destekleyici rol oynar hem de daha homojen dağılmasını sağlar. 2) Polimer matris direkt nanoyapı ile teması azaltarak uzun süreli bir iyon salınımına neden olacağından nanokompozitin antimikrobiyal aktivitesini uzatır. 3) Polimer içerisinde dağılan NPLarın yüzey alanı artmakta ve bu da antimikrobiyal etkiyi arttırmaktadır. Bu yüzden özellikle antimikrobiyal uygulamalar için bir agar, polistiren, pamuk, yüksek veya düşük yoğunluklu polietilen, polimetilmetakrilat, silica gibi farklı polimerler matris olarak kullanılmıştır.

Biyouyumluluğu, yavaş biyobozunurluğu, düşük maliyetli oluşu ve yüksek dayanım göstermesi sebebiyle bu çalışmada polimer matris olarak PCL tercih edilmiştir. Şekil 2'deki elektron mikroskopu EDX haritalaması görüntülerinden görülebileceği üzere Cu NPLeri içerisinde iyi bir şekilde dağılmış homojen PCL/Cu nanolifleri başarıyla üretildi. PCL/Cu nanoliflerinin çap dağılımı yapıldığında çap dağılımının ortalama ortalama  $624 \pm 216$  nm olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2b). Cu NPLerinin nanolif çapına etkisinin tespiti için aynı polimer konsantrasyonunda (100 mg/mL) fakat Cu NPLeri içermeyen saf PCL nanolifleri üretildiğinde, PCL nanoliflerinin ortalama fiber çap dağılımının  $345 \pm 120$  nm olduğu tespit edilmiştir. Ortalama lif çaplarında artışın sebebi NPLerinin katkısı ile dikkate değer derece artan polimer viskozitesinin beraberinde gelen elektroçirime sırasında uygulanan

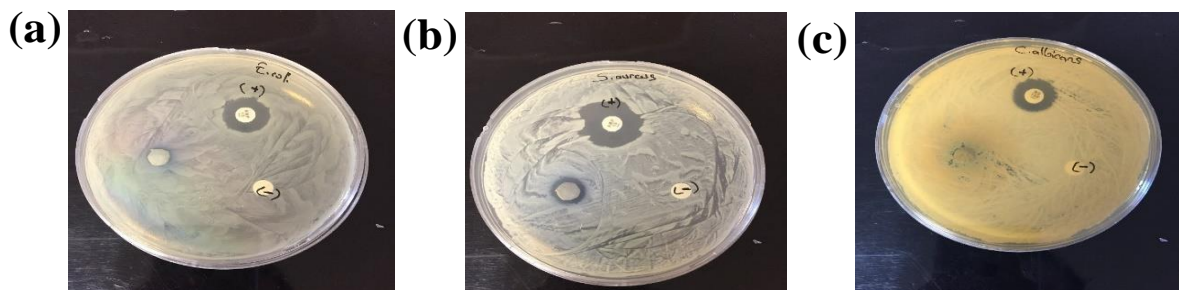


elektrik alanına karşı çözeltideki iyon hareketliliğine karşı oluşan direnç ve bükülme kararsızlığındaki azalmadır (Karagoz ve ark., 2020, 2021). Üretilen nanoliflerde Cu NPLerinin büyük oranda lif bünyesi içerisinde homojen bir şekilde dağıldığı bazı bölgelerde de lif yüzeylerinde yer aldığı tespit edilmiştir (Şekil 2c-d).



**Şekil 2.** Elektroğrılmış PCL/Cu Nanofiberleri. a) PCL/Cu Nanofiberlerinin SEM Görüntüsü, b) PCL/Cu Nanofiberlerinin Ortalama Fiber Çap Dağılım Histogramı ve İstatistik Verileri (3 farklı SEM Görüntüsünden Rastgele Seçilen Toplam 150 Adet Fiber Analiz Edilmiştir), c) Cu NPLeri İhtiva Eden PCL Nanofiberlerinin STEM Görüntüsü, d) PCL/Cu Nanofiberlerinin Cu Elementine Göre Alınmış EDX Haritası

Çalışmamızda yer alan PCL/Cu nanofiberlerin test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri tayin edebilmek için 2 farklı şartlarda deney gerçekleştirildi. İlkinde 5 mg Cu NP içerecek şekilde PCL içerisinde spinlenen fiberler steril disklere sarıldı. Bu şartlarda PCL/5 mg Cu NP nanofiberlerin sergilemiş olduğu antibikrobiyal etkiler Şekil 3’de verilmektedir. Cu NPLarın test edilen sadece iki mikroorganizma üzerinde etkili oldukları görülmektedir. Test mikroorganizmalarının zon çapları *Escherichia coli* için 7 mm, *Staphylococcus aureus* için 11 mm olarak belirlenmiştir. Araştırmamızdaki fungus türü olan *Candida albicans* inhibisyon zonu oluşturmadığından antifungal aktivite göstermediği belirlenmiştir (Tablo 1).



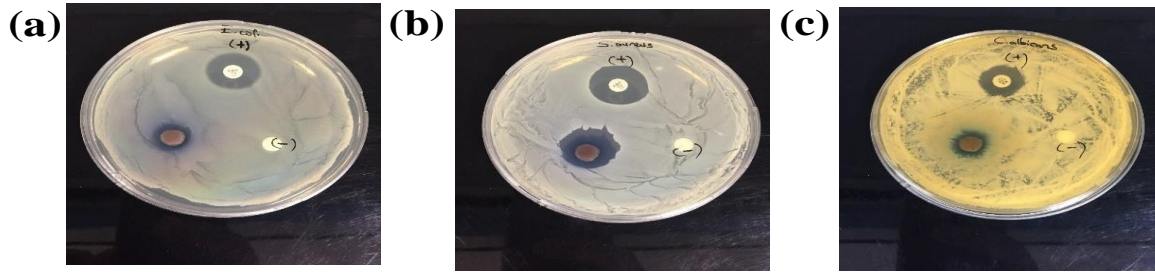
**Şekil 3.** PCL/Cu NPs (5 mg) Nanofiberlerin (a) *E. coli*, (b) *S. aureus* Bakterileri ve (c) *C. albicans* Mantarı Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

İkinci durumda 15 mg Cu NP içerecek şekilde spinlenen PCL fiberleri steril disklere sarıldı. Aynı mikroorganizmalar kullanılarak aynı şartlarda antibikrobiyal aktiviteleri incelendi (Şekil 4). Cu NPLarın test edilen tüm mikroorganizma üzerinde etkili oldukları görülmektedir.

**Tablo 1.** PCL/Cu NPs (5 mg)'in Mikroorganizmalara Karşı Oluşturdukları Antimikrobiyal Zon Çapları (mm). Ampisilin (Amp), Nystatin (Nys)

Microorganism	İnhibisyon zonu	Kontrol (-)	Kontrol (+)
Escherichia coli	7 mm	0 mm	14 mm Amp
Staphylococcus aureus	11 mm	0 mm	21 mm Amp
Candida albicans	0 mm	0 mm	14 mm Nys

Test mikroorganizmalarının zon çapları *Escherichia coli* için 12 mm, *Staphylococcus aureus* için 18.5 mm olarak belirlenmiştir. Araştırmamızdaki fungus türü olan *Candida albicans* için ise 11.5 mm inhibisyon zonu oluşturarak antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 2). Cu NPLarın –SH grubu ile etkileşimi sonucu enzimlerin/proteinlerin yok edildiği gözlemlendi (Din ve ark., 2017). Cu NPLarının etkileşimi ile DNA moleküllerinin sarmal yapısının bozulduğu da rapor edilmiştir (Tamayo ve ark., 2016). Elde ettiğimiz sonuçlar bu bilgileri doğrular niteliktedir.

**Şekil 4.** PCL/Cu NPs (15 mg) Nanofiberlerin (a) *E. coli*, (b) *S. aureus* Bakterileri ve (c) *C. albicans* Mantarı Üzerine Antimikrobiyal Etkisi**Tablo 2.** PCL/Cu NPs (5 mg)'in Mikroorganizmalara Karşı Oluşturdukları Antimikrobiyal Zon Çapları (mm). Ampisilin (Amp), Nystatin (Nys)

Microorganism	İnhibisyon zonu	Kontrol (-)	Kontrol (+)
Escherichia coli	12.0 mm	0 mm	15.0 mm Amp
Staphylococcus aureus	18.5 mm	0 mm	20.0 mm Amp
Candida albicans	11.5 mm	0 mm	14.0 mm Nys

## SONUÇ

Sonuç olarak içerisinde Cu NPLarının iyi bir şekilde dağıldığı PCL/Cu nanofiberleri elektroçirgeme yöntemi ile başarılı bir şekilde üretildi. Elde edilen PCL/Cu nanofiberleri sahip oldukları yüksek yüzey alanı sayesinde yüksek antimikrobiyal özellikler sergiledi. Bakır NPLarına maruz kalan hem gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin hem de fungus türünün muhtemelen DNA moleküllerinin sarmal yapısı bozulduğundan inaktive oldukları görülmektedir. Nanofiber içerisindeki Cu NP miktarı 15 mg mertebelerine çıkarıldığında kontrol örnekler ile kıyaslanabilir bir antimikrobiyal zon çaplarının elde edildiği görülür. İlerleyen çalışmalarda açık yaralarda kullanılan yara bandı veya bandaj gibi malzemelerin, tıbbi tekstil ürünlerinin ara katmanı olarak PCL/Cu NP nanofiberlerin kullanımının antimikrobiyal aktivitenin engellenmesi açısından önemli olacağı kanaatindeyiz.

## Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

## KAYNAKLAR

Ahmed, M. K., Menazea, A. A., Abdelghany, A. M. (2020). Blend Biopolymeric Nanofibrous Scaffolds of Cellulose Acetate/ $\epsilon$ -Polycaprolactone Containing Metallic Nanoparticles Prepared by Laser Ablation for Wound Disinfection Applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155, 636–44.

- Anyago, K. C., Fedorov, A. V., Neckers, D. C. (2008). Synthesis, Characterization, and Antifouling Potential of Functionalized Copper Nanoparticles. *Langmuir*, 24(8), 4340–46.
- Appelbaum, P. C. (2006). The Emergence of Vancomycin-Intermediate and Vancomycin-Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 12, 16–23.
- Asadi, S., Kargar, M., Solhjoo, K., Najafi, A., Dalini, S. G. (2014). The Association of Virulence Determinants of Uropathogenic *Escherichia Coli* with Antibiotic Resistance. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 7(5), 1–5.
- Augustine, R., Malik, H. N., Singhal, D., K., Mukherjee, A., Malakar, D., Kalarikkal, N., Thomas, S. (2014). Electrospun Polycaprolactone/ZnO Nanocomposite Membranes as Biomaterials with Antibacterial and Cell Adhesion Properties. *Journal of Polymer Research*, 21(3), 347.
- Becerra, A., Llamazares, S. R., Carrasco, C., Visurraga, J., D., Riffo, C., Mondaca, M. A. (2013). Preparation of Poly(Vinyl Chloride)/Copper Nanocomposite Films with Reduced Bacterial Adhesion. *High Performance Polymers*, 25(1), 51–60.
- Bhardwaj, N. ve Kundu , S. C. (2010). Electrospinning: A Fascinating Fiber Fabrication Technique. *Biotechnology Advances*, 28(3), 325–47.
- Borkow, G., Zatcoff, R. C., Gabbay, J. (2009). Reducing the Risk of Skin Pathologies in Diabetics by Using Copper Impregnated Socks. *Medical Hypotheses*, 73(6), 883–86.
- Cady, N. C., Behnke, J. L., Strickland, A. D. (2011). Copper-Based Nanostructured Coatings on Natural Cellulose: Nanocomposites Exhibiting Rapid and Efficient Inhibition of a Multi-Drug Resistant Wound Pathogen, *A. Baumannii*, and Mammalian Cell Biocompatibility in vitro. *Advanced Functional Materials*, 21(13), 2506–14.
- Chatterjee, A. K., Sarkar, R. K., Chattopadhyay, A. P., Aich, P., Chakraborty, R. Basu, T. (2012). A Simple Robust Method for Synthesis of Metallic Copper Nanoparticles of High Antibacterial Potency against *E. Coli*. *Nanotechnology*, 23(8), 085103.
- Cioffi, N., Torsi, L., Ditaranto, N., Sabbatini, L., Zambonin, P. G. (2004). Antifungal Activity of Polymer-Based Copper Nanocomposite Coatings. *Applied Physics Letters*, 85(12), 2417–19.
- Din, M. I., Arshad, F., Hussain, Z., Mukhtar, M.. (2017). Green Adeptness in the Synthesis and Stabilization of Copper Nanoparticles: Catalytic, Antibacterial, Cytotoxicity, and Antioxidant Activities. *Nanoscale Research Letters*, 12, 1-15.
- Hajipour, M. J. Fromm, K. M., Ashkarran, A. A., Aberasturi, D. J., Larramendi, I., R., Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W. J., Mahmoudi, M. (2012). Antibacterial Properties of Nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 499–511.
- Henglein, A. (2000). Formation and Absorption Spectrum of Copper Nanoparticles from the Radiolytic Reduction of  $\text{Cu}(\text{CN})_2$ . *Journal of Physical Chemistry B*, 104(6), 1206–11.
- Jia, B., Mei, Y., Cheng, L., Zhou, J., Zhang, Z. (2012). Preparation of Copper Nanoparticles Coated Cellulose Films with Antibacterial Properties through One-Step Reduction. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 4(6), 2897–2902.
- Karagoz, S., Kiremitler, N. B., Sakir, M., Salem, S., Onses, M. S., Sahmetlioglu, E., Ceylan, A., Yilmaz, E. (2020). Synthesis of Ag and  $\text{TiO}_2$  Modified Polycaprolactone Electrospun Nanofibers (PCL/ $\text{TiO}_2$ -Ag NFs) as a Multifunctional Material for SERS, Photocatalysis and Antibacterial Applications. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 188, 109856.
- Karagoz, S., Kiremitler, N. B., Sarp, G., Pekdemir, S., Salem, S., Goksu, A. G., Onses, M. S., Sozduz, I., Sahmetlioglu, E., Ozkara, E. S., Ceylan, A., Yilmaz, E. (2021). Antibacterial, Antiviral, and Self-Cleaning Mats with Sensing Capabilities Based on Electrospun Nanofibers Decorated with ZnO Nanorods and Ag Nanoparticles for Protective Clothing Applications. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 13(4), 5678–90.
- Kim, Y. H., Lee, D. K., Cha, H. G., Kim, C. W., Kang, Y. C., Kang, Y. S. (2006). Preparation and Characterization of the Antibacterial Cu Nanoparticle Formed on the Surface of  $\text{SiO}_2$  Nanoparticles. *Journal of Physical Chemistry B*, 110(49), 24923–28.



- Komeily-Nia, Montazer, Z. M., Latifi, M. (2013). Synthesis of Nano Copper/Nylon Composite Using Ascorbic Acid and CTAB. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 439, 167–75.
- Korkmaz, I., Sakir, M., Sarp, G., Salem, S., Torun, I., Volodkin, D., Yavuz, E., Onses, M. S., Yilmaz, E. (2021). Fabrication of Superhydrophobic Ag@ZnO@Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> Membrane Disc as Flexible and Photocatalytic Active Reusable SERS Substrate. *Journal of Molecular Structure*, 1223, 129258.
- Mahapatra, S. S. ve Karak, N. (2009). Hyperbranched Polyamine/Cu Nanoparticles for Epoxy Thermoset. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 46(3), 296–303.
- Mallick, S., Sharma, S., Banerjee, M., Ghosh, S. S., Chattopadhyay, A., Paul, A. (2012). Iodine-Stabilized Cu Nanoparticle Chitosan Composite for Antibacterial Applications. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 4(3), 1313–23.
- Mohandesnezhad, S., Soltanahmadi, Y. P., Alizadeh, E., Goodarzi, A., Davaran, S., Khatamian, M., Zarghami, N., Samiei, M., Aghazadeh, M., Akbarzadeh, A. (2020). In vitro Evaluation of Zeolite-NHA Blended PCL/PLA Nanofibers for Dental Tissue Engineering. *Materials Chemistry and Physics*, 252, 123152.
- Morrier, J. J., Kaye, G. S., Nguyen, D., Rocca, J. P., Benon, J. B., Barsotti, O. (1998). Antimicrobial Activity of Amalgams, Alloys and Their Elements and Phases. *Dental Materials*, 14(2), 150–57.
- Perelshtein, I., Applerot, G., Perkas, N., Sigl, E. W., Hasmann, A., Guebitz, G., Gedanken, A. (2009). CuO-Cotton Nanocomposite: Formation, Morphology, and Antibacterial Activity. *Surface and Coatings Technology*, 204(1–2), 54–57.
- Pinto, R. J. B., Neves, M. C., Neto, C. P., Trindade, T. (2012). Growth and Chemical Stability of Copper Nanostructures on Cellulosic Fibers. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2012(31), 5043–49.
- Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Li, Y., Wang, M. (2005). Cytotoxic Activities of Chitosan Nanoparticles and Copper-Loaded Nanoparticles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 15(5), 1397–99.
- Raffi, M., Mehrwan, S., Bhatti, T. M., Akhter, J. I., Hameed, A., Yawar, W., Hasan, M. M. (2010). Investigations into the Antibacterial Behavior of Copper Nanoparticles against Escherichia Coli. *Annals of Microbiology*, 60(1), 75–80.
- Rajeshkumar, S., Menon, S., Kumar S., V., Tambuwala, M. M. Bakshi, H. A., Mehta, M., Satija, S., Gupta, G., Chellappan, D. K., Thangavelu, L., Dua, K. (2019). Antibacterial and Antioxidant Potential of Biosynthesized Copper Nanoparticles Mediated through Cissus Arnotiana Plant Extract. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 197, 111531.
- Rakhmetova, A. A., Alekseeva, T. P., Bogoslovskaya, O. A., Leipunskii, I. O., Ol'khovskaya, I. P., Zhigach, A. N., Glushchenko, N. N. (2010). Wound-Healing Properties of Copper Nanoparticles as a Function of Physicochemical Parameters. *Nanotechnologies in Russia*, 5(3), 271–76.
- Ramyadevi, J., Jeyasubramanian, K., Marikani, A., Rajakumar, G., Rahuman, A. A. (2012). Synthesis and Antimicrobial Activity of Copper Nanoparticles. *Materials Letters*, 71, 114–16.
- Ruparelia, J. P., Chatterjee, A. K., Duttagupta, S. P., Mukherji, S. (2008). Strain Specificity in Antimicrobial Activity of Silver and Copper Nanoparticles. *Acta Biomaterialia*, 4(3), 707–16.
- Sakir, M., Yilmaz, E., Onses, M. S. (2020). SERS-Active Hydrophobic Substrates Fabricated by Surface Growth of Cu Nanostructures. *Microchemical Journal*, 154, 104628.
- Santo, C. E., Taudte, N., Nies, D. H., Grass, G. (2008). Contribution of Copper Ion Resistance to Survival of Escherichia Coli on Metallic Copper Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(4), 977–86.
- Tamayo, L., Azocar, M., Kogan, M., Riveros, A., Paez, M. (2016). Copper-Polymer Nanocomposites: An Excellent and Cost-Effective Biocide for Use on Antibacterial Surfaces. *Materials Science and Engineering C*, 69, 1391–1409.
- Zhao, Y., Zhu, J. J., Hong, J. M., Bian, N., Chen, H. Y. (2004). Microwave-Induced Polyol-Process Synthesis of Copper and Copper Oxide Nanocrystals with Controllable Morphology. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2004(20), 4072–80.
- Zhong, T., Oporto, G. S., Jaczynski, J., Jiang, C. (2015). Nanofibrillated Cellulose and Copper Nanoparticles Embedded in Polyvinyl Alcohol Films for Antimicrobial Applications. *BioMed Research International*, 2015.