

**T.C.**  
**İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI**

**DEFNE VE BİBERİYE YAĞLARININ ET KAYNAKLI**  
**PSEUDOMONAS İZOLATLARININ BİYOFİLM**  
**ÜRETİMİ VE HAREKETLİLİĞİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ece ÜSTÜNEL**

**İstanbul**

**Temmuz-2025**

**T.C.**  
**İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI**

**DEFNE VE BİBERİYE YAĞLARININ ET KAYNAKLI**  
**PSEUDOMONAS İZOLATLARININ BİYOFİLM**  
**ÜRETİMİ VE HAREKETLİLİĞİNE ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ece ÜSTÜNEL**

**Tez Danışmanı**  
**Doç. Dr. Banu METİN**

**İstanbul**  
**Temmuz-2025**

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma, jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. Banu METİN

Üye Prof. Dr. İbrahim GÜLSEREN

Üye Dr. Öğr. Üyesi Mustafa YILDIZ

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Erhan İÇENER  
Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım “**Defne Ve Biberiye Yağlarının Et Kaynaklı Pseudomonas İzolatlarının Biyofilm Üretimi Ve Hareketliliğine Etkisi**” adlı çalışmanın öneri aşamasından sonuçlandığı aşamaya kadar geçen süreçte bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle uyduğumu, tez içindeki tüm bilgileri bilimsel ahlak ve gelenek çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığımı, bu çalışmamda doğrudan veya dolaylı olarak yaptığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu beyan ederim.

Ece ÜSTÜNEL

## ÖN SÖZ

Araştırmamın her aşamasında sabır, anlayış bilgi ve tecrübesini esirgemeyen beni her zaman destekleyen değerli tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Banu METİN'e, laboratuvar çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren değerli hocalarım Arş. Gör. Yasemin Ş. KÜÇÜKATA ve Arş. Gör. H. Ebrar KIRTIL'a, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca birçok farklı alanda bana katkısı olan değerli akademisyen hocalarıma teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca benden desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan annem Şükriye ÜSTÜNEL, ablam Tuğba SEVİÇ abim Özgür SEVİNÇ ve biricik yeğenim Zeynep SEVİNÇ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans hayatımın bana kazandırdığı çok değerli arkadaşım Gökçe ASAN'a, laboratuvar çalışmalarım boyunca bana her konuda destek olup yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Beyza Nur GÜÇ'e desteğini her zaman hissettiğim Elif ÇAKAN, Gökçe DEMİRALP ve Ebru AL'a yüksek lisans dönemi boyunca yanımda olup her anlamda desteklerini esirgemeyen tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

**Ece ÜSTÜNEL**  
**İstanbul-2025**

## ÖZET

# DEFNE VE BİBERİYE YAĞLARININ ET KAYNAKLI PSEUDOMONAS İZOLATLARININ BİYOFİLM ÜRETİMİ VE HAREKETLİLİĞİNE ETKİSİ

Ece ÜSTÜNEL

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Banu METİN

Temmuz, 2025 -135 Sayfa

Aerobik koşullar altında soğukta muhafaza edilen et ve et ürünlerinde, *Pseudomonas* türleri baskın bozulma etkeni olarak öne çıkmaktadır. Bu bakteriler, doğada yaygın olarak toprak, su ve bitki yüzeylerinde bulunmakla birlikte, gıda işleme ortamlarında da sıklıkla tespit edilmekte ve meyve, sebze, et ve düşük asit içeriğine sahip süt ürünlerinin bozulmasına neden olabilmektedir. Özellikle biyofilm oluşturma yetenekleri ve hareket kabiliyetleri, bu bakterilerin bozulmaya neden olan başlıca özellikleri arasında yer almaktadır. Bu çalışmanın amacı, çiğ etten izole edilen *Pseudomonas* türlerinin bozulma potansiyelini belirleyen biyofilm üretimi ve bakteriyel hareketlilik özellikleri üzerine defne (*Laurus nobilis* L.) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) esansiyel yağlarının etkisini değerlendirmektir. Çalışma kapsamında öncelikle kullanılan uçucu yağların bileşenleri, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile analiz edilerek karakterize edilmiştir. Daha sonra örneklerinden elde edilen yüksek biyofilm üretim kapasitesine sahip izolatlar (YK8, Y50, YK107, YB43, YB91) ile referans suşlar (*Pseudomonas earuginosa* ATCC 27853 ve *Pseudomonas fragi* ATCC 4973) üzerinde defne ve biberiye yağlarının minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK), agar dilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Ardından, defne ve biberiye esansiyel yağlarının söz konusu izolatların bozucu faaliyetlerine etkisini ortaya koymak amacıyla, yağ içermeyen kontrol grubu ve 3 farklı MİK altı esansiyel yağ konsantrasyonu (0,5, 0,25 ve 0,125 MİK) içeren besiyerinde iki farklı sıcaklıkta (25°C ve 4 °C) ve üç farklı zaman aralığında (1, 4 ve 7. günler) biyofilm üretim

miktarı ve izolatların hareketlilik düzeyleri belirlenmiştir. Biyofilm üretimi, nicel kristal viyole yöntemi ile spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Bakteriye hareketlilik, yüzme (swimming), kaynaşma (swarming) ve seğirme (twitching) hareketleri açısından test edilmiş; oluşan zon çapları ölçülerek izolatların hareketlilik düzeyleri belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, defne ve biberiye esansiyel yağlarının, bozulmaya neden olan *Pseudomonas* izolatlarının hem biyofilm üretimini hem de hareketliliğini anlamlı düzeyde inhibe ettiğini göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Pseudomonas*, Biyofilm, Defne Yağı, Biberiye Yağı, Bakteriye Hareketlilik.

**ABSTRACT**

**THE EFFECT OF BAY LAUREL AND ROSEMARY OILS ON  
BIOFILM PRODUCTION AND MOTILITY OF MEAT-  
ORIGINATED *PSEUDOMONAS* ISOLATES**

**Ece ÜSTÜNEL**

Master, Food Engineering

Thesis Advisor: Doç. Dr. Banu METİN

July, 2025 - 135 Pages

Under aerobic conditions, *Pseudomonas* species emerge as the predominant spoilage agents in meat and meat products stored at low temperatures. These bacteria are commonly found in nature on soil, water, and plant surfaces but are also frequently detected in food processing environments. They are known to contribute to the spoilage of fruits, vegetables, meat, and low-acid dairy products. Particularly, their ability to form biofilms and their motility are among the key features responsible for their spoilage potential.

The aim of this study is to evaluate the effect of laurel (*Laurus nobilis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils on the biofilm formation and motility characteristics of *Pseudomonas* species isolated from raw meat, which determine their spoilage potential. Within the scope of the study, the chemical composition of the essential oils used was first analyzed and characterized by gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS). Subsequently, the minimum inhibitory concentrations (MICs) of laurel and rosemary essential oils were determined using the agar dilution method against selected isolates with high biofilm-producing capacity (YK8, Y50, YK107, YB43, YB91) and reference strains (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Pseudomonas fragi* ATCC 4973).

To reveal the effect of laurel and rosemary essential oils on the spoilage activities of these isolates, biofilm formation and motility levels were assessed on media

containing no oil (control group) and three sub-MIC concentrations (0,5, 0,25, and 0,125 MIC) of each essential oil. These assessments were carried out at two different temperatures (25°C and 4°C) and over three different time intervals (days 1, 4, and 7). Biofilm formation was quantitatively evaluated using the crystal violet staining method with spectrophotometric measurements. Bacterial motility was tested in terms of swimming, swarming, and twitching movements, and motility levels of the isolates were determined by measuring the diameters of the resulting zones. The findings revealed that laurel and rosemary essential oils significantly inhibited both the biofilm formation and motility of *Pseudomonas* isolates responsible for spoilage.

**Keywords:** *Pseudomonas*, Biofilm, Bay Essential Oil, Rosemary Essential Oil, Bacterial Motility.

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI .....	i
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ .....	ii
ÖN SÖZ .....	iii
ÖZET .....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar LİSTESİ .....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xiv
BİRİNCİ BÖLÜM.....	1
GİRİŞ.....	1
İKİNCİ BÖLÜM .....	4
LİTERATÜR BİLGİSİ .....	4
2.1. <i>Pseudomonas</i> Spp.'nin Genel Özellikleri .....	4
2.2. Bakteriyel Biyofilmler .....	7
2.2.1. Biyofilm Oluşum Nedenleri ve Etkileyen Faktörler .....	10
2.2.2. Biyofilm Oluşum Basamakları .....	10
2.2.3. Biyofilm Oluşumunun Kontrolü ve Engellenmesi .....	13
2.2.4. Ette Bozulma ve Biyofilm .....	14
2.2.5. Gıda Endüstrisinde Biyofilm .....	16
2.2.6. Bakteriyel Hareketlilik .....	17
2.3. Esansiyel Yağlar .....	20
2.3.1. Defne Yağı.....	23
2.3.2. Biberiye Yağı.....	26
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM.....	29

<b>MATERYAL VE METOT .....</b>	<b>29</b>
3.1. Materyal .....	29
3.1.1. <i>Pseudomonas</i> İzolatları ve Kontrol Suşları .....	29
3.1.2. Defne Yağı ve Biberiye Yağı .....	29
3.2. Metot .....	30
3.2.1. Çalışma Kültürü Hazırlama .....	30
3.2.2. Defne ve Biberiye Esansiyel Yağlarının Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi .....	30
3.2.3. Defne ve Biberiye Yağlarının <i>Pseudomonas</i> İzolatları Üzerindeki Minimum İnhibitor Konsantrasyonunun (MİK) Belirlenmesi .....	31
3.2.4. Biyofilm Oluşum Analizi .....	32
3.2.5. Hareketlilik Testleri .....	33
3.2.6. İstatistiksel Analiz .....	34
<b>DÖRDÜNCÜ BÖLÜM .....</b>	<b>35</b>
<b>ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>35</b>
4.1. Defne Esansiyel Yağının Uçucu Bileşenleri .....	35
4.2 Biberiye Esansiyel Yağının Uçucu Bileşenleri .....	37
4.3. Defne ve Biberiye Yağının <i>Pseudomonas</i> İzolatları Üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) .....	40
4.4. Defne Yağının <i>Pseudomonas</i> İzolatlarının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi .....	41
4.5. Defne ve Biberiye Yağının <i>Pseudomonas</i> İzolatlarının Hareketliliği Üzerine Etkisi .....	77
<b>BEŞİNCİ BÖLÜM .....</b>	<b>92</b>
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>92</b>
<b>KAYNAKÇA .....</b>	<b>94</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>115</b>

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 3.1: Çalışmada Kullanılan İzolatların Kodları ve Türleri.....	29
Tablo 4.1: Defne Esansiyel Yağına Ait Uçucu Bileşenler.....	36
Tablo 4.2: Biberiye Esansiyel Yağına Ait Uçucu Bileşenler.....	38
Tablo 4.3: Defne Yağının <i>Pseudomonas</i> Suşları Üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri (%).....	40
Tablo 4.4: Biberiye Yağının <i>Pseudomonas</i> Suşları Üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri (%).....	41
Tablo 4.5: Farklı Sıcaklık ve Günlerde <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Biyofilm Üretim Değerleri.....	42
Tablo 4.6: Farklı Sıcaklık Gün ve Defne Yağı Konsantrasyonlarında <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Biyofilm üretim Değerleri.....	42
Tablo 4.7: Farklı Sıcaklık ve Günlerde <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Biyofilm Üretim Değerleri.....	59
Tablo 4.8: Farklı Sıcaklık Gün ve Biberiye Yağı Konsantrasyonlarında <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Biyofilm üretim Değerleri.....	59
Tablo 4.9: Farklı Defne Yağı Konsantrasyonların <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Seğirme Hareketi Bölge Çapları (mm).....	78
Tablo 4.10: Referans Suşlar ve İzolatların Seğirme Hareketine Farklı Defne Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü.....	78
Tablo 4.11: Farklı Defne Yağı Konsantrasyonların <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Yüzme Hareketi Bölge Çapları (mm).....	80
Tablo 4.12: Referans suşlar ve izolatların Yüzme Hareketine Farklı Defne Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü.....	80

Tablo 4.13: Farklı Defne Yağı Konsantrasyonların <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Kaynaşma Hareketi Bölge Çapları (mm).....	82
Tablo 4.14: Referans suşlar ve izolatların Kaynaşma Hareketine Farklı Defne Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü.....	82
Tablo 4.15: Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonların <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Seğirme Hareketi Bölge Çapları (mm).....	84
Tablo 4.16: Referans suşlar ve izolatların Seğirme Hareketine Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü.....	84
Tablo 4.17: Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonların <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Yüzme Hareketi Bölge Çapları (mm).....	86
Tablo 4.18: Referans suşlar ve izolatların Yüzme Hareketine Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü.....	86
Tablo 4.19: Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonların <i>Pseudomonas</i> Suşlarının Kaynaşma Hareketi Bölge Çapları (mm).....	88
Tablo 4.20: Referans suşlar ve izolatların Kaynaşma Hareketine Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü.....	89

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Biyofilm Oluşum Aşamaları.....	19
Şekil 2.2: Defne yağının temel bileşenleri.....	24
Şekil 2.3: Biberiye yağının temel bileşenleri.....	27
Şekil 4.1: <i>Laurus nobilis</i> L. Esansiyel Yağının GC-MS Spectrumu.....	35
Şekil 4.2: <i>Rosmarinus officinalis</i> L. Esansiyel Yağının GC-MS Spectrumu.....	38
Şekil 4.3: Defne Yağının <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853T Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	45
Şekil 4.4: Defne Yağının <i>P. fragi</i> ATCC 4973T Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	47
Şekil 4.5: Defne Yağının YK 107 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	49
Şekil 4.6: Defne Yağının YK 8 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	52
Şekil 4.7: Defne Yağının YB 43 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	54
Şekil 4.8: Defne Yağının YK 50 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	56
Şekil 4.9: Defne Yağının YB 91 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	58

Şekil 4.10: Biberiye Yağının <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853T Suşunun 4°C (A) ve 25°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 4°C (C) ve 25°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	62
Şekil 4.11: Biberiye Yağının <i>P. fragi</i> ATCC 4973T Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	64
Şekil 4.12: Biberiye Yağının YK107 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	67
Şekil 4.13: Biberiye Yağının YK8 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	69
Şekil 4.14: Biberiye Yağının YB43 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	71
Şekil 4.15: Biberiye Yağının YB43 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	73
Şekil 4.16: Biberiye Yağının YB91 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi.....	75

## KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzde
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
ATCC	: American Type Culture Collection
ATP	: Adenozin trifosfat
CV	: Kristal Viyole
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiriboz nükleik asit
EPS	: Ekzopolisakkarit
FDA	: Food and Drug Administration
FTS	: Fizyolojik tuzlu su
g	: Gram
GC-MS	: Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometresi
GRAS	: Genel olarak güvenli kabul edilen
kob	: Koloni oluşturan birim
L	: Litre
LB	: Luria – Bertani
M	: Molarite
mg	: Miligram
MHA	: Mueller – hilton agar
MIK	: Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	: Mililitre
mo	: Mikroorganizma
NA	: Nutrient agar
NB	: Nutrient broth
QS	: Quorum sensing
spp.	: Species
TSB	: Tryptic soy broth
v/v	: Hacim/hacim
vb	: Ve benzeri
vd	: Ve diğerleri
w/v	: Ağırlık/hacim

GRAS :Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen Maddeler  
DNaz :Deoksiribonükleaz



## BİRİNCİ BÖLÜM

### GİRİŞ

Soğukta aerobik koşullar altında depolanan et ve et ürünlerinde, *Pseudomonas* türleri yaygın bozulma etkenleri arasında yer almaktadır (Wang vd., 2017). Bu bakteriler, özellikle düşük sıcaklıklarda üreyebilme yetenekleri nedeniyle, etin raf ömrünü sınırlayan başlıca mikroorganizma grupları arasında yer alır. *Pseudomonas* türleri arasında *Pseudomonas fragi*, proteolitik ve lipolitik enzimler üreterek etin duyuşsal ve fiziksel özelliklerini bozan önemli bir mikroorganizma olarak öne çıkmaktadır (Gennari ve Draghi, 1995; Jay, 2000). Bu mikroorganizma, depolama süresi boyunca hızla çoğalmakta ve etin görünüm, koku ve tat gibi temel kalite parametrelerinde önemli kayıplara yol açmaktadır (Nychas vd., 2008; Remenant vd., 2015). Dolayısıyla, *P. fragi* başta olmak üzere bozulmaya neden olan *Pseudomonas* türlerinin davranış mekanizmalarının anlaşılması, gıda güvenliği ve muhafaza tekniklerinin geliştirilmesi açısından büyük önem arz etmektedir (Skandamis & Nychas, 2012).

*Pseudomonas* türlerinin yüzeyde uzun süre hayatta kalmasını sağlayan temel mekanizmalardan biri, biyofilm oluşturma yetenekleridir (Rollet vd.,2009). Biyofilmler, mikroorganizmaların kendilerini hücre dışı polimerik maddelerle sararak bir yüzeye tutunmalarıyla oluşan karmaşık ve dayanıklı yapılardır (Donlan, 2002; Hall-Stoodley vd., 2004). Biyofilm formundaki bakteriler, çevresel stres faktörlerine karşı daha dirençli hale gelir ve konvansiyonel temizlik, dezenfeksiyon ya da antimikrobiyal ajanlara karşı tolerans geliştirir (Flemming & Wingender, 2010). Bu durum, gıda endüstrisinde mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesini zorlaştırmakta ve biyofilm oluşturan bakterilerin ürün kalitesini bozmasına neden olmaktadır.

*Pseudomonas* türleri, yüzeye tutunma ve hücre dışı matriks üretimi gibi özellikleriyle güçlü biyofilm oluşturunucular olarak bilinmektedir (Harrison vd., 2005; Tolker-Nielsen, 2015). Bunun yanı sıra, bakterilerin yüzey hareketliliği de biyofilm oluşum sürecinde belirleyici bir rol oynamaktadır. Yüzme (swimming), kaynaşma (swarming) ve seğirme (twitching) gibi hareketlilik türleri, bakterilerin yüzeyle temasını arttırmakta ve biyofilm gelişimini doğrudan etkilemektedir (Harshey, 2003;

Klausen vd., 2003). Ayrıca, bu hareketlilik türlerinin quorum algılama (QS) mekanizmasıyla ilişkili olduğu ve bakterilerin koloni oluşturarak organize yapılar geliştirmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (Conrad, 2012; O'Toole & Kolter, 1998; Verstraeten vd., 2008).

Günümüzde gıda kaynaklı mikroorganizmaların kontrolü amacıyla doğal antimikrobiyal maddelerin kullanımı önem kazanmıştır. Bu doğal bileşikler, bakteriyel hücre zarında yapısal hasara neden olarak geçirgenliği artırmakta, hücre içeriğinin sızmasına yol açmakta ve sonuçta bakterinin ölümüne sebep olmaktadır. (Nazzaro vd., 2013). Ayrıca, son yıllarda yapılan çalışmalar esansiyel yağların sadece bakterileri öldürmekle kalmayıp, aynı zamanda quorum sensing mekanizmasını da baskılayarak virülans faktörlerini ve biyofilm oluşumunu engelleyebileceğini ortaya koymuştur (Pejin vd., 2020; Ahmed vd., 2021).

Defne (*Laurus nobilis* L.) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) esansiyel yağları, yüksek antimikrobiyal etkinlikleri nedeniyle dikkat çeken doğal bileşikler arasında yer almaktadır.

Literatürde, esansiyel yağların biyofilm oluşumunu ve bakteriyel hareketliliği baskılayan etkilerine dair çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen, soğukta saklanan etlerde bozulmaya neden olan *P. fragi* başta olmak üzere diğer *Pseudomonas* türlerinin (örneğin *P. bubulae* ve *P. kulmbachensis*) biyofilm yapıları ve bu yapıların esansiyel yağlarla inhibisyonu üzerine yürütülen çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu konuda yürütülecek çalışmalar, gıda endüstrisinde karşılaşılan bozulma problemlerinin çözümüne yönelik doğal ve etkili antimikrobiyal stratejilerin geliştirilmesini mümkün kılacaktır.

Bu tez çalışması, mevcut bilimsel boşluğu doldurmayı hedeflemekte olup, doğal antimikrobiyallerin bakteriyel virülans faktörleri üzerindeki etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır. Ayrıca, etin bozulma sürecinde aktif rol oynayan *Pseudomonas* türlerinin biyofilm ve hareket davranışlarının esansiyel yağlar yoluyla baskılanmasının mümkün olup olmadığını ortaya koyarak, gıda güvenliği açısından uygulamaya dönük veriler sunması beklenmektedir.

Bu bağlamda, bu çalışmanın amacı; et yüzeyinden izole edilen *P. fragi*, *P. bubulae* ve *P. kulmbachensis* gibi *Pseudomonas* türlerinin biyofilm oluşturma kapasitesi ile bakteriyel hareketlilik özellikleri üzerine defne ve biberiye esansiyel yağlarının etkilerini araştırmaktır. Bu doğrultuda, öncelikle bu yağların 5 et izolatu ile iki referans suş üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlenmiş,

ardından MİK altı konsanrasyonlarında esansiyel yağ uygulamaları ile biyofilm oluşumu ve hareketlilik davranışları üzerindeki değişimler analiz edilmiştir. Elde edilen bulguların, doğal koruyucu maddelerin kullanımını temel alan yenilikçi muhafaza yöntemlerinin geliştirilmesine katkı sağlaması beklenmektedir.



## İKİNCİ BÖLÜM

### LİTERATÜR BİLGİSİ

#### 2.1. *Pseudomonas* Spp.'nin Genel Özellikleri

*Pseudomonas* cinsi, Gram-negatif, çubuk şeklinde, hareketli ve spor oluşturmeyen heterotrofik bakterileri içermektedir (Hossain, 2014). Bu cins üyeleri; toprak, su ve bitki yüzeyleri gibi çeşitli çevresel ortamlarda yaygın şekilde bulunmakla birlikte, gıda işleme ortamlarında da sıkça karşılaşılmaktadır (Rivas vd., 2018). Psikrotrofik özellikleri sayesinde düşük sıcaklıklarda gelişebilen bazı türleri, meyve, sebze, et ve düşük asidik süt ürünleri gibi gıdalarda bozulmaya neden olabilmektedir. *Pseudomonadaceae* ailesine dahil olan ve floresan pigment üretme yeteneğine sahip bu bakteriler, çevresel yaygınlıklarının yanı sıra, hem insan hem hayvanlarda hastalık oluşturabilen patojen türler de içermekte olup, gıdaların bozulmasında önemli bir rol üstlenmektedirler (Arnaut Rollier vd., 1999).

*Pseudomonas* türleri, aerobik koşullarda ve düşük sıcaklıklarda muhafaza edilen et, balık, süt ve süt ürünleri gibi gıdalarda gelişim göstererek bu ürünlerdeki bozulmaların başlıca sorumluları arasında yer almaktadır (Franzetti ve Scarpellini, 2007; Ercolini vd., 2010; Martin vd., 2011; Doulgeraki vd., 2012; Marchand vd., 2012). Yapılan araştırmalar, bu bakterilerin buzdolabı sıcaklığında depolanan ürünlerde baskın mikroorganizma olduğunu ve ürün kalitesini olumsuz etkileyen sümüksü yapı ve kötü koku gibi bozulma belirtilerine neden olduğunu göstermektedir (Nychas vd., 2008; Martin vd., 2011; Doulgeraki vd., 2012; Andreani vd., 2015; Casaburi vd., 2015; Pothakos vd., 2015).

*Pseudomonas fragi*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. gessardii* ve *P. lundensis* gibi türler, bozulmuş gıdalardan sıklıkla izole edilen ve gıda bozucuları arasında değerlendirilen bakterilerdir (Ercolini vd., 2006, 2010; De Jonghe vd., 2011). Süt (De Jonghe vd., 2011; Marchand vd., 2012), sığır eti (Ercolini vd., 2006, 2009), domuz eti (Bruckner vd., 2012), tavuk eti (Mellor vd., 2011) ve balık (Reynisson vd., 2008) gibi farklı hayvansal ürünlerin mikrobiyotasında bu türler yoğun olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, gıda üretim alanlarında, özellikle ekipman, zemin ve drenaj sistemleri gibi

yüzeylerde yaygın kontaminantlar olarak da tanımlanmaktadır (Bagge-Ravn vd., 2003; Brightwell ve ark., 2006; Licitra vd., 2007; Stellato vd., 2015b).

*Pseudomonas* türlerinin, rutin temizlik ve dezenfeksiyon işlemlerine karşı dirençli olmaları ve biyofilm oluşturabilme özellikleri, onları gıda endüstrisinde ciddi bir kontaminasyon riski haline getirmektedir (Grobe vd., 2001; Wirtanen vd., 2001; Giaouris vd., 2014). Özellikle et ve et ürünlerinin soğukta aerobik koşullarda depolandığı durumlarda, bu bakterilerin baskın flora haline geldiği bildirilmektedir (Wang vd., 2017).

*Pseudomonas* cinsi, günümüzde 240'tan fazla türü barındırmaktadır (Kolbeck vd., 2021). Bu türler arasında en yaygın olanları *P. fragi*, *P. fluorescens* ve *P. lundensis*'tir. Bu türlerin sayısı  $10^7 - 10^8$  kob.cm<sup>2</sup> seviyelerine ulaştığında, gıdalarda mukus ve kötü koku oluşumu gibi bozulma belirtileri ortaya çıkmaktadır (Biohaz, 2016).

*Pseudomonadaceae* ailesi; çevrede yaygın olarak bulunan, saprofit ve patojen türler içeren, hem hayvan hem de insanlarda hastalıklara neden olabilen bakterileri kapsamaktadır. Bu aileye ait floresan pigment üreten *Pseudomonas* türleri, toprak ve su gibi doğal ortamlarda sıkça bulunmakta, aynı zamanda gıdalarda bozulmada önemli rol oynamaktadırlar (Arnaut Rollier vd., 1999). *Pseudomonas* spp.,  $0.5-0.8 \times 1.5-3.0$  mm boyutlarında, spor oluşturmayan ve hareket kabiliyetine sahip, Gram-negatif çubuk bakterilerdir (Hossain, 2014).

Psikrotrof *Pseudomonas* türleri, özellikle aerobik olarak soğukta depolanan et ürünlerinin bozulmasında kritik öneme sahiptir (Wickramasinghe vd., 2019a). Örneğin, aerobik şekilde paketlenmiş kuzu etinde yapılan bir çalışmada, depolama süresince *Pseudomonas* ve *Serratia* türlerinin rekabet içinde olduğu, ancak 10 günün sonunda *Pseudomonas* türlerinin baskın hale geldiği gözlemlenmiştir (Wen vd., 2022).

*Pseudomonas* türlerinin et bozulmasındaki yaygınlığı, yalnızca et substratlarında gelişme yeteneklerinden kaynaklanmamakta, aynı zamanda salgıladıkları çeşitli metabolitlerle de yakından ilişkilidir (Wu vd., 2022). Bu ekstrasellüler salgılar, çevredeki mikroorganizmaların biyokimyasal özelliklerini önemli ölçüde etkileyerek karmaşık bir mikrobiyal ekosistemin oluşumuna katkıda bulunur. *Pseudomonas* türleri tarafından üretilen metabolitler; vitaminler, kofaktörler, mikrobiyal

davranışları düzenleyen sinyal molekülleri ve mikrobiyal büyümeyi engelleyen antimikrobiyal bileşenler gibi çok çeşitli bileşenleri kapsamaktadır (Chassaing ve Cascales, 2018; Gross ve Loper, 2009; LaCourse vd., 2018). Yapılan araştırmalar, *Pseudomonas* türleri arasındaki türler arası etkileşimlerin genellikle biyosümfaktanlar, ekstrasellüler polisakkaritler ve yağ asidi temelli sinyal molekülleri gibi salgılanan metabolitler aracılığıyla gerçekleştiğini göstermektedir; bu bileşenler mikrobiyal iletişimde önemli roller üstlenmektedir (Gralka vd., 2020; Hotterbeekx vd., 2017; Xavier vd., 2011). Biyosümfaktanlar, sıvılar, katılar ve gazlar arasındaki yüzey gerilimini azaltma yetenekleriyle bilinir ve emülsifikasyon, ıslatma, dağılma, çözünürlük artırma ve dekontaminasyon gibi çok çeşitli özellikler sergilerler (Bezerra vd., 2018; Sun vd., 2019). Bakteriyel biyosümfaktanların en yaygın türleri glikolipidler ve lipopeptitler olup, bunlara örnek olarak rhamnolipidler, trehaloz, fruktoz lipitleri ve sümfaktin verilebilir (Abbot vd., 2022). Bu bileşikler arasında, *Pseudomonas aeruginosa* tarafından üretilen rhamnolipidler kapsamlı şekilde araştırılmış olup; hidrokarbon gibi hidrofobik substratların yüzey alanını ve biyoyararlanımını arttırmadaki, mikroorganizmaların yüzeye tutunma ve yüzeyden ayrılmalarını düzenlemedeki, biyofilm oluşumunu etkilemedeki ve ağır metallerle bağ kurmadaki kritik rolleri vurgulanmıştır (Araujo vd., 2016; Markande vd., 2021; Ron ve Rosenberg, 2001; Van Hamme Jonathan ve Ward Owen, 2001; Varjani ve Upasani, 2017; Zhao vd., 2017).

Taze ve bozulmuş et, süt, peynir ve balık örneklerinden izole edilen psikrotrofik bakterilerin fenotipik ve moleküler karakterizasyonları sonucunda, *P. fragi*, *P. lundensis*, *P. putida* ve *P. fluorescens*'in bu gıdalarda baskın türler olduğu belirlenmiştir (Liao, 2016). *P. fragi* türü pigment üretmezken, *P. fluorescens*, *P. putida* ve *P. lundensis* pigment üretme kapasitesine sahiptir (Gill vd., 2014; Wickramasinghe vd., 2019b). Özellikle *P. lundensis*'in, düşük sıcaklıklarda biyofilm oluşturarak hem patojenlerin hem de diğer bozucu bakterilerin gelişimini destekleyici bir ortam yarattığı bildirilmektedir (Wickramasinghe vd., 2019b). *Pseudomonas fluorescens* ise düşük sıcaklıkta özellikle et, süt ve deniz ürünleri gibi hayvansal gıdalarda meyve ve sebzelerin raf ömrünü kısaltan psikrotrofik bir bozulma bakterisidir (Holley ve Patel, 2005).

Et ürünlerinde en yaygın bozulmaya neden olan türlerden biri olan *P. fragi*, doğal mikrofloranın önemli bir üyesi olarak tanımlanmıştır. Örneğin, sığır etinden izole

edilen pseudomonadların %61'inin ve domuz etindekilerin %76-79'unun *P. fragi* olduğu belirtilmektedir (Liao, 2016; Wang vd., 2017). Ayrıca, bu türün süt ve süt ürünlerinin yanı sıra soğutulmuş tavuk etinde de bozulmalara neden olduğu bildirilmektedir. *P. fragi* suşları, dış ortamda ekzopolisakkarit, mukus, kötü koku ve çeşitli ekzoenzimlerin (lipaz, proteaz) üretimi yoluyla kas dokusunda protein yıkımına sebep olmaktadır (Stanborough vd., 2018).

*Pseudomonas putida*, daha çok kanatlı etlerinde görülen ve düşük sıcaklıklarda gelişim gösterebilen bir diğer türdür (Wickramasinghe vd., 2019b). *P. lundensis* ise soğutulmuş domuz etinde güçlü proteolitik aktivitesi ile bozulmaya neden olmaktadır. Aynı zamanda, mukus üretimi ve kötü kokuya yol açan özellikleri nedeniyle dikkat çeken bir türdür (Liu vd., 2015; Wickramasinghe vd., 2019b).

*Pseudomonas aeruginosa*, genellikle insanlarda fırsatçı enfeksiyonlara yol açan bir patojen olarak bilinir. 25-37 °C'de iyi gelişim göstermesinin yanı sıra, 42 °C'de de büyüebilme kapasitesiyle diğer türlerden ayrılır. Ayrıca, incimsi bir görünüme ve üzüm ya da tortilla benzeri bir kokuya sahiptir (Wu vd., 2015; Stover vd., 2000). *P. aeruginosa*'nın bazı suşlarının, aynı türe ait duyarlı bakteriler üzerinde lizis etkisi gösteren ve bakteriyosin sınıfına giren piyosin üretme yeteneğine sahip olduğu saptanmıştır (Jacob, 1954).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, sığır etinden izole edilen *P. bubulae* (Lick vd., 2020) ve çığ etten izole edilen *P. kulmbachensis* (Lick vd., 2024) yeni türler olarak tanımlanmıştır

*Pseudomonas* türleri, yalnızca yaygınlıkları ve biyofilm oluşturma yetenekleri ile değil, aynı zamanda farklı çevresel stres faktörlerine karşı dayanıklılıklarıyla da dikkat çekmektedir. Bu türlere yönelik biyokontrol aktivitelerin araştırılması, gıda bozulmaları açısından büyük önem taşımaktadır.

## **2.2. Bakteriyel Biyofilmler**

Biyofilm kavramı ilk kez 17.yüzyılda Antonie van Leeuwenhoek tarafından basit mikroskop yardımıyla diş plağından alınan örneklerin incelenmesi sırasında mikrobiyal kümelerin gözlemlenmesiyle ortaya konmuştur. Ancak Leeuwenhoek, gözlemlendiği yapıların biyofilm olduğunu fark edememiştir (Donlan, 2002). 1970'li yıllarda Costerton'un yaptığı çalışmalar, dağ akarsularında yaşayan bakterilerin

büyük çoğunluğunun (%99,99) yüzeylere yapışık halde bulunduğunu ortaya koymuştur (Costerton vd. 1978). Takip eden yıllarda, 1973'te Characklis, endüstriyel su sistemlerinde incelemelerde bulunmuş ve yüzeye sıkıca tutunan mikrobiyal toplulukların, klor gibi dezenfektanlara karşı oldukça dirençli olduklarını göstermiştir (Donlan, 2002). Marshall (1976), bakterilerin yüzeylere tutunmasını sağlayan ince ekstrasellüler polimer fibrillerin varlığını rapor etmiştir. Biyofilm terimi ise ilk kez 1978'de Costerton ve çalışma arkadaşları tarafından, dış plağı ve nehir gibi ortamlardaki hücre topluluklarını tanımlamak amacıyla kullanmıştır. Biyofilm, özetle bir yüzeye tutunmuş mikroorganizma topluluğu ve bu topluluğun sentezlediği maddeler bütünü olarak tanımlanabilir (Tülüce vd., 2021). Biyofilm, mikroorganizmaların hem birbirlerine hem de buldukları yüzey veya ara tabakalara geri dönüşsüz şekilde tutunmalarını sağlayan, hücre dışı polimerik madde (Ekzopolisakkarit, EPS) matriksi içerisinde organize oldukları yapıdır. Bu yapı, mikroorganizmaların genetik ifade düzeyleri ve büyüme oranlarına göre farklı fenotipik karakteristikler geliştirmelerini mümkün kılar. Biyofilm, özetle bir yüzeye tutunmuş mikroorganizma topluluğu ve bu topluluğun sentezlediği maddeler bütünü olarak tanımlanabilir (Tülüce vd., 2021). Mikroorganizmaların değişken çevresel koşullarda yaşamlarını sürdürebilmeleri, biyofilm oluşturma kapasiteleriyle doğrudan ilişkilidir. Bu yetenek, patojenite açısından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Biyofilmin temel bileşeni olan (Ekzopolisakkarit) EPS, mikroorganizmalar tarafından sentezlenen ve hücreleri çevresel tehditlerden koruyan biyopolimer yapılı maddelerdir (Frølund vd., 1996).

Biyofilmler; doğal ortamlar, endüstriyel sistemler, sucul yaşam alanları, tıbbi cihaz yüzeyleri ve canlı dokular gibi pek çok farklı yüzeyde oluşabilmektedir (Costerton vd., 1994). Bu yapılarda bakteriler, ekstrasellüler polimerik fibrillerden oluşan bir matriks içinde yer alır ve bu koruyucu yapı; ultraviyole ışınlar, fagositik organizmalara ve antimikrobiyal maddelere karşı direnç sağlar (Costerton vd., 1994; Yang vd., 2011). Bu direnç; (1) biyofilm tabakasının antimikrobiyal maddelerin penetrasyonunu zorlaştırması, (2) bu ajanların biyofilm ortamında etkisiz hale getirilmesi ve (3) biyofilm matrisine adsorbe olarak etkisinin azalması gibi mekanizmalarla açıklanmaktadır (Sharma ve ark., 2014). Nitekim paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşturan *P. aeruginosa*, *P. fragi* ve *Salmonella typhimurium* türlerinin dezenfektanlara karşı tolerans geliştirdiği gözlemlenmiştir (Liao, 2006).

Ekstrasellüler polimerik maddelerin (EPS) kimyasal bileşimi; bakteri türü, büyüme evresi ve çevresel koşullara bağlı olarak değişkenlik göstermekle birlikte, yapısında genellikle polisakkaritler, proteinler, lipitler, ekstrasellüler DNA (eDNA) ve çeşitli metal iyonları bulunur (Steinberger vd., 2005). Mikroorganizmalar, çevresel stres faktörlerine karşı hayatta kalabilmek, koşullara uyum sağlamak ve konakçı yüzeylere tutunmak amacıyla biyofilm oluştururlar. Bu yapı, bakterilere besin eksikliği, pH değişimi, reaktif oksijen türleri, dezenfektanlar, fagositoz ve antibiyotikler gibi dışsal etkilere karşı önemli ölçüde direnç kazandırır (Donlan ve Costerton, 2002; Lewis, 2001).

Mikroskobik düzeyde incelendiğinde biyofilmin yapısının homojen olmadığı, besin ve oksijen taşınımını kolaylaştıran su kanalları içeren kompleks bir organizasyon sergilediği görülmektedir (Flemming ve Windenger, 2010). Biyofilm, yoğun ve mercan kayalıklarını andıran bir yapıya sahiptir. Bu yapı, çevredeki organik ve inorganik moleküllerin matrikste toplanmasıyla oluşur.

Bakteriler, çevrelerini algılama yetenekleri sayesinde yalnız mı yoksa bir topluluk içinde mi bulduklarını ayırt edebilmekte ve buna bağlı olarak kolektif davranışlar sergileyebilmektedir. Bu hücreler arası iletişim, “çevresel algı sistemi” ya da daha yaygın adıyla *Quorum Sensing (QS)* mekanizmasıyla gerçekleşmektedir. QS sistemi, bakterilerde antibiyotik üretimi, spor oluşumu, genetik materyal transferi (konjugasyon), hareket davranışları (kaynaşma ve yüzme), biyoışım, virülens faktörlerinin sentezi ve biyofilm oluşumu gibi pek çok fizyolojik olayda görev almaktadır (Fuqua vd., 1994; Parsek ve Greenberg, 2005). Bu iletişim mekanizmasında bakteriler, düşük molekül ağırlıklı sinyal bileşikleri üretir ve ortama salarlar. Bu kimyasal sinyaller, hücre zarını kolaylıkla geçerek ortama difüze olur ve hücre yoğunluğundaki artışla birlikte birikir. Belirli bir eşik konsantrasyona ulaşıldığında, bu sinyaller hücreler tarafından algılanır ve buna yanıt olarak virülens faktörlerinin üretimi ya da toksin sentezi gibi çeşitli gen ifadeleri aktive edilir. Bu sistem sayesinde bakteriler, kendi popülasyon yoğunluklarını izleyerek çevresel koşullara uygun davranışlar geliştirebilir. Böylece enfeksiyon sürecinde, konak bağışıklık sisteminden gizlenerek yeterli hücre yoğunluğuna ulaşana kadar fark edilmeden çoğalma avantajı elde ederler (Fuqua vd., 1994; Jayaraman ve Wood, 2008).

Quorum Sensing mekanizması, biyofilm oluşumu sürecinde de kritik rol oynamaktadır. Bu sistem, biyofilmi oluşturan hücrelerin farklılaşması, organizasyonu ve biyofilm yapısının olgunlaşması aşamalarında düzenleyici işlev görmektedir. QS'in biyofilm oluşumundaki bu düzenleyici rolü ilk kez 1998 yılında *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Davies vd., 1998).

### **2.2.1. Biyofilm Oluşum Nedenleri ve Biyofilm Oluşumunu Etkileyen Faktörler**

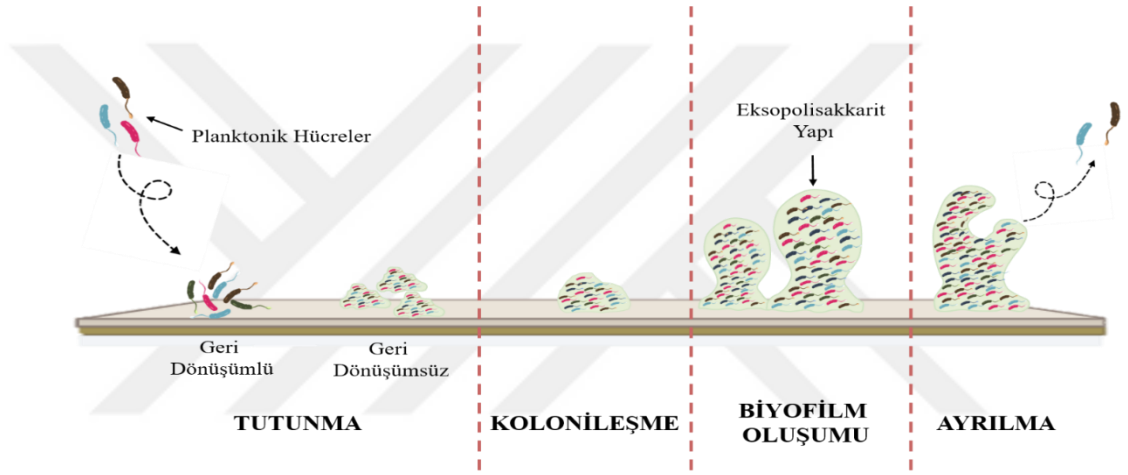
Biyofilm gelişimi, çevredeki besinlerin alımı ve atıkların uzaklaştırılmasıyla doğrudan bağlantılıdır. Bunun yanında besin sınırlamaları sonucu aktive olan QS sistemleri, ortamın pH düzeyi, oksijen geçirgenliği, karbon kaynaklarının varlığı ve ozmotik koşullar da biyofilmin oluşumu ve gelişimi üzerinde belirleyici rol oynar (Bothwell vd., 2003; Sakarya, 2005).

Bakteriler konakçı organizmalarda fibrinojen, fibronektin gibi ekstrasellüler matriks proteinlerine tutunarak adhezyon ve kolonizasyon sağlar; bu durum biyofilm oluşumunu teşvik eder (Wolz vd., 2002; Svensater vd., 2001; Gilmore vd., 2003). Karbon kaynakları, özellikle glukoz, biyofilm yapımını ve EPS üretimini artırarak yaşanabilir mikro çevrelerin oluşumunu destekler (Ammendolia vd., 1999; Jefferson vd., 2004). Ayrıca, bakteriler biyofilm içinde komünite oluşturarak çevresel sinyallere göre serbest hale geçebilir ve çevre koşullarına uygun gen ekspresyonlarıyla fenotipik değişiklikler gösterebilirler (Öztürk vd., 2008). Ayrıca biyofilm oluşumu, mikroorganizma türü, besin ihtiyacı, inkübasyon süresi, yüzey alanı, yüzey düzgünlüğü, yüzey materyali gibi faktörlere de bağlıdır (Douglas, 2003; Donlan ve Costerton, 2002).

### **2.2.2. Biyofilm Oluşum Basamakları**

Biyofilm yapısının oluşumuna katkıda bulunan çok sayıda gen, genomik ve proteomik analizler aracılığıyla tespit edilmiştir. Bu genler hücre fizyolojisinde adezyon, QS, hücre duvar yapımı, metabolizma, stres cevabı ve plazmide bağlanmada etkilidirler. Biyofilm oluşumu ilerledikçe çevrede gözlemlenen değişimler, gen ekspresyonlarında da farklılıklara yol açmakta ve bu durum biyofilm gelişimini daha da hızlandırmaktadır. Biyofilm sürecini etkileyen bazı genler bu oluşumu desteklerken, bazıları ise baskılayıcı yönde rol oynamaktadır. Ayrıca biyofilme ilişkili genetik materyaller, plazmidler aracılığıyla kolaylıkla diğer mikroorganizmalara transfer edilebilmektedir. (Vuong ve Otto, 2002).

Biyofilm oluşumunun başlayabilmesi için bakterilerin yüzeye yeterince yaklaşması gereklidir. Yüzeğe yaklaşık 10-20 nanometre mesafeye ulaştıklarında, bakteri hücrelerinin ve yüzeyin negatif yüklü bölgeleri arasında elektrostatik itme kuvvetleri oluşur. Bu etkileşim, Van der Waals kuvvetleri gibi fiziksel kuvvetlerle sınırlı kalabileceği gibi, bazı durumlarda bakteriler fimbria veya flagella gibi yapılar aracılığıyla yüzeye mekanik olarak tutunabilirler (Thomsen vd., 2022). Biyofilm oluşumu, bakterinin yüzeye tutunması, geri dönüşümsüz bağlanma, kolonizasyon ve mikrokoloni oluşumu, kopma ve ayrılma olarak 4 aşamada gerçekleşir (Temel ve Eraç, 2018; Gupta vd., 2016; Watnick ve Kolter, 2000). Biyofilm oluşum aşamaları Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



**Şekil 2.2. Biyofilm Oluşum Aşamaları**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

a. Tutunma: Biyofilm oluşumunun ilk aşamasını, planktonik haldeki mikroorganizmaların pilus ve flagella gibi yapılar aracılığıyla bir yüzeye geçici olarak bağlanmaları oluşturur (Lejeune, 2003). Bu evrede bakteriler, yüzeye tam temas halinde değildir ve aralarında hidrofobik etkileşimler ile Van der Waals bağları gibi zayıf, uzun menzilli kuvvetler rol oynamaktadır. İlk temas sırasında özellikle hidrofobik etkileşimlerin önemi büyüktür. Hücreler bu aşamada Brownian hareketi olarak tanımlanan, rastgele titreme benzeri bir hareket sergiler (Duran, 2011). Tutunma işlemiyle birlikte, bakterilerde çeşitli genetik düzenlemeler başlar ve biyofilm fenotipine özgü özellikler gelişmeye başlar. Bakterilerin yüzeye başarılı bir şekilde tutunabilmeleri için yüzeye temas kurduklarını algılamaları gerekir. Bu algılamayı, çevresel sinyalleri algılayan ve hücre içi yanıtlara dönüştüren alıcı-verici

sistemler aracılığıyla gerçekleştirirler. Tutunmanın ardından, biyofilm oluşum sürecinin ilerlemesini başlatan süreç, QS sistemiyle ilişkilidir. Bu sistem aracılığıyla, yüzeye tutunan her bakteri hücresi, çevresine kendi varlığını bildiren sinyal molekülleri salgılar. Yüzeye bağlanan hücre sayısı arttıkça, bu moleküllerin konsantrasyonu artar ve böylece biyofilm oluşumuna yönelik gen ekspresyonu tetiklenir. Bu moleküler haberleşme, bakteriler arasında koordinasyonu sağlayarak biyofilm gelişimini destekler (Shrout vd., 2011). Bu aşamadaki bakteriler, fiziksel olarak kolaylıkla ortadan kaldırılabılır ve basit yıkama işlemleriyle yüzeyden uzaklaştırılabilir (Duran, 2011).

b. Geri Dönüşümsüz Bağlanma: Bakteriler yüzeye bağlandıktan sonra hücre zarlarındaki proteinlerin aktive olması ile birlikte, hücreler arası iletişim mekanizmaları devreye girer ve bakteriler tarafından EPS üretimi başlar (Lindsay ve von Holy, 2006). EPS, bakterinin çevresel koşullara uyumunu sağlarken, aynı zamanda yüzeye ve diğer hücrelere güçlü bağlarla tutunmasını mümkün kılar. Bu polimerik matriksin bileşimi, bakteri türüne ve çevresel koşullara bağlı olarak değişmekle birlikte, çoğunlukla ekzopolisakkaritler, proteinler ve ekstrasellüler DNA'dan oluşur (Donlan, 2002).

Bu aşamada hücre ile yüzey arasında iyon-dipol, dipol-dipol, kovalent ve iyonik bağlar gibi kısa mesafeli güçlü etkileşimler görülür. Ayrıca hidrofobik ve hidrojen bağları da bu bağlanmayı destekler. Flagella ve fimbria gibi uzantılarla birlikte, EPS'nin üretimi bakterilerin yüzeye sıkıca bağlanmalarını sağlar (Duran, 2011). Endüstriyel ortamlarda, boru hatlarında biriken katyonlar, organik makromoleküller ve kolloidal maddeler mikroorganizmaların önce geçici, ardından kalıcı bağlanmalarını kolaylaştırmaktadır. Bu aşamada tutunan bakteriler EPS üretmekte, ancak bazı bakteri türlerinin EPS oluşturmadan da yüzeye geri dönüşümsüz olarak bağlanabildiği bilinmektedir. Bu bağlanmanın ortadan kaldırılması için güçlü mekanik işlemler, örneğin fırçalama veya kazıma gibi yöntemler gerekmektedir (Duran,2011).

c. Kolonizasyon ve Mikrokoloni Oluşumu: Yüzeye tutunmuş bakteriler çoğalarak mikrokoloniler meydana getirir (Costerton vd., 1994). Biyofilm, farklı bakteri türlerinin bir araya gelmesiyle karmaşık bir yapı haline gelir ve her tür, kendi mikrokolonisini oluşturarak aralarındaki mikrokanallar yoluyla besin ve suyun

difüzyonunu sağlar. Planktonik bakterilerin mevcut mikrokolonilere eklenmesiyle kolonizasyon süreci daha da hızlanır (van Loosdrecht vd., 1990). Artan hücre yoğunluğu, bakterilerin Quorum Sensing (QS) sistemi aracılığıyla birbirleriyle haberleşmelerine imkân tanır. Bu sistem, sinyal molekülleri vasıtasıyla belirli genlerin aktivasyonunu sağlayarak olgun biyofilm yapısının gelişimini destekler (Omar vd., 2017). Bu evre, biyofilme özgü fenotipin ortaya çıktığı ve bakterilerin dirençli bir yapıya büründüğü aşamadır (Donabedian, 2003). Bakteri hücrelerinin çoğalmasıyla yüzeyde birincil koloniler meydana gelir, ardından farklı türlerin katılımıyla ikincil koloniler oluşur. Biyofilm büyüdükçe, kapsül yapısına sahip hücrelerin sayısında artış gözlemlenir. Gelişen mikrokoloniler, zamanla mantar benzeri yapılar veya kuleler halini alır. Farklı yüksekliklerde bulunan bu mikrokoloniler arasında oluşan mikroskobik su kanalları, besin ve oksijen taşımını sağlarlar, atık maddelerin uzaklaştırılmasına da olanak tanır (Onur, 2021). Bu aşamada ayrıca, biyofilm ile ilişkili genlerin ekspresyonu artar ve EPS üretimi yoğunlaşır (Taşkan, 2019). Gelişen üç boyutlu yapı, mikrokanallar aracılığıyla besin alımı ve metabolitlerin taşınmasını optimize eder (Canberi, 2020).

d. Kopma ve Ayrılma: Biyofilmin olgunlaşmasından sonra, bazı bakterilerde flagella üretimi ile hareket kabiliyeti yeniden kazanılır ve bu bakteriler biyofilmin üst katmanlarından ayrılarak çevreye yayılır (Marcinkiewicz vd., 2013; Vlassova vd., 2011). Bu ayrılan planktonik hücreler yeni yüzeylere yerleşerek yeni biyofilm oluşumlarının başlamasına neden olur. Bu süreç, biyofilmin yayılmasına katkı sağlarlar, lokal enfeksiyonların sistemik hale dönüşmesine de yol açabilir. Ayrılma aşaması, mikroorganizmaların besin kaynaklarındaki azalma gibi çevresel faktörlere bağlı olarak gerçekleşir. Bu süreçte sıvı akışına bağlı kayma kuvvetleri, biyofilm yapısında zayıflamalara neden olur (Germeç, 2014). Ayrılma iki temel şekilde gerçekleşir: *aşınma* ve *dökülme*. Aşınma, sıvı akımıyla birlikte küçük biyofilm parçalarının koparak uzaklaştırılmasıdır. Dökülme ise besin kıtlığı gibi nedenlerle büyük parçaların rastgele kopmasıdır (Germeç, 2014).

### **2.2.3. Biyofilm Oluşumunun Kontrolü ve Engellenmesi**

Biyofilm gelişiminin önüne geçilebilmesi için etkili önlemler alınmalı, özellikle gıda işletmelerinde temizlik işlemleri düzenli ve titizlikle gerçekleştirilmelidir. Mikroorganizmaların tutunabileceği organik kalıntıların ortamdaki uzaklaştırılması, dezenfeksiyon işlemlerinin etkinliğini arttırmaktadır (Gün ve Ekinci, 2009). Biyofilm

kontrolünde yapısal özelliklere göre değişen çeşitli yöntemler kullanılabilir (Kırtal vd., 2021). Bu yöntemler şunlardır:

- a. Yüzeylerin mekanik yollarla temizlenmesi
- b. Antimikrobiyal maddelerin uygulanması
- c. Mikroorganizmaların gelişimini destekleyen besin kaynaklarının kısıtlanması
- d. Kimyasal maddelerle yüzey tutunmasının önlenmesi
- e. Biyofilm yapısının parçalanmasının teşvik edilmesi

Biyofilmin uzaklaştırılmasında ilk adım genellikle fiziksel müdahaledir. Mekanik temizlik, biyofilm gelişiminin erken aşamalarını durdurmada oldukça etkilidir, Jel temizleyicilere ya da düşük basınçlı sistemlere kıyasla daha başarılı sonuçlar verir. Ancak, bazı sistemlerin yapısı mekanik temizliğe elverişli olmayabilir: özellikle erişilmesi güç bölgelerde bu tür temizlik yetersiz kalabilir. (Doğruöz, 2014). Bu nedenle mekanik temizlik sonrasında kimyasal temizlik de yapılmalıdır. Kimyasal temizlikte genellikle mineral ya da organik asitler tercih edilmekte, ancak bu asitlerin metal yüzeylerde korozyona neden olabileceği göz önünde bulundurularak korozyon inhibitörlerinin kullanımı önerilmektedir. (Doğruöz, 2014).

Son yıllarda biyofilm kontrolüne yönelik farklı teknolojiler de geliştirilmiştir. Elektriksel alan uygulamaları, yüzeylerin kimyasal olarak modifikasyonu, ultrason, enzim bazlı çözümler, amonyak ve formaldehit içeren ajanlar, deterjanlar ve basınçlı temizlik sistemleri bu yöntemler arasında yer alır (Gün ve Ekinci, 2009). Enzimler, özellikle biyofilm matrisinde bulunan ekstrasellüler polimerik maddeleri parçalamada etkilidir. Farklı mikroorganizmalardan oluşan biyofilmlerin uzaklaştırılması için,  $\alpha$ -amilaz,  $\beta$ -glukanaz ve proteaz gibi spesifik enzimleri içeren karışımlar kullanılmaktadır. Örneğin, kağıt hamurunun işlenmesinde bu enzim karışımları ile biyofilm oluşumu kontrol altına alınabilmiştir (Kılıç, 2016).

#### **2.2.4. Ette Bozulma ve Biyofilm**

Etin bozulması; mikrobiyal faaliyetler, lipid oksidasyonu ve otolitik enzimatik reaksiyonlar olmak üzere üç temel mekanizma aracılığıyla gerçekleşir. Bu süreçler, depolama süresince ürün kalitesini olumsuz etkileyerek kötü koku oluşumu, renk değişikliği ve yüzeyde sümüksü yapı gelişimi gibi duyuusal sorunlara yol açmakta ve

bu durum hem tüketici tarafından ürünün reddedilmesine hem de ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Koutsoumanis vd., 2006; Dave & Ghaly, 2011).

Et, yüksek besin içeriği ile birlikte su aktivitesinin de yeterli seviyede olması nedeniyle çok çeşitli mikroorganizmaların gelişimi için uygun bir ortam sağlar. Ancak bozulmadan esas sorumlu olanlar, "özellikle bozulma mikroorganizmaları" olarak tanımlanan sınırlı sayıdaki türlerdir. Bu mikroorganizmalar gıda ekosisteminde baskın hale gelerek bozulma sürecini yönlendirmektedir (Nychas vd., 2008; Wickramasinghe vd., 2019).

Soğuk zincir koşullarında bile bozulmaya açık olan et ürünlerinde, özellikle aerobik ortamda depolananlarda, *P. fragi* gibi türler en önemli bozulma etkeni olarak öne çıkar. Bu tür, yüzeyde sümüksü yapı, koloni oluşumu ve kötü koku gibi duyu bozulmalara yol açmakta ve bu belirtiler genellikle bakteriyel EPS varlığı ile ilişkilendirilmektedir. EPS, bakterilerin büyüme ve biyofilm oluşturma sürecinde sentezledikleri kompleks yapılar olup, başlangıçta yalnızca polisakkaritlerden oluştuğu düşünülse de daha yeni çalışmalar protein, lipit ve nükleik asitlerin de bu matrikste önemli yer tuttuğunu göstermiştir (Bramhachari ve Dubey, 2006; Sheng vd., 2005; Allesen-Holm vd., 2006). EPS'nin başlıca işlevleri arasında hücrelerin birbirine tutunmasını sağlamak, yüzeylere yapışmayı kolaylaştırmak, biyofilm yapısını stabilize etmek ve bakterileri antibiyotikler, kuruma ve oksidatif stres gibi dış çevresel tehditlere karşı korumak yer almaktadır (Helbling ve VanBriesen, 2007).

Wang ve arkadaşlarının (2017) çalışmasında *P. fragi*, aerobik depolanan etlerde en yüksek bozulma potansiyeline sahip tür olarak tanımlanmıştır. Bu türün biyofilm oluşturma kabiliyeti, lipaz ve proteaz gibi dışa salgılanan enzimler aracılığıyla et yüzeyinde serbest yağ asitleri ve amino asit birikimine neden olmakta; böylece bozulmanın hızlanmasına, hoş olmayan koku ve tatların ortaya çıkmasına katkı sağlamaktadır (Remenant vd., 2015; Doulgeraki vd., 2012; Ercolini vd., 2009).

Sonuç olarak, biyofilm oluşumu et ürünlerinin mikrobiyal bozulmasında temel bir rol oynamaktadır. Bu süreç, bakteriyel türlerin özgün enzimatik aktiviteleri, biyofilm yapısının karmaşıklığı ve etin yüzey özellikleri ile etkileşimli bir şekilde ilerlemektedir. Bu nedenle, yalnızca geleneksel hijyen uygulamaları değil, aynı zamanda fiziksel, kimyasal ve biyolojik yaklaşımların bir arada kullanıldığı çoklu

stratejilerin benimsenmesi; raf ömrünü uzatmak ve mikrobiyolojik güvenliği sağlamak açısından büyük önem taşımaktadır (Bolocan vd., 2015; Giaouris vd., 2014; Bridier vd., 2015).

### 2.2.5. Gıda Endüstrisinde Biyofilm

Biyofilm yapıları, uzun yıllardır endüstriyel sektörde önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır (Öztürk vd., 2008). Özellikle gıda endüstrisinde, mikroorganizmaların ürünle temas eden yüzeylerden tam olarak uzaklaştırılmaması durumunda biyofilm gelişimi kaçınılmaz hale gelmektedir. Biyofilm oluşumunu etkileyen başlıca faktörler; mikroorganizma türü, yüzeyin fiziksel-kimyasal özellikleri ve çevresel koşullardır (Karaoğlu, 2020). Sıcaklık, pH, besin içeriği ve ortamda bulunan antimikrobiyal maddeler de biyofilm yapısının şekillenmesinde önemli rol oynamaktadır.

Gıda işleme alanlarında biyofilm, mikroorganizmaların çevresel stres faktörlerine karşı geliştirdiği bir hayatta kalma mekanizmasıdır. Bu mikroorganizmalar, düşük sıcaklık, değişken nem düzeyleri, farklı besin türleri ve periyodik dezenfeksiyon uygulamaları gibi çeşitli stres etkenleriyle karşı karşıya kalmaktadır (Brooks ve Flint, 2008). Biyofilm yapıları gıda sanayisinde ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Wagner vd., 2021). Et endüstrisinde izole edilen mikroorganizmaların yaklaşık %90'ının biyofilm oluşturabildiği bildirilmiş, bu durumun sektöre yıllık yaklaşık 150 milyon dolar kayba yol açtığı belirtilmiştir (Rather vd., 2022). Taze et ve et ürünlerinin soğuk ortamda muhafazası ve sevki zorunludur. Ancak bu düşük sıcaklık koşulları, bakterilerde soğuk şoka karşı yanıt mekanizmalarının gelişmesini tetiklemekte, glikoliz ve piruvat metabolizma yollarının devamlılığını sağlayarak bozulma sürecini hızlandırmaktadır (Shao vd., 2021). *Pseudomonas* türleri, et yüzeylerine güçlü bağlanma yetenekleriyle öne çıkan bakterilerdir. Yapılan araştırmalar, *P. fluorescens* ve *Acinetobacter* türlerinin durulama işlemi sonrası bile et yüzeyinde kalabildiğini, buna karşın *Lactobacillus* hücrelerinin ortamdan uzaklaştırılabildiğini göstermiştir (Piette ve Idziak, 1989). Biyofilm sorunu sadece gıdalarda değil, ev tipi su arıtma sistemlerinde kullanılan karbon filtreler ve membranlarda da ciddi problemler yaratmaktadır. *Pseudomonas* spp., metabolizmalarını yavaşlatarak, oluşturdukları biyofilm yapıları içerisinde şişelenmiş sularda uzun süre canlı kalabilmektedir (Hossain, 2014). Gıda işleme alanındaki

biyofilm kontaminasyonlarının kaynağı genellikle *Pseudomonas* ile kontamine olmuş su, çalışan elleri veya temas yüzeyleridir (Carpentier, 2009).

Özellikle kırmızı et ve balık ürünlerinde sık rastlanan *P. lundensis*'in düşük sıcaklıkta biyofilm oluşturabildiği, bu biyofilm yapılarının hem patojen bakteriler hem de bozulmaya neden olan diğer mikroorganizmalar için koruyucu bir ortam sunduğu rapor edilmiştir (Wickramasinghe vd., 2019b). Bir başka çalışmada ise *P. putida*'nın yüksek sıcaklıklarda oluşturduğu biyofilmlerin viskozitesinin azaldığı ve biyofilm tabakasının ayrılma eğiliminde olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşılık, düşük sıcaklıkta mikroorganizmaların yüzeye daha güçlü şekilde tutunarak çevresel stresi tolere ettikleri bildirilmiştir (Morimatsu vd., 2012).

Et patojeni olarak bilinen *Listeria monocytogenes* ile bozulmada etkin rol oynayan *Pseudomonas* türlerinin düşük sıcaklıklarda biyofilm oluşturma kapasitelerinin arttığını gösteren bulgular, et ve et ürünlerindeki kayıpların önlenmesi adına bu mikroorganizmaların kontrol altına alınmasını zorunlu kılmaktadır (Pang ve Yuk, 2019). Üretim sürecinde ekipman, kesme tahtası, el ve eldiven gibi yüzeylerle et arasındaki temas, mikroorganizmaların çapraz bulaşmasına neden olabilmektedir (Carpentier, 2009). Et ürünlerine biyofilm hücrelerinin geçişi; hücre morfolojisi, yüzeye bağlanma kuvveti, üretim ortamı ve biyofilm matriksinde yer alan ekzopolisakkaritlerin özelliklerinden etkilenmektedir (Pang ve Yuk, 2019).

Biyofilm oluşumunun önlenmesi için öncelikle suyun kalitesi ve hijyen seviyesi yüksek tutulmalı, kullanılan ekipmanlar düzenli ve etkili biçimde temizlenmelidir (Carpentier, 2009). Ayrıca biyofilm yapısını oluşturan polisakkarit matrisin parçalanması, yeni dezenfeksiyon tekniklerinin geliştirilmesiyle mikroorganizmaların yüzeylerden uzaklaştırılmasında etkinlik sağlanabilir (Sharma vd., 2014).

#### **2.2.6. Bakteriyel Hareketlilik**

Bakteriler, çok çeşitli çevresel koşullarda yüzeylere kolonize olabilmeye yeteneğine sahiptir. Buldukları ortamdaki besin maddelerinin varlığı ve yüzey özellikleri, bakterilerin yerlerinde kalmalarını, çevreye yayılmalarını veya konakçı dokulara penetre olmalarını belirleyen başlıca faktörlerdir. Laboratuvar koşullarında bakteriyel koloniler, mekânsal olarak organize bir yapı sergileyerek morfolojik olarak ayrılmış bölgeler ve özgün biyokimyasal ifade desenleri oluştururlar (Ben-Jacob vd., 1998;

Shapiro, 1998). Bakteriler, çevresel sinyalleri ve diğer mikroorganizmaların varlığını algılamak amacıyla yüzeylerle dinamik etkileşimlerde bulunurlar (Fuqua vd., 2001). Bu süreçte, yüzeye yapışmayı, yaşamlarını sürdürmeyi ve hareket yeteneklerini destekleyen biyofilm adı verilen polisakkarit yapılar üretirler (O'Toole, 2000; Stoodley, 2002).

Bakteriyel hareketlilik, QS mekanizmaları ve biyofilm oluşumu ile yakından ilişkilidir (Myszka vd., 2016; Shrout vd., 2006). Yapılan araştırmalar, bakterilerin yüzey hareketliliğinin biyofilm mimarisi üzerinde etkili olduğu ve bu hareketlilikteki farklılıkların biyofilm yapısında belirgin değişimlere neden olduğunu göstermektedir (Shrout vd., 2006). Biyofilm gelişimi sürecinde rol oynayan temel düzenleyici faktörler arasında yüzme (swimming), kaynaşma (swarming) ve seğirme (twitching) gibi hareket türleri yer alır. Bu hareket biçimleri, hem kolonizasyonun hem de biyofilm organizasyonunun gerçekleşmesinde kritik öneme sahiptir (Klausen vd., 2003; O'May ve Tufenkji, 2011).

Hareketlilik, birçok organizma için hayati bir süreçtir çünkü çevresel kaynaklara yönelimi kolaylaştırır ve bireylerin yayılımına katkı sağlar (Miyata vd., 2020). Bakteriler, derin deniz menfezlerinden (Dick, 2019) kara ekosistemlerinde yaşayan bitki ve hayvanlara kadar çok sayıda ekolojik nişte yer edinmiştir (Raina, 2019). Bu çeşitli yaşam alanlarına uyum sağlamak amacıyla farklı hareketlilik mekanizmaları geliştirmişlerdir (Jarrel ve McBride, 2008). Temel olarak bu mekanizmalar iki ana kategoriye ayrılır: bakteriler ya sıvı ortamlarda serbestçe yüzerek ya da sıvı yüzeyler üzerinde katı substratlar boyunca hareket ederek yer değiştirirler (Henrichsen, 1972). Düşük Reynolds sayılarında gerçekleşen bu yüzme hareketleri, genellikle flagellaların ya da iç filamanların rotasyonel kuvvetleriyle sağlanır ve hücrenin etrafında dönmesine neden olur (Purcell, 1977). Katı yüzeylerdeki hareket ise hücrenin bağlandığı noktalar aracılığıyla üretilen kuvvetlerle kontrol edilir (Purcell, 1977).

Son yıllarda bakteriyel hareketlilik konusundaki bilgi birikimi önemli ölçüde artmıştır. Tekil hücre düzeyindeki hareketi mümkün kılan mekanizmalar daha iyi anlaşılmiş ve bu mekanizmalara ait moleküler komplekslerin yapısal özellikleri detaylı biçimde ortaya konmuştur. Özellikle yüzme hareketine aracılık eden moleküler makinelerin kriyo-elektron mikroskobu (cryo-EM) ile çözümlenen yapıları

(Santiveri vd., 2020; Johnson vd., 2021) ile seğirme (Chang vd., 2016; Gold vd., 2015) ve kayma (Hennell James vd., 2021) gibi yüzeye ilişkili hareket biçimlerine ait yeni yapısal veriler, bu alandaki kavrayışımızı derinleştirmiştir. En sık incelenen hareket türlerinden biri, flagellar filamentlerin dönmesiyle sağlanan yüzme hareketliliğidir (Berg ve Anderson, 1973; Nakamura vd., 2003).

Kaynaşma (swarming) hareketi, bakterilerde kolektif davranışın bir formu olarak kabul edilir ve benzer davranış biçimleri böcekler, kuşlar, balıklar ve memelilerde de gözlenmektedir (Mehes, 2014; Vicsek, 2012). Bu hareket tipi, flagellaya sahip bakterilerin nemli ve besin açısından zengin yüzeylerde hızlı bir şekilde yayılmasıyla ortaya çıkar (Harshey, 2003). İlk kez *Proteus* cinsinde tanımlanan bu hareket (Williams, 1978), sonrasında *Escherichia* (Darnton vd., 2010; Harshey, 1994), *Salmonella* (Harshey vd., 1994), *Bacillus* (Kearns, 2010), *Vibrio* (McCarter vd., 1990), *Pseudomonas* (Kohler, 2000), *Serratia* (Alberti vd., 1990) ve *Paenibacillus* (Ingham, 2008; Be'er, 2009) gibi türlerde de rapor edilmiştir. *P. aeruginosa*'da gözlemlenen kaynaşma hareketi, bakterinin yüzeye ilk temasından sonra farklı alanlara yayılmasını sağlayarak biyofilm oluşum sürecine doğrudan katkı sunar. Bu nedenle bakteriyel hareketlilik, biyofilm gelişimi açısından kritik bir faktör olup, bu hareketliliğin engellenmesi biyofilm oluşumunu azaltabilir ya da tamamen bozabilir (Vasavi vd. 2015; Çevik, 2015).

Yüzeye ilişkili hareket biçimlerinden biri olan seğirme (twitching), genellikle *Myxococcus xanthus*'ta gözlemlenen ve 'sosyal hareketlilik' olarak da tanınan, flagella bağımsız bir harekettir. Bu hareket, "Tip IV pilus" adı verilen ince uzantılar aracılığıyla gerçekleştirilir (Maier ve Craig). Tip IV piluslar, bakteriler ve arkeler arasında yaygın olarak bulunur ve konak hücreye yapışma (Craig, 2004), genetik materyal alımı (Piepenbrink, 2019; Ellison vd., 2018), yırtıcılık (Evans, 2007), virülans (Persat, 2015), fototaksi (Schuergers, 2016), kemotaksi ve yüzey algılama gibi birçok biyolojik işlevde görev alır (Mattick, 2008; Berry, 2015).

*Pseudomonas fluorescens* suşlarında, biyofilm oluşumunun ilk evresi olan yüzeye tutunmada, flagella gibi uzantılar öncül temasın gerçekleşmesini sağlar. Ayrıca flagellanın, hücrelerin kümelenmesi, hücreler arası sinyal iletimi ve bağlanma süreçlerinde de rol oynayabileceği düşünülmektedir (Díaz vd., 2011). *Pseudomonas aeruginosa*, seğirme hareketi sayesinde yüzey üzerinde dik pozisyonda durabilir ve

iki boyutlu düzlemlerde yönlü hareket kabiliyeti kazanır (Gibiansky, 2010; Conrad, 2011). Bu bakımdan, seğirme motorlarının hücre kutuplarına lokalize olmasının, pilus aracılığıyla iletilen mekanik sinyallerle düzenlendiği ve bunun da mekanotaksi davranışını yönlendirdiği gösterilmiştir (Kühn vd., 2021).

Seğirme hareketini gerçekleştiren yapıların çoğunun hem işlevsel hem de yapısal özellikleri günümüzde detaylı olarak açıklanmıştır. Tip IV pilus, pilusların hücre zarından dışarı uzatılmasını ve geri çekilmesini sağlayan kompleks bir sistemdir ve bu sistemin mimarisi, yakın zamanda kriyo-elektron tomografi ile ortaya konmuştur (Chang, 2016; Gold, 2015).

### **2.3. Esansiyel Yağlar**

Esansiyel yağlar, bitkilerin çeşitli kısımlarından elde edilen, uçucu ve kendine özgü aromatik özelliklere sahip sıvı formdaki doğal bileşiklerdir (Guenther, 1948). Bu yağlar, genellikle bitki materyalinden su buharı distilasyonu yöntemiyle izole edilmekte olup, bu yöntem ticari üretim süreçlerinde en yaygın kullanılan tekniktir (Van de Braak ve Leijten, 1999). Esansiyel yağların üretiminde ekstraksiyon, ekspresyon, fermantasyon ve enfleuraj gibi alternatif yöntemler kullanılabilir. Ayrıca, distilasyon tekniği hem verimlilik hem de maliyet açısından en yaygın tercih edilen yöntem olarak öne çıkmaktadır (Burt, 2004). Bu uçucu bileşikler; bitkinin yaprak, kabuk, çiçek, tohum, tomurcuk, dal ve meyve gibi farklı morfolojik kısımlarından elde edilebilmektedir (Zaouali vd., 2010). Aynı zamanda kök, çiçek, yaprak, ağaç kabuğu ve meyve gibi birçok bitki organı da esansiyel yağ üretiminde kaynak olarak kullanılabilir (Brenes ve Roura, 2010). CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu gibi bazı gelişmiş teknikler, daha doğal ve orijinal aromatik bileşimler elde edilmesini mümkün kılarsa da, bu yöntemlerin ekonomik açıdan yüksek maliyetli olması nedeniyle yaygın kullanımları sınırlıdır (Moyler, 1998).

Esansiyel yağlar, yalnızca gıda lezzetlendirici ya da farmasötik amaçla kullanılmakla kalmayıp, aynı zamanda antimikrobiyal etkileri nedeniyle biyolojik koruyucu madde olarak da tercih edilmekte; bu sayede gıdalarda bozulmalara neden olan patojen mikroorganizmaların aktivitesini azaltarak ürünlerin raf ömrünü uzatmakta ve kalitesini korumaya yardımcı olmaktadır (Ponce vd., 2011). Avrupa Birliği ülkelerinde bu bileşikler; aroma verici madde olarak gıda endüstrisinde, esans olarak kozmetik ve parfümeri sektörlerinde ve çeşitli formülasyonlarla ilaç sanayisinde

yoğun biçimde kullanılmaktadır (Van Welie, 1997). Literatürde yapılan çeşitli çalışmalarda, çok sayıda farklı bitkiden elde edilen esansiyel yağların doğal antioksidan ve antimikrobiyal etkilere sahip olduğu gösterilmiş ve bu nedenle bu yağların uzun yıllardır farmakoloji, tıp, gıda güvenliği ve kozmetik sanayisi gibi birçok farklı alanda etkin şekilde kullanıldığı rapor edilmiştir (Sacchetti vd., 2005; Lin vd., 2009; Zaouali vd., 2010; Bayaz, 2014). Esansiyel yağların özellikle antioksidan ve mikrobiyal inhibisyon özellikleri, hem bilimsel hem de endüstriyel uygulamalar açısından önemli görülmektedir (Burt, 2004; Oussalah vd., 2007; Tajkarimi vd., 2010). Bitkisel kökenli yağ ve özütlerin antimikrobiyal etkileri, gıda muhafazası, tıbbi uygulamalar, alternatif tedavi yaklaşımları ve doğal ürünlerle geliştirilen koruyucu çözümlerde yaygın olarak değerlendirilmektedir (Bakkali vd., 2008; Cosentino vd., 1999; Prakash vd., 2007). Bu bağlamda esansiyel yağlar; gıda sektöründe doğal koruyucu olarak kullanılmalarının yanı sıra, tarımda pest kontrolü, tıbbi ürünlerde enfeksiyon önleyici madde olarak değerlendirilme ve kozmetik ürünlerinde mikrobiyal kontaminasyonu önleme gibi çok yönlü kullanım alanlarına sahiptir (Bakkali vd., 2008).

Bu alanda yapılan bilimsel çalışmalar, esansiyel yağların yapısında bulunan terpenoid ve fenolik bileşiklerin doğrudan antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Conner, 1993; Didry vd., 1993; Karapınar ve Altuğ, 1987). Fenolik bileşiklerin bu antimikrobiyal etkilerde merkezi rol oynadığı ve bazılarının “Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen Maddeler” (GRAS) sınıfında rol aldığı bildirilmektedir. Bu nedenle esansiyel yağların, ürünlerin doğal yollarla korunmasında potansiyel koruyucu ajan olarak değerlendirilebileceği önerilmektedir (Kabara, 1991; Singh vd., 2001). Bu bileşiklerin etkinliği, esansiyel yağın içerdiği aktif maddelere ve onların miktarlarına bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir (Toroğlu ve Çenet, 2006). Bitki esansiyel yağlarının antimikrobiyal etkisi fenolik bileşiklerin lipofilik yapıda olması, mikroorganizmaların hücre zarlarında birikmelerine ve bu zarlarda bozulmalara neden olarak enerji dengesini bozmak suretiyle bakterilerin yaşamsal faaliyetlerini sekteye uğratmalarına yol açmaktadır (Conner, 1993).

Esansiyel yağların kimyasal bileşimi ve bu bileşimlerin oranları; bitkinin hasat edildiği zaman, bitki türü ve kullanılan organ, yetiştirildiği coğrafyanın iklimsel koşulları ve jeolojik yapısı gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Bayaz, 2014; Burt,

2004). Ayrıca, kullanılan ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak da esansiyel yağın bileşenleri ve verimi büyük oranda değişiklik gösterebilir (Mith vd., 2014). Bu kimyasal bileşiklerin bitkilerde doğal olarak bulunma nedeninin, bitkinin savunma sisteminde veya metabolik süreçlerinde üstlendikleri görevlerle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Mahmoud ve Croteau, 2002). Esansiyel yağların antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılan bilimsel çalışmalar, bu yağların hem bakteriyel hem de fungal patojenlere karşı etkili olabildiğini göstermiştir (Rasooli ve Owlia, 2005). Bu etkilerin belirlenmesinde test edilen ortamın bileşimi, kullanılan mikroorganizma türleri, inkübasyon süresi ve sıcaklığı gibi parametreler, esansiyel yağların antimikrobiyal etkinliği üzerinde belirleyici etkiye sahiptir (Burt, 2004). Ayrıca, esansiyel yağın çözünürlüğü, uçuculuğu ve test ortamındaki stabilitesi de elde edilen sonuçların güvenilirliğini etkileyebilmektedir. Bu nedenle, farklı çalışmalarda elde edilen verilerin doğrudan karşılaştırılması her zaman mümkün olamamakta, standardizasyon ihtiyacı doğmaktadır. Yine de bu yağların içerdiği fenolik ve terpenoid bileşenlerin mikroorganizmalar üzerinde inhibitör etkiler oluşturabildiği ve bu etkilerin türden türe değişiklik gösterebildiği genel olarak kabul edilmektedir.

Esansiyel yağlar ve içeriklerinin, Gram-negatif bakteriler dahil olmak üzere birçok mikroorganizmaya karşı etkili olduğu bilinmektedir (Helander vd., 1998; Sivropoulou vd., 1996).

Nychas (1995), kekik, biberiye, adaçayı, karanfil, kişniş, sarımsak ve soğandan elde edilen esansiyel yağların bakterilere ve mantarlara karşı etkili olduğunu vurgulamıştır. Seenivasan ve arkadaşları (2006), 21 farklı bitki esansiyel yağını altı bakteri türüne karşı test etmiş ve tarçın, karanfil, sardunya, limon, portakal ve biberiye yağlarının yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirtmişlerdir.

Wannissorn ve arkadaşları (2005), Tayland'da yetiştirilen bitkilerden elde edilen 32 farklı esansiyel yağın antimikrobiyal özelliklerini değerlendirmiş; japon nanesi (*M.arvensis* var. *piperacens* L.) ve limon otunun (*C. citratus*) dikkat çekici sonuçlar verdiğini belirtmiştir. Lopez ve arkadaşları (2007) ise, tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının katı difüzyon testinde *E. coli* üzerinde benzer düzeyde inhibisyon sağladığını belirtmiştir.

Pejčić ve çalışma arkadaşları (2020), gerçekleştirdikleri araştırmada adaçayı ve fesleğen esansiyel yağlarının *Pseudomonas* izolatlarında piyosiyanın üretimini ve

bakteri hareket türlerinden yüzme, seğirme ve kaynaşma davranışlarını etkilediğini ortaya koymuştur. Aynı zamanda bu yağların, biyofilm oluşumunun hem başlangıç safhalarında hem de olgun biyofilm yapılarında etkili olduğu ve toplam biyofilm miktarında anlamlı düzeyde azalma sağladığı bildirilmiştir. Elde edilen veriler doğrultusunda, adaçayı ve fesleğen esansiyel yağlarının *Pseudomonas* türlerinin virülans faktörlerini baskılayabilen potansiyel antimikrobiyal ajanlar arasında yer aldığı sonucuna ulaşılmıştır.

Geleneksel tıbbi bitkilerden biri olan kerkede esansiyel yağının (*Hibiscus sabdariffa*), özellikle Gram-negatif bakterilere karşı etkili bir anti-biyofilm ajanı olduğunu ve bu etkinin özellikle *Escherichia coli* ile *Mirabilis* türlerinde belirgin şekilde gözlemlendiğini ortaya koymaktadır (Chelliah vd., 2025).

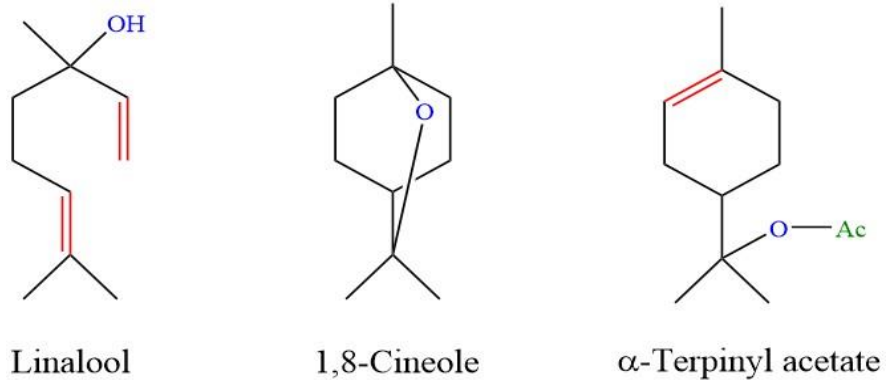
ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA, 2002) tarafından bitkisel ürünlerde kullanımına onay verilen esansiyel yağlar (Burt, 2004), hem bozulmaya yol açan mikroorganizmalar hem de gıda kaynaklı patojenler üzerinde antimikrobiyal etki göstermektedir (Viuda-Martos vd., 2008; Samadi vd., 2011; Ruiz-Navajas vd., 2012; Mith vd., 2014; Marrelli vd., 2016). Bazı ülkelerde esansiyel yağ içeren gıda katkı maddeleri ticari olarak bulunmaktadır ve GRAS sınıfında yer almaktadır (Burt, 2004). Gıda ve içeceklerde uzun süredir aroma amacıyla kullanılan bu yağlar, sahip oldukları antimikrobiyal bileşenler sayesinde doğal koruyucu olarak kullanılma potansiyeline sahiptir (Conner, 1993). Ancak bu yağların karmaşık gıda sistemlerinde etkili olabilmesi için, klasik besiyerinde gerekli olan minimum inhibisyon konsantrasyonuna göre daha yüksek dozlara ihtiyaç duyulmaktadır (Burt vd., 2004; Hulin vd., 1998). Bu nedenle etkili sonuç için gereken yağ miktarlarını azaltacak yaklaşımların geliştirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla farklı esansiyel yağ kombinasyonları denenmekte veya bunlar sentetik koruyucularla birleştirilmektedir (Fu vd., 2007; Goni vd., 2009; Matan vd., 2006).

### **2.3.1. Defne Yağı**

Defne (*Laurus nobilis L.*), Lauraceae familyasına ait aromatik bir bitki olup ülkemizin Akdeniz, Karadeniz ve Ege bölgelerinin kıyı kesimlerinde doğal olarak yetişmektedir. Keskin ve baharatlı aromatik yapısı sayesinde dünya mutfaklarında sıklıkla aroma verici olarak kullanılmaktadır (Díaz-Maroto vd., 2002). Ayrıca, antimikrobiyal, antifungal ve antioksidan özellikleri nedeniyle gıda sanayisinde

doğal koruyucu katkı maddesi olarak kullanım alanı bulduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Sellami vd., 2011). Bunun yanı sıra, alternatif tıpta da değerdendirilen bu bitki; sindirim sistemi rahatsızlıkları, romatizmal ağrılar, idrar yolları taşları ve baş ağrılarının giderilmesinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (Özcan ve Chaichat, 2005). Son yıllarda yapılan araştırmalar, defne yapraklarının ve defne esansiyel yağının fonksiyonel ve sağlık açısından faydalı etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Bhourı vd., 2018; Muñiz-Márquez vd., 2018). Birçok çalışma, defne esansiyel yağının antimikrobiyal, akarisit (akar öldürücü) ve antioksidan etkilere sahip olduğunu göstermektedir (Macchioni vd., 2006; Bhourı vd., 2018; Politeo vd., 2007; Fernández vd., 2019).

Defne bitkisinin uçucu yağ bileşimi üzerine yapılan araştırmalar, 1,8-cineole bileşiminin majör bileşen olduğunu ortaya koymuştur. Ancak, elde edilen uçucu yağın kimyasal içeriği; bitkinin yetiştiği bölge, iklim ve toprak koşulları, toplama zamanı, tür ve ekstraksiyon yöntemi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak kantitatif ve kalitatif farklılıklar gösterebilmektedir (Fiorini vd., 1997; Jemâa vd., 2012; Özcan ve Chaichat, 2005). 1,8-cineole'un yanı sıra, linalool,  $\alpha$ -terpinyl asetat,  $\alpha$ -pinene ve sabinene gibi bazı monoterpen bileşikler de yüksek oranda tespit edilmektedir. Defne yapraklarının karakteristik baharatlı kokusunun kaynağını oluşturan eugenol, metil eugenol ve elemicin gibi benzen türevleri ise %1 ile %12 arasında değişen oranlarda bulunmakta olup, yaprağın duyuşal kalitesine önemli katkılar sağlamaktadır (Díaz-Maroto vd., 2002; Olmedo vd., 2015; Sellami vd., 2011). Şekil 2.2'de defne yağının temel bileşenlerinin kimyasal yapıları verilmiştir.



**Şekil 2.2: Defne yağının temel bileşenlerinin kimyasal yapış**

**Kaynak:** (Ilić vd., 2024)

Farklı coğrafi bölgelerde yapılan araştırmalar da, defne yapraklarından elde edilen uçucu yağların başlıca bileşeninin 1,8-cineole olduğunu doğrulamaktadır (Derwich vd., 2009; Di Leo Lira vd., 2009; Fiorini vd., 1997; Jemâa vd., 2012; Sellami vd., 2011). Örneğın; Tunus, Cezayir ve Fas gibi Kuzey Afrika ülkelerinde hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilen defne uçucu yağlarının ana bileşeni sırasıyla %24,55, %34,62 ve %38,86 oranlarında 1,8-cineole olarak belirlenmiştir (Jemâa vd., 2012). Mersin bölgesinden toplanan örneklerde ise Göksen vd. (2020), 1,8-cineole oranını %69,87 olarak tespit etmişlerdir. Diğer yaygın bileşikler arasında  $\alpha$ -pinene, sabinene ve limonen yer almaktadır (Derwich vd., 2009).

Erdoğrul, *L. nobilis* ekstraktlarının bazı bakteri ve mantar türlerinin büyümesini inhibe ettiğini belirlemiştir. Özellikle *Mycobacterium smegmatis*, *Yersinia enterocolitica*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *Bacillus megaterium* üzerinde antimikrobiyal etkiler gözlemlenmiştir. Molina vd. (2020) tarafından yapılan çalışma, defne (*Laurus nobilis* L.) ekstraktlarının gıda kaynaklı patojenler üzerindeki antipatojenik etkilerini ortaya koymaktadır. Bulgular, defne ekstraktlarının Quorum Sensing (QS) mekanizmasını inhibe ettiğini ve buna bağılı olarak virülans faktörlerinin baskılandığını göstermiştir. Ayrıca, biyofilm oluşumunun önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, defne ekstraktlarının gıda koruma ve güvenliği açısından doğal bir antimikrobiyal ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Macchioni vd., 2006; Bhourı vd., 2018; Politeo vd., 2007 Fernández vd., 2019).

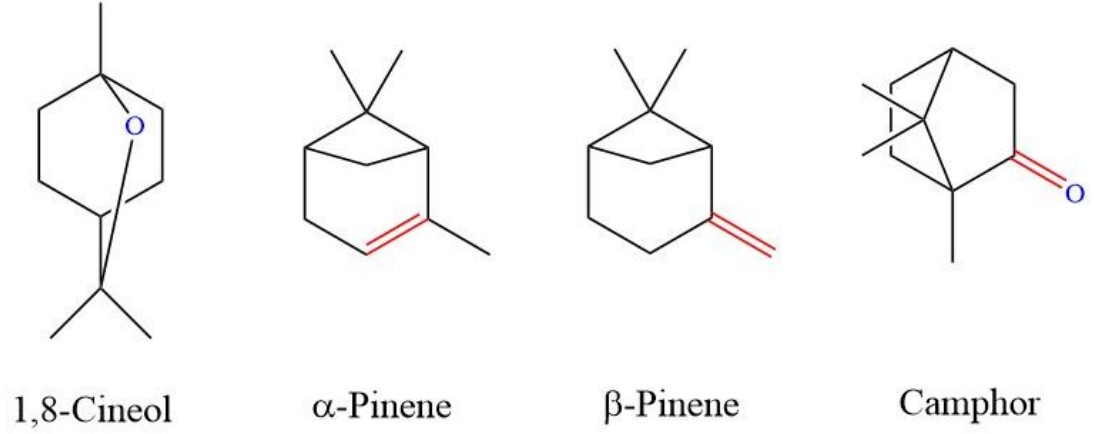
Dadaloğlu ve Evrendilek (2004), defne bitkisinden elde edilen esansiyel yağın *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* O157:H7' ye karşı belirgin düzeyde antimikrobiyal aktivite sergilediğini bildirmişlerdir. Türkiye'den doğal bir flora olan ve yaygın olarak geleneksel bir ilaç ve gıdalarda lezzet arttırıcı olarak kullanılan *L. nobilis* L., gıda kaynaklı patojenlere karşı koruyucu olarak da kullanılabilir sonucuna ulaşmıştır.

Çeşitli aromatik bitki türlerinden elde edilen esansiyel yağ çalışmaları, yağların en aktif bileşenlerinin 1,8-sineol ve terpinen-4-ol olduğunu göstermektedir (Piccaglia vd., 1993). Ayrıca, 1,8-sineol, Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ve *L. monocytogenes* dahil mayalara karşı aktivite göstermektedir (Oke vd., 2009).

### 2.3.2. Biberiye Yağı

Biberiye (*Rosmarinus officinalis*), Lamiaceae familyasına ait olup, doğal yaşam alanı genellikle kuru ve kayalık bölgeler, yamaçlar, tepeler ve çam ormanlarıdır (Perez vd., 2007). Dünya genelinde yaygın olarak kullanılan bu bitki, hem tıbbi hem de aromatik özellikleri dolayısıyla taze, kurutulmuş ya da esansiyel yağ formunda değerlendirilmektedir (Özcan ve Chalchat, 2008). Baharat olarak da bilinen biberiye, aynı zamanda güçlü doğal antioksidanlar arasında yer almakta ve yüksek antioksidan kapasitesiyle dikkat çekmektedir (Oluwatuyi, Kaatz ve Gibbons, 2004). Biberiye esansiyel yağı; antibakteriyel, antifungal, antikanser, antiinflamatuvar ve antiviral etkileriyle öne çıkmakta, bu nedenle hem tıbbi hem de endüstriyel alanlarda geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (Abdullah, Hatem ve Jumaa, 2015; Aherne, Kerry ve O'Brien, 2007; Barni vd., 2009; Barni vd., 2012; al-Sereiti vd., 1999). Yapılan çeşitli bilimsel çalışmalar, bu uçucu yağın içerdiği biyolojik olarak aktif bileşiklerin, özellikle fenolik bileşikler ve terpenoidler sayesinde, antimikrobiyal ve antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur (Sacchetti vd., 2005; Gachkar vd., 2007; Genena vd., 2008; Zaouali vd., 2010; Ojeda-Sana vd., 2013).

Biberiye yağının kimyasal bileşimi, bulunduğu coğrafi bölgeye göre değişiklik gösterebilmektedir. Özellikle hasat zamanı, çevresel ve tarımsal koşullar, bitkinin gelişim evresi ve ekstraksiyon yöntemi gibi faktörler, yağın içeriği ile birlikte biyolojik aktivitesini de etkilemektedir (Bradley, 2006; Burt, 2004; Çeliktaş vd., 2007; Jamshidi vd., 2009; Okoh vd., 2010; Zaouali vd., 2010). Tipik olarak biberiye yağları,  $\alpha$ -pinen, 1,8-sineol ve kafur gibi bileşenlerce zengindir. Bu bileşiklere ek olarak borneol ve verbenon gibi diğer uçucu bileşikler de değişen oranlarda bulunabilir (Bradley, 2006). Özellikle Tunus, Türkiye, Fas ve İtalya menşeli yağlarda 1,8-sineol baskın bileşen olup %40'ın üzerinde oranda bulunurken, Fransa, İspanya ve Yunanistan'dan elde edilen yağlarda 1,8-sineol,  $\alpha$ -pinen ve kafur yaklaşık eşit oranlarda (yaklaşık %20-30) tespit edilmiştir (Lawrence, 1995; Boutekedjiret vd., 1999; Bradley, 2006). Şekil 2.3'te biberiye yağının temel bileşenlerinin kimyasal yapıları verilmiştir.



**Şekil 2.3: Biberiye yağının temel bileşenlerinin kimyasal yapısı**

**Kaynak:** (Leşnik vd., 2021).

Ojeda-Sana ve arkadaşlarının (2013) yaptığı çalışmada, biberiye esansiyel yağının temel bileşenleri arasında 1,8-sineol,  $\alpha$ -pinen ve kafur yer almakta olup; bu bileşenlerin her birinin antibakteriyel etkiye farklı mekanizmalarla katkı sağladığı belirlenmiştir. Özellikle, 1,8-sineolün *Escherichia coli* hücre zarında hasara yol açarak bakterisidal etki oluşturduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde,  $\alpha$ -pinen geniş spektrumlu antibakteriyel etki gösterirken, borneol ve diğer monoterenlerin hücre zarını bozarak bakteriyel geçirgenliği arttırdığı ve böylece hücre içi metabolizmayı olumsuz etkilediği ifade edilmiştir (Genena vd., 2008; Ojeda-Sana vd., 2013).

Biberiye esansiyel yağının antimikrobiyal etkileri; *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* gibi çoklu ilaca dirençli bakteriler üzerinde test edilmiştir. Bu çalışmalarda, yağın sözcüğü patojen mikroorganizmalar üzerinde anlamlı antibakteriyel etki gösterdiği ve potansiyel bir doğal tedavi ajanı olabileceği değerlendirilmiştir (Abdullah, Hatem ve Jumaa, 2015). Özellikle *Pseudomonas* türleri gibi Gram-negatif bakteriler, genellikle uçucu yağlara karşı daha dirençli olmalarına rağmen, biberiye yağının bu türler üzerinde inhibe edici etki gösterebildiği ortaya konmuştur (Abdullah, Hatem ve Jumaa, 2015).

Sonuç olarak, biberiye esansiyel yağı, sahip olduğu kompleks kimyasal bileşimi sayesinde hem antioksidan hem de antimikrobiyal açıdan güçlü bir biyolojik etki sunmaktadır. Bu etkinin kaynağında, karnozol ve karnosik asit gibi fenolik

bileşiklerin yanı sıra,  $\alpha$ -pinen, borneol, kafur ve 1,8-sineol gibi terpenlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir (Genena vd., 2008; Abdullah, Hatem ve Jumaa, 2015).



## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

### MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. *Pseudomonas* İzolatları ve Kontrol Suşları

Çalışmada, 1220439 no'lu TUBİTAK proje kapsamında önceki çalışmalarda et örneklerinden izole edilmiş YK107, YK8, YB43, YK50 ve YB91 suşları ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Pseudomonas fragi* ATCC 4973 referans suşları kullanılmıştır. Çalışmada değerlendirilen *Pseudomonas* izolatlarının kodları, izole edildikleri kaynaklar ve tanımlanan bakteri türleri Tablo 3.1'de sunulmuştur. Kullanılan suşlar, İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü kültür koleksiyonunda muhafaza edilmektedir.

**Tablo 3.1: Çalışmada Kullanılan İzolatların Kodları ve Türleri**

İzolat Kodları	Kaynak	Tür
YK 107	Kıyma	<i>P. bubulae</i>
YK 8	Kıyma	<i>P. fragi</i>
YK 50	Kıyma	<i>P. kulmbachensis</i>
YB 43	Biftek	<i>P. fragi</i> yakını olası yeni tür
YB 91	Biftek	<i>P. fragi</i>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur

##### 3.1.2. Defne Yağı ve Biberiye Yağı

Çalışmada kullanılan defne (*Laurus nobilis* L.) esansiyel yağı ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.), esansiyel yağı FAİDA (Ankara, Türkiye) markasından temin edilmiştir. Esansiyel yağlar hava geçirmez koyu renkli cam şişede ve karanlıkta muhafaza edilmiştir. Defne ve biberiye yağının sterilizasyonu 0.22 µm gözenek büyüklüğüne sahip şırınga filtresinden (ISOLAB) süzülerek yapılmıştır.

### 3.2. Metot

Yöntem, öncelikle defne ve biberiye esansiyel yağlarının uçucu bileşenlerinin analiz edilmesini ve bu yağların *Pseudomonas* izolatları üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MİK) tespit edilmesini kapsamaktadır. Ardından, 0,5, 0,25 ve 0,125 alt MİK değerleri kullanılarak biyofilm oluşumu ve bakteriyel hareketlilik üzerine etkileri incelenmiştir. Biyofilm testlerinde, sıcaklık ve zaman faktörlerinin etkisini daha ayrıntılı incelemek için buzdolabı (4°C) ve oda sıcaklığı (25°C) koşulları altında 1, 4 ve 7 günlük inkübasyon süreleri uygulanmıştır.

#### 3.2.1. Çalışma Kültürü Hazırlama

Çalışma sırasında stoktan alınan *Pseudomonas* suşları için katı besiyeri (agar) olarak Nutrient agar (NA, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. NA protokollerinde belirtilen miktarda tartılmış ve üzerine distile su ilave edilerek çözündürülmüştür (EK1). Hazırlanan besiyerleri otoklavda (Selecta, Presoclave II, İngiltere) 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Otoklav sonrası yaklaşık 50°C'ye soğutulan agarlar, steril petrilere yaklaşık 15 mL olarak dökülmüştür. Stok kültürlerden alınan mikroorganizmalar, üç çizgi yöntemi kullanılarak NA'a ekilmiştir. *Pseudomonas* izolatları ve *P. fragi* ATCC 4973 25°C'de, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ise 37°C'de 48 saat inkübe edilmiş ve agar yüzeyinde teke düşen koloniler çalışmalarda kullanılmıştır.

#### 3.2.2. Defne ve Biberiye Esansiyel Yağlarının Uçucu Bileşenlerinin Belirlenmesi

Defne ve biberiye esansiyel yağının uçucu bileşenlerinin tanımlanması ve miktar analizi İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Sabri Ülker Araştırma ve Geliştirme Merkezi'nde bulunan Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Defne ve biberiye esansiyel yağlarının bileşenleri, headspace GC-MS yöntemi ile analiz edilmiştir. Bu analizde, SHIMADZU marka GC2010 gaz kromatografisi ve QP2020 kütle spektrometresi kullanılmıştır. Arayüz sıcaklığı 250°C, iyon kaynağı sıcaklığı ise 200°C olarak belirlenmiştir. Kütle spektrumları, 70 eV iyonizasyon enerjisi ile 40-500 amu aralığında kaydedilmiştir. Bileşenlerin ayrımı, Restek Corporation (Bellefonte, PA, ABD) tarafından üretilen Rxi-5Sil MS kapiler kolon (30 m x 0.25 mm, film kalınlığı 0.25 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Analiz sırasında uygulanan sıcaklık programında, başlangıç sıcaklığı 50°C olarak belirlenmiş ve bu sıcaklık 3 dakika boyunca sabit tutulmuştur. Daha sonra sıcaklık, 3°C/dak artış hızıyla 260°C'ye, ardından 10°C/dak hızla 270°C'ye yükseltilmiş ve bu sıcaklık 1 dakika süreyle korunmuştur.

Enjeksiyon sisteminin optimal çalışma koşulları ise şu şekilde ayarlanmıştır: inkübasyon süresi 20 dakika, inkübasyon sıcaklığı 40°C, karıştırma hızı 100 rpm, ön temizleme şırınga süresi 5 saniye, enjeksiyon akış hızı 1 mL/dak ve enjeksiyon sonrası bekleme süresi 20 saniye olarak belirlenmiştir. Uçucu bileşiklerin tanımlanması, alıkonma süreleri ve kolon üzerindeki kütle spektrumlarının Wiley ve NIST (National Institute of Standards and Technology) kütüphanelerindeki referans spektrumlarla karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.3. Defne ve Biberiye Yağlarının *Pseudomonas* İzolatları Üzerindeki Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun (MİK) Belirlenmesi**

Defne ve biberiye esansiyel yağlarının minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI, 2006) yönergelerine göre agar dilüsyon yöntemi ile 5 farklı *Pseudomonas* izolatına karşı test edilerek belirlenmiştir.

Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerlerinin belirlenmesi için Mueller Hinton agar (MHA, Neogen) belirtilen hazırlanma yönergelerine (EK1) uygun şekilde hazırlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Ayrıca, Tween 80 (AFG Science) de sterilizasyon amacıyla otoklavlanmıştır.

Sterilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra, MHA yaklaşık 50°C'ye ulaştığında, önceden 0.22 µm filtre ile sterilize edilmiş %1-3 (v/v) esansiyel yağ ve %0,5 (v/v) steril Tween 80 ile birleştirilerek Mueller Hinton agara eklenmiştir.

Belirlenen oranlarda steril esansiyel yağ ve Tween 80 içeren besiyerleri, en az 15 saniye boyunca manyetik karıştırıcıda homojen şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra, aseptik koşullarda steril petrilere dökülerek oda sıcaklığında (20-25°C) yaklaşık 30 dakika boyunca katılaşması beklenmiştir.

Agarlar tamamen katılaştıktan sonra, 5 mL FTS (fizyolojik tuzlu su %0,85 NaCl) içine 0,5 McFarland ( $1,5 \times 10^8$  kob/mL) bulanıklık standardına ayarlanan bakteri süspansiyonundan 2 µL alınarak defne ve biberiye yağı içeren besiyerlerinin merkezine inoküle edilmiştir. Ardından, en az 30 dakika boyunca kurumaya

bırakılmıştır. Bakteri süspansiyonunun 0,5 McFarland bulanıklık standardına ulaştığını doğrulamak için densitometre (Biosan DEN-1, EU) cihazı kullanılmıştır.

İnkübasyon sürecinde *Pseudomonas aeruginosa* tip suşu 37°C’de, *Pseudomonas fragi* ve diğer *Pseudomonas* izolatları ise 25°C’de etüvde 24 saat boyunca bekletilmiştir. İnkübasyonun tamamlanmasının ardından, agar yüzeyinde gözle görülür büyümenin engellendiği en düşük yağ konsantrasyonu MİK değeri olarak belirlenmiştir.

Pozitif kontrol olarak, esansiyel yağ içermeyen ancak %0,5 (v/v) Tween 80 içeren ve bakteri ile aşılınmış besiyeri kullanılmıştır. Negatif kontrol ise yalnızca %0,5 (v/v) içeren ancak bakteri ile aşılınmamış besiyerinden oluşmuştur. Deneyde kullanılan konsantrasyonda Tween 80’in test edilen suşların canlılığı üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir.

#### **3.2.4. Biyofilm Oluşum Analizi**

Biyofilm analizi kantitatif olarak Wang vd. (2017b); Stepanović vd. (2007) ve O’Toole ve Kolter (1998)’in açıkladığı şekilde bazı değişiklikler uygulanarak 96 kuyucuklu polistiren mikrotitre plakalarında kristal mor (CV) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. FTS ve TSB (Triptik Soy Broth, Sigma-Aldrich, EK1) ortamları, 121°C’de 15 dakika süreyle otoklavlanarak steril hale getirilmiştir. NA üzerinde 24 saat inkübe edilen bakteriyel izolatlardan birkaç koloni alınarak, 5 mL steril FTS ortamı içerisinde süspansiyon edilmiştir. Bu süspansiyonun bulanıklığı, densitometre yardımıyla 0,5 McFarland standardına getirilmiş ve en az 1 dakika boyunca vortekslenerek homojen hale getirilmiştir.

DeneySEL çalışmada, mikropLaka kuyucuklarına 180 µL olacak şekilde; 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK altındaki defne veya biberiye yağı konsantrasyonlarını içeren ve %0,5 (v/v) Tween 80 ilave edilmiş TSB besiyeri dağıtılmıştır. Ardından, her bir kuyucuğa 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmış bakteri süspansiyonundan 20 µL eklenmiştir. Negatif kontrol grubu olarak, yalnızca %0,5 (v/v) Tween 80 içeren 200 µL TSB ortamı kullanılmıştır. Hazırlanan polistiren mikrotitre plakaları, 25°C’de etüv ve 4°C’de buzdolabı koşullarında sırasıyla 1, 4 ve 7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresinin sonunda, mikropilaka kuyucuklarındaki hücre yoğunlukları, mikropilaka okuyucusu (INNO-M, LTEK, Güney Kore) aracılığıyla 600 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Daha sonra kuyucuklardaki süspansiyonlar uzaklaştırılmış ve her kuyucuk 3 kez taze TSB ile dikkatlice yıkanmıştır. Hücreler, 200 µL metanol (Isolab) ile 15 dakika sabitlenmiş, ardından 5 dakika boyunca her bir kuyucuğa 200 µL %1 (w/v) kristal viyole (EK1) uygulanmıştır. Biyofilm yapılarına bağlanan boya, 200 µL %33 (v/v) asetik asit (EK1) ile çözündürülmüştür. Son olarak, çözülmüş boyanın optik yoğunluğu 590 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

### 3.2.5. Hareketlilik Testleri

Bakteriyel hareketlilik testleri için seğirme (twitching), kaynaşma (swarming) ve yüzme (swimming) hareket testleri Wang vd. (2021) ve Deziel vd. (2001)'de anlatıldığı şekilde bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır.

Kaynaşma hareket testi için, %0,5 agar (Liofilchem), 8 g/L nutrient broth ve 5 g/L glukoz (Merck) içeren yarı-katı agar hazırlanmıştır. Seğirme hareket testi için, 20 g/L LB broth ve %1 agar içeren yarı-katı agar kullanılmıştır. Yüzme hareket testi için ise %1 Tryptone (Sigma-Aldrich9, %0,5 NaCl (İsolab) ve %0,5 agar içeren yarı-katı agar hazırlanmıştır.

Her hareket testi için özel olarak hazırlanan yarı-katı besiyerleri, 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Daha sonra, sıvı haldeki agara 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK altı konsantrasyonlarında steril defne veya biberiye yağı ve %0,5 (v/v) steril Tween 80 eklenmiştir. Karışım, manyetik karıştırıcıda en az 30 saniye boyunca homojen hale getirilmiş ve aseptik koşullarda steril petrilere dökülerek katılmasına sağlanmıştır.

Agarların katılmasının ardından, NA besiyerinde 24 saat boyunca inkübe edilen izolatlardan steril kürdan yardımıyla alınan koloniler, yüzme, seğirme ve kaynaşma hareketlerini değerlendirmek amacıyla hazırlanan uygun agar ortamlarının ortasına dikkatlice ekilmiştir. Kaynaşma hareketi analizinde, steril kürdanla alınan koloni doğrudan agar yüzeyine yerleştirilmiştir. Yüzme hareketinin değerlendirilmesinde ise koloni, agarın merkezine, agarın delinmesini sağlayacak ancak polistiren yüzey ile temas etmeyecek şekilde konumlandırılmıştır. Seğirme hareketi için koloni, agarı delerek petri kabının tabanındaki polistiren yüzeye temas edecek şekilde yerleştirilmiştir.

Pozitif kontrol grubu olarak, defne veya biberiye yağı içermeyen fakat %0,5 (v/v) Tween 80 ilave edilmiş yarı-katı agar ortamları kullanılmıştır. *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu 37°C'de, *P. fragi* ATCC 4973 ve diğer izolatlar ise 25°C'de, 24 saat süreyle etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda, yüzme ve kaynaşma hareketlerine ait zon çapları (mm cinsinden) ölçülmüştür. Seğirme hareketinin değerlendirilmesi için, agar tabakası cımbızla çıkarılmış ve petri kabı distile su ile yıkanarak yüzeye tutunmamış hücrelerin ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır. Ardından petriler %1 (w/v) kristal viyole çözeltisi ile boyanmış ve oluşan boyanmış alanların çapları ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

### **3.2.6. İstatistiksel Analiz**

Tez çalışmasında yapılan analizler 4 paralel ve 2 tekrarlı olarak yapılmıştır. Deney sonuçları, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey Testi yapılarak  $p < 0,05$  önem seviyesinde değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler için kullanılan teknikler Minitab® 22 (State College, PA, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

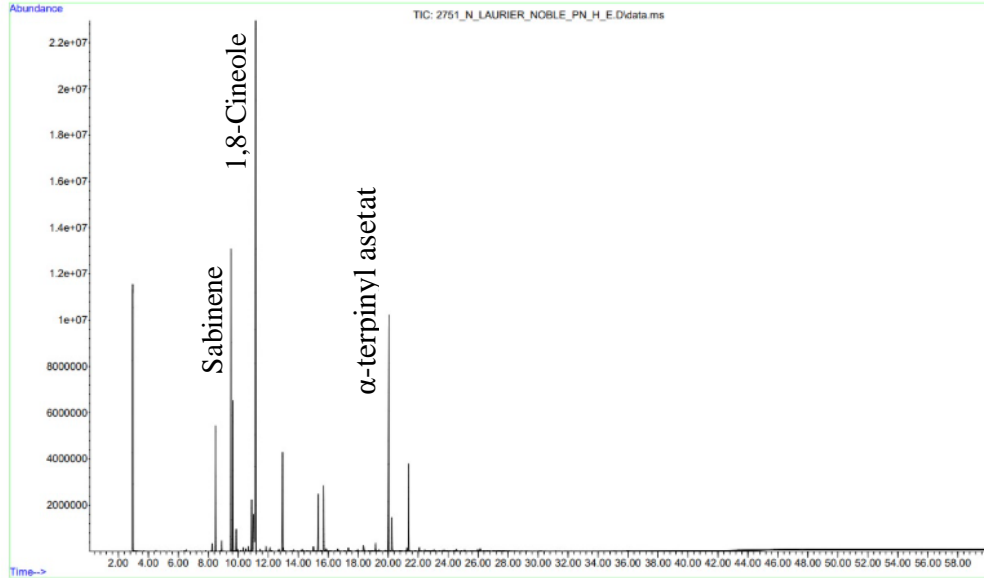
## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu araştırmada defne ve biberiye esansiyel yağlarının uçucu bileşenleri belirlenmiş ve ardından defne ve biberiye yağlarının etten izole edilen *Pseudomonas* suşları ile referans suşların biyofilm üretimi ve bakteriyel hareketliliği üzerine etkisi incelenmiştir. Bunun için öncelikle defne ve biberiye esansiyel yağlarının uçucu bileşen profili belirlenmiş, ardından bu yağların *Pseudomonas* izolatları üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) tayin edilmiş daha sonra 0,5, 0,25 ve 0,125 alt MİK değerleri kullanılarak bu yağların bozucu faaliyetlere etkisi (biyofilm ve bakteriyel hareketlilik) belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar bu bölümde alt başlıklar halinde sıralanmıştır.

#### 4.1. Defne Esansiyel Yağının Uçucu Bileşenleri

Defne esansiyel yağında bulunan uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi GC-MS cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Defne yağının GC-MS spektrumu Şekil 4.1’de, defne yağına ait uçucu bileşenler ve yüzde oranları ise Tablo 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1: *Laurus nobilis* L. Esansiyel Yağının GC-MS Spektrumu

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

**Tablo 4.1: Defne Esansiyel Yağına Ait Uçucu Bileşenler**

NO	Alınma Zamanı (Retention time, dk)	Bileşen Adı	Alan (%)
1	8,2623	$\alpha$ -Phellandrene	0,2766
2	8,4833	$\alpha$ -Pinene	4,6986
3	8,897	Camphene	0,4026
4	9,5152	Sabinene	13,5148
5	9,6481	$\beta$ -Pinene	5,8042
6	9,8617	$\beta$ -Myrcene	0,8449
7	10,8945	Benzene,	2,4028
8	11,0257	dl-Limonene	2,6221
9	11,1598	1,8-Cineole	34,8018
10	11,8487	$\gamma$ -Terpinene	0,2097
11	12,9554	Linalool	4,3847
12	13,0156	cis-sabinene hydrate	0,1531
13	15,0117	$\delta$ -Terpineol	0,2848
14	15,334	3-Cyclohexen-1-ol	2,5795
15	15,6912	$\alpha$ -Terpineol	2,9566
16	15,8675	Benzene	0,1483
17	18,3531	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol	0,3327
18	20,0386	$\alpha$ -terpinyl asetat	12,5014
19	20,2441	Phenol	1,5911
20	21,3715	Benzene	4,0296

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Yapılan analizin sonucu ve Tablo 4.1'e göre *Laurus nobilis* esansiyel yağında bulunan temel uçucu bileşenlerin 1,8-Cineole (%34,80), sabinene (%13,51),  $\alpha$ -terpinyl asetat (%12,50),  $\beta$ -Pinene (%5,80),  $\alpha$ -pinene (%4,69), Linalool (4,38) ve olduğu görülmemektedir. Elde edilen sonuçlar daha önce *L. nobilis* esansiyel yağı kullanılarak yapılan çalışmalarla benzer bulunmuştur.

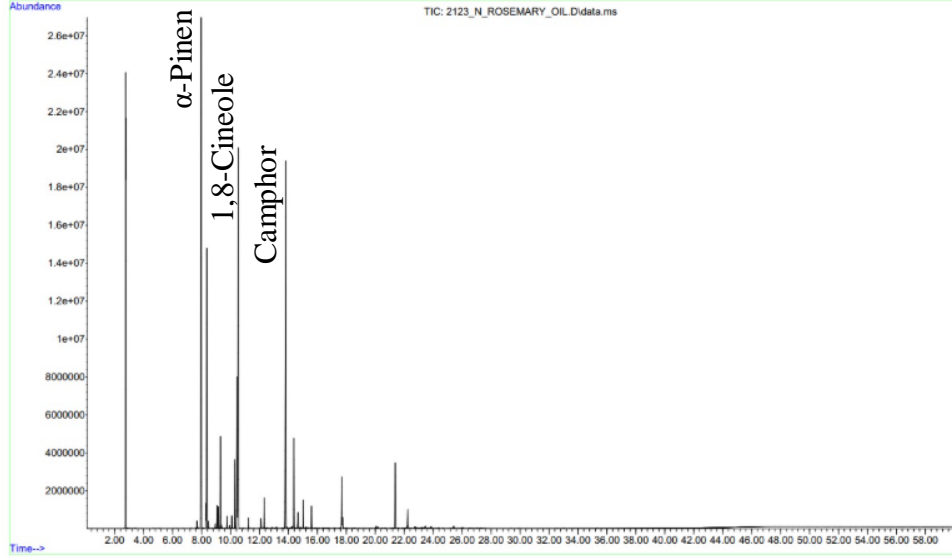
Caputo vd. (2017)'in defne yağı ile yaptıkları çalışmada 1,8-cineole (%31,9) ve sabinene (%12,2) başlıca bileşenler olarak bulunmuştur. Kılıç (2002), Batı Karadeniz

Bölgesi'nden toplanan defne yapraklarından elde edilen yağ ile yaptığı çalışmada 1,8 cineole (% 39-43),  $\alpha$ -terpynl acetate (% 5,77-7,40), sabinen (% 7,03-8,55),  $\alpha$ -pinen (% 3,4-4,6) bileşenlerini bulmuştur. Diğer bir çalışmada ise 1,8-cineole % 39,1, sabinene % 4,4,  $\alpha$ -pinene % 2,2,  $\beta$ -pinene % 1,7 defne yağının temel bileşenleri olarak verilmiştir (Fiorini vd. 1997). Bouzouita vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, defne uçucu yağının temel bileşenlerinin 1,8-cineole (%42,3),  $\alpha$ -terpinene (%11,2),  $\beta$ -pinene (%5,9) ve sabinene (%5,4) olduğu belirlenmiştir. Erdoğan vd. (2017)'de yaptıkları kimyasal bileşen çalışmasında defne yağında en yüksek oranda 1,8-cineole (%29,75) tespit etmişlerdir. Diğer öne çıkan bileşikler ise sırasıyla; kafur (%9,85),  $\alpha$ -pinene (%8,02), borneol (%6,06),  $\alpha$ -terpineol (%3,99), kampen (%3,32) ve  $\beta$ -pinene (%3,24) olarak belirlenmiştir. Macchioni vd. (2006)'da yaptıkları çalışmada tanımlanan ana bileşiklerin 1,8-sineol (39%),  $\alpha$ -terpinyl asetat (11%), sabinene (10%) and linalool (7.4%) olduğunu bildirmiştir. Özcan ve Chalchat (2005), ana bileşen olarak 1,8-cineole (% 51,73-68,48), diğer önemli bileşenler olarak  $\alpha$ -terpinyl acetate (% 4,04-9,87), sabinene (% 4,44-7,75),  $\alpha$ -pinene (% 2,93-4,89),  $\beta$ -pinene (% 2,58-3,91) tespit etmişlerdir. Sangun ve ark. (2007), Hatay'da farklı bölgelerde defne uçucu yağın kimyasal içeriğini karşılaştırdığı çalışmada ana bileşen olarak 1,8- cineole (% 46,61-59,94),  $\alpha$ -terpinyl acetate (% 11,94-25,70),  $\alpha$ -pinene (% 3,66-2,61) sabinene (% 14,05-7,83), terpinen-4-ol (% 1,82-2,20) sonuçlarına ulaşmışlardır.

Birçok çalışmada bildirildiği gibi 1,8- cineole,  $\alpha$ -terpinyl acetate, sabinene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene ve linalool *Laurus nobilis* L. esansiyel yağında yüksek ve orta konsantrasyonlarda bulunabilen bileşikler olduğu için çalışmada elde edilen verilerin literatürdeki verilerle paralellik gösterdiği söylenebilmektedir.

#### **4.2 Biberiye Esansiyel Yağının Uçucu Bileşenleri**

Biberiye yağının GC-MS spektrumu Şekil 4.2' de, biberiye yağına ait uçucu bileşenler ve yüzde oranları ise Tablo 4.2' de verilmiştir.



**Şekil 4.2: Rosmarinus officinalis L. Esansiyel Yağının GC-MS Spectrumu**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

**Tablo 4.2: Biberiye Esansiyel Yağına Ait Uçucu Bileşenler**

NO	Aırkonma Zamanı (Retention time, dk)	Bileşen Adı	Alan (%)
1	7,9728	α-Pinen	19,7219
2	8,3612	Camphene	9,6124
4	9,0707	Bicyclo[3.1.1]heptane	0,7752
5	9,1538	3-Octanone	0,704
6	9,7546	α-Phellandrene	0,4608
7	10,0845	α-Terpinene	0,4497
8	10,2988	Benzene,	2,598
9	10,4362	dl-Limonene	7,3096
10	10,5363	1,8-Cineole	15,6845
11	12,3254	Linalool	1,123
12	13,8177	Camphor	19,9328
13	14,3733	Borneol	3,7354
14	14,6654	3-Cyclohexen-1-ol	0,661
15	15,0176	α-Terpineol	1,0957
16	15,5893	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one	0,8483
17	17,6797	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol	2,0914
18	17,7415	Isobornyl acetate	0,4536
19	22,2382	α-Humulene	0,8639

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Yapılan analizin sonucu ve Tablo 4.2'ye göre *Rosmarinus officinalis* L. esansiyel yağında bulunan temel uçucu bileşenlerin camphor (%19,93),  $\alpha$ -pinene (%19,72), 1,8-Cineole (%15,68), camphene (%9,61), dl-limonene (%7,30), ve olduğu görülmektedir. Elde edilen sonuçlar daha önce *R. officinalis* L. esansiyel yağı kullanılarak yapılan çalışmalarla benzer bulunmuştur.

Salido vd. (2003), biberiye bitkisinden elde edilen uçucu yağ içeriklerinin mevsimsel değişimlerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 12 örnek üzerinde çalışmışlardır. En yüksek yağ veriminin (%1,6-1,8) yaz döneminde yapılan hasatlardan elde edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca farklı mevsimlerde elde ettikleri uçucu yağların bileşenlerinin camphor (%17,2-34),  $\alpha$ -pinen (%10,2-21,6), 1,8- cineol (%12,1-14,4), camphene (%5,2-8,6), borneol (%3,2-7,7), beta-pinene (%2,3- 7,5) ve limonene (%2-3,8), olarak analiz etmişlerdir. Bu değişkenliğin hasat zamanından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Ilić vd. (2024) yaptıkları çalışmada biberiye esansiyel yağında en yüksek miktarda bulunan bileşenlerin camphor (31.9%), borneol (12.2%), 1,8-cineole (11.3%), myrcene (10.7%), camphene (9.6%) ve  $\alpha$ -pinene (7.1%) olduğunu bildirmişlerdir. Arfa vd., (2022) Tunus'un farklı bölgelerinden elde edilen biberiye esansiyel yağı ile yaptıkları çalışmada, biberiye esansiyel yağının antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde meteorolojik koşullar, bitki büyüme aşaması ve genetik faktörlerin niceliksel ve nitel kompozisyon üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçları camphor (18.2-28.1%), 1,8-cineole (6.4-18.0%),  $\alpha$ -pinene (9.7-13.5%), borneol (4.4-9.5%), ve camphene (5.1-8.7%) olarak belirlemişlerdir. Sırbistan ve Rusya'dan temin edilen biberiye esansiyel yağı ile yapılan bir çalışmada, Sırbistan'dan gelen biberiye esansiyel yağı içeriğinde  $\alpha$ -pinen (%23,00), 1,8-sineol (%17,79) ve kafur (%14,39), Rusya'dan gelen biberiye esansiyel yağı içeriğinde ise daha düşük  $\alpha$ -pinen (%17,76) ve daha yüksek 1,8-cineole (%23,4) ve kafur (%17,17) belirlenmiştir. (Micić vd., 2021). Yapılan başka bir çalışmada hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağında 22 bileşen tanımlanmıştır. Uçucu yağın ana bileşenlerinin %26,54 1,8-cineol, %12,88 camphor, %20,51  $\alpha$ -pinene, %11,38 camphene ve %6,95  $\beta$ -pinene olduğu bildirilmiştir (Jiang vd., 2011).

Yapılan birçok çalışmada 1,8-cineol, camphor,  $\alpha$ -Pinene ve Camphene *Rosmarinus officinalis* L. esansiyel yağında bulunan temel uçucu bileşenler olarak bildirilmiştir.

Çalışmada elde edilen veriler literatürdeki verilerle paralellik gösterdiği söylenebilmektedir.

Yağın kimyasal bileşimi ve bileşenlerin yüzde oranlarında gözlenen farklılıklar; bitkinin yetiştiği bölge ve ekolojik koşulları, hasat zamanı ve mevsimi, esansiyel yağın elde edilme yöntemi ile genetik özellikler gibi çeşitli faktörlerle ilişkilendirilmektedir. Literatürde yer alan çalışmalar, bu değişkenlerin esansiyel yağın içerik profili üzerindeki belirleyici etkisini ortaya koymuştur (Bakó vd., 2023; Wińska vd., 2019; Lemos vd., 2017; Pirbalouti vd., 2013).

#### 4.3. Defne ve Biberiye Yağının *Pseudomonas* İzolatları Üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Defne ve biberiye esansiyel yağlarının *Pseudomonas* izolatları üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) agar dilüsyon metodu ile belirlenmiştir. %1-3 (v/v) defne ve biberiye yağı ve %0,5 (v/v) Tween 80 içeren besiyerlerine ekim yapılmış ve 24 saatlik inkübasyon sonunda agar yüzeyinde görünür büyümenin engellendiği en düşük yağ konsantrasyonu MİK olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu %0,5 (v/v) Tween 80 içermektedir.

Defne yağının izolatlar üzerindeki MİK değerleri Tablo 4.3'te % (v/v) cinsinden verilmiştir. En düşük MİK değeri %1 (v/v) ile *P.fragi* 4973, YK107, YK8, YB43 ve YK50 suşlarında, en yüksek MİK değeri %3 (v/v) ile *P. aeruginosa* ATCC 28753 suşunda tespit edilmiştir.

**Tablo 4.3: Defne Yağının *Pseudomonas* Suşları Üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri (%)**

İzolat	MİK(v/v)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	3%
<i>P. fragi</i> ATCC 4973	1%
YK107	1%
YK8	1%
YK50	1%
YB43	1%
YB91	2%

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Biberiye yağının izolatlar üzerindeki MİK değerleri Tablo 4.4'te % (v/v) cinsinden verilmiştir. En düşük MİK değeri %1 (v/v) ile *P.fragi* 4973 ve YK50 suşlarında, en yüksek MİK değeri %3 (v/v) ile *P. aeruginosa* ATCC 28753 suşunda tespit edilmiştir.

**Tablo 4.4: Biberiye Yağının *Pseudomonas* Suşları Üzerindeki Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri (%)**

İzolat	MİK(v/v)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	3%
<i>P. fragi</i> ATCC 4973	1%
YK107	2%
YK8	2%
YK50	1%
YB43	2%
YB91	2%

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

#### 4.4. Defne Yağının *Pseudomonas* İzolatlarının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi

Biyofilm analizleri, defne yağının 3 MİK altı konsantrasyonları (0,5, 0,25 ve 0,125 MİK) kullanılarak 96 kuyucuklu polistiren mikrolakalarda kristal mor (CV) boyama yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol grubu olarak, yalnızca %0,5 (v/v) Tween 80 içeren TSB besiyeri eklenen kuyucuklar kullanılmıştır. Mikrolakalar, 25°C'deki etüv ve 4°C'deki buzdolabı koşullarında, sırasıyla 1, 4 ve 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresinin tamamlanmasının ardından, hücre yoğunluğu 600 nm'de ölçülmüş olan biyofilm ise CV ile boyanarak üretim miktarı 590 nm'de belirlenmiştir. Her bir suş için farklı sıcaklık ve sürelerde hücre yoğunluğu ve biyofilm miktarları tespit edilmiş, belirlenen süre ve sıcaklık koşullarında, her suşun farklı MİK altı konsantrasyonlara verdiği yanıtlar biyofilm oluşumu açısından karşılaştırılmıştır. Tablo 4.5'te defne yağı eklenmeyen kontrol gruplarının farklı sıcaklık ve günlerde *Pseudomonas* suşlarının biyofilm üretim değerleri, tablo 4.6'da farklı sıcaklık gün ve defne yağı konsantrasyonlarında *Pseudomonas* Suşlarının biyofilm üretim değerleri sunulmuştur.

**Tablo 4.5: Farklı Sıcaklık ve Günlerde *Pseudomonas* Suşlarının Biyofilm Üretim Değerleri**

SUŞLAR	25°C KONTROL			4°C KONTROL		
	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN
27853	1,852±0,057 <sup>B</sup>	3,162±0,104 <sup>B</sup>	3,257±0,046 <sup>B</sup>	0,679±0,011 <sup>A</sup>	0,581±0,035 <sup>A</sup>	0,264±0,003 <sup>A</sup>
4973	1,028±0,046 <sup>B</sup>	1,274±0,048 <sup>A</sup>	0,959±0,004 <sup>B</sup>	0,301±0,035 <sup>A</sup>	1,129±0,003 <sup>A</sup>	2,662±0,028 <sup>A</sup>
YK107	1,350±0,037 <sup>B</sup>	2,093±0,077 <sup>B</sup>	0,822±0,042 <sup>A</sup>	0,241±0,033 <sup>A</sup>	0,791±0,025 <sup>A</sup>	0,723±0,036 <sup>A</sup>
YK8	0,731±0,027 <sup>B</sup>	1,309±0,002 <sup>B</sup>	2,983±0,048 <sup>B</sup>	0,446±0,045 <sup>A</sup>	0,294±0,21 <sup>A</sup>	0,584±0,009 <sup>A</sup>
YB43	1,630±0,033 <sup>B</sup>	1,910±0,004 <sup>B</sup>	1,239±0,027 <sup>B</sup>	0,884±0,042 <sup>A</sup>	1,719±0,057 <sup>A</sup>	2,484±0,008 <sup>A</sup>
YK50	0,332±0,020 <sup>B</sup>	0,579±0,036 <sup>B</sup>	1,025±0,049 <sup>A</sup>	0,112±0,036 <sup>A</sup>	1,010±0,33 <sup>A</sup>	2,198±0,062 <sup>A</sup>
YB91	0,309±0,046 <sup>B</sup>	0,712±0,021 <sup>B</sup>	1,091±0,014 <sup>B</sup>	0,107±0,006 <sup>A</sup>	0,381±0,042 <sup>A</sup>	1,238±0,035 <sup>A</sup>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA ( $p < 0.05$ ) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

**Tablo 4.6: Farklı Sıcaklık Gün ve Defne Yağı Konsantrasyonlarında *Pseudomonas* Suşlarının Biyofilm Üretim Değerleri**

SUŞLAR	25 °C			4°C			
	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	
1.GÜN	27853	0,404±0,005 <sup>B</sup> d	0,892±0,021 Bc	1,000±0,057 Bb	0,107±0,029 Ac	0,146±0,037 Ac	0,277±0,036 Ab
	4973	0,272±0,0066 Bc	0,576±0,025 Bb	0,976±0,042 Ba	0,42±0,000 <sup>A</sup> bc	0,009±0,002 Ac	0,116±0,025 Ab
	YK107	0,169±0,013 <sup>B</sup> c	0,332±0,047 Bc	0,847±0,047 Bc	0,061±0,029 Ac	0,099±0,037 Ac	0,212±0,022 Aab
	YK8	0,055±0,023 <sup>B</sup> b	0,078±0,004 Bb	0,116±0,013 Bb	0,231±0,037 Ab	0,091±0,020 Ac	0,321±0,02 Ab
	YB43	1,087±0,018 <sup>B</sup> d	1,308±0,008 Bc	1,447±0,021 Bb	0,788±0,033 Ac	0,632±0,011 Ab	0,368±0,024 Aa
	YK50	0,050±0,014 <sup>B</sup> c	0,064±0,025 Ab	0,087±0,011 Ab	0,042±0,007 Ab	0,046±0,016 Ab	0,057±0,001 Aab
	YB91	0,118±0,003 <sup>B</sup> c	0,137±0,027 Bbc	0,206±0,001 Bb	0,059±0,009 Ac	0,076±0,006 Ab	0,039±0,009 Ab
4.GÜN	27853	0,575±0,023 <sup>B</sup> d	1,309±0,034 Bc	1,837±0,014 Bb	0,022±0,013 Ac	0,035±0,013 Ac	0,240±0,000 Ab
	4973	0,137±0,103 <sup>B</sup> c	0,760±0,050 Bb	0,926±0,039 Bb	0,057±0,022 Ac	0,131±0,031 Ac	0,194±0,018 Ab
	YK107	0,484±0,042 <sup>B</sup> c	0,812±0,005 Bb	0,991±0,016 Bb	0,168±0,025 Ad	0,306±0,030 Ac	0,465±0,042 Ab
	YK8	0,215±0,025 <sup>B</sup> c	0,412±0,042 Bbc	0,557±0,043 Bb	0,069±0,032 Ab	0,098±0,033 Ab	0,123±0,006 Ab
	YB43	0,438±0,029 <sup>B</sup> d	0,869±0,003 Ac	0,996±0,040 Bb	0,626±0,068 Ad	0,843±0,077 Ac	1,154±0,037 Ab

	<b>YK50</b>	0,249±0,028 <sup>B</sup> b	0,495±0,031 Ba	0,530±0,040 Ba	0,458±0,021 Ac	0,715±0,045 Ab	0,784±0,044 Ab
	<b>YB91</b>	0,316±0,042 <sup>B</sup> c	0,506±0,026 Bb	0,658±0,002 Ba	0,165±0,014 Ab	0,296±0,050 Aa	0,067±0,038 Ab
<b>7.GÜN</b>							
	<b>SUŞLAR</b>	<b>0,5 MİK</b>	<b>0,25 MİK</b>	<b>0,125 MİK</b>	<b>0,5 MİK</b>	<b>0,25 MİK</b>	<b>0,125 MİK</b>
	<b>27853</b>	2,521±0,021 <sup>B</sup> d	2,931±0,033 Bc	3,077±0,086 Bb	0,188±0,038 Aa	0,248±0,055 Aa	0,259±0,022 Aa
	<b>4973</b>	0,228±0,026 <sup>B</sup> d	0,432±0,023 Ac	0,641±0,028 Ab	0,062±0,001 Ad	0,460±0,010 Ac	0,718±0,04 <sup>Ab</sup>
	<b>YK107</b>	0,302±0,041 <sup>A</sup> b	0,470±0,030 Ab	0,799±0,023 Aa	0,224±0,044 Ac	0,389±0,048 Ab	0,628±0,016 Ab
	<b>YK8</b>	0,183±0,043 <sup>B</sup> c	0,479±0,033 Bb	0,636±0,025 Bb	0,314±0,031 Ab	0,254±0,014 Abc	0,214±0,025 Ac
	<b>YB43</b>	0,676±0,034 <sup>B</sup> b	0,444±0,037 Bc	0,759±0,050 Bb	1,299±0,034 Ad	1,600±0,037 Ac	1,896±0,026 Ab
	<b>YK50</b>	0,350±0,025 <sup>A</sup> b	0,374±0,025 Ab	0,428±0,041 Ab	0,332±0,033 Ab	0,386±0,040 Ab	0,454±0,025 Ab
	<b>YB91</b>	0,433±0,006 <sup>B</sup> c	0,524±0,011 Bb	0,550±0,021 Bb	0,232±0,025 <sup>A</sup> c	0,181±0,001 Ac	0,608±0,058 Ab

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

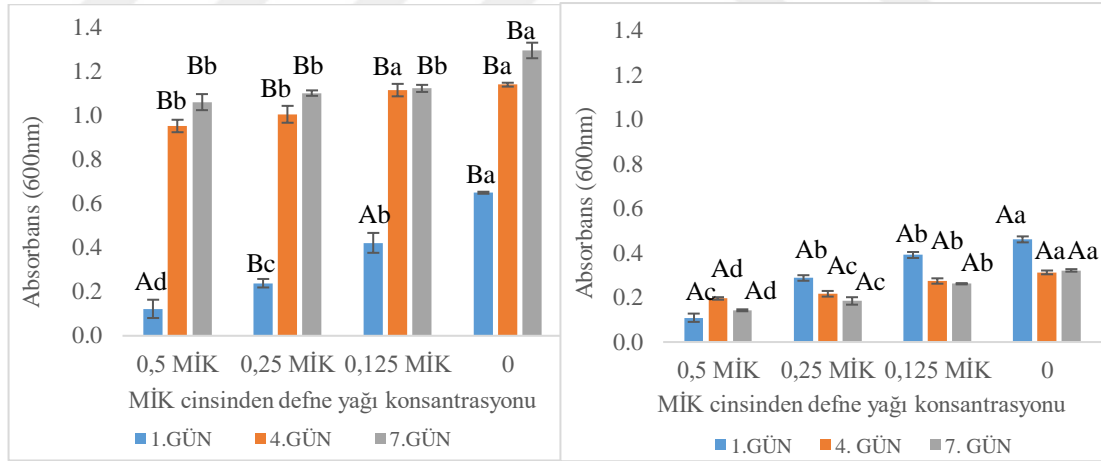
\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA ( $p < 0.05$ ) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

*P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna ait veriler, defne yağının bu mikroorganizma üzerindeki inhibe edici etkilerini 4°C ve 25°C'de ortaya koyan grafikler halinde Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Elde edilen bulgular, bu suşun 4°C'de hem biyofilm oluşumunun hem de planktonik hücre çoğalmasının 25°C'ye kıyasla anlamlı şekilde daha düşük olduğunu göstermektedir. *P. aeruginosa*'nın optimum gelişme sıcaklığının 37°C olması nedeniyle, 4°C'de metabolik aktivitelerinin sınırlı olması beklenen bir bulgudur. Dolayısıyla, 25°C'de biyofilm üretiminin daha yüksek düzeyde olmasının bu sınırlamanın doğal bir sonucu olduğu düşünülmüştür.

Elde edilen bulgular doğrultusunda, defne yağı uygulamalarının *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun hem planktonik hücre gelişimi hem de biyofilm üretimi üzerindeki etkileri sıcaklık ve konsantrasyon değişkenleri açısından anlamlı farklılıklar göstermektedir. Şekil 4.3 (A)'da görüldüğü üzere, 25 °C'de kontrol grubunda hücre gelişimi zamanla artış gösterdiği görülmektedir. 1. gün sonuçları değerlendirildiğinde defne yağı uygulaması yapılan gruplarda doza bağlı hücre gelişimi anlamlı farklılıklar göstermiş ve kontrol grubuna kıyaslatım konsantrasyonlarda anlamlı düşüş gözlemlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Hücre gelişimi 4. ve 7. günlerde ise kontrol grubu ile benzer bir şekilde gerçekleşmiştir. Şekil 4.3 (B)' de yer alan 4 °C koşulunda ise genel olarak tüm günlerde hücre gelişimi 25 °C'ye kıyasla

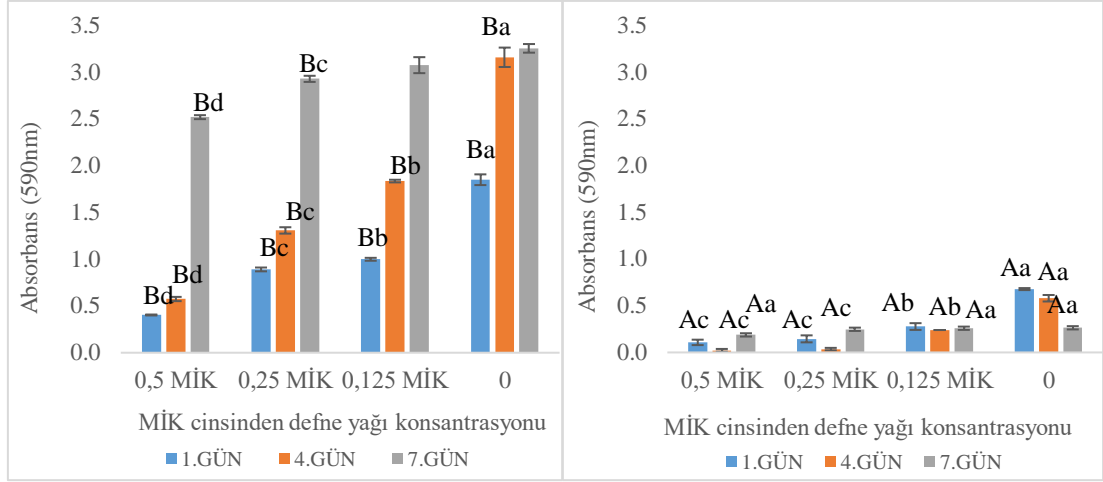
oldukça sınırlı kalmış, defne yağı ilavesi ile bu gelişim daha da baskılanmıştır ve tüm günlerde defne yağı uygulanmış gruplarda doza bağlı hücre gelişiminde azalma ve kontrol grubu ile anlamlı farklılıklar bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Biyofilm üretimine ilişkin elde edilen veriler incelendiğinde, Şekil 4.3 (C)' de ( $25^{\circ}\text{C}$ ) kontrol grubunda biyofilm oluşumunun zamanla arttığı ve 7. günde en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. Ancak tüm günlerde 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlarında defne yağı uygulamasının biyofilm üretimini anlamlı şekilde azalttığı gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Buna karşın, 7. günde tüm konsantrasyonlarda biyofilm üretiminin kontrol grubuna benzer seviyelere ulaştığı görülmektedir. Şekil 4.3 (D) ( $4^{\circ}\text{C}$ ) ise tüm günlerde biyofilm üretiminin  $25^{\circ}\text{C}$ 'ye göre anlamlı derecede daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sıcaklıkta 1. gün değerleri incelendiğinde 0,5 ve 0,25 MİK konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık ( $p>0,05$ ) yokken, biyofilm oluşumunun kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde baskılandığı belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). 4. gün sonuçları da 1. gün sonuçları ile benzer eğilim göstermiştir. 7. gün sonuçları arasında ise anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ).



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.3: Defne Yağının *P. aeruginosa* ATCC 27853<sup>T</sup> Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı defne yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve defne yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

*P. fragi* ATCC 4973 suşunun 4-25 °C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki defne yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.4 'de verilmiştir.

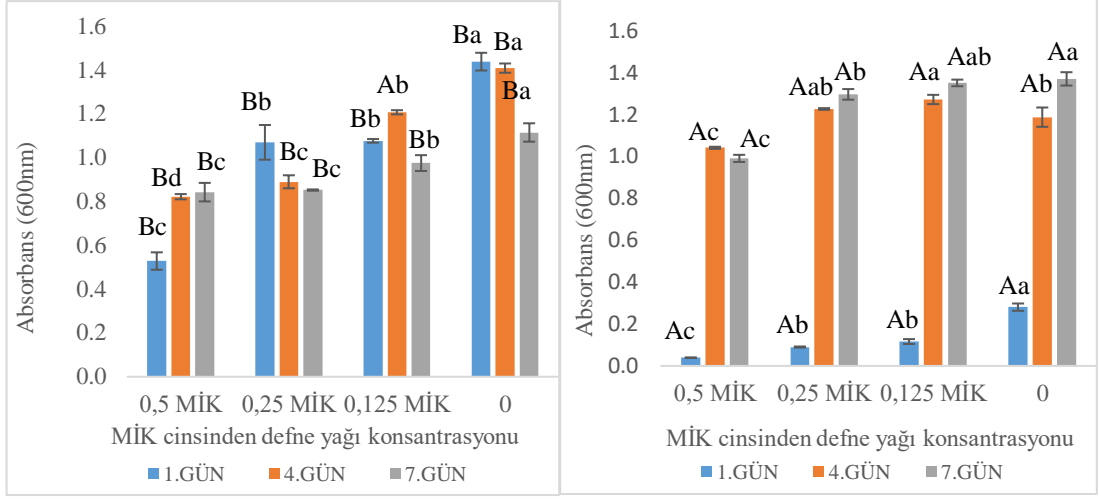
Hücre yoğunluğunu gösteren grafikler incelendiğinde, kontrol grubunda zamanla artış gösteren bir hücre çoğalması olduğu, bu artışın 25 °C'de daha belirgin olduğu görülmektedir. Şekil 4.4 (A)'da, 1. gün sonuçlarında defne yağı uygulanmış örneklerde 0,5 MİK değerlerinde ciddi bir düşüş görülmüştür, 0,25 ve 0,125 MİK değerleri benzer sonuçları vermiştir ancak tüm defne yağı uygulanmış gruplarda kontrol grubuna göre hücre gelişimde anlamlı düzeyde azalma saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

Şekil 4.4 (B)'de ise özellikle 1. günde 25 °C'ye kıyasla 4 °C'deki hücre yoğunluğunun çok daha düşük seyrettiği görülmüştür. Sıcaklık farklılığının etkisi

istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Defne yağı eklenmiş gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar görülmektedir ve 0,5 MİK en düşük hücre yoğunluğu olan gruptur. Dördüncü gün ve 7. gün sonuçları benzer eğilimdedir, 0,5 MİK konsantrasyonlarda defne yağı eklenmemiş (0) kontrol grubuna kıyasla anlamlı düşüş görülmüştür ( $p<0,05$ ). Zaman faktörü dikkate alındığında, 4 °C’de kontrol grubundaki hücre gelişiminin 1. günden 7. güne kadar sürekli arttığı, defne yağı eklenen gruplarda ise bu artışın baskılandığı görülmektedir.

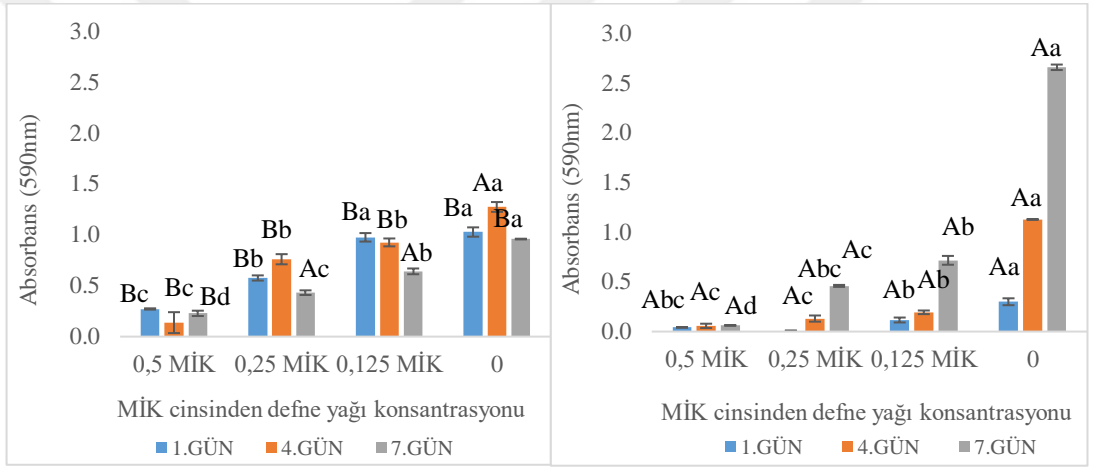
Biyofilm üretimine ilişkin sonuçlar ise Şekil 4.4 (C) ve Şekil 4.4 (D)’de sunulmuştur. 25 °C’de tüm günlerde defne yağı eklenmiş gruplarda yağ eklenmeyen (0) kontrol grubuna kıyasla anlamlı düşüşler görülmektedir ( $p<0,05$ ). Aynı şekilde doza bağlı şekilde defne yağı miktarının artışına bağlı olarak hücre yoğunluğunda anlamlı düşüşler görülmüştür ( $p<0,05$ ).

Şekil 4.4 (D)’de 4 °C’de biyofilm üretim değerleri sunulmuştur. Birinci gün sonuçları değerlendirildiğinde defne yağı uygulanmış örnekler yağ uygulanmamış (0) kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir düşüş göstermiştir ( $p<0,05$ ). Dördüncü gün sonuçlarında özellikle 0,5 MİK değeri ciddi düşüş gösterirken 0,25 ve 0,125 MİK değerleri de kontrol grubuna kıyasla biyofilm üretiminde azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ). Aynı gün ve sıcaklıktaki farklı konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunması defne yağının doz bağımlı etkisini ortaya koymaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde, defne yağı hem hücre yoğunluğu hem de biyofilm üretimi açısından *P. fragi* ATCC 4973 suşu üzerinde baskılayıcı bir etki göstermiştir.



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.4: Defne Yağının *P. fragi* ATCC 4973<sup>T</sup> Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı defne yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve defne yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir (p<0,05).

YK107 suşunun 4-25 °C'de biyofilm üretimi ve hücre yoğunluğu üzerindeki farklı defne yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.5'te verilmiştir.

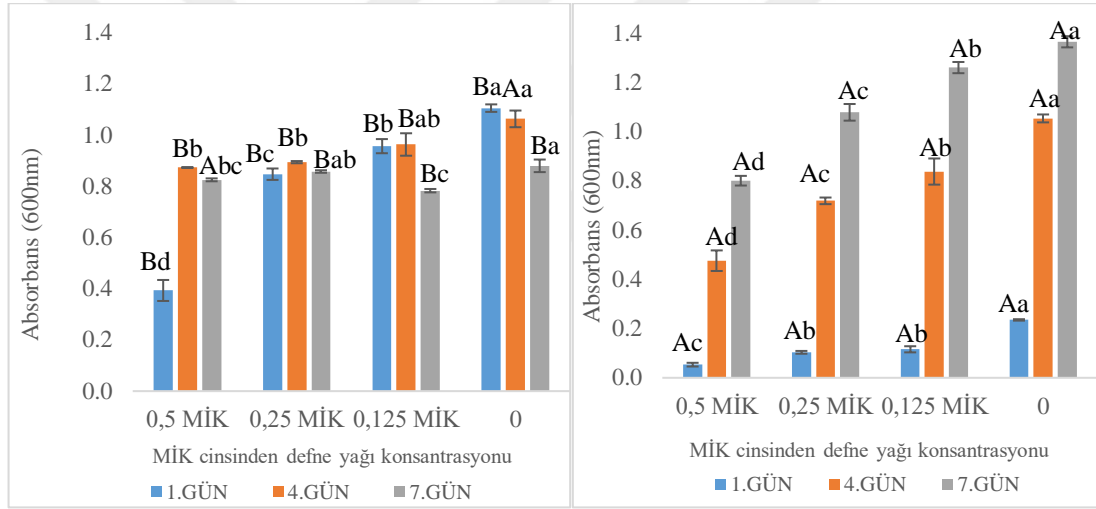
Sıcaklık 25 °C kullanıldığında Hücre yoğunluğu verilerinin sunulduğu ve 4 °C değerlendirildiğinde 1. gün sonuçları değerlendirildiğinde defne yağı miktarının artışıyla hücre yoğunluğunda belirgin azalmalar görülmüştür ve kontrol grubu en yüksek hücre yoğunluğuna sahiptir ( $p<0,05$ ). 4. gün sonuçlarında MİK konsantrasyonlar arasında anlamlı fark bulunmazken defne yağı eklenmeyen (0) kontrol grubuna kıyasla hücre yoğunluğunda anlamlı düşüş görülmüştür. 7. günde 0,125 MİK en düşük hücre gelişimi göstermiştir ve tüm MİK değerleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı farklılık göstermiştir ( $p<0,05$ ).

Şekil 4.5 (D)'de 4 °C hücre yoğunluğu verileri sunulmuştur. 4 °C'de 1. günden 7. güne doğru zamana bağlı olarak hücre gelişiminde artış gözlenmiştir. Tüm günlerde doza bağlı olarak defne yağı miktarındaki artışla hücre gelişiminde azalma belirgin şekilde görülmüştür ve kullanılan tüm MİK konsantrasyonlar defne yağı eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre anlamlı düşüş göstermiştir ( $p<0,05$ ). Zaman faktörü değerlendirildiğinde, 4 °C'de kontrol grubunda hücre yoğunluğunun 1. günden 7. güne artış gösterdiği görülmektedir. Dördüncü günde defne yağı uygulanan gruplarda yağ miktarının artışı ile kademeli olarak düşüş görülmektedir ve yağ eklenmeyen (0) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür ( $p<0,05$ ). Yedinci günde ise doza bağımlı şekilde hücre yoğunluğunda kademeli düşüş görülmüştür en düşük hücre yoğunluğu 0,5 MİK konsantrasyonda saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Biyofilm üretimini gösteren Şekil 4.5 (A) ve (B) incelendiğinde, 25 °C'de biyofilm oluşumu 4 °C'ye kıyasla daha yüksek düzeyde olduğu görülmüştür. Sıcaklık 25 °C iken 1. gün değerleri değerlendirildiğinde (Şekil 4.5 (A) ) tüm gruplarda doza bağlı olarak yağ eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre biyofilm üretiminde anlamlı düşüş görülmüştür ( $p<0,05$ ). Dördüncü gün biyofilm değerleri diğer günlere kıyasla daha belirgin şekilde yüksektir. En düşük biyofilm üretimi defne yağı 0,5 MİK konsantrasyonda kullanıldığında görülmüştür, 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ); ancak tüm MİK konsantrasyonlar ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık bulunmuştur. Yedinci gün defne yağı konsantrasyonu 0,5 ve 0,25 MİK iken düşük ve benzer seviyede biyofilm üretimi gerçekleşmiştir; ayrıca kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir farklılık

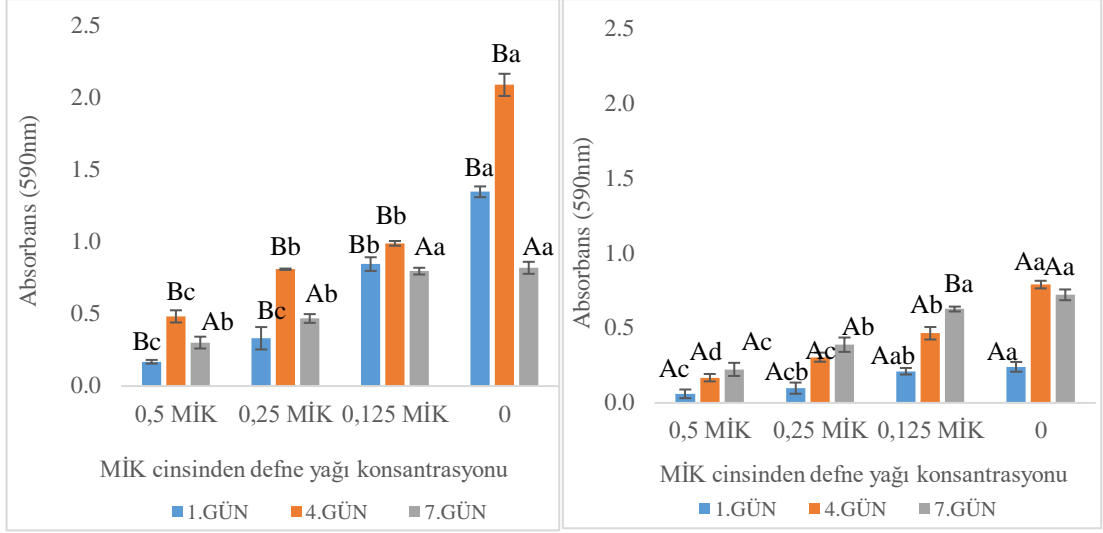
gözenmiştir ( $p<0,05$ ). Defne yağı kullanıldığında 0,125 MİK konsantrasyon ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

4 °C'de ise biyofilm üretiminin tüm gruplarda belirgin şekilde daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.5 (D)). Birinci günde 0,5 MİK yağ konsantrasyonunda en düşük biyofilm üretimi olmuştur ve tüm gruplar arasında anlamlı farklılık görülmektedir. Dördüncü günde defne yağı uygulanan gruplarda yağ miktarının artışı ile kademeli olarak düşüş görülmektedir ve yağ eklenmeyen (0) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür ( $p<0,05$ ). Yedinci günde defne yağı uygulanan gruplarda yağ miktarının artışı ile kademeli olarak düşüş görülmektedir ve yağ eklenmeyen (0) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür ( $p<0,05$ ).



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.5: Defne Yağının YK 107 Suşunun Suşunun 25 °C (A) ve 4 °C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25 °C (C) ve 4 °C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı defne yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve defne yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

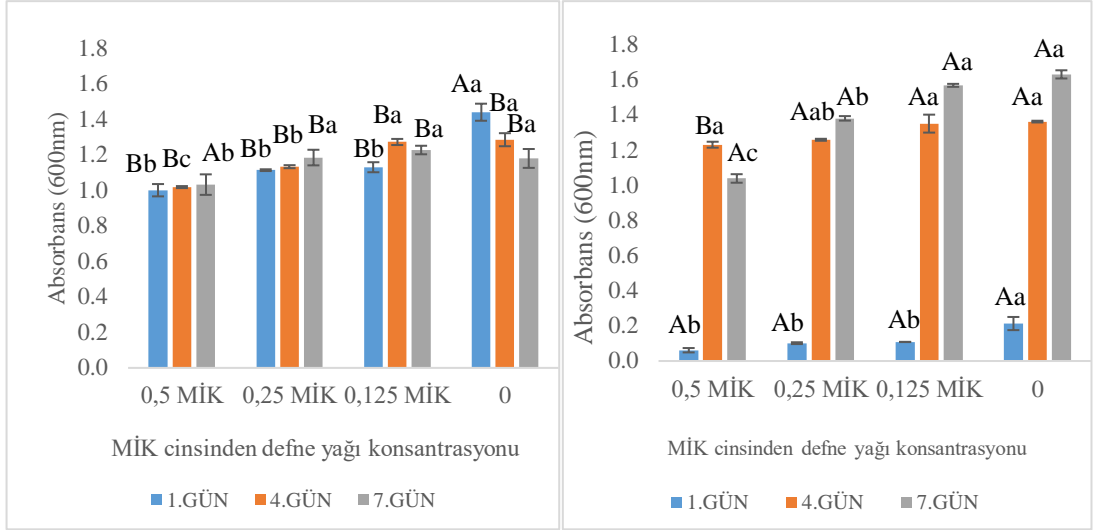
YK8 suşunun 4-25 °C' de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki defne yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.6' te verilmiştir. Hücre yoğunluğu verilerinin sunulduğu Şekil 4.6 (A)'da ve Şekil 4.6 (B) birlikte değerlendirildiğinde, 25 °C'de 1. günde hücre gelişiminin daha yüksek seviyelerde gerçekleştiği görülmektedir. Şekil 4.6 (A) incelendiğinde MİK değerleri arasında anlamlı bir farklılık görülmezken defne yağı içermeyen (0) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yağ uygulanan örnekler anlamlı bir düşüş göstermiştir ( $p < 0,05$ ). 4. gün sonuçları değerlendirildiğinde belirgin hücre yoğunluğu azalmasının kontrol grubuna kıyasla 0,5 ve 0,25 MİK konsantrasyonlarda olduğu görülmektedir ( $p < 0,05$ ), ancak 0,125 MİK konsantrasyonunun kontrol ile anlamlı bir farklılık göstermediği sonucuna varılmıştır ( $p > 0,05$ ). 25 °C 7. gün sonuçlarında yağ

içermeyen (0) kontrol grubuna kıyasla belirgin düşüş yalnızca 0,5 MİK konsantrasyonda gerçekleştiği görülmektedir ( $p<0,05$ ).

(Şekil 4.6 (B)'de 4 °C hücre yoğunluğu verileri sunulmuştur. 1. gün sonuçları 4 ve 7. güne göre daha düşük seyretmiştir. 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonları defne yağı eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre hücre yoğunluğunda belirgin azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ), ancak doza bağlı anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 4. gün sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ). 7. günde 0,5 MİK konsantrasyonu en düşük hücre yoğunluğuna sahip gruptur. 0,125 MİK konsantrasyonu ile defne yağı eklenmeyen (0) kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

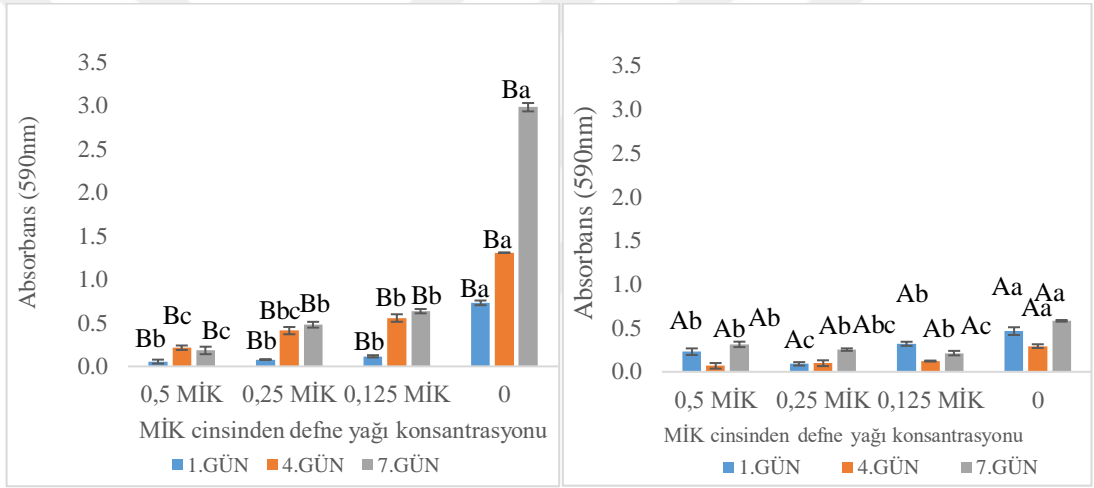
Biyofilm üretimi açısından 25 °C verileri (Şekil 4.6 (C)), defne yağı içermeyen kontrol grubunda biyofilm oluşumunun zamanla artarak 7. günde maksimum düzeye ulaştığını göstermektedir. 1. gün verilerinde 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonları defne yağı eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre biyofilm üretiminde belirgin azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ), ancak doza bağlı anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Dördüncü Ve 7. günlerdeki sonuçlarda benzer eğilimdedir.

Şekil 4.6 (D)'de 4 °C 1. gün sonuçları arasında en düşük biyofilm üretimi 0,25 MİK konsantrasyonda gerçekleşmiştir. 0,5 ve 0,125 MİK konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ), ancak tüm MİK konsantrasyonları defne yağı eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre biyofilm üretiminde belirgin azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ). 4 °C 4. gün sonuçları 1. Ve 7. güne kıyasla daha düşük biyofilm üretimi gerçekleştirmiştir. Defne yağı uygulanan değerler yağ eklenmemiş (0) kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşüktür ( $p<0,05$ ). MİK konsantrasyonları değerlendirildiğinde en düşük biyofilm üretimi 0,5 grubunda görülmüştür fakat istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 4 °C 7. gün sonuçlarında en düşük biyofilm üretimi 0,125 MİK konsantrasyonda saptanmıştır. Tüm MİK konsantrasyonları defne yağı eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre biyofilm üretiminde belirgin azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ).



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.6: Defne Yağının YK 8 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25 °C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

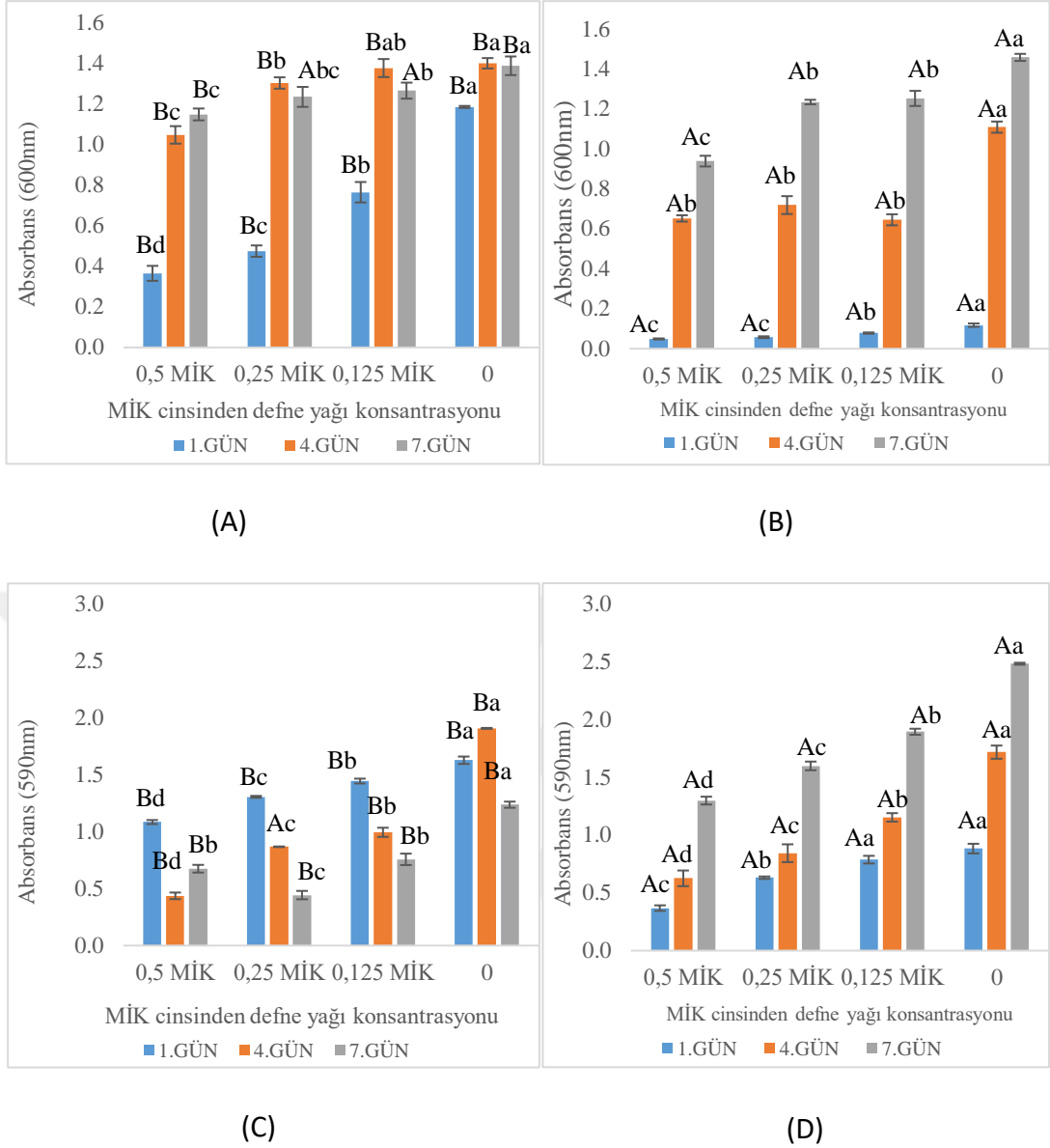
\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı defne yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve defne yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

YB43 suşunun 4-25 °C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki defne yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil

4.7' te verilmiştir. Hücre yoğunluğuna ilişkin veriler incelendiğinde, 25 °C'de (Şekil 4.7 A) 1. günde en düşük hücre yoğunluğu 0,5 MİK konsantrasyonda bulunduğu ve defne yağı miktarının azalmasıyla hücre yoğunluğunun anlamlı şekilde arttığı gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). 25 °C 4. günde 0,5 MİK konsantrasyonda en düşük hücre üretimi gerçekleşmiştir. 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Defne yağı eklenmeyen (0) kontrol grubu ile 0,5 ve 0,25 MİK konsantrasyonların hücre yoğunlukları sonuçları arasında anlamlı bir düşüş görülmüştür ( $p<0,05$ ).

Buna karşın 4 °C'deki hücre gelişim verileri (Şekil 4.7 B), 1. Ve 4. günlerde tüm gruplarda 25 °C'ye göre anlamlı düzeyde daha düşüktür ( $p<0,05$ ). 1. gün verileri değerlendirildiğinde 0,5 ve 0,25 MİK konsantrasyonları en düşük hücre yoğunluğuna sahiptir ve aralarında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ). Dördüncü günde tüm MİK konsantrasyonları benzer hücre yoğunluklarına sahiptir ( $p>0,05$ ), ancak kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir düşüş görülmüştür ( $p<0,05$ ). Yedinci gün sonuçları arasında tüm MİK konsantrasyonları arasında doza bağlı anlamlı bir düşüş görülmüştür ( $p<0,05$ ).

Biyofilm üretimi açısından değerlendirildiğinde (Şekil 4.7 C) 25 °C sıcaklıkta tüm günlerde defne yağı eklenmiş konsantrasyonların tümünde kontrole (0) kıyasla biyofilm üretiminin önemli ölçüde engellendiği görülmektedir ( $p<0,05$ ). Birinci ve 4. günde tüm sonuçları arasında doza bağlı olarak biyofilm üretiminde düşüş görülmektedir ( $p<0,05$ ). 7. günde en düşük biyofilm üretimi 0,25 MİK konsantrasyonunda görülmüştür. 4 °C'deki her üç defne yağı konsantrasyonunda 1. ve 4. günde biyofilm üretimini önemli ölçüde engellediği ( $p<0,05$ ), ancak 7. günde bu etkinin ortadan kalktığı ve tüm konsantrasyonlarda biyofilm üretiminin en yüksek düzeyde olduğu görülmektedir. Tüm gruplar arasında konsantrasyona bağlı olarak biyofilm üretiminde anlamlı bir azalma görülmektedir ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.7: Defne Yağının YB43 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

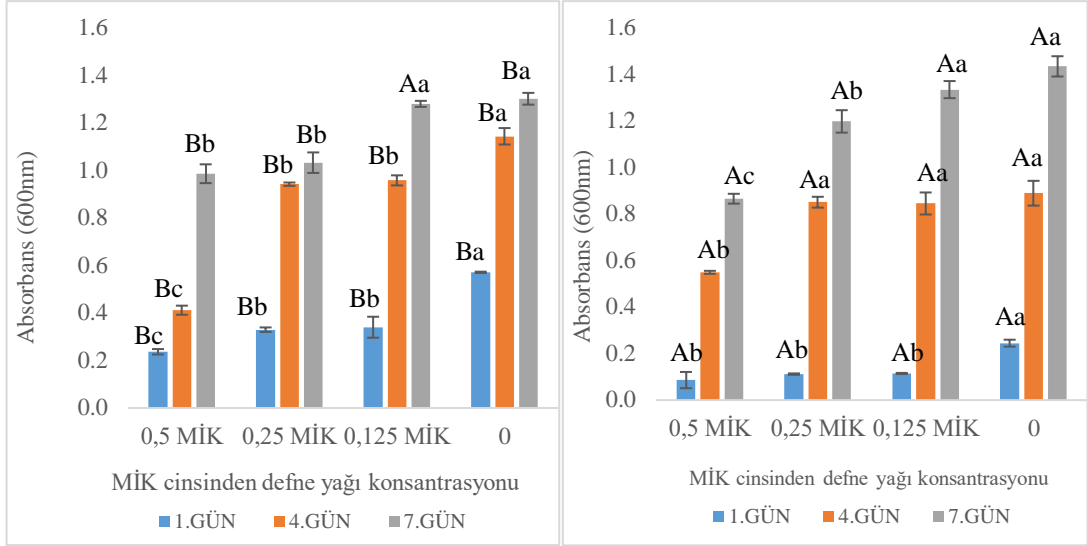
**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı defne yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve defne yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

YK50 suşunun 4-25°C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki defne yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.8' de verilmiştir.

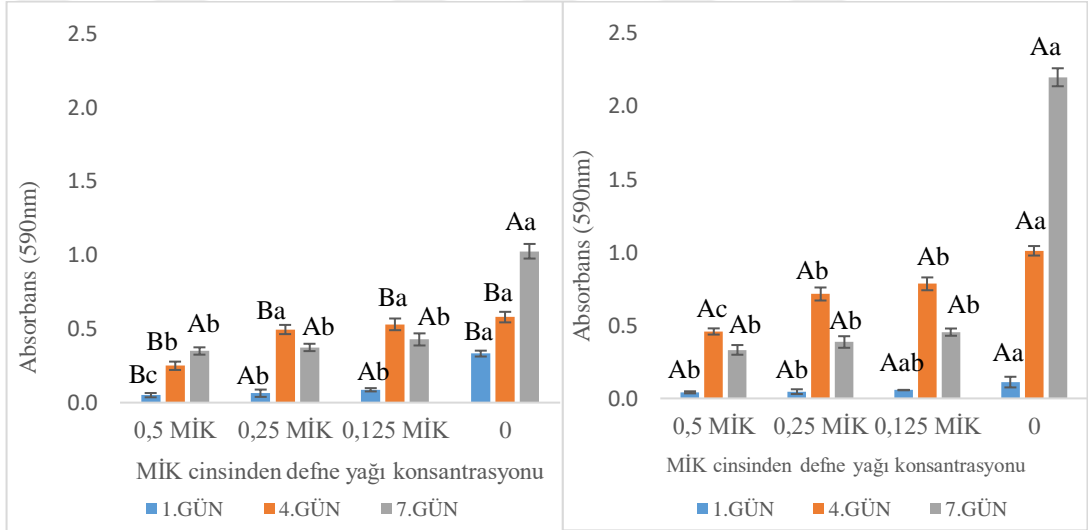
YK50 suşuna ait elde edilen veriler, defne yağının hücre yoğunluğu ve biyofilm üretimi üzerindeki etkisinin sıcaklık, süre ve konsantrasyon değişkenlerine bağlı olarak anlamlı farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır. Şekil 4.8 (A), 25°C'de 1. gün sonuçları değerlendirildiğinde en düşük hücre yoğunluğu 0,5 MİK konsantrasyonda görülmüştür. 0,5 ve 0,125 MİK konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ( $p>0,05$ ). 4. gün hücre yoğunluğu verileri incelendiğinde 0,5 MİK değerleri kontrol grubuna göre ciddi azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ). En yüksek hücre yoğunlukları 7. günde kaydedilmiştir ve yağ uygulanan örnekler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermektedir ( $p<0,05$ ). 4°C'deki hücre yoğunluğu değerleri 1. günde 25°C'ye kıyasla daha düşüktür ancak 7. günde kontrol grubunda hücre yoğunluğu daha yüksek kaydedilmiştir (Şekil 4.8 (A)). 4°C 1. gün verileri incelendiğinde yağ uygulanan örnekler arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ( $p>0,05$ ), ancak kontrol (0) grubu ile kıyaslandığında yağ uygulanan örnekler anlamlı bir azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ). 4. günde yalnızca 0,5 MİK konsantrasyonu kontrol (0) grubuna göre anlamlı bir azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ).

YK50 suşunun biyofilm üretimi sadece 7. gün kontrol (0) grubunda 4°C'de 25°C'ye göre daha yüksektir. 25°C 1. günde en düşük biyofilm üretimi 0,5 MİK konsantrasyonda görülmüştür. 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 4. gün 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonları biyofilm üretimi 7. güne kıyasla daha yüksektir. 4. günde kontrol (0) grubu ile yalnızca 0,5 MİK konsantrasyon değerleri arasında anlamlı bir azalma görülmektedir. 7. gün yağ uygulanan MİK konsantrasyonları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ), fakat kontrol (0) grubuna kıyasla yağ eklenen örnekler anlamlı azalma göstermişlerdir ( $p>0,05$ ).



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.8: Defne Yağının YK 50 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

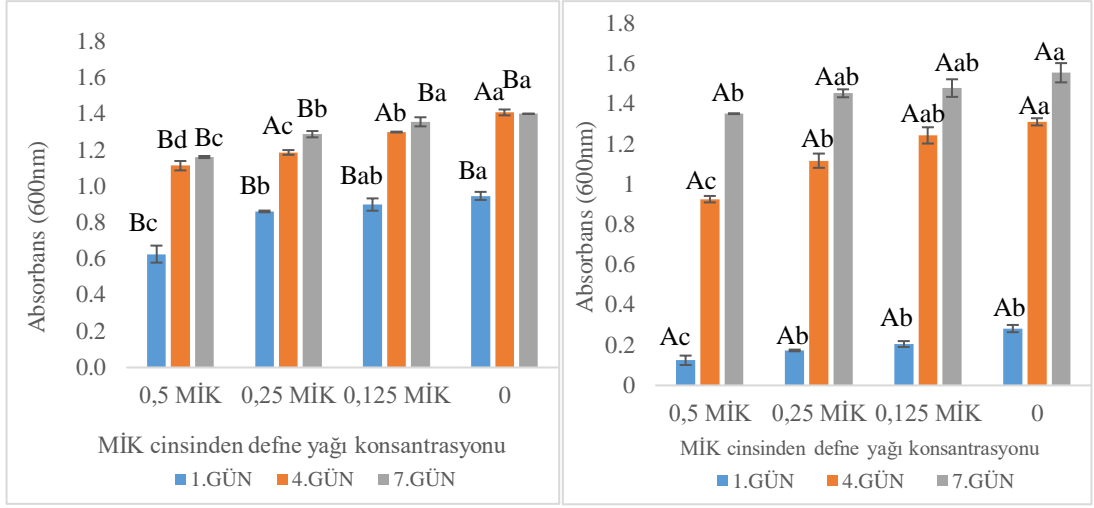
**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı defne yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve defne yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

YB91 suşunun 4-25°C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki defne yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.9' de verilmiştir.

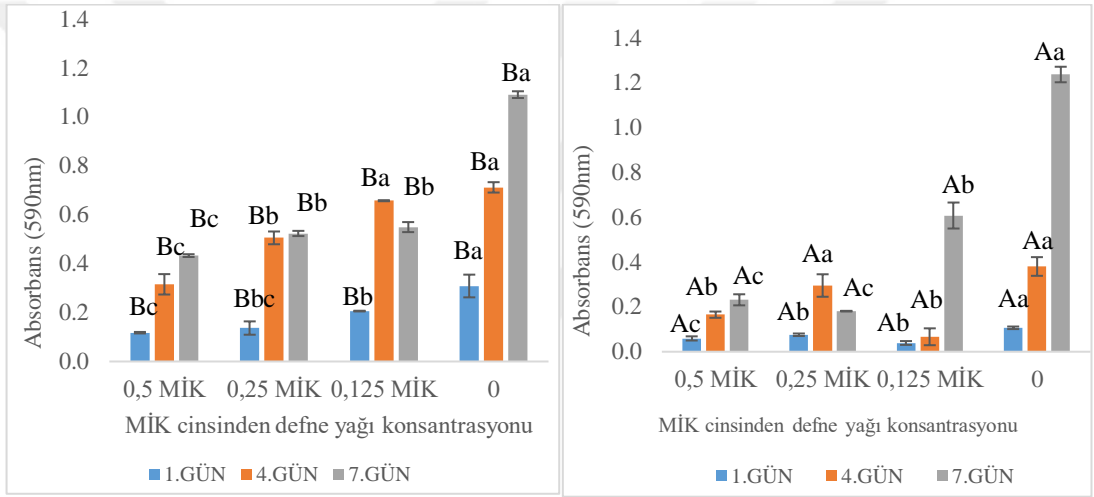
Hücre yoğunluğuna ilişkin 25 °C'de elde edilen veriler (Şekil 4.8 A) incelendiğinde, 1. günde 0,5 MİK kontrol (0) grubuna göre anlamlı bir azalma göstermiştir. 4. gün verileri doza bağlı şekilde en yüksek azalmayı 0,5 MİK konsantrasyon değerinde gösterirken 0,125 MİK konsantrasyon değerinde sonuçlar kontrol grubuna yaklaşmıştır ( $p<0,05$ ). 25 °C 7. gün sonuçları değerlendirildiğinde en düşük hücre yoğunluğu 0,5 MİK konsantrasyonda görülmüştür. 0,5 ve 0,25 MİK konsantrasyonları benzer şekilde eğilim göstermiştir ( $p>0,05$ ) ve kontrol (0) grubuna kıyasla anlamlı şekilde farklılık gösterir ( $p<0,05$ ). YP91 suşunun 4°C hücre yoğunluğu sonuçları Şekil 4.6 (B)' de verilmiştir ve sonuçlar değerlendirildiğinde 4°C 1. gün sonuçları 25 °C'ye kıyasla daha düşük bulunmuştur. Defne yağı uygulanan örnekler arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ), fakat kontrol (0) grubuna kıyasla yağ eklenene gruplarda anlamlı azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ). 4. gün sonuçları incelendiğinde yalnızca 0,5 MİK konsantrasyonda kontrol (0) grubuna kıyasla anlamlı bir azalma saptanmıştır ( $p<0,05$ ). YB91 suşu 7. gün, 1. Ve 4. güne kıyasla daha fazla hücre yoğunluğuna sahiptir ve 0,5 MİK konsantrasyonda hücre üretimi kontrol (0) grubuna göre oldukça düşüktür ( $p<0,05$ ).

YB91 suşunun biyofilm üretimi 25 °C 1. gün sonuçları değerlendirildiğinde 0,5 MİK konsantrasyonda kontrol (0) grubuna kıyasla en fazla azalma görülmüştür ( $p<0,05$ ). 4. günde 0,5 MİK en düşük biyofilm üretimine sahip iken 0,125 MİK konsantrasyonu ve kontrol (0) arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 4. gün 0,125 MİK konsantrasyonu 7. güne kıyasla daha yüksek biyofilm üretimine sahiptir. 7. gün sonuçlarında 0,5 MİK konsantrasyonu en düşük biyofilm üretimine sahiptir. 0,125 MİK konsantrasyonu ile kontrol (0) arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 4°C ve 25 °C biyofilm sonuçları benzerlik göstermiştir yalnızca 7. gün kontrol (0) grubu 4°C'de yüksek biyofilm üretimine sahiptir (Şekil 4.6 (C), (D)).



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.9: Defne Yağının YB 91 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı defne yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve defne yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

Biberiye yağı kullanılarak yapılan analizlerin her bir suş için farklı sıcaklık ve sürelerde hücre yoğunluğu ve biyofilm miktarları tespit edilmiş, belirlenen süre ve

sıcaklık koşullarında, her suşun farklı MİK altı konsantrasyonlara verdiği yanıtlar biyofilm oluşumu açısından karşılaştırılmıştır. Tablo 4.7’de biberiye yağı eklenmeyen kontrol gruplarının farklı sıcaklık ve günlerde *Pseudomonas* suşlarının biyofilm üretim değerleri, tablo 4.8’de farklı sıcaklık gün ve biberiye yağı konsantrasyonlarında *Pseudomonas* Suşlarının biyofilm üretim değerleri sunulmuştur.

**Tablo 4.7: Farklı Sıcaklık ve Günlerde *Pseudomonas* Suşlarının Biyofilm Üretim Değerleri**

SUŞLAR	25°C KONTROL			4°C KONTROL		
	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN	1.GÜN	4.GÜN	7.GÜN
27853	2,807±0,108 <sup>B</sup>	3,311±0,172 <sup>B</sup>	3,026±0,042 <sup>B</sup>	0,195±0,010 <sup>A</sup>	0,279±0,022 <sup>A</sup>	0,623±0,007 <sup>A</sup>
4973	0,509±0,024 <sup>B</sup>	0,191±0,006 <sup>B</sup>	0,778±0,033 <sup>B</sup>	0,301±0,035 <sup>B</sup>	0,424±0,053 <sup>A</sup>	1,057±0,014 <sup>A</sup>
YK107	2,429±0,015 <sup>B</sup>	1,020±0,132 <sup>A</sup>	1,902±0,037 <sup>A</sup>	0,217±0,041 <sup>A</sup>	1,193±0,008 <sup>A</sup>	1,937±0,044 <sup>A</sup>
YK8	2,307±0,039 <sup>B</sup>	0,342±0,005 <sup>B</sup>	1,015±0,045 <sup>A</sup>	0,130±0,024 <sup>A</sup>	0,523±0,030 <sup>A</sup>	0,818±0,036 <sup>A</sup>
YB43	0,444±0,194 <sup>B</sup>	3,461±0,041 <sup>B</sup>	3,139±0,032 <sup>B</sup>	0,436±0,013 <sup>A</sup>	3,132±0,046 <sup>A</sup>	3,020±0,000 <sup>A</sup>
YK50	0,581±0,014 <sup>B</sup>	0,967±0,057 <sup>A</sup>	2,644±0,148 <sup>B</sup>	0,405±0,033 <sup>A</sup>	1,049±0,007 <sup>A</sup>	0,340±0,046 <sup>A</sup>
YB91	0,501±0,028 <sup>A</sup>	1,346±0,010 <sup>B</sup>	1,091±0,014 <sup>A</sup>	0,453±0,047 <sup>A</sup>	1,176±0,025 <sup>A</sup>	0,920±0,68 <sup>B</sup>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA ( $p < 0.05$ ) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

**Tablo 4.8: Farklı Sıcaklık Gün ve Biberiye Yağı Konsantrasyonlarında *Pseudomonas* Suşlarının Biyofilm Üretim Değerleri**

	SUŞLAR	25 °C			4 °C		
		0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK
1.GÜN	27853	0,08±0,001 <sup>B</sup> d	0,423±0,012 Bc	0,98±0,026 <sup>B</sup> b	0,119±0,023 Ab	0,143±0,012 Aab	0,187±0,020 Aab
	4973	0,452±0,006 Ba	0,464±0,013 Ba	0,472±0,023 Ba	0,049±0,006 Aa	0,135±0,016 Ab	0,163±0,034 Ab
	YK107	1,200±0,149 Bb	2,291±0,151 Ba	2,419±0,029 Ba	0,110±0,026 Aa	0,099±0,023 Aa	0,170±0,030 Aa
	YK8	0,579±0,103 Bb	0,648±0,042 Bb	0,339±0,030 Bc	0,014±0,011 Ab	0,030±0,017 Ab	0,089±0,009 Aa
	YB43	1,467±0,062 Bb	1,823±0,086 Ba	1,949±0,165 Ba	0,060±0,035 Ab	0,055±0,049 Ab	0,144±0,043 Ab
	YK50	0,282±0,074 Ab	0,463±0,074 Bab	0,523±0,049 Ba	0,236±0,029 Ab	0,256±0,021 Ab	0,319±0,052 Aab
	YB91	0,458±0,016 Bc	1,026±0,060 Bc	1,045±0,025 Ab	0,375±0,014 Ac	0,370±0,008 Ab	0,373±0,009 Aab

4.GÜN	SUŞLAR	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK
	27853	0,166±0,004 Bd	0,522±0,015 Bc	1,302±0,001 Bb	0,145±0,044 Ab	0,277±0,022 Aab	0,366±0,004 Aa
	4973	0,097±0,051 Aa	0,137±0,028 Ba	0,166±0,076 Aa	0,133±0,004 Ab	0,060±0,005 Ab	0,122±0,011 Ab
	YK107	1,073±0,020 Ba	1,183±0,120 Ba	1,231±0,082 Aa	0,126±0,046 Ac	0,829±0,081 Ab	1,126±0,056 Aa
	YK8	0,089±0,011 Ab	0,170±0,004 Bb	0,160±0,001 Ab	0,154±0,037 Bb	0,125±0,004 <sup>B</sup> b	0,181±0,022 <sup>B</sup> b
	YB43	0,474±0,005 Bd	1,015±0,038 Bc	2,005±0,081 Bb	2,505±0,014 Ac	2,845±0,058 Ab	3,014±0,051 Aa
	YK50	0,571±0,022 Bb	0,589±0,034 Bb	0,678±0,031 Ab	0,092±0,018 Ad	0,485±0,027 Ac	0,728±0,038 Ab
	YB91	0,903±0,040 Bc	0,946±0,045 Ba	0,984±0,045 Bb	0,299±0,016 Ad	0,605±0,044 Ac	1,045±0,032 Ab
7.GÜN	SUŞLAR	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK
	27853	0,926±0,003 Bc	2,487±0,070 Bb	2,926±0,019 Ba	0,593±0,022 Aa	0,568±0,041 Aab	0,428±0,057 Ab
	4973	0,334±0,001 Bb	0,418±0,033 Bb	0,631±0,074 Aa	0,413±0,013 Ad	0,633±0,066 Ac	0,822±0,021 Ab
	YK107	0,985±0,016 Ac	1,475±0,034 Bb	1,529±0,030 Bb	0,895±0,046 Ac	0,997±0,016 Ac	1,327±0,049 Ab
	YK8	0,045±0,011 Ac	0,078±0,006 Ac	0,396±0,009 Ab	0,286±0,018 Ac	0,479±0,044 Ab	0,479±0,011 Ac
	YB43	1,086±0,032 Bd	1,314±0,049 <sup>Bc</sup>	1,584±0,083 Bb	2,931±0,023 Ab	2,965±0,025 Aab	3,001±0,027 Aab
	YK50	1,020±0,057 Bb	1,240±0,097 Bb	2,601±0,069 Ba	0,355±0,072 Ac	0,919±0,002 Aa	0,589±0,040 Ab
	YB91	1,286±0,011 Ac	1,329±0,08 <sup>Bb</sup>	1,356±0,009 Ab	0,183±0,024 Ab	0,244±0,027 Ab	0,309±0,054 Ab

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA ( $p < 0.05$ ) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

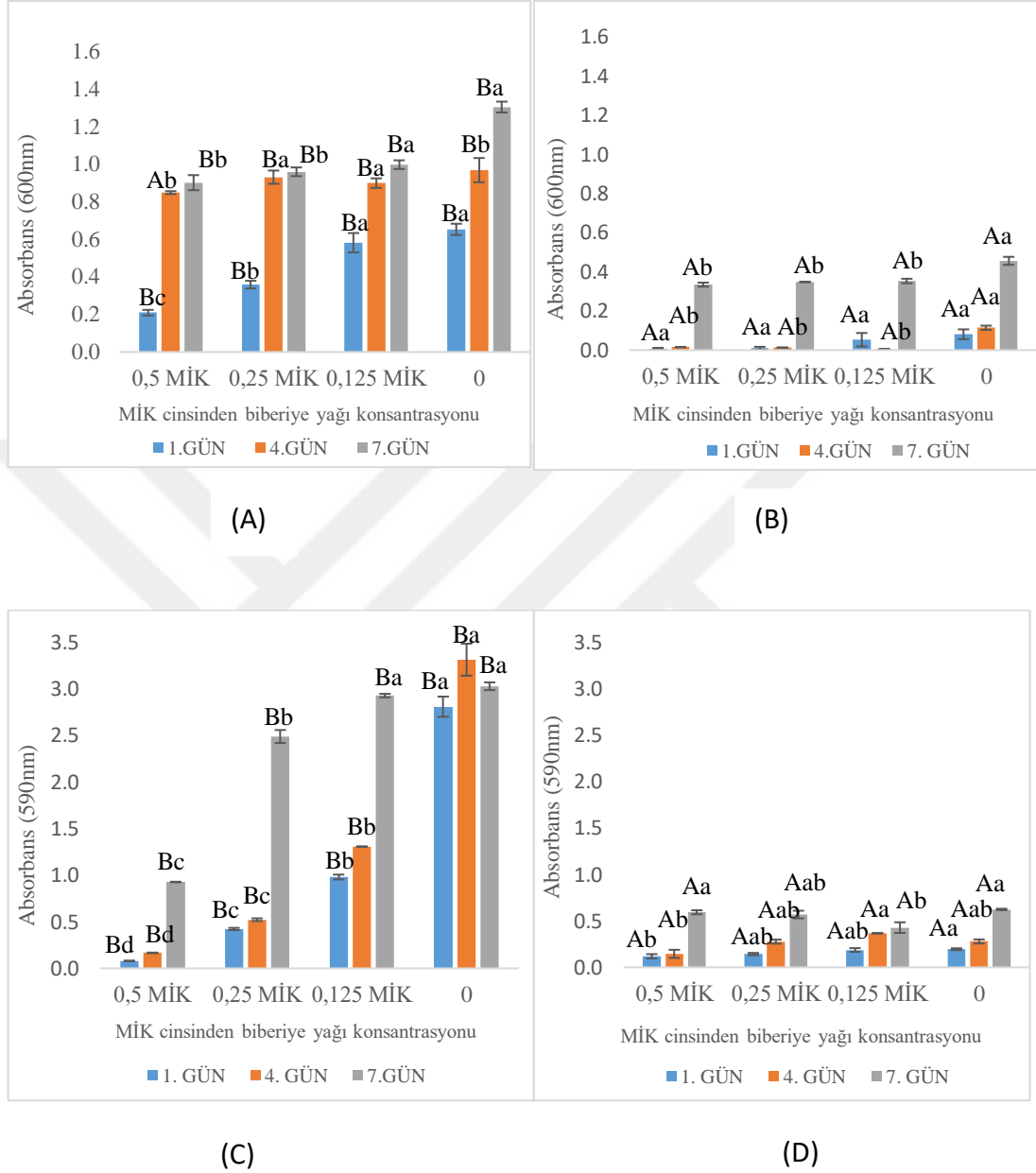
*P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna ait veriler, biberiye yağının bu mikroorganizma üzerindeki inhibe edici etkilerini 4°C ve 25°C'de ortaya koyan grafikler halinde Şekil 4.10'de gösterilmiştir. Hücre yoğunluğu açısından 25 °C'de elde edilen veriler (Şekil 4.10 A) değerlendirildiğinde, kontrol grubunda (0) 1., 4. ve 7. günlerde hücre büyümesinin kademeli olarak arttığı ve 7. günde en yüksek absorbansta (OD600 nm) değerlere ulaşıldığı izlenmiştir. Bu durum, 27853 suşunun ortam sıcaklığında uygun gelişme koşullarında hücre çoğalmasını etkin biçimde sürdürebildiğini göstermektedir. Biberiye yağı uygulanan gruplarda ise, özellikle 0,5 konsantrasyonda olmak üzere tüm günlerde belirgin bir baskılama etkisi gözlemlenmiştir. 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlarında ise bu baskılayıcı etkinin 7. gün itibarıyla istatistiksel olarak anlamlı hale geldiği ( $p < 0,05$ ) ve hücre yoğunluğunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığı görülmektedir. 4 °C'de elde edilen hücre

yoğunluğu verileri (Şekil 4.10 B), genel olarak 25 °C'ye kıyasla anlamlı düzeyde daha düşüktür ( $p<0,05$ ). Bu durum, düşük sıcaklığın bakteriyel gelişim üzerinde doğrudan sınırlayıcı bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Kontrol grubunda dahi 1., 4. ve 7. günlerdeki artış oldukça sınırlı kalmıştır. Biberiye yağı uygulaması ile birlikte bu sınırlama daha da belirginleşmiş, özellikle 0,5 konsantrasyonunda hücre gelişimi tüm zaman dilimlerinde ciddi şekilde baskılanmıştır. Aynı gün ve konsantrasyonda 25 °C ile 4 °C arasında büyük harflerle gösterilen istatistiksel farklılıklar, sıcaklığın biberiye yağının inhibitör etkisini anlamlı şekilde güçlendirdiğini göstermektedir ( $p<0,05$ ).

Biyofilm üretimi verileri açısından değerlendirildiğinde, 25 °C'de elde edilen sonuçlar (Şekil 4.10 C) kontrol grubunda zamanla belirgin bir artış olduğunu ve 7. günde en yüksek biyofilm üretiminin gerçekleştiğini göstermektedir. Bu bulgu, 27853 suşunun ortam sıcaklığında biyofilm oluşturma yeteneğinin yüksek olduğunu kanıtlamaktadır. Ancak, biberiye yağı uygulanan gruplarda özellikle 0,5 konsantrasyonda olmak üzere tüm günlerde biyofilm üretiminin anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlarında ise 1. ve 4. günlerde biyofilm üretimi kısmen devam ederken, 7. günde bu üretimin önemli ölçüde baskılandığı ve istatistiksel olarak kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azaldığı görülmektedir. 4 °C'deki biyofilm üretim değerleri (Şekil 4.10 D), genel olarak 25 °C'ye göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. Bu sıcaklıkta biyofilm oluşumu doğal olarak sınırlı seviyelerde gerçekleşmiş olup, biberiye yağı uygulaması ile bu üretim daha da baskılanmıştır. Özellikle 0,5 MİK konsantrasyonda 4. ve 7. günlerde biyofilm oluşumu minimum seviyeye ulaşmış ve kontrol grubuna kıyasla ciddi bir düşüş kaydedilmiştir. 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlarında da benzer eğilim gözlemlenmiş, ancak en baskın etki yine yüksek konsantrasyon düzeyinde gözlemlenmiştir. Ayrıca, aynı gün ve konsantrasyonlarda 25 °C ile 4 °C arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ).

Genel olarak değerlendirildiğinde, biberiye yağı 27853 suşunun hem hücre gelişimi hem de biyofilm üretimi üzerinde belirgin bir inhibitör etki göstermektedir. Bu etkinin düzeyi, uygulanan konsantrasyonun artışıyla doğru orantılı olarak yükselmekte, sıcaklık düşüşüyle birlikte sinerjik bir şekilde etkisini artırmaktadır.

Özellikle 0,5 konsantrasyon ve 4 °C koşulu, en güçlü antibakteriyel ve antibiyofilm etkiyi ortaya koymaktadır.



**Şekil 4.10: Biberiye Yağının *P. aeruginosa* ATCC 27853<sup>T</sup> Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı defne yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve defne yağı

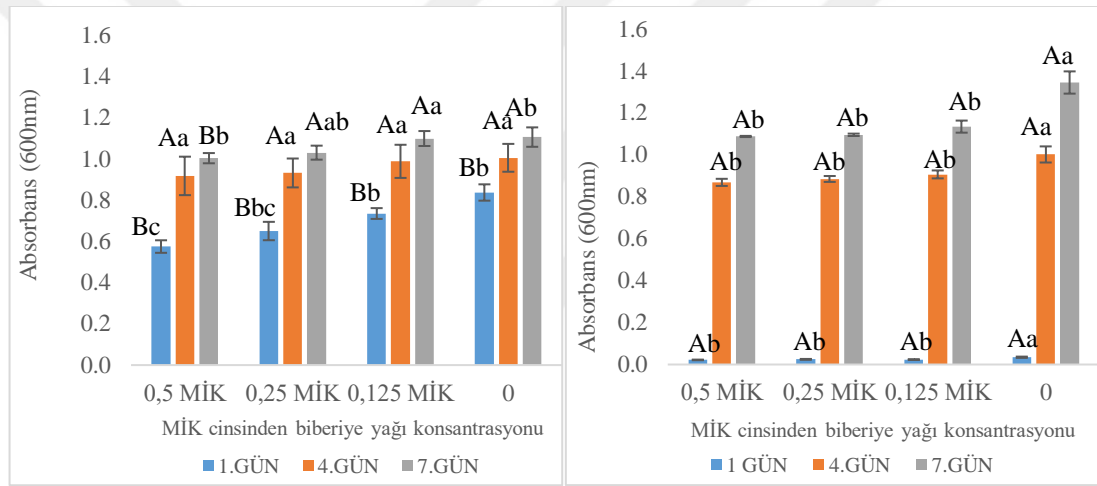
konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p<0,05$ ).

*P. fragi* ATCC 4973 suşunun 4-25°C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki biberiye yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.11'da verilmiştir. Şekil 4.11 (A) ve (B), biberiye yağı uygulamasının *P. fragi* hücre yoğunluğuna etkisini 25 °C (A) ve 4 °C (B)'de göstermektedir. Kontrol gruplarında en yüksek hücre yoğunluğu gözlemlenmiş, artan biberiye yağı konsantrasyonları ile genellikle anlamlı azalmalar meydana gelmiştir ( $p<0,05$ ). Ancak, her zaman bu azalma istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olmamıştır. Örneğin, Şekil 4.11 (A)'da, 1. günde 0,125 konsantrasyondaki değer ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). Aynı şekilde, 4. günde 0,25 ve 0,5 konsantrasyonlar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. ( $p>0,05$ ). 7. gün sonuçları değerlendirildiğinde ise kontrol grubu ile yağ uygulaması yapılmış değerler arasında önemli fark görülmemiştir. Şekil 4.11 (B)'de 4 °C'deki hücre yoğunlukları genel olarak 1. ve 4. gün daha düşük seviyelerde seyretmiştir. Bu sıcaklıkta biberiye yağı uygulamalarının daha belirgin etkileri gözlenmektedir. Özellikle 0,5 konsantrasyon, 4. ve 7. günlerde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde hücre gelişimini baskılamıştır ( $p<0,05$ ). Ancak burada da 1. günde biberiye yağı eklenmiş gruplar konsantrasyonlar arasında anlamlı fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ), yani düşük konsantrasyonun kısa vadeli etkisinin yine sınırlı kaldığı görülmektedir.

Şekil 4.11 (C) ve (D), biberiye yağı uygulamasının biyofilm üretimi üzerindeki etkilerini 25 °C (C) ve 4 °C (D)'de ortaya koymaktadır. 25 °C'de (C) kontrol grubunda en yüksek biyofilm üretimi gözlemlenirken, 7. günde diğer günlere kıyasla daha fazla biyofilm üretimi gerçekleşmiştir. 0.05 MİK konsantrasyonda özellikle 1. ve 4. günlerde biyofilm üretiminde kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Bu durum, düşük konsantrasyonun biyofilm formasyonu üzerindeki etkisinin gecikmeli ya da sınırlı olduğunu düşündürmektedir. 7. günde ise tüm konsantrasyon grupları arasında anlamlı farklar oluşmuştur ( $p<0,05$ ). Şekil 4.11 (D)'de, 4 °C'deki biyofilm üretimi 25 °C'ye kıyasla genel olarak daha düşüktür. Bu sıcaklıkta biberiye yağı özellikle 0,25 ve 0,5 konsantrasyonlarında biyofilm üretimini baskılamada etkili olmuştur ( $p<0,05$ ).

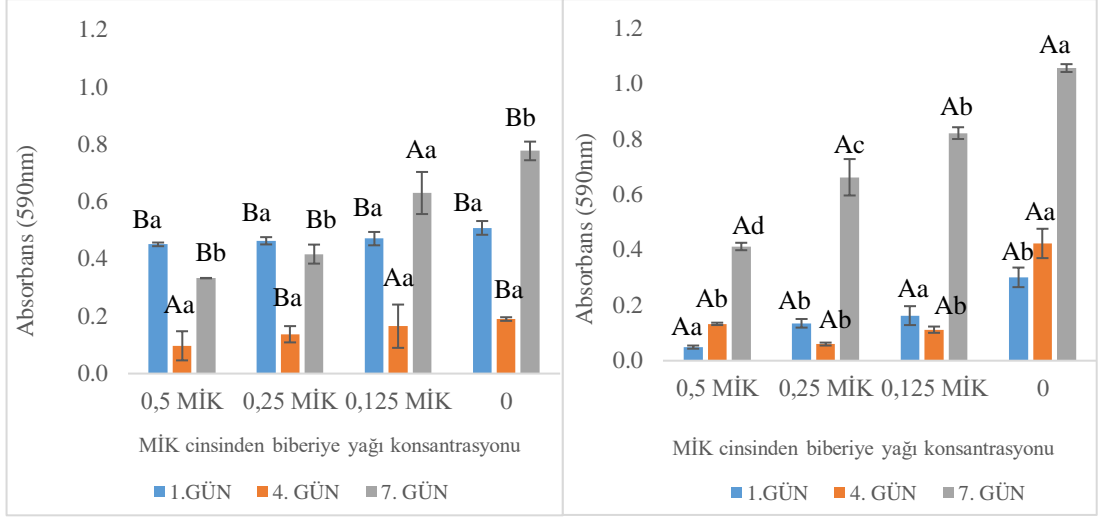
Ancak 1. günde, 0.05 konsantrasyon ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ), yani düşük konsantrasyonun kısa süreli biyofilm inhibisyon etkisi zayıf kalmıştır. Bununla birlikte 7. günde tüm konsantrasyon grupları arasında istatistiksel farkların olduğu ve biberiye yağı uygulamasının etkisinin zamanla güçlendiği görülmektedir ( $p<0,05$ ).

Sonuç olarak, biberiye yağı *P. fragi* üzerinde hem hücre yoğunluğu hem de biyofilm üretimi açısından konsantrasyon ve sıcaklık bağımlı olarak inhibitör etki göstermektedir. Bu etkinin özellikle 0,25 ve 0,5 konsantrasyonlarında daha belirgin olduğu, düşük konsantrasyonlarda ise erken dönem etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde oluşmadığı dikkat çekmektedir ( $p>0,05$ ).



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.11: Biberiye Yağının *P. fragi* ATCC 4973<sup>T</sup> Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

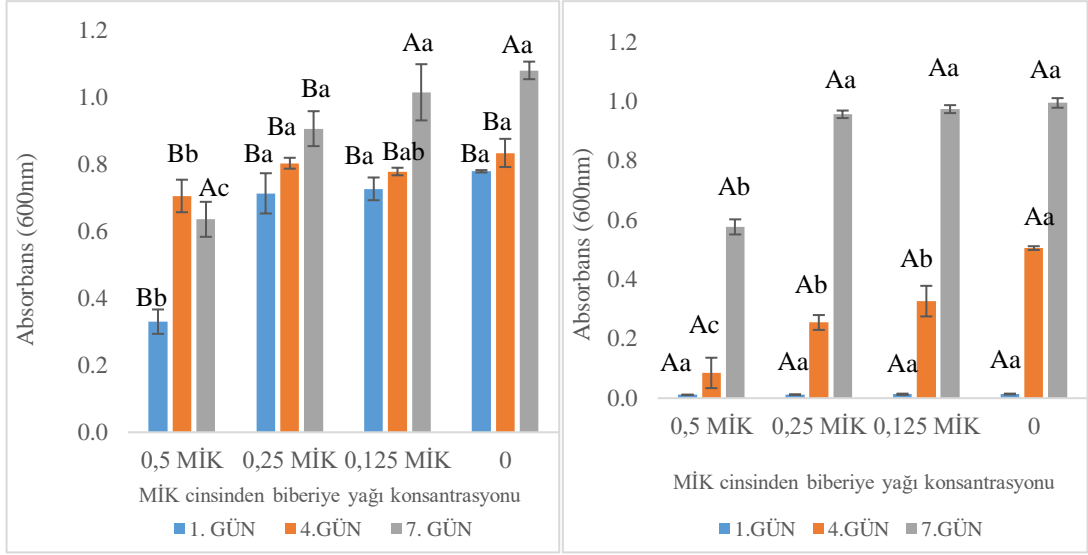
**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı biberiye yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve biberiye yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

YK107 suşunun 4-25°C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki biberiye yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.12'da verilmiştir. Hücre yoğunluğunu değerlendiren 25°C'deki Şekil 4.12 (A)'da, yağ içermeyen kontrol grubunda hücre yoğunluğunun zamanla arttığı, özellikle 7. günde en yüksek değerlere ulaştığı görülmektedir. Bu durum, uygun sıcaklık koşullarında bakteriyel çoğalmanın aktif olarak sürdüğünü göstermektedir. Ancak biberiye yağı uygulanan gruplarda bu artış sınırlı kalmıştır. Özellikle 0,5 MİK konsantrasyonunda, günde hücre yoğunluğunda belirgin bir azalma gözlenmiştir ve bu azalma hem 0,25 hem de 0,125 MİK gruplarına göre daha anlamlıdır. Bu sonuç, yüksek konsantrasyonda biberiye yağının bakteriyel büyümeyi baskılayıcı etkisinin daha güçlü olduğunu ortaya koymaktadır. Aynı zamanda, konsantrasyon düzeyi azaldıkça hücre yoğunluğunun kontrol grubuna yaklaşması, doza bağlı etkinin varlığını desteklemektedir. 4°C'deki hücre yoğunluğu verilerini sunan Şekil 4.12 (B)'de ise düşük sıcaklığın bakteriyel büyüme üzerinde baskılayıcı etkisini açıkça

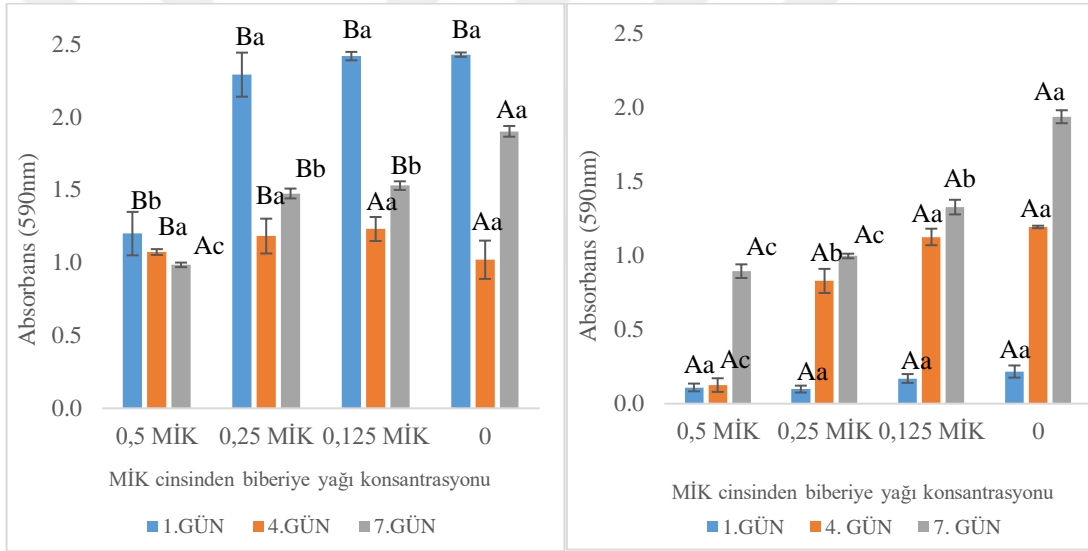
göstermektedir. Yağ uygulanmayan kontrol grubunda dahi, hücre yoğunluğu 1. Ve 4. günde 25°C'ye kıyasla belirgin şekilde daha düşüktür. Biberiye yağı uygulanan gruplarda, özellikle 0,5 MİK düzeyinde hücre yoğunluğu en düşük seviyelere ulaşmıştır. Daha düşük konsantrasyonlarda (0,25 ve 0,125 MİK) bu etki kısmen azalsa da, yine de kontrol grubuna göre anlamlı farklar korunmuştur. Bu bulgular, biberiye yağının antimikrobiyal etkinliğinin sıcaklıkla birlikte arttığını göstermektedir.

Biyofilm üretimi üzerine yapılan değerlendirmeler, Şekil 4.12 (C) ve (D)'de sunulmuştur. 25°C'deki biyofilm üretimini gösteren (Şekil 4.12 C) grafikte, kontrol grubunda zamanla artan bir biyofilm birikimi gözlenmiştir. Bu artış, 7. günde maksimum düzeye ulaşarak bakteriyel kolonizasyonun ve yüzey tutunmasının arttığını göstermektedir. Biberiye yağı uygulamaları bu süreci anlamlı şekilde baskılamış, özellikle 0,5 MİK konsantrasyonunda biyofilm oluşumu 1. günde düşük konsantrasyonlara ve kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük seyretmiştir. 4. ve 7. günlerde de bu düşük düzey korunmuş, bu da yağın hem biyofilmi başlatıcı etkiye karşı hem de oluşmuş biyofilmi sürdürücü etkiye karşı etkili olduğunu düşündürmektedir. Daha düşük konsantrasyonlarda (0,25 ve 0,125 MİK), yağın etkisi devam etmekle birlikte baskılayıcılığın azaldığı, biyofilm seviyelerinin kontrol grubuna kısmen yaklaştığı görülmektedir. Konsantrasyona bağlı bu azalma küçük harflerle gösterilen farklarda istatistiksel olarak desteklenmektedir. 4°C'deki biyofilm üretimini gösteren (Şekil 4.12 D) grafikte ise sıcaklığın genel baskılayıcı etkisiyle birlikte biyofilm seviyeleri tüm gruplarda daha düşük kalmıştır. Ancak bu etki, biberiye yağı uygulamalarıyla anlamlı ölçüde pekiştirilmiştir. Özellikle 0,5 MİK düzeyinde ve 4. günde biyofilm üretimi kontrol grubuna göre minimum seviyededir. Bu sonuç, hem düşük sıcaklığın hem de yağın etkilerinin birleştiği koşullarda biyofilm oluşumunun oldukça etkin şekilde engellendiğini göstermektedir. Sıcaklıklar arası farklar büyük harflerle belirtilmiş olup, aynı konsantrasyonda 25°C'ye göre 4°C'de biyofilm oluşumunun istatistiksel olarak daha düşük olduğu doğrulanmıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde, biberiye yağı uygulaması YK107 suşu üzerinde doza ve zamana bağlı olarak hem hücre yoğunluğunu hem de biyofilm üretimini baskılamaktadır.



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.12: Biberiye Yağının YK107 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

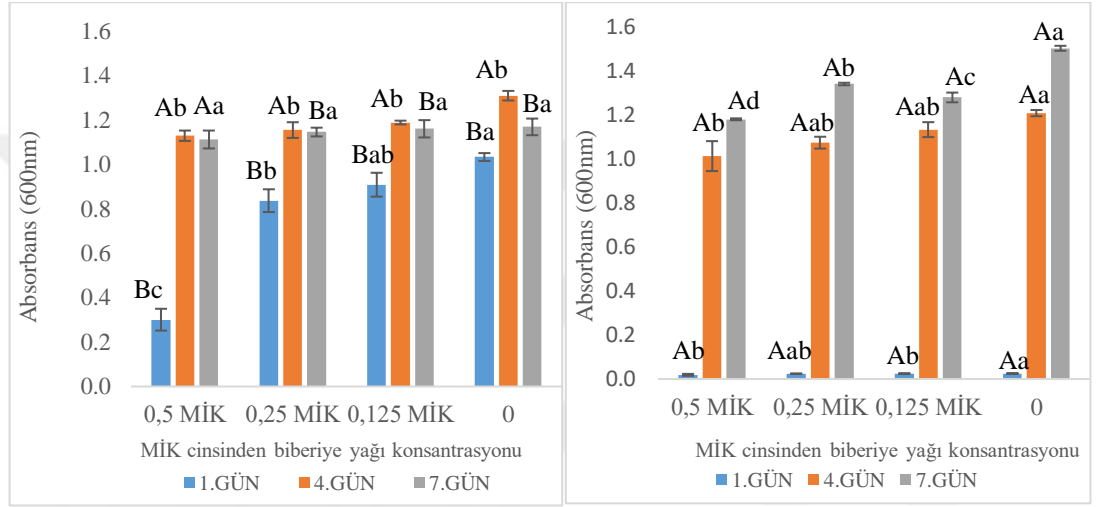
**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı biberiye yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve biberiye yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

YK8 suşunun 4-25°C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki biberiye yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.13' de verilmiştir. Şekil 4.13 (A)' da, YK8 suşunun 25 °C'de hücre yoğunluğu üzerindeki etkiler değerlendirilmektedir. Kontrol grubunda (0) tüm günlerde en yüksek absorbans değerleri kaydedilmiştir. Özellikle 0,25 ve 0,5 biberiye yağı konsantrasyonlarında hücre gelişiminde anlamlı azalmalar meydana gelmiştir ( $p<0,05$ ). Ancak 1. gün itibarıyla 0,125 konsantrasyon ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ), bu da düşük konsantrasyonun kısa sürede baskılayıcı etkisinin sınırlı kaldığını göstermektedir. Benzer şekilde 0,25 ve 0,5 grupları da birbirinden anlamlı farklılık göstermemiştir ( $p>0,05$ ). 4. ve 7. günlerde ise biberiye yağı uygulanmış gruplar ile kontrol grubu ile anlamlı farklılıklar bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). Şekil 4.13 (B), aynı parametrelerin 4 °C'de değerlendirilmesini sunmaktadır. Genel olarak daha düşük hücre yoğunlukları kaydedilmiş ve bu sıcaklıkta biberiye yağı uygulamalarının daha etkin olduğu görülmüştür. 1. günde 0,5 konsantrasyonu ile kontrol grubuna göre anlamlı düşüş sağlamıştır ( $p<0,05$ ), fakat 0,125 ile kontrol grubu arasında fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). 4. günler 0,5 konsantrasyonda istatistiksel olarak anlamlı azalma devam etmiş, 0,25 ve 0,125 grubu ise 4. gün için kontrolle benzer düzeyde kalmıştır ( $p>0,05$ ), yalnızca 7. günde tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı farklılık ortaya çıkmıştır ( $p<0,05$ ). Ayrıca, büyük harflerle gösterildiği üzere sıcaklıklar arasında da anlamlı farklar mevcuttur; aynı gün ve konsantrasyon için 4 °C uygulamaları genellikle daha düşük hücre yoğunluğu sağlamıştır ( $p<0,05$ ).

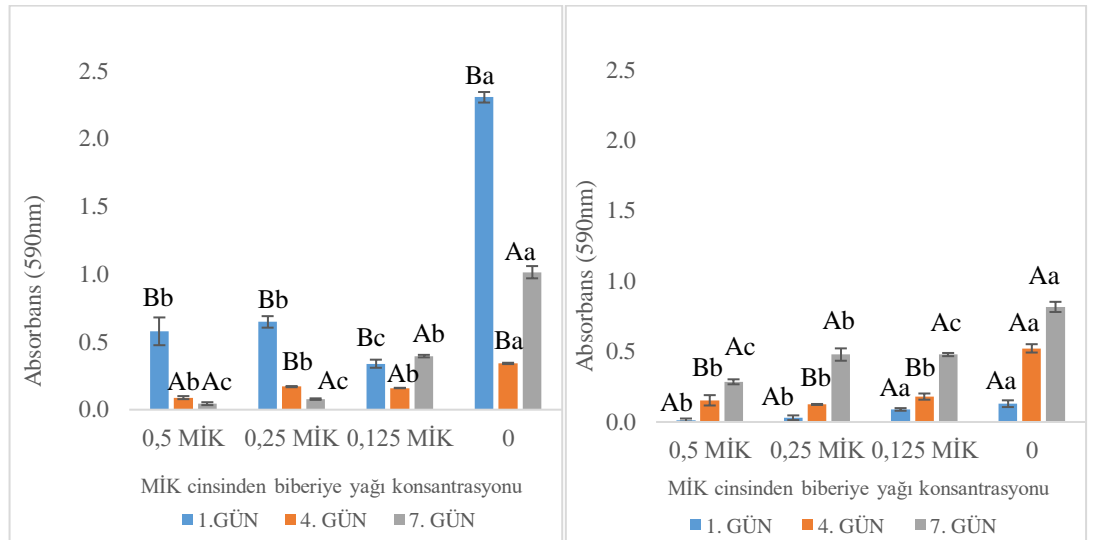
Biyofilm üretimine ilişkin değerlendirme Şekil 4.13 (C) ve (D)'de sunulmuştur. 25 °C'deki sonuçları gösteren Şekil 4.13 (C)'de, kontrol grubunda biyofilm üretimi her üç günde de en yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. 1. günde 0,25 VE 0,5 MİK konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi görülmemiştir ( $p>0,05$ ), benzer durum 4. gün için de geçerlidir. Ancak 1. gün biberiye yağı uygulanmış örnekler ile kontrol grubu karşılaştırıldığında belirgin bir düşüş görülmektedir ( $p<0,05$ ). 7. günde ise yalnızca 0,5 ve 0,25 MİK grupları arasında anlamlı bir farklılık oluşturmazken ( $p>0,05$ ), kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı farklılıklar göstermiştir ( $p<0,05$ ). Şekil 4.13 (D)'de, biyofilm üretiminin 4 °C'deki durumu ortaya konmuştur. Bu sıcaklıkta genel olarak daha düşük biyofilm seviyeleri gözlenmiş ve biberiye yağı uygulamasıyla bu düşüş daha da

belirginleşmiştir. 1. günde yalnızca 0,5 ve 0,25 MİK konsantrasyon grubu kontrolle anlamlı fark göstermiştir ( $p<0,05$ ); 0,125 MİK değeri ile kontrol grubu arasında istatistiksel fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ). Ancak 4. günden itibaren 0,25 ve 0,5 MİK konsantrasyonları kontrol grubuna göre anlamlı düşüş sağlamış olup bu durum 7. günde de anlamlı azalma göstermiştir ( $p<0,05$ ). Özellikle 7. günde tüm konsantrasyon grupları arasında anlamlı farkların bulunması, biberiye yağının biyofilm üretimi üzerinde zamanla artan bir etkisi olduğunu ve bu etkinin düşük sıcaklıkta daha güçlü hale geldiğini göstermektedir.



(A)

(B)



(C)

(D)

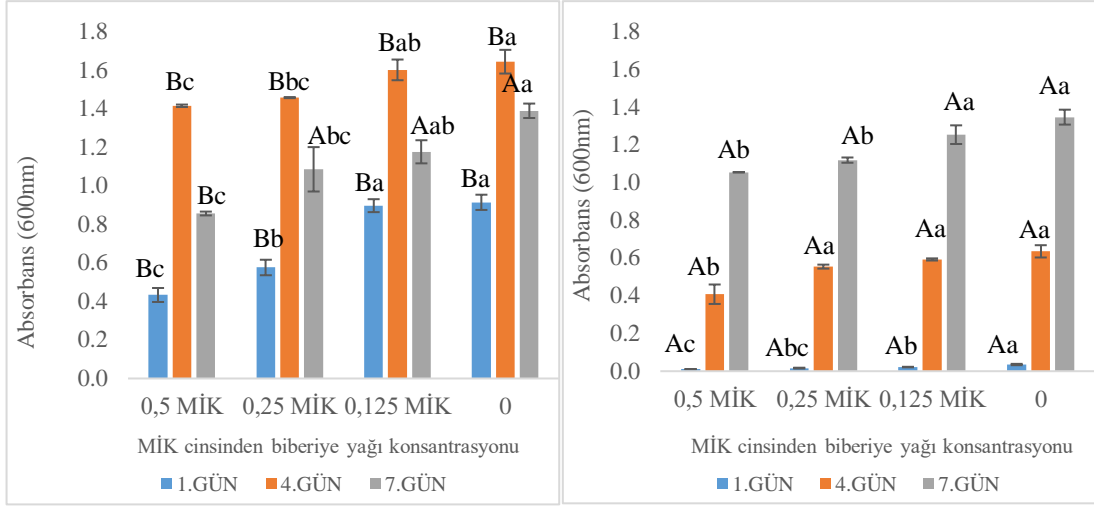
**Şekil 4.13: Biberiye Yağının YK8 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı biberiye yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve biberiye yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

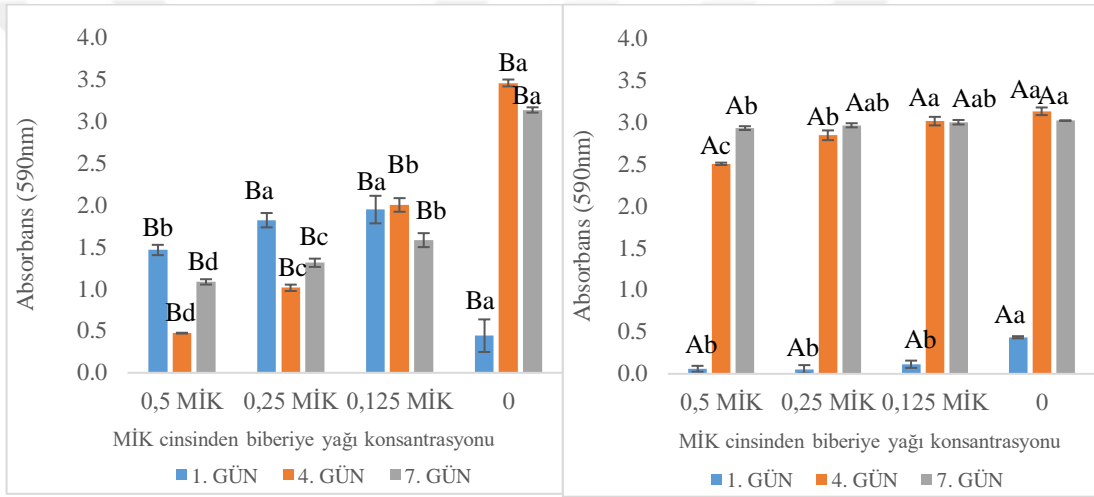
YB43 suşunun 4-25°C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki biberiy yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.14' de verilmiştir. Hücre yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde, 25°C'de Şekil 4.14 (A)'da sunulan değgerlere göre 1. günde hücre yoğunluğu 0,5 ve 0,25 MİK konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı düşüş gösterirken ( $p < 0,05$ ). 0,125 MİK ile yağ eklenmemiş grup ile anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $p > 0,05$ ). 4. gün sonuçları diğer günlere kıyasla daha yüksek hücre üretimine sahiptir. ,5 MİK değerleri ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). 7. gün değerleri karşılaştırıldığında tüm MİK konsantrasyonları biberiye yağ eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre anlamlı düşüş göstermektedir ( $p < 0,05$ ). 4°C koşullarında elde edilen hücre yoğunluğu verileri (Şekil 4.14 B) incelendiğinde, kontrol grubunda (0) zamanla artış izlenmiş ve 7. gün sonunda maksimum seviyeye ulaşılmıştır. 1. gün sonuçları değerlendirildiğinde hücre yoğunluğu diğer günlere kıyasla çok düşük kalmıştır. 4. gün 0,5 MİK konsantrasyonu biberiye yağ eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre anlamlı düşüş göstermiştir ( $p < 0,05$ ).

Biyofilm retimi verileri incelendiğinde (Şekil 4.14 C), 25°C'de kontrol grubunun yüksek biyofilm düzeylerine ulaştığı ve bu düzeylerin zaman içinde anlamlı Şekilde arttığı görülmektedir ( $p < 0,05$ ). Buna karşın biberiye yağı uygulanan gruplarda biyofilm üretimi ciddi oranda azalmıştır. 1. günde MİK konsantrasyonları karşılaştırıldığında 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlarına göre anlamlı düşüş göstermiştir. 4. Gün ve 7. günde tüm MİK konsantrasyonları biberiye yağ eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre anlamlı azalma göstermiştir ( $p < 0,05$ ). Şekil 4.14 (D)'de 4°C biyofilm sonuçları sunulmuştur. 1. gün sonuçları 25°C ile kıyaslandığında anlamlı Şekilde düşüktür ( $p < 0,05$ ), ayrıca MİK konsantrasyonları biberiye yağ eklenmeyen (0) kontrol grubuna göre anlamlı azalma göstermiştir ( $p < 0,05$ ). 4. ve 7. günde genel olarak yüksek biyofilm üretimi görülmüştür 0,5 MİK değerleri dışında anlamlı farklılık görülmemiştir ( $p > 0,05$ ).



(A)

(B)



(C)

(D)

**Şekil 4.14: Biberiye Yağının YB43 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

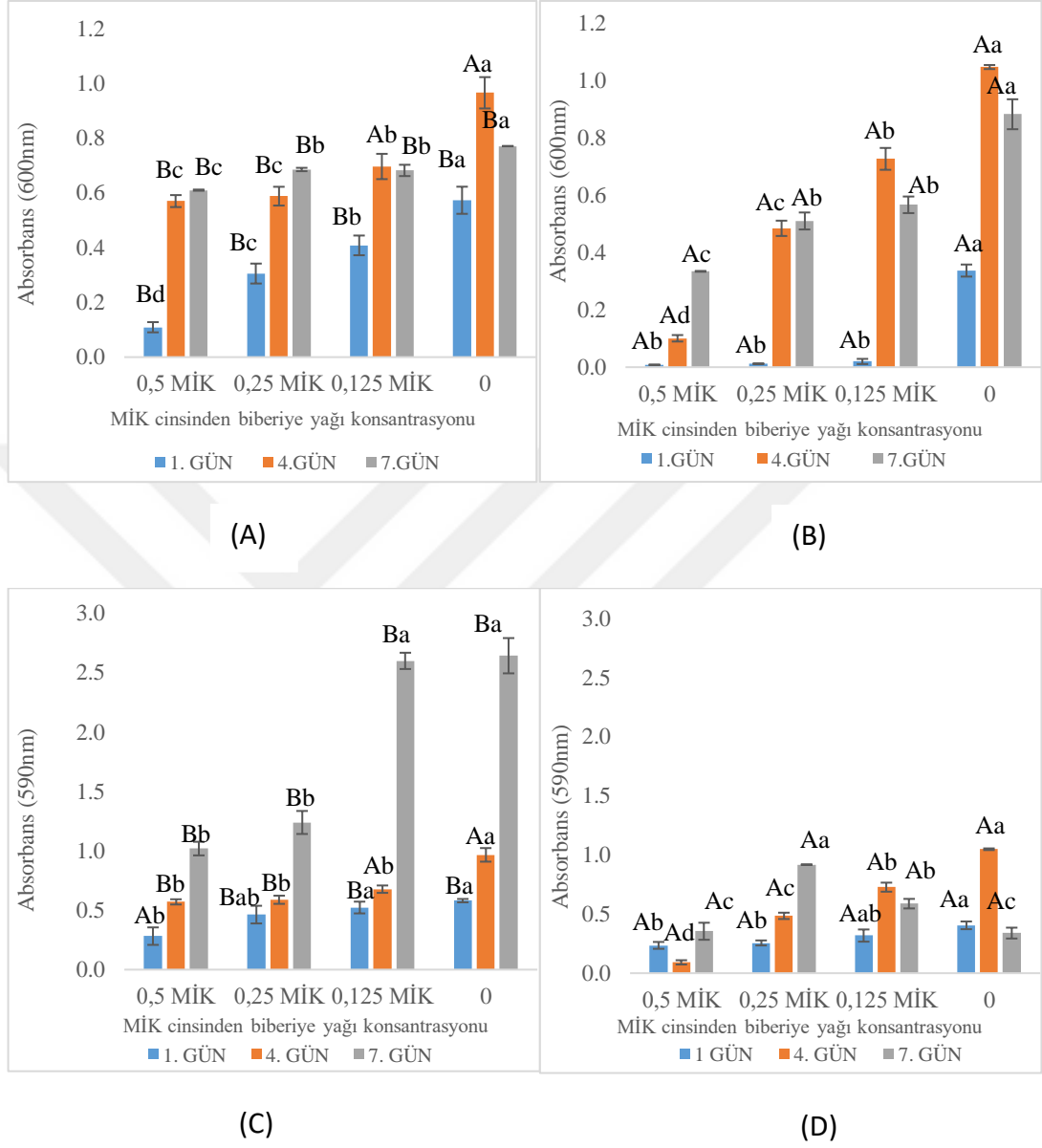
\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı biberiye yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve biberiye yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p < 0,05$ ).

YK50 suşunun 4-25°C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki defne yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.15'te verilmiştir. Şekil 4.15 (A) grafiğinde, 25 °C sıcaklıkta hücre yoğunluğu

verileri 1. gün için değerlendirildiğinde, biberiye yağı eklenmemiş (0) kontrol grubuna kıyasla tüm MİK konsantrasyonlarda anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir ( $p<0,05$ ). Bu sonuç, erken dönemde konsantrasyonun etkili olduğunu göstermektedir. 4. gün sonuçları incelendiğinde, 0,5 ve 0,25 grupları benzer eğilim göstermiştir ancak kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde azalma gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). 7. gün verilerine göre tüm MİK konsantrasyonlarda biberiye yağı eklenmemiş (0) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermiştir ( $p<0,05$ ); 0,25 ve 0,125 gruplarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $p>0,05$ ). Şekil 4.15 (B)'de, 4 °C sıcaklıkta hücre yoğunluğu değişimini göstermektedir. 1. gün verilerinde, hiçbir biberiye yağı konsantrasyonu kendi içlerinde anlamlı bir fark göstermemiştir ( $p>0,05$ ), fakat kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalma tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ), bu da düşük sıcaklıkta erken dönemde biberiye yağının etkisinin sınırlı olduğunu göstermektedir. 4. gün sonuçlarına göre tüm biberiye yağı konsantrasyonlarında doza bağlı bir azalma gerçekleşmiştir ( $p<0,05$ ). 7. gün verileri incelendiğinde, 0,5 uygulamasının hücre yoğunluğunu anlamlı şekilde düşürdüğü tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ), diğer konsantrasyonlar istatistiksel olarak anlamlı azalma sağlamıştır ancak ( $p<0,05$ ), 0,25 ve 0,125 MİK değerleri kendi içinde anlamlı farklılık göstermemiştir ( $p>0,05$ ).

Biyofilm üretimine ilişkin 25 °C sıcaklıkta elde edilen bulgular, Şekil 4.15 (C)'de sunulmaktadır. 1. gün itibarıyla yalnızca 0,5 MİK konsantrasyonda anlamlı biyofilm azalışı gözlenmiştir ( $p<0,05$ ); 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark yoktur ( $p>0,05$ ). 4. gün sonuçları daha belirgindir; 0,5 ve 0,25 MİK uygulamaları biyofilm oluşumunu anlamlı düzeyde baskılamıştır ( $p<0,05$ ) fakat doza bağlı anlamlı bir düşüş görülmemiştir ( $p>0,05$ ). 7. gün verilerine göre ise yalnızca 0,5 ve 0,25 MİK uygulaması anlamlı etki göstermiştir ( $p<0,05$ ), 0,125 MİK konsantrasyonda anlamlı azalma tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ). Bu durum, biyofilm üretiminin artan zamanla birlikte yükseldiğini ve yalnızca yüksek konsantrasyonun bu artışı engelleyebildiğini göstermektedir. Şekil 4.15 (D)'de, 4 °C'de biyofilm üretimi değerlendirildiğinde 1. gün için yalnızca 0,5 ve 0,25 biberiye yağı uygulaması kontrol grubuna kıyasla anlamlı azalma sağlamıştır ( $p<0,05$ ) fakat kendi aralarında doza bağlı anlamlı bir farklılık bulunamaz ( $p>0,05$ ). 0,125 konsantrasyonda ise biyofilm üretimi kontrol grubuna yakın bulunmuştur ( $p>0,05$ ). 4. gün ölçümlerinde tüm konsantrasyonlarda doza bağlı anlamlı bir düşüş kaydedilmiş ve kontrol grubu ile arasında anlamlı fark bulunmuştur ( $p<0,05$ ). 7. gün sonuçlarında ise biberiye yağı eklenmemiş kontrol grubu ile MİK konsantrasyonları

arasında anlamlı bir eğilim görülmemiştir ( $p>0,05$ ). 0,25 ve 0,125 MİK gruplarında kontrol örneğinden daha fazla biyofilm üretimi gözlenmiştir.



**Şekil 4.15: Biberiye Yağının Yk50 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

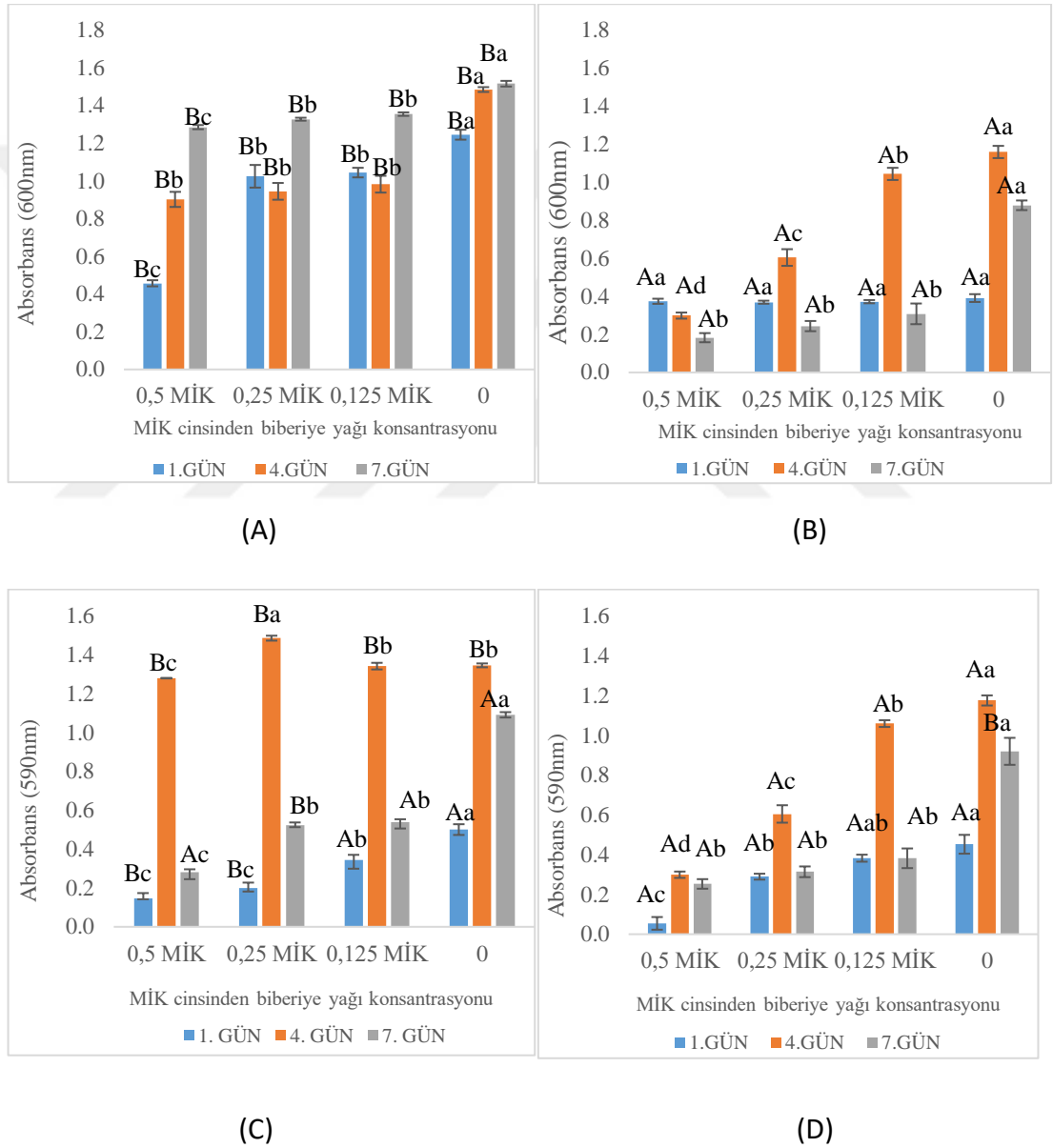
**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı biberiye yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve biberiye yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p<0,05$ ).

YB91 suşunun 4-25°C'de biyofilm ve hücre yoğunluğu üzerindeki defne yağı konsantrasyonlarının (MİK cinsinden) inhibe edici etkisini gösteren grafikler Şekil 4.16'da verilmiştir. Şekil 4.16 (A)'da 25°C'deki gün verileri değerlendirildiğinde 0,5 MİK konsantrasyonda anlamlı bir düşüş görülmüştür ( $p<0,05$ ). 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlarında anlamlı bir farklılık yokken kontrol grubu yağ eklenmiş gruplar ile karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde yüksek hücre yoğunluğuna sahiptir Dördüncü gün verileri karşılaştırıldığında farklı mikaltı konsantrasyonlarında anlamlı bir farklılık yoktur ancak kontrol grubu yağ eklenmiş örneklere göre anlamlı şekilde yüksek düzeydedir yedinci gün verileri arasında kontrol grubu biberiye yağı uygulanan örneklere göre anlamlı düzeyde yüksektir sonuçlar karşılaştırıldığında yedinci gün değerleri diğer günlere göre daha yüksek hücre yoğunluğuna ulaşmıştır Şekil 4.16 (B)'de, 4 °C'deki 1. gün verileri incelendiğinde, hiçbir konsantrasyonda anlamlı bir azalma gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ), yani ilk gün düşük sıcaklıkta da biberiye yağı etkili olmamıştır. 4. gün sonuçlarında, 0,5 ve 0,25 MİK konsantrasyonun anlamlı bir inhibisyon sağladığı belirlenmiştir ( $p<0,05$ ); diğer konsantrasyonlar ise kontrol grubuyla istatistiksel olarak benzer düzeydedir ( $p>0,05$ ). 7. gün verileri ise 0,5 biberiye yağı uygulamasının bakteriyel hücre yoğunluğunu anlamlı şekilde düşürdüğünü ortaya koymuştur ( $p<0,05$ ), 0,25 ve 0,125 MİK konsantrasyonlarında da benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ),

Biyofilm üretimine ilişkin 25 °C'deki veriler Şekil 4.16 (C)'de sunulmuştur. 1. gün incelendiğinde yalnızca 0,5 konsantrasyon kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük biyofilm üretimi sağlamıştır ( $p<0,05$ ); diğer konsantrasyonlarda biberiye yağı miktarı azaldıkça hücre üretiminde anlamlı bir artış görülmüştür ve kontrol grubu biberiye yağı uygulanan örneklere göre anlamlı şekilde yüksektir ( $p<0,05$ ). 4. gün tüm günlere kıyasla en yüksek biyofilm üretimine sahip gündür. 4. gün 0,5 MİK grubunda anlamlı azalma gözlenmiş ( $p<0,05$ ), 0,25 ve 0,125 MİK grubunda herhangi bir anlamlı farklılık gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). 7. gün verileri, yalnızca 0,5 MİK konsantrasyonda biyofilm üretiminde anlamlı azalma sağlandığını göstermiştir ( $p<0,05$ ), 0,25 ve 0,125 MİK değerleri 0,5 MİK' e göre artış gösterirken kendi içlerinde anlamlı farklılığa sahip değillerdir ( $p>0,05$ ). Bu durum, 25 °C'de biyofilm üretiminin özellikle 4. ve 7. günlerde kontrol grubunda çok daha yüksek değerlere ulaştığını ve yalnızca yüksek konsantrasyonun bu artışı baskılayabildiğini göstermektedir. Şekil 4.16 (D)'de, 4 °C'deki biyofilm üretim verileri 1. gün için

değerlendirildiğinde, yalnızca 0,5 biberiye yağı uygulaması kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma sağlamıştır ( $p<0,05$ ). 0,25 ve 0,125 MİK gruplarında fark gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ). 4. gün sonuçları, hem 0,5 hem de 0,25 konsantrasyonlarının kontrol grubuna kıyasla biyofilm üretimini anlamlı şekilde azalttığını göstermektedir ( $p<0,05$ ); 0,125 grubu ise yine etkisiz kalmıştır ( $p>0,05$ ). 7. gün ölçümlerinde ise 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK uygulamaları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmalar ( $p<0,05$ ) sağlarken yağ konsantrasyonunun etkisi anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).



**Şekil 4.16: Biberiye Yağının YB91 Suşunun 25°C (A) ve 4°C'de (B) Hücre Yoğunluğuna Etkisi ile 25°C (C) ve 4°C'de (D) Biyofilm Üretimi**

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Dikey çubuklardaki küçük harfler, aynı gün ve sıcaklıktaki farklı biberiye yağı konsantrasyonları arasındaki, büyük harfler aynı gün ve biberiye yağı konsantrasyonundaki farklı sıcaklık değerleri arasındaki istatistiksel ilişkiyi göstermektedir ( $p<0,05$ ).

Elde edilen veriler defne veya biberiye yağı uygulanmayan (0) kontrol grubuna göre bazı MİK altı konsantrasyonlarda esansiyel yağ izolatların biyofilm üretimini etkilediği ve önemli ölçüde azalttığı ( $p<0.05$ ) belirlenmiştir. Ancak biyofilm oluşumunda her zaman konsantrasyona bağlı bir azalma gözlenmemiştir. Elde edilen sonuçlar literatürdeki bazı çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Farklı esansiyel yağlar kullanarak *P. aeruginosa* suşunun biyofilm üretimiyle ilgili yapılan çalışmalarda esansiyel yağların engelleyici etkisinin olduğunu ancak her zaman konsantrasyona bağlı olarak biyofilm oluşumunda azalmaya neden olmadığını bildirmişlerdir (Pejčić vd., 2020; Artini vd., 2018)

Test edilen bazı izolatlarda konsantrasyona bağlı olarak biyofilm üretiminde azaltıcı etki gözlenmemiş bunun aksine defne veya biberiye yağı uygulanmayan (0) kontrol grubuna göre daha fazla biyofilm üretimi olmuş ve esansiyel yağlar biyofilm üretimini teşvik etmiştir ya da esansiyel yağ konsantrasyonunun azalması biyofilm üretiminde de azalmaya neden olmuştur. Örneğin defne yağı için YB91 4°C 1. gün 0,5-0,25 MİK ve 4°C 4. gün 0,5-0,25 MİK konsantrasyonlarıdır ve 0,125 MİK konsantrasyondan yüksek biyofilm üretimi gerçekleştirmişlerdir. Biberiye yağı eklenmiş örneklerde ise *P. aeruginosa* ATCC 27853 4°C 4. gün 0,125 MİK, YK107 25°C 4. gün 0,5-0,25-0,125 MİK, YB43 25°C 1. gün 0,5-0,25-0,125 MİK, YK50 4°C 7. gün 0,5-0,25-0,125 MİK, YB91 25°C 4. gün 0,25 MİK, kontrol (0) grubundan yüksek biyofilm üretmiştir.

Literatürde, çalışmamızla benzer bulgulara ulaşan araştırmalara rastlanmaktadır. Bu benzerliğin olası nedeni olarak, yüksek konsantrasyonların bakteriler üzerinde stres oluşturarak, bakterinin savunma mekanizması olarak EPS üretimini artırması ve bunun sonucunda hem yapışmanın artması hem de toksik etkilere karşı bir yanıt gelişmesi öne sürülmektedir (Aquino ve Stuckey, 2004; Niu ve Gilbert, 2004; Fang, Xu ve Chan, 2002). Ayrıca, bazı çalışmalarda bitkisel metabolitlerin *Pseudomonas aeruginosa* ve klinik *Pseudomonas* izolatlarında biyofilm üretimini teşvik edebildiği

ve bu yolla biyofilm oluşumunu artırabildiği de belirtilmektedir (Pejčić vd., 2020; Zodrow, Schiffman ve Elimelech, 2012; Sandasi vd., 2011).

Elde edilen bulgular doğrultusunda, defne ve biberiye esansiyel yağlarının MİK altındaki konsantrasyonlarının, *Pseudomonas* izolatlarının biyofilm üretimini çoğunlukla baskılayıcı etki gösterdiği ve bu etkinin özellikle 0,5 MİK düzeyinde daha belirgin olduğu söylenebilir. Bu durum, defne ve biberiye esansiyel yağlarının da *Pseudomonas* türlerinin biyofilm oluşumunu engelleyebilecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak, defne ve biberiye yağlarının MİK altı konsantrasyonlarda hem planktonik hücrelerin çoğalmasını hem de biyofilm gelişimini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde inhibe etmiştir ( $p < 0,05$ ).

#### **4.5. Defne ve Biberiye Yağının *Pseudomonas* İzolatlarının Hareketliliği Üzerine Etkisi**

Hareketlilik testleri için, seğirme, kaynaşma ve yüzme hareket testlerine özel agar hazırlanıp 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK altı konsantrasyonlarında defne ve biberiye yağı ile %0,5 (v/v) Tween 80 eklenmiştir. Kontrol sadece %0,5 (v/v) Tween 80 içermektedir. Tablo 4.9'da defne yağının referans suşlar ve izolatların seğirme hareketi bölge çapları (mm) verilmiştir. Tablo 4.10'da ise referans suşlar ve izolatların agar üzerindeki seğirme hareketi görünümü ve defne yağı konsantrasyonuna bağlı olarak hareket çapındaki azalmanın net bir şekilde gözlemlendiği görülmektedir.

Bu çalışmada, farklı *Pseudomonas* suşlarının defne yağına karşı seğirme hareketi düzeyleri incelenmiş ve yağın konsantrasyonu arttıkça bakteriyel hareketlilikte belirgin bir azalma gözlenmiştir. Elde edilen veriler, defne yağının tüm suşlarda motiliteyi konsantrasyona bağlı olarak baskıladığını ortaya koymaktadır. Kontrol gruplarında ölçülen seğirme hareketi çapları, suşların doğal motilite potansiyelini yansıtmış olup, defne yağı uygulanan gruplarda bu değerlerin kademeli olarak azaldığı tespit edilmiştir. Özellikle 0,5 MİK konsantrasyonunda, seğirme çaplarının en düşük seviyelere ulaştığı ve bakteriyel hareketliliğin ciddi ölçüde engellendiği gözlemlenmiştir.

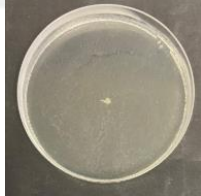
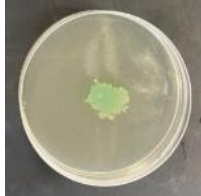
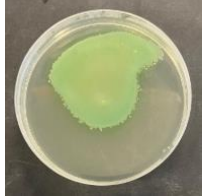
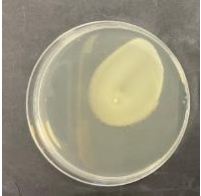
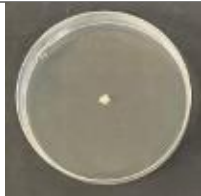
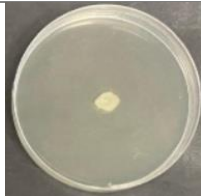


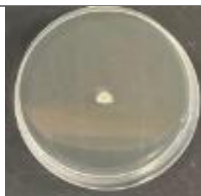
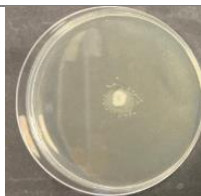
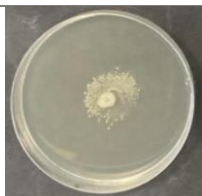

**Tablo 4.9: Farklı Defne Yağı Konsantrasyonlarının *Pseudomonas* Suşlarının Seğirme Hareketi Bölge Çapları (mm)**

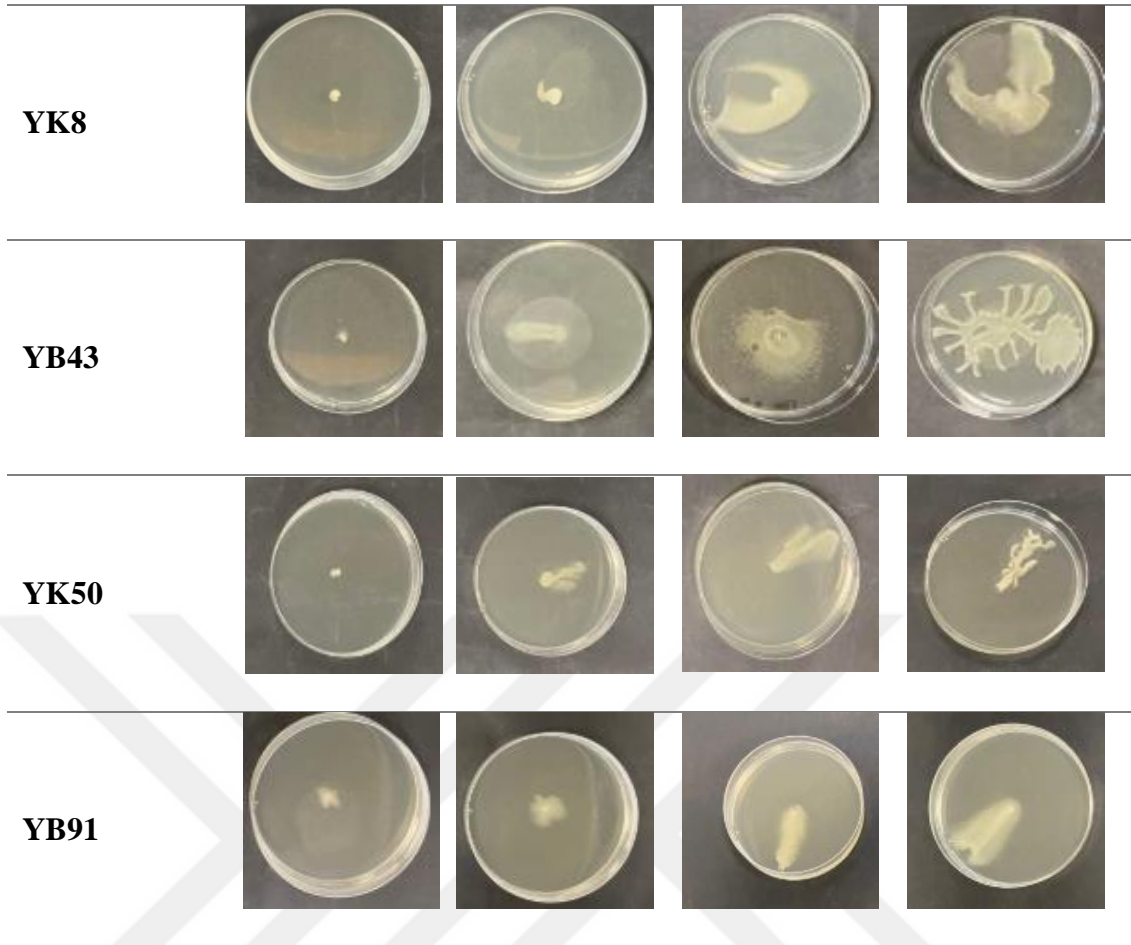
İzolatlar	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	Kontrol
ATCC 27853	5,00±1,00 <sup>d</sup>	28,30±1,53 <sup>c</sup>	34,40±1,41 <sup>b</sup>	51,50±2,38 <sup>a</sup>
ATCC 4973	6,00±1,41 <sup>d</sup>	13,5±2,12 <sup>c</sup>	31,5±2,12 <sup>b</sup>	52,5±3,53 <sup>a</sup>
YK 107	6,75±0,957 <sup>d</sup>	20,7±1,52 <sup>c</sup>	33,0±1,41 <sup>b</sup>	49,5±0,70 <sup>a</sup>
YK 8	5,67±1,52 <sup>d</sup>	13,00±2,82 <sup>c</sup>	45,0±1,41 <sup>b</sup>	54,50±2,12 <sup>a</sup>
YB 43	6,67±0,05 <sup>c</sup>	17,50±3,53 <sup>b</sup>	46,50±2,12 <sup>a</sup>	52,67±2,08 <sup>a</sup>
YK 50	4,00±1,00 <sup>c</sup>	6,5±1,29 <sup>c</sup>	16,50±0,70 <sup>b</sup>	43,00±0,00 <sup>a</sup>
YB 91	9,00±1,41 <sup>c</sup>	12,50±0,70 <sup>c</sup>	40,00±0,00 <sup>b</sup>	48,00±2,82 <sup>a</sup>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA (p < 0.05) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

**Tablo 4.10: Referans suşlar ve izolatların Seğirme Hareketine Farklı Defne Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü**

İZOLATLAR	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	KONTROL
ATCC 27853				
ATCC 4973				
YK107				



**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Tablo 4.11’de defne yağının referans suşlar ve izolatların yüzme hareketi bölge çapları (mm) verilmiştir. Sunulan veriler, farklı *Pseudomonas* suşlarının defne yağına maruz kaldıklarında yüzme hareketi kapasitelerinde meydana gelen değişimleri ortaya koymaktadır. Bulgular, defne yağı konsantrasyonundaki azalma ile birlikte yüzme hareketi çaplarının arttığını, dolayısıyla yüksek konsantrasyonlarda yağın bakteriyel motiliteyi belirgin biçimde baskıladığını göstermektedir. Tüm suşlarda, 0,5 MİK uygulamasında yüzme çapları en düşük düzeyde kalmış; 0,25 MİK’te bu değerlerde kısmi bir artış gözlemlenmiş ve 0,125 MİK uygulamasında ise çapların bazı suşlarda kontrol grubuna yakınladığı tespit edilmiştir.

Bu durum, defne yağının konsantrasyonuna bağlı olarak yüzme motilitesinde doz-bağımlı bir azalmaya neden olduğunu ve bu etkinin özellikle yüksek konsantrasyonlarda daha belirgin hâle geldiğini ortaya koymaktadır. Kontrol gruplarında gözlemlenen yüksek çap değerleri, her bir suşun doğal hareket kabiliyetini temsil etmekte olup, bu değerlere kıyasla defne yağı varlığında yüzme

çaplarının belirgin şekilde daraldığı görülmektedir. Tablo 4.12’de ise referans suşlar ve izolatların agar üzerindeki yüzme hareketi görünümü ve defne yağı konsantrasyonuna bağlı olarak hareket çapındaki azalmanın gözlemlendiği görülmektedir.





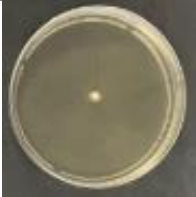



**Tablo 4.11: Farklı Defne Yağı Konsantrasyonların *Pseudomonas* Suşlarının Yüzme Hareketi Bölge Çapları (mm)**

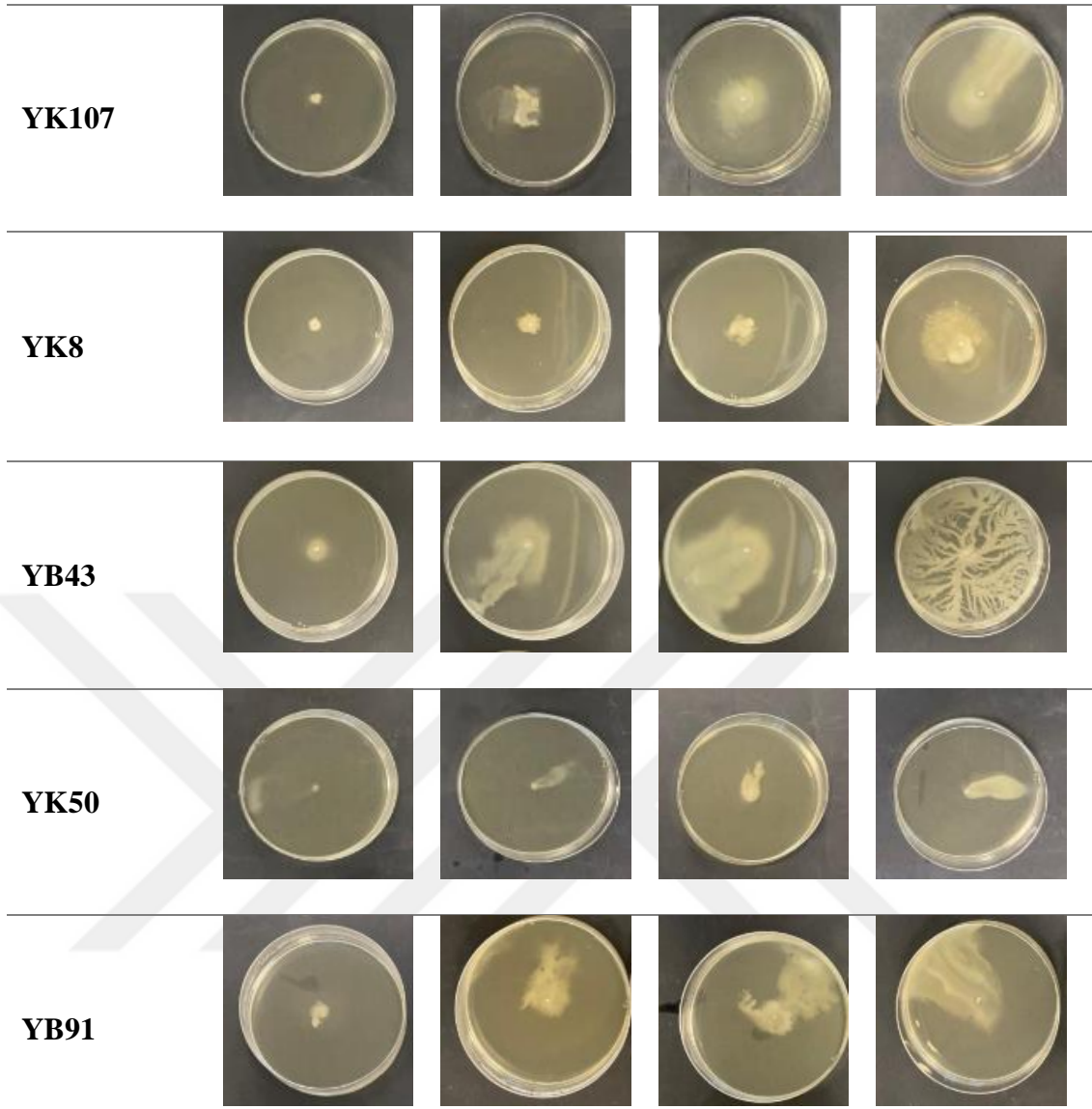
İzolatlar	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	Kontrol
ATCC 27853	7,00±1,00 <sup>c</sup>	8,00±1,00 <sup>b,c</sup>	10,70±0,58 <sup>b</sup>	56,50±2,12 <sup>a</sup>
ATCC 4973	7,80±2,17 <sup>c</sup>	14,20±0,96 <sup>b</sup>	17,00±0,00 <sup>b</sup>	49,00±1,41 <sup>a</sup>
YK 107	7,50±0,58 <sup>d</sup>	16,00±1,00 <sup>c</sup>	43,50±3,54 <sup>b</sup>	58,00±2,83 <sup>a</sup>
YK 8	7,60±1,95 <sup>c</sup>	12,3±2,22 <sup>b</sup>	17,30±2,08 <sup>a,b</sup>	22,5±3,54 <sup>a</sup>
YB 43	17,00±0,00 <sup>c</sup>	49,00±1,73 <sup>b</sup>	47,50±0,71 <sup>b</sup>	78,75±2,50 <sup>a</sup>
YK 50	5,00±0,00 <sup>c</sup>	40,50±0,71 <sup>b</sup>	46,00±1,41 <sup>b</sup>	62,50±4,95 <sup>a</sup>
YB 91	20,50±2,12 <sup>d</sup>	54,30±1,15 <sup>c</sup>	62,33±3,21 <sup>b</sup>	75,50±2,12 <sup>a</sup>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA (p < 0.05) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

**Tablo 4.12: Referans suşlar ve izolatların Yüzme Hareketine Farklı Defne Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü**

İZOLATLAR	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	KONTROL
ATCC 27853				
ATCC 4973				



**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Tablo 4.13’de defne yağının referans suşlar ve izolatların kaynaşma hareketi b6lge çapları (mm) verilmiştir. Tablo 4.14’te ise referans suşlar ve izolatların agar üzerindeki kaynaşma hareketi g6rnm verilmiştir. Elde edilen bulgular, defne yağı konsantrasyonu arttıa tüm suşlarda kaynaşma hareketinin belirgin şekilde baskılandığını ortaya koymaktadır. En yüksek konsantrasyon olan 0,5 MİK düzeyinde kaynaşma çapları tüm suşlarda minimum seviyede gerçekleşmiş, bu da yüksek dozda defne yağının motiliteyi ciddi 6lde inhibe ettiğini g6stermiştir. 0,25 MİK düzeyinde kaynaşma çaplarında genel bir artış g6zlenmiş, ancak bu artış suşlara g6re değişkenlik g6stermiştir. 0,125 MİK uygulamasında ise çapların belirgin şekilde arttığı ve birçok suşta kontrol grubu değerlerine oldukça yaklaştığı dikkat çekmiştir.









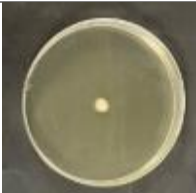
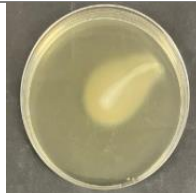


**Tablo 4.13: Farklı Defne Yağı Konsantrasyonlarının *Pseudomonas* Suşlarının Kaynaşma Hareketi Bölge Çapları (mm)**

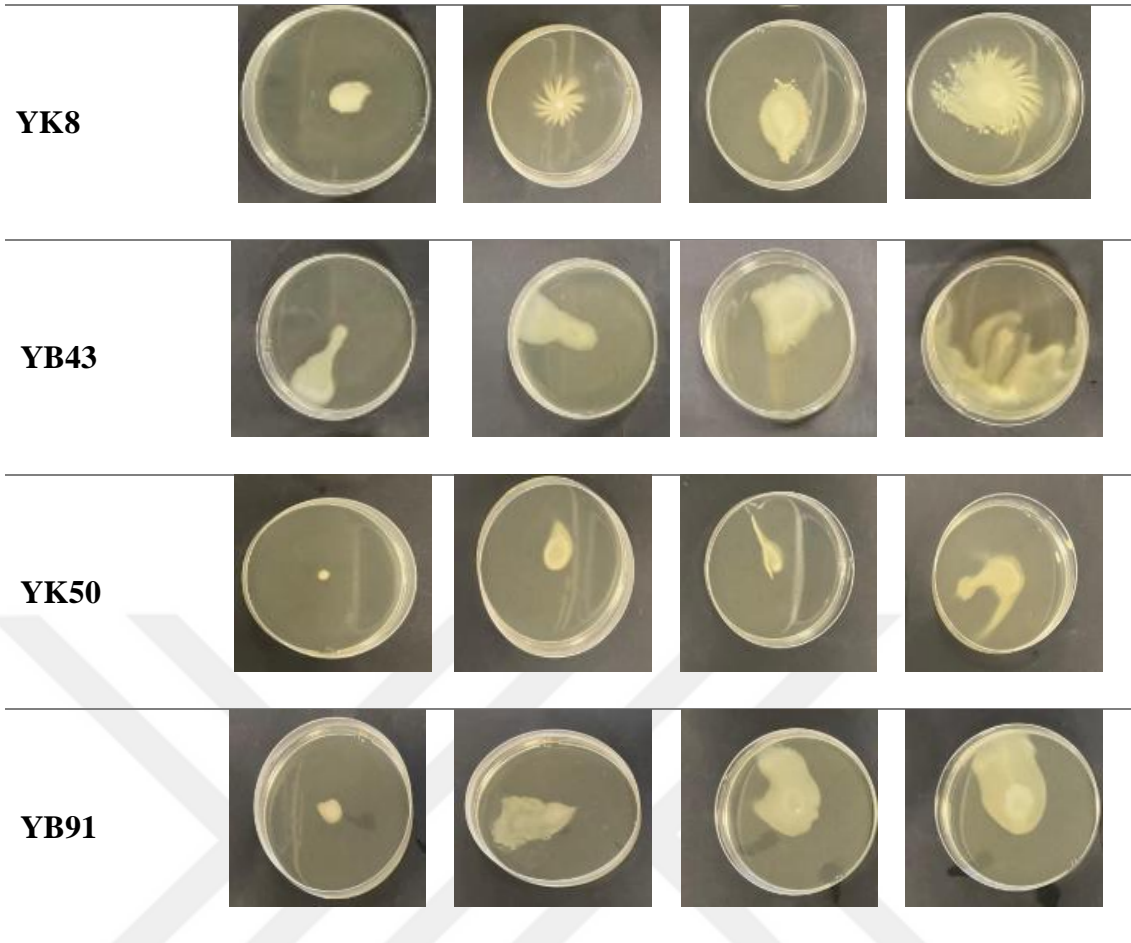
İzolatlar	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	Kontrol
ATCC 27853	8,00±0,00 <sup>c</sup>	11,00±2,83 <sup>c</sup>	27,50±4,95 <sup>b</sup>	52,00±1,83 <sup>a</sup>
ATCC 4973	11,50±2,12 <sup>d</sup>	18,00±1,41 <sup>c</sup>	46,00±1,41 <sup>b</sup>	53,50±0,71 <sup>a</sup>
YK 107	11,30±4,16 <sup>c</sup>	40,70±1,53 <sup>b</sup>	48,70±1,53 <sup>a</sup>	52,30±2,08 <sup>a</sup>
YK 8	15,00±0,00 <sup>c</sup>	25,50±2,12 <sup>b</sup>	58,50±2,12 <sup>a</sup>	62,50±0,71 <sup>a</sup>
YB 43	43,00±1,00 <sup>c</sup>	48,00±1,41 <sup>b</sup>	50,00±0,00 <sup>b</sup>	63,50±2,12 <sup>a</sup>
YK 50	5,00±1,73 <sup>d</sup>	23,00±2,00 <sup>c</sup>	35,50±0,58 <sup>b</sup>	42,50±2,12 <sup>a</sup>
YB 91	37,70±1,53 <sup>c</sup>	49,00±1,00 <sup>b</sup>	50,80±1,50 <sup>a,b</sup>	54,50±2,12 <sup>a</sup>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA ( $p < 0.05$ ) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

**Tablo 4.14: Referans suşlar ve izolatların Kaynaşma Hareketine Farklı Defne Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Ağarda Görünümü**

İZOLATLAR	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	KONTROL
ATCC 27853				
ATCC 4973				
YK107				



**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Üç hareket tipi karşılaştırıldığında, kaynaşma hareketinin defne yağına karşı daha duyarlı olduğu ve yüksek konsantrasyonlarda en belirgin inhibisyonun bu hareket formunda meydana geldiği görülmüştür. Yüzme ve seğirme hareketlerinde de benzer bir azalma eğilimi gözlenmiş olsa da, bazı suşlarda düşük konsantrasyonlarda hareket kabiliyetinin kısmen korunabildiği anlaşılmaktadır. Bu durum, defne yağının motilite üzerindeki etkisinin yalnızca yoğunlukla değil, aynı zamanda hareket formunun doğasına göre de değişkenlik gösterebileceğini düşündürmektedir.

Tablo 4.15'te biberiye yağının referans suşlar ve izolatların seğirme hareketi bölge çapları (mm) verilmiştir Tablo 4.16'da ise referans suşlar ve izolatların agar üzerindeki seğirme hareketi görünümü verilmiştir. Biberiye yağı farklı konsantrasyonlarda *Pseudomonas* suşlarının seğirme hareketi üzerinde anlamlı derecede etkili olmuştur ( $p < 0,05$ ). Genel olarak değerlendirildiğinde, biberiye yağı konsantrasyonu azaldıkça seğirme hareketi bölge çaplarının arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum, yüksek biberiye yağı konsantrasyonlarının seğirme hareketini baskılayıcı

etki gösterdiğini; buna karşın konsantrasyonun azaltılmasıyla birlikte bu baskılayıcı etkinin azaldığını ve bakteriyel motilitenin yeniden arttığını ortaya koymaktadır. Tüm izolatlar dikkate alındığında, kontrol gruplarında en yüksek seğirme hareketi çapları ölçülmüş; bu da herhangi bir inhibitör ajan (biberiye yağı) bulunmadığında suşların doğal motilite yeteneklerini daha etkin şekilde ortaya koyabildiğini göstermektedir.

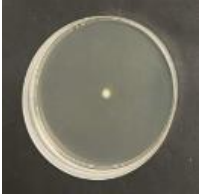


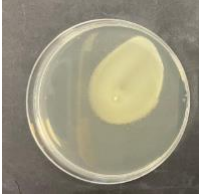
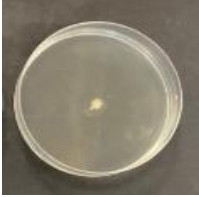
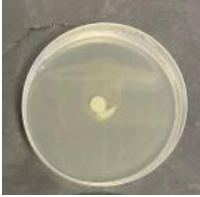
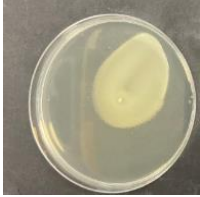
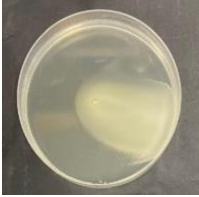
**Tablo 4.15: Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının *Pseudomonas* Suşlarının Seğirme Hareketi Bölge Çapları (mm)**

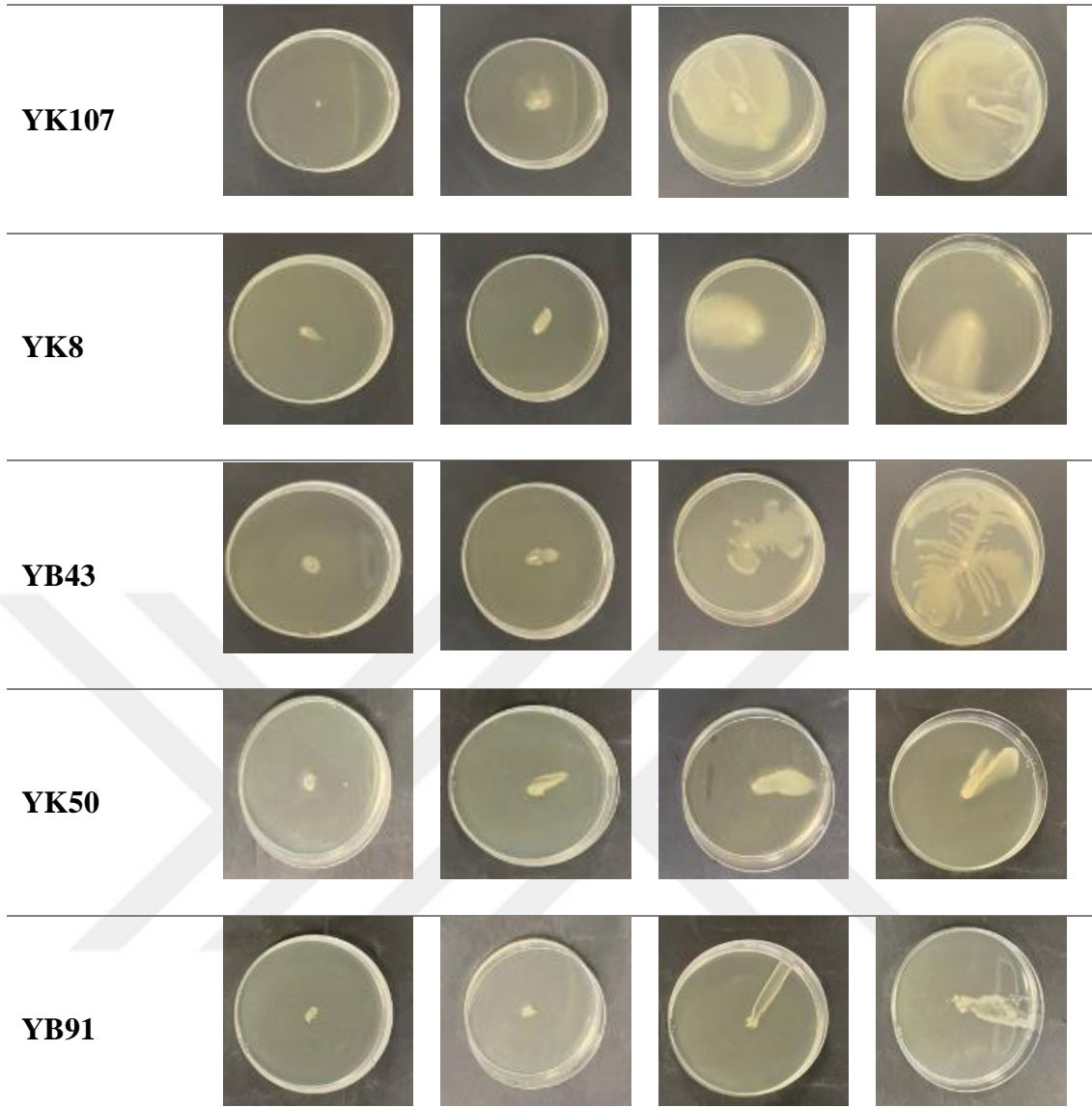
İzolatlar	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	Kontrol
ATCC 27853	6,30±0,57 <sup>c</sup>	7,50±0,70 <sup>c</sup>	14,00±2,82 <sup>b</sup>	50,50±0,70 <sup>a</sup>
ATCC 4973	9,00±0,00 <sup>b</sup>	10,50±2,12 <sup>b</sup>	42,00±0,00 <sup>a</sup>	46,00±1,41 <sup>a</sup>
YK 107	2,75±0,95 <sup>d</sup>	17,00±2,00 <sup>c</sup>	53,50±2,12 <sup>b</sup>	75,00±3,46 <sup>a</sup>
YK 8	40,00±0,00 <sup>d</sup>	46,33±1,52 <sup>c</sup>	49,33±0,57 <sup>b</sup>	53,00±1,00 <sup>a</sup>
YB 43	12,00±1,00 <sup>d</sup>	18,00±2,00 <sup>c</sup>	57,30±2,08 <sup>b</sup>	82,70±2,51 <sup>a</sup>
YK 50	4,50±0,57 <sup>c</sup>	6,75±0,95 <sup>b</sup>	8,67±0,57 <sup>a,b</sup>	43,00±0,00 <sup>a</sup>
YB 91	7,00±1,00 <sup>c</sup>	11,00±1,73 <sup>c</sup>	22,00±2,64 <sup>b</sup>	47,00±4,24 <sup>a</sup>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA (p < 0.05) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

**Tablo 4.16: Referans suşlar ve izolatların Seğirme Hareketine Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü**

İZOLATLAR	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	KONTROL
ATCC 27853				
ATCC 4973				



**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Tablo 4.17’de biberiye yağının referans suşlar ve izolatların yüzme hareketi bölge çapları (mm) verilmiştir. Tablo 4.18’de ise referans suşlar ve izolatların agar üzerindeki görünümü verilmiştir. Tablo 4.13 incelendiğinde, biberiye yağı konsantrasyonlarının *Pseudomonas* suşlarının yüzme hareketi bölge çapları üzerinde anlamlı farklılıklara neden olduğu görölmektedir ( $p < 0,05$ ). Genel olarak, biberiye yağı konsantrasyonu yüzme hareketi çaplarının arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, yüksek konsantrasyonlardaki biberiye yağının bakteriyel motiliteyi baskıladığı, ancak konsantrasyon düştükçe bu baskılayıcı etkinin azaldığına işaret etmektedir.

Bütün suşlar dikkate alındığında, kontrol gruplarında en yüksek yüzme çaplarının gözlemlenmesi, herhangi bir antimikrobiyal ajan etkisi olmadan bakterilerin

maksimum hareket kabiliyetine ulaştığını göstermektedir. Özellikle ATCC 27853, ATCC 4973, YB 43 ve YB 91 suşlarında, düşük biberiye yağı konsantrasyonlarında hareket çaplarının anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir. Bu durum, biberiye yağının yüzme hareketi üzerinde doza bağımlı bir inhibitör etki gösterdiğini ve bu etkinin suşlara göre değişkenlik gösterebildiğini ortaya koymaktadır. Bazı suşlar (örneğin YK 107 ve YK 50), düşük konsantrasyonlarda belirgin motilite artışı gösterirken, yüksek konsantrasyonlara karşı daha duyarlı davranmış ve hareket çapları belirgin şekilde azalmıştır.





**Tablo 4.17: Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının *Pseudomonas* Suşlarının Yüzme Hareketi Bölge Çapları (mm)**

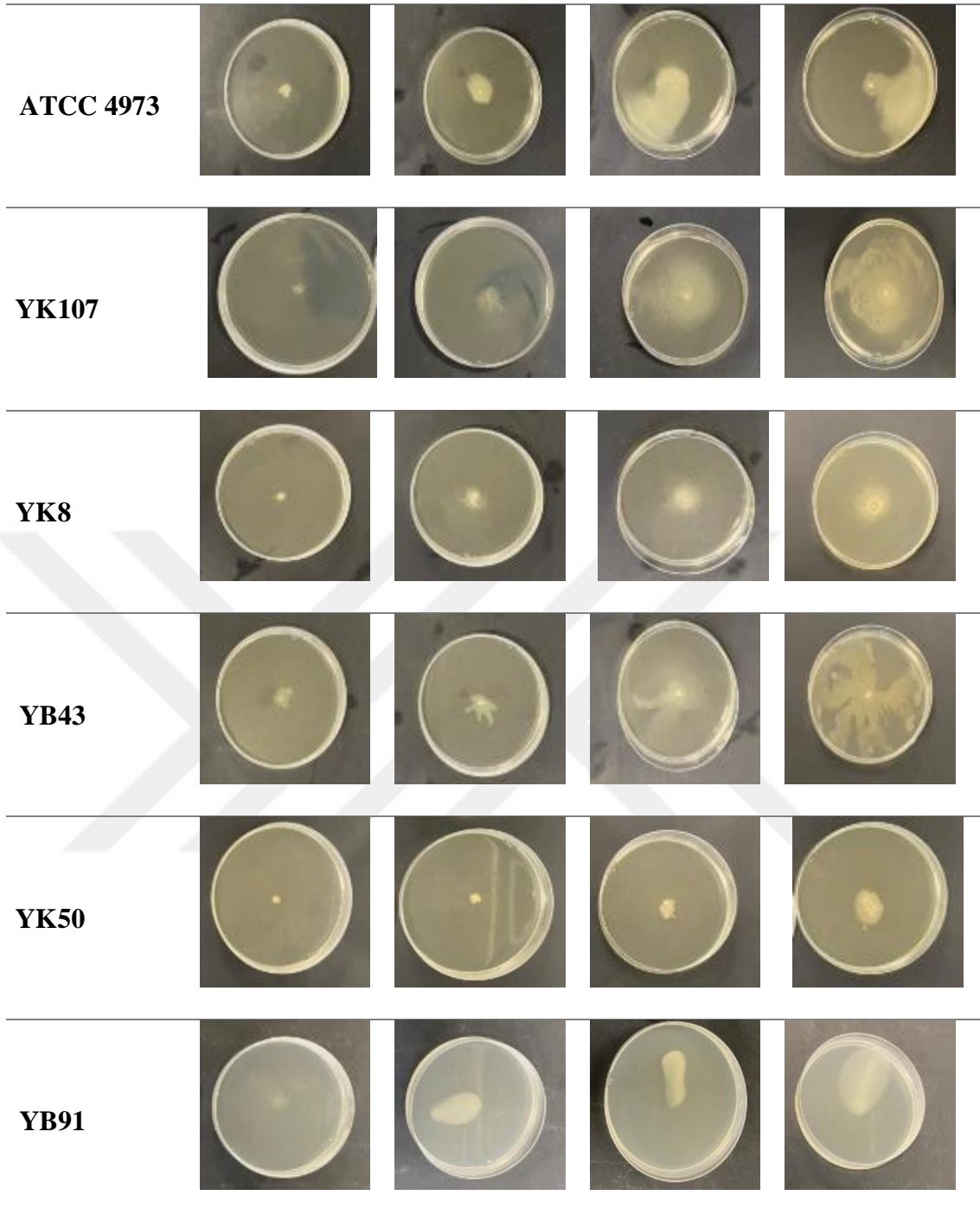
İzolatlar	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	Kontrol
ATCC 27853	6,50±2,12 <sup>d</sup>	13,33±0,57 <sup>c</sup>	24,00±2,64 <sup>b</sup>	52,00±1,41 <sup>a</sup>
ATCC 4973	10,33±1,52 <sup>d</sup>	20,50±0,71 <sup>c</sup>	25,50±0,70 <sup>b</sup>	43,00±1,41 <sup>a</sup>
YK 107	5,33±1,15 <sup>c</sup>	38,00±4,24 <sup>b</sup>	57,50±3,53 <sup>a</sup>	65,70±2,08 <sup>a</sup>
YK 8	6,67±0,57 <sup>c</sup>	14,50±3,53 <sup>b,c</sup>	17,50±3,53 <sup>b</sup>	29,50±3,53 <sup>a</sup>
YB 43	24,50±3,53 <sup>c</sup>	47,00±2,82 <sup>b</sup>	52,00±3,00 <sup>b</sup>	79,00±0,14 <sup>a</sup>
YK 50	10,50±0,70 <sup>c</sup>	20,33±2,51 <sup>b</sup>	24,00±1,41 <sup>b</sup>	35,00±4,24 <sup>a</sup>
YB 91	26,00±1,41 <sup>c</sup>	31,00±1,41 <sup>c</sup>	48,00±2,82 <sup>b</sup>	65,00±2,82 <sup>a</sup>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA (p < 0.05) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

**Tablo 4.18: Referans suşlar ve izolatların Yüzme Hareketine Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü**

İZOLATLAR	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	KONTROL
ATCC 27853				



**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Tablo 4.19’da defne yağının referans suşlar ve izolatların kaynaşma hareketi bölge çapları (mm) verilmiştir. Tablo 4.20’de ise referans suşlar ve izolatların agar üzerindeki kaynaşma hareketi görünümü verilmiştir. Tablo 4.15’de sunulan verilere göre, biberiye yağı farklı konsantrasyonlarda *Pseudomonas* suşlarının kaynaşma hareketi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkiler göstermektedir ( $p<0,05$ ). Genel eğilim incelendiğinde, biberiye yağı konsantrasyonu azaldıkça kaynaşma hareketi

bölge çaplarında artış meydana geldiği gözlemlenmiştir. Bu durum, biberiye yağının yüksek konsantrasyonlarda motiliteyi baskılayıcı bir etki oluşturduğunu; ancak konsantrasyon düştükçe bu etkinin azaldığını ve bakterilerin motilite yeteneğini yeniden kazandığını ortaya koymaktadır.

Tüm suşlar genelinde, kontrol gruplarında en yüksek kaynaşma çaplarının ölçülmüş olması, biberiye yağı uygulaması yapılmadığında bakterilerin kaynaşma hareketini maksimum düzeyde gerçekleştirebildiklerini göstermektedir. Düşük konsantrasyonlara geçildikçe (özellikle 0,125 MİK), birçok suşta kaynaşma çaplarında belirgin bir artış kaydedilmiş; bu da biberiye yağının motiliteyi konsantrasyona bağlı olarak inhibe ettiğini desteklemektedir. Bazı suşlar, biberiye yağının konsantrasyonuna oldukça duyarlı tepki verirken, diğer bazı suşlarda motilite üzerindeki etki daha dengeli ve istikrarlı bir dağılım göstermiştir. Bu durum, biberiye yağının etkisinin yalnızca doza değil, aynı zamanda suşun genetik yapısına da bağlı olduğunu göstermektedir.

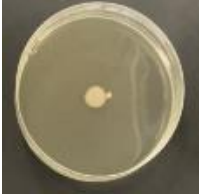
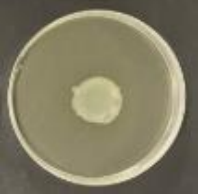

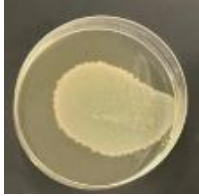










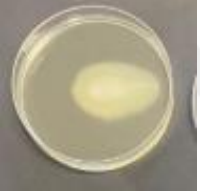





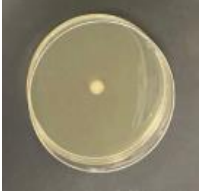

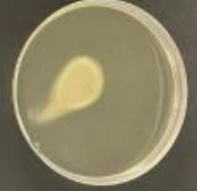
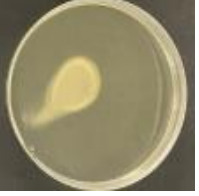




**Tablo 4.19: Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının *Pseudomonas* Suşlarının Kaynaşma Hareketi Bölge Çapları (mm)**

İzolatlar	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	Kontrol
ATCC 27853	15,50±0,70 <sup>c</sup>	40,67±2,30 <sup>b</sup>	50,50±0,70 <sup>a</sup>	54,50±0,70 <sup>a</sup>
ATCC 4973	26,50±0,70 <sup>c</sup>	39,00±1,73 <sup>b</sup>	47,5±0,70 <sup>a</sup>	49,50±0,70 <sup>a</sup>
YK 107	20,00±2,82 <sup>b</sup>	50,33±2,88 <sup>a</sup>	54,00±0,00 <sup>a</sup>	56±50±0,70 <sup>a</sup>
YK 8	32,67±0,57 <sup>c</sup>	47,50±3,53 <sup>b</sup>	53,50±0,70 <sup>a,b</sup>	56,00±1,41 <sup>a</sup>
YB 43	19,00±2,64 <sup>c</sup>	46,00±2,64 <sup>b</sup>	53,50±0,70 <sup>a,b</sup>	61,50±3,53 <sup>a</sup>
YK 50	17,67±1,58 <sup>c</sup>	21,50±2,12 <sup>b</sup>	26,00±2,82 <sup>b</sup>	38,00±4,24 <sup>a</sup>
YB 91	20,50±0,70 <sup>d</sup>	46,00±2,82 <sup>c</sup>	49,00±1,41 <sup>b</sup>	58,50±2,12 <sup>a</sup>

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

\*Veriler ortalama değer ± standart sapma olarak verilmiştir. ANOVA (p < 0.05) ve ardından Tukey Testi yapılmıştır.

**Tablo 4.20: Referans suşlar ve izolatların Kaynaşma Hareketine Farklı Biberiye Yağı Konsantrasyonlarının Etkisinin Agarda Görünümü**

İZOLATLAR	0,5 MİK	0,25 MİK	0,125 MİK	KONTROL
ATCC 27853				
ATCC 4973				
YK107				
YK8				
YB43				
YK50				
YB91				

**Kaynak:** Araştırmacı tarafından oluşturulmuştur.

Bu çalışmada elde edilen bulgular, biberiye yağının *Pseudomonas* suşlarının üç temel motilite biçimi olan seğirme, yüzme ve kaynaşma hareketleri üzerinde konsantrasyona bağlı anlamlı bir baskılayıcı etkiye sahip olduğunu göstermektedir ( $p<0,05$ ). Genel eğilim, biberiye yağı konsantrasyonu azaldıkça hareket çaplarında artış, konsantrasyon arttıkça ise düşüş yaşandığını ortaya koymuştur. Bu durum, motilite mekanizmalarının bitkisel kökenli antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılık gösterdiğini ve bu duyarlılığın doza bağımlı olduğunu kanıtlamaktadır.

Her üç motilite türü dikkate alındığında, 0,5 MİK konsantrasyonunda hareket çapları belirgin biçimde azalmış; buna karşın 0,125 MİK düzeyinde, çoğu suшта hareket çapları anlamlı biçimde artmıştır. Bu da, biberiye yağının motiliteyi baskılayıcı etkisinin en güçlü şekilde yüksek konsantrasyonlarda ortaya çıktığını, ancak bu etkinin konsantrasyon azaldıkça kademeli olarak zayıfladığını göstermektedir.

Defne yağı ve biberiye yağı verilerinin karşılaştırılması, her iki uçucu yağın da *Pseudomonas* suşlarının seğirme hareketini konsantrasyona bağlı olarak anlamlı derecede inhibe ettiğini, ancak defne yağının genel olarak daha etkili olduğunu göstermektedir. Defne yağı, özellikle yüksek konsantrasyonlarda (0,5 MİK) daha güçlü bir inhibisyon sergilemiştir. Konsantrasyon-etki ilişkisi incelendiğinde, her iki yağda da inhibisyonun konsantrasyonla arttığı görülmekle birlikte, defne yağı yüksek konsantrasyonlarda daha keskin bir düşüş sağlarken, biberiye yağının etkisi daha kademeli gerçekleşmiştir. Bu bulgular ışığında, defne (*Laurus nobilis* L.) yağının, biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) yağına kıyasla *Pseudomonas* suşlarının seğirme hareketini inhibe etmede daha etkili olduğu sonucuna varılabilir. Bu farklılık, her iki yağın sahip olduğu aktif bileşenlerin farklı mekanizmalarla bakteri hareketliliği üzerinde etkili olmasından kaynaklanıyor olabilir sonucuna varılmıştır.

Defne yağı ve biberiye yağı verilerinin karşılaştırılması, *Pseudomonas* suşlarının yüzme hareketi inhibisyonunda defne yağının daha etkili olduğunu göstermektedir. Defne yağı, özellikle yüksek konsantrasyonlarda (0,5 MİK) belirgin şekilde düşük hareket çapları sağlamıştır. Biberiye yağı ise düşük konsantrasyonlarda (0,125 MİK) bazı suşlarda (YK 107, YB 43) daha yüksek hareket çaplarına izin vermiştir. Bu bulgular, defne yağının yüzme hareketini baskılamada daha güçlü ve tutarlı bir etkiye sahip olduğunu desteklemektedir.

Defne yağı ve biberiye yağı verilerinin karşılaştırılması, *Pseudomonas* suşlarının kaynaşma hareketi inhibisyonunda defne yağının belirgin şekilde daha etkili olduğunu göstermektedir. Defne yağı, tüm konsantrasyonlarda (özellikle 0,5 MİK'de) biberiye yağına kıyasla önemli ölçüde daha düşük hareket çapları sağlamıştır. Biberiye yağı ise özellikle düşük konsantrasyonlarda (0,125 MİK) kayda değer yüksek hareket çaplarına izin vermiştir. Bu sonuçlar, defne yağının kaynaşma hareketini engellemede daha güçlü ve tutarlı bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır (ANOVA, Tukey;  $p < 0,05$ ).

Çalışmamızla uyumlu olarak Bai ve Vittal'in (2014) çalışması, *Rosmarinus officinalis*, uçucu yağlarının *P. aeruginosa* PAO1'in yüzme hareketini %22,2, seğirme hareketini %57.14, kaynaşma hareketini ise %61.53 oranlarında azalttığı sonucuna varmıştır. Molina vd. (2020)'de yaptıkları defne özlerinin *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşumunu %40'a kadar inhibe ettiğini ve kaynaşma hareket aktivitesini engellediği sonucuna ulaşmışlardır. Sonuç olarak, elde edilen bulguların diğer çalışmalarla tutarlı olduğu görülmektedir.

## BEŞİNCİ BÖLÜM

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, defne (*Laurus nobilis* L.) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) esansiyel yağlarının, etten elde edilen *Pseudomonas* izolatlarının bozucu faaliyetleri (biyofilm oluşumu ve bakteriyel hareketlilik) üzerine etkisinin incelemesi amaçlanmıştır.

Tez çalışmasında kullanılan defne ve biberiye yağlarının uçucu bileşenleri GC-MS analiziyle tanımlanmış ve görece miktarları belirlenmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre, defne esansiyel yağının temel uçucu bileşenleri  $\alpha$ -pinene (%4,69), sabinene (%13,51),  $\beta$ -pinene (%5,80), 1,8-cineole (%34,80), linalool (4,38) ve  $\alpha$ -terpinyl asetat (%12,50) olarak tespit edilmiştir. Biberiye esansiyel yağının uçucu bileşenleri ise  $\alpha$ -pinene (%19,72), camphene (%9,61), dl-limonene (%7,30), 1,8-cineole (%15,68) ve camphor (%19,93) olarak tespit edilmiştir.

Tez çalışmasında, etten elde edilen 5 *Pseudomonas* izolatı (YK8, YK50, YK107, YB43, YB91) ve 2 referans suş (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas fragi* ATCC 4973) kullanılarak defne ve biberiye yağlarının, *Pseudomonas* türlerinin bozucu faaliyetleri üzerine etkisi incelenmiştir. Defne ve biberiye yağlarının bu suşlar üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri %1-3 (v/v) arasında bulunmuştur. Defne ve biberiye yağlarının bozucu etkisini değerlendirmek için, analizler izolatların yağ içermeyen ve 0,5, 0,25 ve 0,125 MİK değerinde yağ içeren ortamda iki farklı sıcaklık (25°C ve 4°C) ve üç farklı süre (1, 4 ve 7 gün) boyunca geliştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir.

Hücre gelişimi ve biyofilm üretimi spektrofotometrik kantitatif olarak belirlenmiş olup defne ve biberiye yağlarının *Pseudomonas* izolatlarının planktonik hücrelerine karşı etkili bir antimikrobiyal ajan olduğu gösterilmiştir. Ayrıca yağların izolatların biyofilm üretimini azaltmada önemli ölçüde etkili olduğu bulunmuştur (p<0,05).

Defne ve biberiye yağlarının bakteriyel hareketlilik üzerindeki etkisini saptamak için seğirme, yüzme ve kaynaşma hareketleri için özel olan agarlara yağ eklenmeden ve belirlenen oranlarda eklenerek ekimler yapılmış ve oluşan zon bölgelerinin çapları (mm) ölçülmüştür. Defne ve biberiye yağı içeren agarlardaki bölge çapı ile yağ eklenmeyen kontrol grubunun bölge çapı kıyaslanmış ve yağlı petrielerde bakteriyel

harekette önemli azalmalar ( $p < 0,05$ ) elde edilmiştir. Aynı zamanda defne veya biberiye konsantrasyonu arttıkça bakteri hareketliliğinin önemli ölçüde azaldığı da gözlemlenmiştir

Soğuk zincir koşullarında depolanan taze et ürünlerinde, özellikle psikrotrofik özellik gösteren *Pseudomonas* türlerinin neden olduğu bozulma ve kontaminasyon, gıda güvenliği açısından önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmaların bozucu etkilerinin belirlenmesi ve bunların kontrol altına alınması, et ürünlerinin kalitesinin korunması açısından gıda sanayisi için kritik bir konudur. Yapılan çalışmalar, defne ve biberiye gibi bitkisel kökenli esansiyel yağların, *Pseudomonas* türlerine karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini ve etin raf ömrünü uzatmada potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır. Bu iki esansiyel yağın taze etlerde kullanımının, mikrobiyal yükü azaltmada etkili bir yöntem olabileceği gözlenmiştir. Elde edilen veriler, defne ve biberiye yağlarının et bozulmasını önlemede çevre dostu ve sürdürülebilir bir seçenek sunduğunu desteklemektedir.

Günümüzde dünya genelinde bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirme oranı hızla artmakta olup, bu durum gelecekte küresel tüketici sağlığı açısından ciddi bir tehdit oluşturmaktadır. Bu bağlamda, dirençli bakterilere karşı alternatif ve etkili stratejilerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Doğal kaynaklı antimikrobiyal bileşikler arasında yer alan esansiyel yağlar, özellikle antibiyotiklerin etkili olmadığı durumlarda potansiyel bir çözüm olarak dikkat çekmektedir. Defne ve biberiye gibi bitkisel kökenli esansiyel yağların, çoklu ilaç direnci gösteren bakteriler tarafından oluşturulan biyofilm yapılarının inhibisyonunda etkili olabileceği ve bu yolla gıdalarda bozulmayı önleyebileceği değerlendirilmektedir.

## KAYNAKÇA

- Abbot, V., Paliwal, D., Sharma, A., & Sharma, P. (2022). A review on the physicochemical and biological applications of biosurfactants in biotechnology and pharmaceuticals. *Heliyon*, 8(8).
- Abdullah, B. H., Hatem, S. F., & Jumaa, W. (2015). A comparative study of the antibacterial activity of clove and rosemary essential oils on multidrug resistant bacteria. *Pharmaceutical and Biosciences Journal*, 18-22.
- Aburjai, T., Hudaib, M., & Cavrini, V. (2006). Composition of the essential oil from Jordanian germander (*Teucrium polium* L.). *Journal of Essential Oil Research*, 18(1), 97-99.
- Aherne, S. A., Kerry, J. P., & O'Brien, N. M. (2007). Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. *British Journal of Nutrition*, 97(2), 321-328.
- Agunu, A., Yusuf, S., Andrew, G. O., Zezi, A. U., & Abdurahman, E. M. (2005). Evaluation of five medicinal plants used in diarrhoea treatment in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 27-30.
- Ahmed, S. A., Rudden, M., Smyth, T. J., Dooley, J. S., Marchant, R., & Banat, I. M. (2019). Natural quorum sensing inhibitors effectively downregulate gene expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 3521-3535.
- Akgül, A., & Kivanc, M. (1988). Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 6(3), 263-268.
- Akgül, A., Kivanc, M., 1988. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. *International Journal of Food Microbiology* 6(3): 263-268.
- Alberti, L. I. N. D. I. A. N. N., & Harshey, R. M. (1990). Differentiation of *Serratia Marcescens* 274 into swimmer and swarmer cells. *Journal of Bacteriology*, 172(8), 4322-4328.

- Ammendolia, M. G., Di Rosa, R., Montanaro, L., Arciola, C. R., & Baldassarri, L. (1999). Slime production and expression of the slime-associated antigen by staphylococcal clinical isolates. *Journal of clinical microbiology*, 37(10), 3235-3238.
- Andreani, N. A., Martino, M. E., Fasolato, L., Carraro, L., Montemurro, F., Mioni, R., ... & Cardazzo, B. (2014). Tracking the blue: a MLST approach to characterise the *Pseudomonas fluorescens* group. *Food Microbiology*, 39, 116-126.
- Araujo, C., Sousa, M. J., Ferreira, M. F., & Leao, C. (2003). Activity of essential oils from Mediterranean *Lamiaceae* species against food spoilage yeasts. *Journal of food protection*, 66(4), 625-632.
- de Araujo, L. V., Guimarães, C. R., da Silva Marquita, R. L., Santiago, V. M., de Souza, M. P., Nitschke, M., & Freire, D. M. G. (2016). Rhamnolipid and surfactin: Anti-adhesion/antibiofilm and antimicrobial effects. *Food Control*, 63, 171-178.
- Arnaut-Rollier, I., Vauterin, L., De Vos, P., Massart, D. L., Devriese, L. A., De Zutter, L., & Van Hoof, J. (1999). A numerical taxonomic study of the *Pseudomonas* flora isolated from poultry meat. *Journal of Applied Microbiology*, 87(1), 15-28.
- El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E. A., Casabianca, H., ... & Elaissari, A. (2015). Essential oils: From extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1-2), 220-243.
- Azzouz, M. A., & Bullerman, L. B. (1982). Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents. *Journal of Food Protection*, 45(14), 1298-1301.
- Bagge-Ravn, D., Ng, Y., Hjelm, M., Christiansen, J. N., Johansen, C., & Gram, L. (2003). The microbial ecology of processing equipment in different fish industries—analysis of the microflora during processing and following cleaning and disinfection. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 239-250.

- Bai A, J., Vittal, R.R., 2014. Quorum sensing inhibitory and anti-biofilm activity of essential oils and their in vivo efficacy in food systems. *Food Biotechnol.* 28, 269–292.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
- Bakó, C., Balázs, V. L., Kerekes, E., Kocsis, B., Nagy, D. U., Szabó, P., ... & Horváth, G. (2023). Flowering phenophases influence the antibacterial and anti-biofilm effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(1), 168.
- Barni, M. V., Carlini, M. J., Cafferata, E. G., Puricelli, L., & Moreno, S. (2012). Carnosic acid inhibits the proliferation and migration capacity of human colorectal cancer cells. *Oncology Reports*, 27(4), 1041-1048.
- Barni, M. V., Fontanals, A., & Moreno, S. (2009). Study of the antibiotic efficacy of an ethanolic extract from *Rosmarinus officinalis* against *Staphylococcus aureus* in two skin infection models in mice.
- Baratta, M. T., Dorman, H. D., Deans, S. G., Biondi, D. M., & Ruberto, G. (1998). Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6), 618-627.
- Bauer, K., Garbe, D., & Surburg, H. (2008). *Common fragrance and flavor materials: preparation, properties and uses*. John Wiley & Sons.
- Bayaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antimitojenik aktiviteleri. *Akademik Gıda*, 12(3), 45-53.
- Ben Arfa A, Gouja H, Hannachi H, Isoda H, Neffati M, Najjaa H (2022) Seasonal changes in rosemary species: A chemotaxonomic assessment of two varieties based on essential oil compounds, antioxidant and antibacterial activities. *PLoS ONE* 17(8): e0273367.
- Ben-Jacob, E., Cohen, I., & Gutnick, D. L. (1998). Cooperative organization of bacterial colonies: from genotype to morphotype. *Annual Review of Microbiology*, 52(1), 779-806.

- Benziane, Z., & Boukir, A. (2009). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4), 3818-3824.
- Berry, J. L., & Pelicic, V. (2015). Exceptionally widespread nanomachines composed of type IV pilins: the prokaryotic Swiss Army knives. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(1), 134-154.
- Bhourri, N., Debbabi, F., Ben Salem, I., & Ben Abdesslem, S. (2018). Exploitation of essential oil extracted from Tunisian *Laurus nobilis* for the development of PET antibacterial sutures. *The Journal of The Textile Institute*, 109(10), 1282-1292.
- Bishop, C. D. (1995). Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (maiden amp; Betche) Cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus. *Journal of essential oil research*, 7(6), 641-644.
- Bolocan, A. S., Pennone, V., Nicolau, A. I., & Wagner, M. (2015). Microbial contamination patterns of raw meat and implications for food safety. *Meat Science*, 99, 13-18.
- Borges, A., Simões, L. C., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2014). The action of selected isothiocyanates on bacterial biofilm prevention and control. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 86, 25-33.
- Bothwell, M. R., Smith, A. L., & Phillips, T. (2003). Recalcitrant otorrhea due to *Pseudomonas* biofilm. *Otolaryngology—Head and Neck Surgery*, 129(5), 599-601.
- Boyle, W. (1955). Spices and essential oils as preservatives. *The American Perfumer and Essential Oil Review*, 66(1), 25-28.
- Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1-2), 1-14.
- Bridier, A., Sanchez-Vizueté, P., Guilbaud, M., Piard, J. C., Naïtali, M., & Briandet, R. (2015). Biofilm-associated persistence of food-borne pathogens. *Food Microbiology*, 45, 167-178.

- Brightwell, G., Boerema, J., Mills, J., Mowat, E., & Pulford, D. (2006). Identifying the bacterial community on the surface of Intralox™ belting in a meat boning room by culture-dependent and culture-independent 16S rDNA sequence analysis. *International Journal of Food Microbiology*, 109(1-2), 47-53.
- Brooks, J. D., & Flint, S. H. (2008). Biofilms in the food industry: problems and potential solutions. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(12), 2163-2176.
- Buddhi, S., Gupta, D., Ch, S., & Ch. V, R. (2020). *Afifella aestuarii* sp. nov., a phototrophic bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(1), 327-333.
- Bruckner, S., Albrecht, A., Petersen, B., & Kreyenschmidt, J. (2012). Characterization and comparison of spoilage processes in fresh pork and poultry. *Journal of Food Quality*, 35(5), 372-382.
- Buwa, L. V., & van Staden, J. J. J. O. E. (2006). Antibacterial and antifungal activity of traditional medicinal plants used against venereal diseases in South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(1), 139-142.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Burt, S. A., & Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157: H7. *Letters in applied microbiology*, 36(3), 162-167.
- Casaburi, A., Piombino, P., Nychas, G. J., Villani, F., & Ercolini, D. (2015). Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. *Food Microbiology*, 45, 83-102.
- Chelliah, C. K., Gnansekaran, C., Mathiazhagan, M., Ramachandran, G., Manoharan, N., Maruthupandy, M., ... & Basha, S. S. (2025). Anti-biofilm potential of Hibiscus sabdariffa essential oils using preparative HPLC against biofilm forming Gram negative bacteria. *Journal of the Indian Chemical Society*, 101577.

- Christaki, E., Bonos, E., Giannenas, I., & Florou-Paneri, P. (2012). Aromatic plants as a source of bioactive compounds. *Agriculture*, 2(3), 228-243.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (7th ed.). CLSI document M7-A7.
- Conner, D. E. (1993). Naturally occurring compounds. *Antimicrobials in foods*, 441-468.
- Conner, D. E., & Beuchat, L. R. (1984). Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*, 49(2), 429-434.
- Cosentino, S. C. I. G., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M. L., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in Applied microbiology*, 29(2), 130-135.
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., DeBeer, D., Caldwell, D., Korber, D., & James, G. (1994). Biofilms, the customized microniche. *Journal of Bacteriology*, 176(8), 2137-2142.
- Craig, L., Forest, K. T., & Maier, B. (2019). Type IV pili: dynamics, biophysics and functional consequences. *Nature Reviews Microbiology*, 17(7), 429-440.
- Dadalioglu, I., & Evrendilek, G. A. (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8255-8260.
- Davies, D. G., Parsek, M. R., Pearson, J. P., Iglewski, B. H., Costerton, J. W., & Greenberg, E. P. (1998). The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, 280(5361), 295-298.
- De Jonghe, V., Coorevits, A., Van Hoorde, K., Messens, W., Van Landschoot, A., De Vos, P., & Heyndrickx, M. (2011). Influence of storage conditions on the growth of *Pseudomonas* species in refrigerated raw milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(2), 460-470.

- Déziel, E., Comeau, Y., & Villemur, R. (2001). Initiation of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* 57RP correlates with emergence of hyperpiliated and highly adherent phenotypic variants deficient in swimming, swarming, and twitching motilities. *Journal of Bacteriology*, *183*(4), 1195-1204.
- Díaz-Maroto, M. C., Pérez-Coello, M. S., & Cabezudo, M. D. (2002). Effect of drying method on the volatiles in bay leaf (*Laurus nobilis* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(16), 4520-4524.
- Donabedian, H. (2003). Quorum sensing and its relevance to infectious diseases. *Journal of infection*, *46*(4), 207-214.
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, *8*(9), 881.
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, *15*(2), 167-193.
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International journal of food microbiology*, *157*(2), 130-141.
- Douglas, L. J. (2003). *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in Microbiology*, *11*(1), 30-36.
- Ercolini, D., Casaburi, A., Nasi, A., Ferrocino, I., Di Monaco, R., Ferranti, P., ... & Villani, F. (2010). Different molecular types of *Pseudomonas fragi* have the same overall behaviour as meat spoilers. *International Journal of Food Microbiology*, *142*(1-2), 120-131.
- Ercolini, D., Russo, F., Nasi, A., Ferranti, P., & Villani, F. (2009). Mesophilic and psychrotrophic bacteria from meat and their spoilage potential in vitro and in beef. *Applied and Environmental Microbiology*, *75*(7), 1990-2001.
- Ercolini, D., Russo, F., Torrieri, E., Masi, P., & Villani, F. (2006). Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, *72*(7), 4663-4671.

- Erdoğrul, Ö. T. (1999). Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. *Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi*, XI. KÜKEM-Biyoteknoloji Kongresi, Özel Sayısı, 23(2), 97-100.
- Farcasanu, I. C., & Oprea, E. (2006). Ethanol extracts of *Salvia officinalis* exhibit antifungal properties against *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Analele Universităţii din Bucureşti–Chimie, Anul XV (serie nouă)*, 1, 51-55.
- Fiorini, C., Fouraste, I., David, B., & Bessiere, J. M. (1997). Composition of the Flower, Leaf and Stem Essential Oils from *Laurus nobilis*. *Flavour and Fragrance Journal*, 12(2), 91-93.
- Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature reviews microbiology*, 8(9), 623-633.
- Food and Drug Administration. (2002). Secondary direct food additives permitted in food for human consumption.
- Franzetti, L., & Scarpellini, M. (2007). Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. *Annals of Microbiology*, 57, 39-47.
- Friedman, M., Henika, P. R., & Mandrell, R. E. (2002). Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*, 65(10), 1545-1560.
- Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K., & Nielsen, P. H. (1996). Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research*, 30(8), 1749-1758.
- Fu, Y., Zu, Y., Chen, L., Shi, X., Wang, Z., Sun, S., & Efferth, T. (2007). Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytotherapy Research*, 21(10), 989-994.
- Fuqua, W. C., Winans, S. C., & Greenberg, E. P. (1994). Quorum sensing in bacteria: the LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *Journal of Bacteriology*, 176(2), 269-275.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum*

*cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102(3), 898-904.

Genena, A. K., Hense, H., Smânia Junior, A., & Souza, S. M. D. (2008). Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Food Science and Technology*, 28, 463-469.

Giaouris, E., Heir, E., Hébraud, M., Chorianopoulos, N., Langsrud, S., Moretro, T., ... & Nychas, G. J. E. (2014). Attachment and biofilm formation by foodborne bacteria in meat processing environments: Causes, implications, role of bacterial interactions and control by alternative novel methods. *Meat Science*, 97(3), 298–309.

Gibiansky, M. L., Conrad, J. C., Jin, F., Gordon, V. D., Motto, D. A., Mathewson, M. A., ... & Wong, G. C. (2010). Bacteria use type IV pili to walk upright and detach from surfaces. *Science*, 330(6001), 197-197.

Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R., & Nerín, C. (2009). Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*, 116(4), 982-989.

González-Rivas, F., Ripolles-Avila, C., Fontecha-Umaña, F., Ríos-Castillo, A. G., & Rodríguez-Jerez, J. J. (2018). Biofilms in the spotlight: Detection, quantification, and removal methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(5), 1261-1276.

Göksen, G., Fabra, M. J., Ekiz, H. I., & López-Rubio, A. (2020). Phytochemical-loaded electrospun nanofibers as novel active edible films: Characterization and antibacterial efficiency in cheese slices. *Food Control*, 112, 107133.

Gralka, M., Szabo, R., Stocker, R., & Cordero, O. X. (2020). Trophic interactions and the drivers of microbial community assembly. *Current Biology*, 30(19), R1176-R1188.

Gross, H., & Loper, J. E. (2009). Genomics of secondary metabolite production by *Pseudomonas* spp. *Natural Product Reports*, 26(11), 1408-1446.

- Gün, İ., & Ekinci, F. Y. (2009). Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *Gıda*, 34(3), 165-173.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, 124(1), 91-97.
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 95-108.
- Harshey, R. M. (2003). Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. *Annual Reviews in Microbiology*, 57(1), 249-273.
- Helander, I. M., Alakomi, H. L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., ... & von Wright, A. (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3590-3595.
- Holley, R. A., & Patel, D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22(4), 273-292.
- Hotterbeekx, A., Kumar-Singh, S., Goossens, H., & Malhotra-Kumar, S. (2017). In vivo and In vitro Interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus* spp. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7, 106.
- Ilić, Z. S., Stanojević, L., Milenković, L., Šunić, L., Milenković, A., Stanojević, J., & Cvetković, D. (2024). Chemical profiling of essential oils from main culinary plants—Bay (*Laurus nobilis* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from Montenegro. *Horticulturae*, 10(12), 1249.
- Ingham, C. J., & Jacob, E. B. (2008). Swarming and complex pattern formation in *Paenibacillus vortex* studied by imaging and tracking cells. *BMC microbiology*, 8, 1-16.

- Ismail, A. A., & Pierson, M. D. (1990). Effect of sodium nitrite and origanum oil on growth and toxin production of *Clostridium botulinum* in TYG broth and ground pork. *Journal of Food Protection*, 53(11), 958-960.
- Jacob, F. (1954). Biosynthèse induite et mode d'action d'une pyocine, antibiotique de *Pseudomonas pyocyanea*. *Ann. Inst. Pasteur*, 86, 149.
- Jamshidi, R., Afzali, Z., & Afzali, D. (2009). Chemical composition of hydrodistillation essential oil of rosemary in different origins in Iran and comparison with other countries. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 5(1), 78-81.
- Jayaraman, A., & Wood, T. K. (2008). Bacterial quorum sensing: signals, circuits, and implications for biofilms and disease. *Annual Review of Biomedical Engineering* 10(1), 145-167.
- Jayashree, T., & Subramanyam, C. (1999). Antiaflatoxic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation. *Letters in Applied Microbiology*, 28(3), 179-183.
- Jemâa, J. M. B., Tersim, N., Toudert, K. T., & Khouja, M. L. (2012). Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*, 48, 97-104.
- Kalembe, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813-829.
- Karapinar, M., & Aktuğ, Ş. E. (1987). Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. *International Journal of Food Microbiology*, 4(2), 161-166.
- Kearns, D. B. (2010). A field guide to bacterial swarming motility. *Nature reviews microbiology*, 8(9), 634-644.
- Lema, K. A., Willis, B. L., & Bourne, D. G. (2012). Corals form characteristic associations with symbiotic nitrogen-fixing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(9), 3136-3144.

- Kartal, M. O., Baran Ekinci, M., & Poyraz, B. (2021). Biyofilm Yapısı ve Önlenmesi. *Akademik Gıda*, 19(3), 353-363.
- Klausen, M., Aaes-Jørgensen, A., Molin, S., & Tolker-Nielsen, T. (2003). Involvement of bacterial migration in the development of complex multicellular structures in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Molecular Microbiology*, 50(1), 61–68.
- Kolbeck, S., Abele, M., Hilgarth, M., & Vogel, R. F. (2021). Comparative proteomics reveals the anaerobic lifestyle of meat-spoiling *Pseudomonas* species. *Frontiers in Microbiology*, 12, 664061.
- Konstantopoulou, I., Vassilopoulou, L., Mavragani-Tsipidou, P., & Scouras, Z. G. (1992). Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. *Experientia*, 48, 616-619.
- Kumar, S., Chandra, P., Bajpai, V., Singh, A., Srivastava, M., Mishra, D. K., & Kumar, B. (2015). Rapid qualitative and quantitative analysis of bioactive compounds from *Phyllanthus amarus* using LC/MS/MS techniques. *Industrial Crops and Products*, 69, 143-152.
- Kühn, M. J., Talà, L., Inclan, Y. F., Patino, R., Pierrat, X., Vos, I., ... & Persat, A. (2021). Mechanotaxis directs *Pseudomonas aeruginosa* twitching motility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(30), e2101759118.
- LaCourse, K. D., Peterson, S. B., Kulasekara, H. D., Radey, M. C., Kim, J., & Mougous, J. D. (2018). Conditional toxicity and synergy drive diversity among antibacterial effectors. *Nature Microbiology*, 3(4), 440-446.
- Lejeune, P. (2003). Contamination of abiotic surfaces: what a colonizing bacterium sees and how to blur it. *Trends in Microbiology*, 11(4), 179-184.
- Lešnik, S., Furlan, V., & Bren, U. (2021). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Extraction techniques, analytical methods and health-promoting biological effects. *Phytochemistry Reviews*, 20(6), 1273–1328.

- Lewis, K. I. M. (2001). Riddle of biofilm resistance. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 45(4), 999-1007.
- Lindsay, D., & Von Holy, A. (2006). Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. *Journal of Hospital Infection*, 64(4), 313-325.
- Lopez, P., Sanchez, C., Batlle, R., & Nerin, C. (2005). Solid-and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(17), 6939-6946.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R., & Nerín, C. (2007). Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4348-4356.
- Mahmoud, S. S., & Croteau, R. B. (2002). Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants. *Trends in Plant Science*, 7(8), 366-373.
- Mari, M., Bertolini, P., & Pratella, G. C. (2003). Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. *Journal of Applied Microbiology*, 94(5), 761-766.
- Martin, N. H., Murphy, S. C., Ralyea, R. D., Wiedmann, M., & Boor, K. J. (2011). When cheese gets the blues: *Pseudomonas fluorescens* as the causative agent of cheese spoilage. *Journal of Dairy Science*, 94(6), 3176-3183.
- Matan, N., Rimkeeree, H., Mawson, A. J., Chompreeda, P., Haruthaitanasan, V., & Parker, M. (2006). Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. *International journal of food microbiology*, 107(2), 180-185.
- Mellor, G. E., Bentley, J. A., & Dykes, G. A. (2011). Evidence for a role of biosurfactants produced by *Pseudomonas fluorescens* in the spoilage of fresh aerobically stored chicken meat. *Food microbiology*, 28(5), 1101-1104.

- Mengoni, E. S., Vichera, G., Rigano, L. A., Rodriguez-Puebla, M. L., Galliano, S. R., Cafferata, E. E., ... & Vojnov, A. A. (2011). Suppression of COX-2, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  expression and leukocyte infiltration in inflamed skin by bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* L. *Fitoterapia*, 82(3), 414-421.
- Micić, D., Đurović, S., Riabov, P., Tomić, A., Šovljanski, O., Filip, S., Tosti, T., Dojčinović, B., Božović, R., Jovanović, D., & Blagojević, S. (2021). Rosemary Essential Oils as a Promising Source of Bioactive Compounds: Chemical Composition, Thermal Properties, Biological Activity, and Gastronomical Perspectives. *Foods*, 10(11), 2734. <https://doi.org/10.3390/foods10112734>
- Mith, H., Dure, R., Delcenserie, V., Zhiri, A., Daube, G., & Clinquart, A. (2014). Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. *Food science & nutrition*, 2(4), 403-416.
- Molina, R. D. I., Campos-Silva, R., Díaz, M. A., Macedo, A. J., Blázquez, M. A., Alberto, M. R., & Arena, M. E. (2020). Laurel extracts inhibit Quorum sensing, virulence factors and biofilm of foodborne pathogens. *LWT*, 134, 109899.
- Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C. S., & Vojnov, A. A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. *Free radical research*, 40(2), 223-231.
- Mothana, R. A., & Lindequist, U. (2005). Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2), 177-181.
- Muñiz-Márquez, D. B., Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2018). Bioactive compounds from bay leaves (*Laurus nobilis*) extracted by microwave technology. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 73(9-10), 401-407.
- Myszka, K., Schmidt, M. T., Majcher, M., Juzwa, W., Olkowicz, M., & Czaczyk, K. (2016). Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas*

- fluorescens* KM121 by *Thymus vulgare* essential oil and its major bioactive compounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 114, 252-259.
- Nychas, G. J. E. (1995). Natural antimicrobials from plants. *New Methods of food preservation*, 58-89.
- Nychas, G. J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. C., & Koutsoumanis, K. P. (2008). Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78(1-2), 77-89.
- O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1), 49-79.
- O'Toole, G. A., & Kolter, R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology*, 30(2), 295-304.
- Ojeda-Sana, A. M., van Baren, C. M., Elechosa, M. A., Juárez, M. A., & Moreno, S. (2013). New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Control*, 31(1), 189-195.
- Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., & Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, 112(4), 874-879.
- Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., & Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food control*, 18(5), 414-420.
- Özcan, M., & Chalchat, J. C. (2005). Effect of different locations on the chemical composition of essential oils of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves growing wild in Turkey. *Journal of Medicinal Food*, 8(3), 408-411.
- Özcan, M. M., & Chalchat, J. C. (2008). Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(7-8), 691-698.

- Pang, X., & Yuk, H. G. (2019). Effects of the colonization sequence of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* on survival of biofilm cells under food-related stresses and transfer to salmon. *Food Microbiology*, 82, 142-150.
- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of ethnopharmacology*, 39(3), 167-170.
- Parsek, M. R., & Greenberg, E. P. (2005). Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in microbiology*, 13(1), 27-33.
- Pejčić, M., Stojanović-Radić, Z., Genčić, M., Dimitrijević, M., & Radulović, N. (2020). Anti-virulence potential of basil and sage essential oils: Inhibition of biofilm formation, motility and pyocyanin production of *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Food and Chemical Toxicology*, 141, 111431.
- Pérez, M. B., Calderon, N. L., & Croci, C. A. (2007). Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food chemistry*, 104(2), 585-592.
- Persat, A., Inclan, Y. F., Engel, J. N., Stone, H. A., & Gitai, Z. (2015). Type IV pili mechanochemically regulate virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(24), 7563-7568.
- Pessoa, L. M., Morais, S. M., Bevilaqua, C. M. L., & Luciano, J. H. S. (2002). Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. *Veterinary parasitology*, 109(1-2), 59-63.
- Piccaglia, R., Marotti, M., Giovanelli, E., Deans, S. G., & Eaglesham, E. (1993). Antibacterial and antioxidant properties of Mediterranean aromatic plants. *Industrial Crops and Products*, 2(1), 47-50.
- Piette, J. P., & Idziak, E. S. (1991). Role of flagella in adhesion of *Pseudomonas fluorescens* to tendon slices. *Applied and environmental microbiology*, 57(6), 1635-1639.

- Pirbalouti, A. G., Hashemi, M., & Ghahfarokhi, F. T. (2013). Essential oil and chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 48, 43-48.
- Politeo, O., Jukić, M., & Miloš, M. (2007). Chemical composition and antioxidant activity of free volatile aglycones from laurel (*Laurus nobilis* L.) compared to its essential oil. *Croatica chemica acta*, 80(1), 121-126.
- Pothakos, V., Devlieghere, F., Villani, F., Björkroth, J., & Ercolini, D. (2015). Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. *Meat science*, 109, 66-74.
- Purcell, E. M. (2014). Life at low Reynolds number. In *Physics and our world: reissue of the proceedings of a symposium in honor of Victor F Weisskopf* (pp. 47-67).
- Rather, M. A., Saha, D., Bhuyan, S., Jha, A. N., & Mandal, M. (2022). Quorum quenching: a drug discovery approach against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiological Research*, 264, 127173.
- Remenant, B., Jaffrès, E., Dousset, X., Pilet, M. F., & Zagorec, M. (2015). Bacterial spoilers of food: Behavior, fitness and functional properties. *Food Microbiology*, 45, 45–53.
- Reynisson, E., Lauzon, H. L., Magnusson, H., Hreggvidsson, G. Ó., & Marteinson, V. T. (2008). Rapid quantitative monitoring method for the fish spoilage bacteria *Pseudomonas*. *Journal of Environmental Monitoring*, 10(11), 1357-1362.
- Rollet, C., Gal, L., & Guzzo, J. (2009). Biofilm-detached cells, a transition from a sessile to a planktonic phenotype: a comparative study of adhesion and physiological characteristics in *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiology Letters*, 290(2), 135-142.
- Ron, E. Z., & Rosenberg, E. (2001). Natural roles of biosurfactants: Minireview. *Environmental Microbiology*, 3(4), 229-236.
- Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., & Bruni, R. (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different

- origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91(4), 621-632.
- Sala, C., Morar, A., Colibar, O., & Morvay, A. A. (2012). Antibiotic resistance of gram negative bacteria isolated from meat surface biofilm. *Romanian Biotechnological Letters* 17(4), 7483-92.
- Santiveri, M., Roa-Eguiara, A., Kühne, C., Wadhwa, N., Hu, H., Berg, H. C., ... & Taylor, N. M. (2020). Structure and function of stator units of the bacterial flagellar motor. *Cell*, 183(1), 244-257.
- Schuergers, N., Lenn, T., Kampmann, R., Meissner, M. V., Esteves, T., Temerinac-Ott, M., ... & Wilde, A. (2016). Cyanobacteria use micro-optics to sense light direction. *Elife*, 5, e12620.
- Sellami, I. H., Wannas, W. A., Bettaieb, I., Berrima, S., Chahed, T., Marzouk, B., & Limam, F. (2011). Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. *Food chemistry*, 126(2), 691-697.
- Sharma, A., Singh, J., & Kumar, S. (2012). Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants (CSIR), India. In K. V. Peter (Ed.), *Handbook of herbs and spices* (2nd ed., Vol. 1, pp. 73–85). Woodhead Publishing.
- Shelef, L. A. (1984). Antimicrobial effects of spices 1. *Journal of food safety*, 6(1), 29-44.
- Singh, A. (2001). Use of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. In *Program listing, New Orleans, The 2001 IFT annual meeting*.
- Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1996). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 44(5), 1202-1205.
- Solano, C., Echeverz, M., & Lasa, I. (2014). Biofilm dispersion and quorum sensing. *Current Opinion in Microbiology*, 18, 96-104.

- Stanborough, T., Fegan, N., Powell, S. M., Singh, T., Tamplin, M., & Chandry, P. S. (2018). Genomic and metabolic characterization of spoilage-associated *Pseudomonas* species. *International Journal of food microbiology*, 268, 61-72.
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Ćirković, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *Apmis*, 115(8), 891-899.
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 187-209.
- Sun, S., Wang, Y., Zang, T., Wei, J., Wu, H., Wei, C., ... & Li, F. (2019). A biosurfactant-producing *Pseudomonas aeruginosa* S5 isolated from coking wastewater and its application for bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 281, 421-428.
- Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21(9), 1199-1218.
- Tolker-Nielsen T. *Biofilm Development. Microbiology Spectrum 2015 Apr;3(2):MB-0001-2014.*
- Toroğlu, S., & Çenet, M. (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), 12-20.
- Van Hamme, J. D., & Ward, O. P. (2001). Physical and metabolic interactions of *Pseudomonas* sp. strain JA5-B45 and *Rhodococcus* sp. strain F9-D79 during growth on crude oil and effect of a chemical surfactant on them. *Applied and environmental microbiology*, 67(10), 4874-4879.
- Varjani, S. J., & Upasani, V. N. (2017). Critical review on biosurfactant analysis, purification and characterization using rhamnolipid as a model biosurfactant. *Bioresource technology*, 232, 389-397.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2008). Antibacterial activity of different essential oils obtained from spices

- widely used in Mediterranean diet. *International journal of food science & technology*, 43(3), 526-531.
- Wang, H., Li, F., Xu, L., Byun, H., Fan, J., Wang, M., ... & Li, B. (2021). Contributions of *Escherichia coli* and its motility to the formation of dual-species biofilms with *Vibrio cholerae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(18), e00938-21.
- Wang, G. Y., Ma, F., Wang, H. H., Xu, X. L., & Zhou, G. H. (2017). Characterization of extracellular polymeric substances produced by *Pseudomonas fragi* under air and modified atmosphere packaging. *Journal of food science*, 82(9), 2151-2157.
- Wannissorn, B., Jarikasem, S., Siriwangchai, T., & Thubthimthed, S. (2005). Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, 76(2), 233-236.
- Wickramasinghe, N. N., Ravensdale, J. T., Coorey, R., Dykes, G. A., & Scott Chandry, P. (2019). In situ characterisation of biofilms formed by psychrotrophic meat spoilage pseudomonads. *Biofouling*, 35(8), 840-855.
- Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., & Szumny, A. (2019). Essential oils as antimicrobial alternative?. *Molecules*, 24(11), 2130.
- Wirtanen, G., Salo, S., Helander, I. M., & Mattila-Sandholm, T. (2001). Microbiological methods for testing disinfectant efficiency on *Pseudomonas* biofilm. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 20(1), 37-50.
- Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In *Molecular medical microbiology* (pp. 753-767). Academic Press.
- Wu, Y., Ma, F., Pang, X., Chen, Y., Niu, A., Tan, S., ... & Wang, G. (2022). Involvement of AprD in regulating biofilm structure, matrix secretion, and cell metabolism of meat-borne *Pseudomonas fragi* during chilled storage. *Food Research International*, 157, 111400.
- Xavier, J. B., Kim, W., & Foster, K. R. (2011). A molecular mechanism that stabilizes cooperative secretions in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular microbiology*, 79(1), 166-179.

Yeşilkaya, K., & Merey, G. (2024). Bakteriyeel Biyofilm Oluşumunu Kontrol Eden Parametreler ve Moleküler Düzeyde Engelleyici Stratejiler. *Journal of Health Sciences and Management*, 4(3), 83-90.

Zaouali, Y., Bouzaine, T., & Boussaid, M. (2010). Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and chemical toxicology*, 48(11), 3144-3152.

Zhang, Y., Wu, Q., Forsythe, S., Liu, C., Chen, N., Li, Y., ... & Ding, Y. (2023). The cascade regulation of small RNA and quorum sensing system: Focusing on biofilm formation of foodborne pathogens in food industry. *Food Bioscience*, 52, 102472.



## EKLER

### **EK1 : Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltilerin Hazırlanışı**

#### **a) Nutrient Agar (NA)**

Nutrient agar besiyeri, 1 L saf suda 20 gram çözündürülerek hazırlanmış ve katı ortam oluşturulmuştur. Hazırlanan besiyeri, 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Yaklaşık 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra, 90 mm çapındaki steril petri kaplarına dökülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir.

#### **b) Nutrient Broth (NB)**

Nutrient broth besiyeri, 1 L saf suda 8 gram çözündürülerek sıvı ortam şeklinde hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri, 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

#### **c) Mueller-Hinton Agar(MHA)**

Mueller-Hinton Agar, antimikrobiyal testlerde yaygın olarak kullanılan bir besiyeri çeşididir. 1 L saf suda 36 gram çözündürülerek hazırlanmıştır. Sterilizasyon işlemi, 121°C'de 15 dakika otoklavda gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 50°C'ye kadar soğutulduktan sonra, steril petri kaplarına dökülerek kullanıma sunulmuştur.

#### **d) Tryptic Soy Broth (TSB)**

Tryptic Soy Broth besiyeri, 1 L saf suda 30 gram çözündürülerek hazırlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.

#### **e) %1 Kristal Viyole (CV) Çözeltisi**

%1'lik kristal viyole çözeltisi, 1 gram boya maddesinin 100 mL saf suda çözündürülmesiyle elde edilmiştir.

#### **f) %33 Asetik Asit Çözeltisi**

Bu çözelti, 67 mL saf suya yavaşça 33 mL %99,9 saf asetik asit eklenerek hazırlanmıştır.

**g) LB Broth**

LB (Luria-Bertani) broth, 1 L saf suda 25 gram çözündürülerek sıvı besiyeri olarak hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri, 121°C'de 15 dakika otoklavda sterilize edilmiştir.



# ÖZGEÇMİŞ

Ece ÜSTÜNEL

## A. EĞİTİM

**Yüksek Lisans:** İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim dalı Gıda Mühendisliği Bölümü, 2025, İstanbul

**Lisans:** İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi İngilizce Gıda Mühendisliği Bölümü, 2021, İstanbul

## B. MESLEKİ DENEYİM

2020 - Baklavacı Güllüoğlu Gıda ve Ticaret Anonim Şirketi Stajyer Gıda Mühendisi

2016-2025 - Yeşilyurt Fen Bilimleri Eğitim Kurumları Uzman Eğitimci

## C. SERTİFİKALAR

2020 - TS EN ISO 14001 ÇEVRE YÖNETİM SİSTEMİ TEMEL EĞİTİMİ

2020 - TS 18001-2014 İŞ SAĞLIĞI VE GÜVENLİĞİ YÖNETİM SİSTEMİ TEMEL EĞİTİMİ

2020 - TS EN ISO 22000 GIDA GÜVENLİĞİ YÖNETİM SİSTEMİ TEMEL EĞİTİMİ

2020 - TS EN ISO 9001-2015 KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ TEMEL EĞİTİMİ

2021 – HELAL VE KOŞER GIDALAR