

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI



GIDA PATOJENLERİNDE ÇOĞUNLUĞU ALGILAMA
SİNYALLERİNİN FARKLI BİTKİSEL EKSTRAKTLARLA
ENGELLENMESİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ DOKTORA TEZİ

SEVİM ÖZTÜRK ORUÇ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR

BOLU, ARALIK - 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sevim ÖZTÜRK ORUÇ tarafından hazırlanan “GIDA PATOJENLERİNDE ÇOĞUNLUĞU ALGILAMA SİNYALLERİNİN FARKLI BİTKİSEL EKSTRAKTLARLA ENGELLENMESİ” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 25/12/2024

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Esra ACAR SOYKUT
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Ayşe AVCI
Sakarya Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Aylin AKOĞLU
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. İlyas ATALAR
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu ve Şablonuna uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir
- aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

.....
SEVİM ÖZTÜRK ORUÇ

ÖZET

**GIDA PATOJENLERİNDE ÇOĞUNLUĞU ALGILAMA
SİNYALLERİNİN FARKLI BİTKİSEL EKSTRAKTLARLA
ENGELLENMESİ
DOKTORA TEZİ
SEVİM ÖZTÜRK ORUÇ
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ DOKTORA PROGRAMI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. İBRAHİM ÇAKIR)**

BOLU, ARALIK - 2024

XIV + 141 sayfa

Bu çalışmada, çeşitli bitkisel ekstraktların antimikrobiyal, antibiyofilm ve çoğunluğu algılama inhibisyonu (ÇAI) özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmış ve örneklerin gıda endüstrisinde kullanılan yüzeylerde biyofilm kontrolü için kullanılabilirliği araştırılmıştır. İlk olarak *Punica granatum* L. (nar) meyvesinin posa halindeki endüstriyel atıklarından farklı çözücülerle ekstraksiyon yapılmıştır. Nar atığı ekstraktları, *Rosa damascena* M. (yağ gülü) bitkisinden elde edilen gül yağı ve absolütü ile elajik asit ve punikalajinin gıda patojeni olan *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii* üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri, MİK ve MBK değerleri belirlenmiştir. Örneklerin polistren tabanlı mikropalakada yapılan antibiyofilm analizleri biyofilmleri engelleme ve biyofilmleri giderme şeklinde yapılmış ve analizlerde *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii* bakterileri kullanılmıştır. Daha sonra, paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde örneklerin *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* bakterileri üzerindeki biyofilm oluşumunu önleme özellikleri araştırılmıştır. Örneklerin ÇAI etkilerinin belirlenmesi için *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. violaceum* ATCC 12472 suşları kullanılmıştır. Sonuçlar, metanol-asit-su ile hazırlanan nar atığı ekstraktının (B) araştırılan patojenler üzerindeki antimikrobiyal (24-37,5 mm) ve antibiyofilm (polistren, paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde %64-80 önleme) etkilerinin diğer nar atığı ekstraktlarına göre yüksek olduğunu göstermiştir. Gül yağı ve gül absolütü örneklerinin yüzeylerde *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* biyofilmlerini kontrol etmede başarılı olduğu gösterilmiştir. Örnekler, *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda kayma hareketini %61-77, yüzme hareketini %38-86, proteaz aktivitesini %53-86 ve piyosiyanın üretimini %38-55 aralığında inhibe etmiştir. Ayrıca örneklerin *C. violaceum* ATCC 12472 suşunda viyolasin üretimini baskılama oranı %35-68 arasında bulunmuştur. Araştırılan örneklerden B ekstraktı, gül yağı, gül absolütü ve punikalajinin doğal dezenfektan formüllerinde kullanılma potansiyeline sahip olduğu ortaya konulmuştur.

ANAHTAR KELİMELELER: *Punica granatum* L., *Rosa damascena* M., Gıda kaynaklı patojen, Antibiyofilm, Çoğunluğu algılama inhibisyonu (ÇAI).

ABSTRACT

INHIBITION OF QUORUM SENSING SIGNALS IN FOODBORNE PATHOGENS BY DIFFERENT PLANT EXTRACTS

PHD THESIS

SEVİM ÖZTÜRK ORUÇ

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

(SUPERVISOR: PROF. DR. İBRAHİM ÇAKIR)

BOLU, DECEMBER 2024

XIV + 141 pages

This study aimed to determine the antimicrobial, antibiofilm and quorum sensing inhibition (QSI) properties of different herbal extracts and the usability of the samples for biofilm control on surfaces used in the food industry. Firstly, extraction was made from the pulp, an industrial waste of *Punica granatum* L. (pomegranate) fruit with different solvents. Antimicrobial activities, MIC and MBC values of samples on foodborne pathogens (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa* and *C. sakazakii*) were determined. Antibiofilm analyzes of the samples in polystyrene-based microplates were performed by prevention of biofilm formation and removing biofilms, and *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *C. sakazakii* were used in the analyses. Then, the anti-biofilm forming activity of samples on *L. monocytogenes* and *C. sakazakii* were analyzed on stainless steel and glass surfaces. *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *C. violaceum* ATCC 12472 strains were used to assess the QSI activity of the samples. The results showed that the antimicrobial (24-37.5 mm) and antibiofilm (64-80%, inhibition on polystyrene, stainless steel and glass surfaces) activities of pomegranate waste extract (B) prepared with methanol-acid-water on the investigated pathogens were higher than other pomegranate waste extracts. Rose oil and rose absolute samples have been shown to be successful in controlling *L. monocytogenes* and *C. sakazakii* biofilms on surfaces. The samples inhibited swarming motility by 61-77%, swimming motility by 38-86%, protease activity by 53-86% and pyocyanin production by 38-55% on *P. aeruginosa* ATCC 27853 strain. In addition, the suppression rate of the samples in violaceum production on *C. violaceum* ATCC 12472 strain was found to be between 35-68%. It has been revealed that among the researched samples, B extract, rose oil, rose absolute and punicalagin have the potential to be used in natural disinfectant formulas.

KEYWORDS: *Punica granatum* L., *Rosa damascena* M., Foodborne pathogen, Antibiofilm, Quorum sensing inhibition (QSI).

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	x
FOTOĞRAF LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xiv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Tezin Konusu, Amacı ve Katkısı.....	2
1.2 Çoğunluğu Algılama Sistemi.....	4
1.2.1 ÇA Sisteminde Kullanılan Sinyal Molekülleri.....	5
1.2.2 ÇA Etki Mekanizması	6
1.2.3 ÇA Mekanizması ile Düzenlenen Türe Özgü Davranışlar	11
1.2.4 ÇA Sisteminin İnhibisyonu (ÇAI).....	11
1.3 Biyofilm	16
1.3.1 Biyofilm Oluşum Aşamaları ve ÇA Mekanizmalarının Etkisi.....	16
1.3.2 Gıda Endüstrisinde Biyofilm Oluşumunun Önemi	19
1.3.3 Biyofilm Oluşturan Gıda Patojeni Bakteriler	21
1.4 Antimikrobiyal Aktivite, ÇAI ve Antibiyofilm Etkisi Gösteren Bitkiler ..	30
1.4.1 Nar	33
1.4.2 Elajik Asit ve Punikalajin	36
1.4.3 Gül	37
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	40
2.1 Materyal	40
2.1.1 Kullanılan Sarf Malzemeler.....	40
2.1.2 Kullanılan Alet-Ekipman.....	40
2.1.3 Kullanılan Bakteriler	41
2.2 Yöntem	42
2.2.1 Nar Atıklarından Toz Eldesi.....	42
2.2.2 Nar Atığı Tozundan Ekstrakt Eldesi.....	42
2.2.3 Nar Atığı ve Gül Ekstraktlarının Bileşenlerinin Analizi	43

2.2.4 Antimikrobiyal Aktivite Testi	44
2.2.5 Antibiyofilm Aktivite Testleri	46
2.2.6 Örneklerin <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27583 Suşunda Bazı Virülens Faktörler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması	50
2.2.7 <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 Suşunda Viyolasin İnhibisyonunun Araştırılması	51
2.2.8 İstatistiksel Analizler	53
3. BULGULAR	54
3.1 Nar Atığı ve Gül Ekstraktlarının Bileşen Analizi Sonuçları	54
3.1.1 Nar Atığı Ekstraktlarında Elajik Asit ve Punikalajin Sonuçları	54
3.1.2 Gül Yağı ve Gül Absolutünde Uçucu Bileşen Yüzdesi Sonuçları	54
3.2 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	56
3.2.1 Nar Atığı Ekstraktlarının Disk Difüzyon Testi Sonuçları	56
3.2.2 Gül Yağı ve Gül Absolutünün Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	58
3.2.3 Elajik Asit ve Punikalajinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	60
3.2.4 Nar Atığı Ekstratlarının MİK ve MBK Analizi Sonuçları	61
3.2.5 Gül Yağı ve Gül Absolutünün MİK ve MBK Analizi Sonuçları	63
3.2.6 Elajik Asit ve Punikalajinin MİK ve MBK Analizi Sonuçları	64
3.3 Antibiyofilm Aktivite Analizi Sonuçları	64
3.3.1 Biyofilm Oluşturma Analizi Sonuçları	64
3.3.2 Örneklerin Polistren Tabanlı 96 Kuyucuklu Mikroplakada Biyofilm Oluşumunu Önleme Kapasitelerinin Araştırılması	65
3.3.3 Örneklerin Polistren Tabanlı 96 Kuyucuklu Mikroplakada Oluşan Biyofilmleri Giderme Kapasitelerinin Araştırılması	68
3.3.4 Örneklerin Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunu Önleme Kapasitelerinin Araştırılması	70
3.3.5 Örneklerin Cam Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunu Önleme Kapasitelerinin Araştırılması	71
3.3.6 Paslanmaz Çelik ve Cam Yüzeylerde Biyofilmlerde Bulunan Canlı Hücre Sayısı Sonuçları	72
3.3.7 Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunun Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Araştırılması	75
3.4 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27583 Suşunda Bazı Virülens Faktörler Üzerindeki Etkisini Gösteren Analiz Sonuçları	75
3.4.1 Kayma ve Yüzme Testleri Sonuçları	75
3.4.2 Proteaz Testi Sonuçları	76
3.4.3 Piyosiyanin Testi Sonuçları	77
3.5 <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 Suşunda Viyolasin İnhibisyonu Sonuçları	79
3.5.1 Tüm Örneklerin <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 Suşu Üzerindeki MİK Tayini Sonuçları	79
3.5.2 Disk Difüzyon Testi Sonuçları	79
3.5.3 Viyolasin İnhibisyonunun Spektrofotometre ile Analizine Ait Sonuçlar	81

4. TARTIŞMA	83
4.1 Örneklerin Bileşen Analizleri Sonuçları.....	83
4.1.1 Nar Atığı Ekstraktlarının Bileşen Analizleri Sonuçları	83
4.1.2 Gül Yağı ve Gül Absolütünün Bileşen Analizleri Sonuçları.....	84
4.2 Örneklerin Seçilen Gıda Patojenleri Üzerindeki Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	85
4.2.1 Nar Atığı Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	85
4.2.2 Gül Yağı ve Gül Absolütünün Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları....	89
4.2.3 Elajik Asit ve Punikalajinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	90
4.2.4 Nar Atığı Ekstraktlarının MİK ve MBK Analizi Sonuçları	92
4.2.5 Gül Yağı ve Gül Absolütünün MİK ve MBK Analizi Sonuçları	93
4.2.6 Elajik Asit ve Punikalajinin MİK ve MBK Sonuçları.....	95
4.3 Antibiyofilm Aktivite Analizi Sonuçları	96
4.3.1 Örneklerin Polistren Tabanlı Mikroplakada Biyofilm Oluşumunu Önleme Sonuçları	96
4.3.2 Örneklerin Polistren Tabanlı Mikroplakada Oluşan Biyofilmleri Giderme Sonuçları	100
4.3.3 Örneklerin Paslanmaz Çelik ve Cam Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunu Özelliklerinin Araştırılması	103
4.3.4 Örneklerin Paslanmaz Çelik ve Cam Yüzeylerde Biyofilmde Bulunan Canlı Hücre Sayımı Sonuçları	105
4.3.5 Örneklerin Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Patojen Bakterilerin Yapısı Üzerine Etkilerinin SEM Görüntüsü Sonuçları	107
4.4 <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27583 Suşunda Bazı Virülens Faktörler Üzerindeki Etkisini Gösteren Analiz Sonuçları	108
4.4.1 Kayma ve Yüzme Testleri Sonuçları.....	108
4.4.2 Proteaz Testi Sonuçları.....	110
4.4.3 Piyosiyanın Testi Sonuçları	111
4.5 Örneklerin <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 Suşunda Viyolasin İnhibisyonunun Araştırılması	112
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	115
KAYNAKLAR	118
EKLER.....	138

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. ÇA mekanizmasında bakteri popülasyonunun etkisi.....	7
Şekil 1.2. ÇA mekanizmaları	12
Şekil 1.3. Biyofilm oluşum aşamaları.....	17
Şekil 3.1. Örneklerin 96 kuyucuklu mikrolakada biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri (%).....	67
Şekil 3.2. Örneklerin 96 kuyucuklu mikrolakada oluşan biyofilmleri giderme yüzdeleri (%).....	69
Şekil 3.3. Örneklerin paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri (%).....	70
Şekil 3.4. Örneklerin cam yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri (%)	72
Şekil 3.5. Paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde <i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932 biyofilmlerinde bulunan canlı bakteri sayıları (log kob/cm ²)	73
Şekil 3.6. Paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde <i>C. sakazakii</i> ATCC 29544 biyofilmlerinde bulunan canlı bakteri sayıları (log kob/cm ²)	74

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. Bazı bitkisel ekstraktların ÇAI üzerine yapılan araştırmalar	31
Tablo 3.1. Nar atığı ekstraktlarının elajik asit ve punikalajin miktarları (%)...	54
Tablo 3.2. Gül yağının uçucu bileşen miktarları (%)	55
Tablo 3.3. Gül absolütünün uçucu bileşen miktarları (%).....	56
Tablo 3.4. Nar atığı ekstraktlarına ait antimikrobiyel aktivite sonuçları (mm)	57
Tablo 3.5. Gül yağı ve gül absolütünün antimikrobiyal antimikrobiyal sonuçları (mm)	59
Tablo 3.6. Elajik asit ve punikalajinin antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	61
Tablo 3.7. Nar atığı ekstraktlarının patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerleri (v/v)	62
Tablo 3.8. Gül yağı ve gül absolütünün patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerleri (v/v)	63
Tablo 3.9. Elajik asit ve punikalajinin patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerleri (mg/mL)	64
Tablo 3.10. Patojen bakterilerin biyofilm oluşturma kapasitelerini gösteren tablo	65
Tablo 3.11. Örneklerin 96 kuyucuklu mikrolakada biyofilm oluşumunu önleme .yüzdeleri (%)	66
Tablo 3.12. Çözücü karışımlarının mikrolakada biyofilm oluşumunu önleme sonuçları	67
Tablo 3.13. Örneklerin 96 kuyucuklu mikrolakada oluşan biyofilmleri giderme yüzdeleri (%)	68
Tablo 3.14. Çözücü karışımlarının mikrolakada oluşan biyofilmleri giderme sonuçları	70
Tablo 3.15. Örneklerin <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 suşunun kayma ve yüzme hareketi üzerindeki inhibisyon sonuçları(%).....	76
Tablo 3.16. Örneklerin <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 suşunda proteaz inhibisyonu sonuçları (%)	77
Tablo 3.17. Örneklerin <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 suşunun piyosianin pigmenti üretimi üzerine inhibisyonu (%)	78
Tablo 3.18. Örneklerin <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 suşu üzerindeki MİK değerleri (mg/mL)	79
Tablo 3.19. <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 suşu ile yapılan disk difüzyon testi sonuçları	80
Tablo 3.20. Spektrofotometrik yöntem ile örneklerin viyolasin üretimi üzerine inhibisyon miktarı (%)	81

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1. A ve B ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite görüntüsü.....	58
Fotoğraf 3.2. Gül absolütü ve gül yağı örneklerinin <i>S. aureus</i> ATCC 25923 suşu üzerindeki antimikrobiyal etkisi.....	60
Fotoğraf 3.3. B ekstraktının MİK tespitine ait mikroplaka görüntüsü.....	62
Fotoğraf 3.4. Örneklerin biyofilm oluşumunu önleme etkilerini gösteren mikroplaka görüntüsü.....	66
Fotoğraf 3.5. A ve B ekstraktının <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 suşunda kayma hareketini engelleme etkisi.....	76
Fotoğraf 3.6. Piyosiyanin analizinde örnek bulunan ve bulunmayan tüplerin asit ilavesi sonrasındaki görüntüsü	78
Fotoğraf 3.7. Elajik asit, gül absolütü ve punikalajin örneklerin viyolasin inhibisyonu üzerine etkisine ait görüntü.....	80
Fotoğraf 3.8. Elajik asit ve punikalajin örneklerinin <i>C. violaceum</i> ATCC 12472 suşunda viyolasin üretimini baskıladığını gösteren görüntü.	81

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

AHL:	Açıl-Homoserin Lakton
AI:	Otoindüktör
AIP:	Otoindüktör peptid
BHIA:	Brain Heart Infusion Agar
BHIB:	Brain Heart Infusion Broth
a_w:	Su Aktivitesi
cm:	Santimetre
cm²:	Santimetrekare
ÇA:	Çoğunluğu Algılama
ÇAI:	Çoğunluğu Algılama İnhibisyonu
dk:	Dakika
FTS:	Fizyolojik Tuzlu Su
GC:	Gaz Kromatografisi
HCl:	Hidroklorik Asit
HHL:	Hekzanoil-Homoserin Laton
HPLC:	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
K:	Kontrol
kob:	Koloni Oluşturan Birim
log:	Logaritmik
MBK:	Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
MHA:	Mueller Hinton Agar
MHB:	Mueller Hinton Broth
MİK:	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MS:	Kütle Spektrometrisi
mL:	Mililitre
mm:	Milimetre
mPA:	Milipaskal
µL:	Mikrolitre
µm:	Mikrometre
NK:	Negatif Kontrol
nm:	Nanometre
OD:	Optik Yoğunluk

TSA: Tryptic Soy Agar
TSB: Tryptic Soy Broth
PBS: Fosfat Tamponlu Su
PK: Pozitif Kontrol
QS: Quorum Sensing
QSI: Quorum Sensing İnhibisyonu
rpm: Dakikadaki Devir Sayısı



TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimimin tüm aşamalarında bilgileri ve tecrübeleri ile bana rehberlik eden, anlayışlı ve hoşgörülü yaklaşımıyla tez sürecinde yaşadığım zorluklarda desteğini hep hissettiren, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyduğum tez danışmanım Prof. Dr. İbrahim ÇAKIR'a; deneyimleri ve fikirleriyle tezin tüm aşamalarına katkı sunan Tez İzleme Komitesi Üyeleri kıymetli hocalarım Doç. Dr. Aylin AKOĞLU ve Doç. Dr. İlyas ATALAR'a; laboratuvar çalışmalarına başladığım ilk günden itibaren bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan, dostluklarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Dr. Şeyma Betül ENCU, Yeşim AKTEPE ve Aslı YILDIRIM'a; tezin farklı aşamalarında laboratuvarlarından ve deneyimlerinden faydalandığım başta Prof. Dr. Esra ACAR SOYKUT, Prof. Dr. Semra TURAN ve Dr. Öğr. Üyesi Kübra ERYAŞAR ÖRER olmak üzere Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ndeki bütün değerli hocalarıma çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince bana her zaman destek olan arkadaşlarım Dr. Furkan AYDIN ve Dr. Tuğçe ÖNBAŞ'a; gül yağı ve gül absolütünün GC-MS'de analizlerini gerçekleştiren Dr. Sanaz LAKESTANI'ye; nar atıklarının liyofilizasyonunu gerçekleştiren Biyolog Hatice KÜLKÖYLÜOĞLU'na; nar atıklarının temininde yardımcı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Hande Selen ERGE ve Prof. Dr. Feryal KARADENİZ'e (Göknur Gıda Maddeleri Enerji İml. İth. İhr. Tic. ve San. A.Ş.'ye); gül yağı ve gül absolütü örneklerinin temin edilmesindeki yardımlarından ötürü Sebat Gülyağı Ltd. Şti.'ye; patojen kültürlerin temini aşamasındaki yardımlarından dolayı Bolu Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nde çalışan arkadaşlarım Havva ARI YILDIZ ve Harun KAŞBAŞI'ya; desteklerinden ötürü Dilek KARTAL ve iş arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak her zaman sırtımı yasladığım koca bir dağ olan olan sevgili aileme; bu zorlu süreçte en büyük destekçim olan yol arkadaşım, eşim Murat ORUÇ'a; varlığıyla doğduğu ilk günden beri gücüme güç katan canım oğlum Mete Salih'e sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması BAİBÜ-BAP Koordinatörlüğü tarafından 30.01.2022 tarihli ve 2022.09.04.1551 nolu BAP04-Doktora Tez Projesi kapsamında desteklenmiştir.

1. GİRİŞ

Çoğunluğu algılama (ÇA), quorum sensing (QS) olarak da bilinen bir haberleşme sistemi olup, bakterilerin birbirleriyle iletişim kurmasını sağlamaktadır. Bu mekanizmayı kullanan bakteri türlerinin gelişme koşulları ve yaşam ortamları farklı olsa da biyofilm oluşturma şekilleri benzerlik göstermektedir (Danhorn ve Fukua, 2007; Khan vd., 2019; Önbaş vd., 2023). ÇA, mikroorganizmaların belli bir çoğunluğa ulaştıklarında çeşitli mekanizmalarla birtakım sinyal molekülleri üretmesi ve bu moleküllerin yoğunluğunun ölçülmesine dayanmaktadır (Gopu vd., 2018; Kameswaran vd., 2024). Bakteriler, otoindüktör adı verilen sinyal molekülleri sayesinde popülasyondaki hücre yoğunluğunu algılayarak gen ifadelerini/davranışlarını (biyofilm oluşumu, spor oluşturma, biyoluminesans, antibiyotik üretimi, enzim üretimi, bakteriyosin üretimi, patojenite özelliği vb.) popülasyon düzeyinde türe özgü olarak düzenlemektedir. Daha çok bakteriler arasında gözlemlenen bu etkileşim, hormon benzeri kimyasal sinyal molekülleri aracılığıyla gerçekleştirilmektedir (Schuster vd., 2013; Yılmaz-Yaldıran vd., 2015; Yuan vd., 2018; Önbaş vd., 2023).

Quorum Quenching (QQ) veya Quorum Sensing İnhibisyonu (QSI) olarak da bilinen ÇA inhibisyonu, bakteriler arasındaki iletişim mekanizmalarını bozarak bakterilerin kontrol edilmesi olarak tanımlanmaktadır (Tiryaki Gündüz ve Korkmaz Vurmaz, 2021; Öztürk Oruç vd., 2023). Hücreler arası iletişimin engellenmesi özellikle klinik mikrobiyoloji ve gıda mikrobiyolojisinde arzu edilmeyen mikrobiyel gelişimin önlenmesi bakımından önem arz etmektedir (Bai ve Rai, 2011). Özellikle biyofilm oluşturabilen farklı cins ve türlerdeki mikroorganizmaların patojen etkilerinin azaltılabilmesi ya da tamamen önlenebilmesi için ÇA sisteminin bloke edilmesi gerektiği düşünülmektedir (Bai ve Rai 2011; Defoirdt vd., 2013; Zhang vd., 2020). Bu durum gıda bozulmalarının ve gıda kaynaklı hastalıkların önlenmesi için önemli olarak görülmektedir (Ta ve Arnason 2016; Machado vd., 2020) Bitkiler, mikroorganizmalar ve mantarlar gibi doğal kaynaklardan elde edilen inhibitör maddelerin bakterilerin iletişim mekanizmalarını bozmak için kullanılabileceği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Munoz-Cazares vd., 2018; Öztürk Oruç vd., 2023). Bitkilerde bulunan ve ÇA inhibisyonu gösteren bileşiklerin araştırılması ve biyokimyasal olarak

tanımlanması büyük önem arz etmektedir (Çepni, 2014). Çünkü bitkiler yetiştikleri ortamda farklı mikroorganizmalarla ve onların meydana getirdiği sinyal molekülleriyle karşılaşmaktadır. Kendilerini muhafaza etmek amacıyla da mikroorganizmaların sinyal moleküllerine benzeyen moleküller üretmektedir. Bu nedenlerle bitkilerden elde edilen doğal bileşenlerin, ÇA sinyali üreten mikroorganizmaların sinyallerini inhibe etmek için kullanılabileceği düşünülmüştür (Koh vd., 2013; İpek, 2017; Majdura vd., 2023).

1.1 Tezin Konusu, Amacı ve Katkısı

Gıda endüstrisinde patojen bakterilerin ÇA sinyallerini inhibe etmek ve biyofilm oluşumunu önlemek amacıyla çeşitli bitkisel kaynaklardan elde edilen inhibitör maddelerin kullanımına son yıllarda artan bir talep vardır (Cáceres vd., 2020; Lencova vd., 2022). Antimikrobiyal, antibiyofilm ve ÇAI etkisi olan doğal maddelerin tespiti ve bunlar ile doğal dezenfektan formülünün geliştirilmesi amaçlanan araştırmalar yapılmaktadır (Garcia vd., 2013; Castillo vd., 2015; İpek, 2017; Medina-Rodríguez vd., 2020).

Nar; *Punicaceae* familyasına ait, *Punica granatum* Linnaeus türünde olan ve ılıman iklimlerde yetişen bir meyvedir. Farklı iklimlere adaptasyon yeteneği geniş olan narın üretim alanı da bu sebeple oldukça geniştir (Şimşek ve İkinci, 2017; Özmert Ergin, 2019). Narın özellikle meyve işleme endüstrisinde kullanılmayan ve atık olarak ayrılan kısımlarının (nar kabuğu, nar çekirdeği, iç zar) fonksiyonel özellikleri üzerine sürekli yeni araştırmalar yapılmaktadır. Çünkü narın farklı kısımlarında bulunan biyoaktif bileşikler (tanninler, flavonoidler, alkaloidler, organik asitler, triterpenler ve steroidler) antioksidan, antiviral, antikanser, antimikrobiyal, antidiyabetik, antineoplastik, antihiperlipidemik gibi fonksiyonel ve tedavi edici özellikler göstermektedir (Vatansever, 2018).

Narda bulunan yüksek moleküler ağırlıklı elajitanenler yan ürünlerin hidrolizine bağlı olarak farklı biyolojik yollar ile elde edilen bitkisel fenoliklerdir. Elajitanenlerin asit, baz ya da mikrobiyel aktivite ile hidrolizi sonucunda ester bağları koparak daha stabil elajik asit (heksahidroksidifenik asit) oluşmaktadır. Punikalajin (2,3-heksahidroksi-difenil-4,6-gallagilglikoz) nar kabuğunda baskın olarak bulunan bir diğer elajitanendir. Yapılan çalışmalarda nar kabuğunun yüksek antioksidan, antimikrobiyal ve antikanserojen etki göstermesinde elajik asit ve punikalajinin önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Okumuş, 2016).

Ağrı kesici, sakinleştirici, yara iyileştirici, antimikrobiyal etkisi ve aromaterapiye uygunluğu bilinen gül ekstraktları, kozmetik, tıp ve gıda sanayisinde kullanılmaktadır. Glden elde edilen bu ekstraktların (gül yağı, gl absolütü, gl suyu vb.) antioksidan özelliği içerisinde bulunan C vitamini, antosiyaninler, quersetin ve gallik asit gibi biflavonidler ve tanenler bakımından zengin olmasından kaynaklanmaktadır (Eriş, 2011). Ayrıca bu ekstraktlar içerisinde farklı oranlarda sitrenellol, geraniol, nerol, metil öjenol, fenil etil alkol gibi antimikrobiyal ve anti-QS zellik taşıdığı bilinen maddeler de bulunmaktadır (Çevikbaş, 2014; Akram vd., 2019; Bali vd., 2021). Literatürde lkemizde özellikle Isparta yöresinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan *Rosa damascena* Mill. türünden elde edilen gl yağı, gl absolütü, gl suyu vb. rnlerin anti-QS ve antibiyofilm özelliklerinin bir arada araştırıldığı çalışmalar sınırlıdır (Bali vd., 2021, evikbaş ve Ulusoy, 2023).

Bu çalışmada, meyve suyu endüstrisinde kullanılan nar atıklarından (kabuk, çekirdek ve zar içeren posa) elde edilen ekstraktların, nar kabuğunun önemli biyoaktif bileşenlerinden olan elajik asit ve punikalajin ile gl yağı ve gl absolütünün bazı gıda patojenleri üzerindeki antimikrobiyal, antibiyofilm ve AI zelliklerinin araştırılması, gıda işletmelerinde doğal dezenfektan bileşeni olarak kullanım potansiyellerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Tez alışması kapsamında araştırılan örneklerin yüksek antimikrobiyal, antibiyofilm ve AI etkileri ile doğal dezenfeksiyon formüllerinde kullanım potansiyelinin yüksek olduğu hipotezi ortaya konularak yapılan analizlerle hipotez test edilmiştir.

Tezden elde edilen çıktılar doğrultusunda, i) Seçilen örneklerin doğal dezenfektan formüllerinde kullanılabilmesi için önemli olan antimikrobiyal, antibiyofilm ve AI zelliklerinin bir arada araştırılarak, en uygun bileşen veya ekstrakt formunun belirlenmesi, ii) Meyve işleme sanayinden geriye kalan kabuk, çekirdek ve zar içeren nar atıklarının değerlendirilmesi ve evre kirliliğinin nlenmesine katkı sağlanması, iii) lkemiz için tarihi, kültürel ve ekonomik değeri oldukça yüksek olan gl bitkisinden elde edilen ekstraktların doğal dezenfektan formüllerinde kullanım potansiyelinin belirlenmesi hedeflenmektedir.

1.2 Coğunluğu Algılama Sistemi

ÇA sistemi, hücreden hücreye sinyalleşme yöntemiyle kurulan bir iletişim sistemidir. Mikroorganizmaların bir popölasyon içindeki gen ekspresyonunu düzenlemek için kullandıkları bu sistem, sinyal molekülleri ile tür içi veya türler arasında haberleşmeyi sağlayan bir araç olarak tanımlanmıştır (Nealson ve ark., 1970; Önbaş vd., 2023).

Mikroorganizmalar, uzun yıllar sadece besinleri kullanan, çoğalan, birbirinden habersiz canlılar olarak bilinmekteyken 19. yüzyılda mikroorganizmalar arasında bir takım sosyal davranışlar olabileceği fikri sosyobiyojoloji alanının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Wilson, 1975; Karaboz ve Sukatar 2004). ÇA ile ilgili ilk olarak ilk bulgular 1965 yılında *Streptococcus pneumoniae* bakterisi üzerinde yapılan çalışmalar neticesinde ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlar ile hücre dışı salgılanan hormon benzeri bir molekülün hücre davranışlarını etkilediği belirtilmiş ve bu araştırma bakterilerin sosyal varlıklar olduğunun ilk kanıtı olarak literatürde yerini almıştır (Tomasz, 1965). Ardından 1960'ların sonunda deniz suyunda yaşayan *Vibrio fischeri* ve *Vibrio harveyi* bakterileri üzerinde bazı çalışmalar yapılmış ve haberleşme mekanizması ile biyoluminesans oluşumu gözlemlenmiştir. Bu iki bakterinin sayılarının belli bir düzeyden az olduğunda ışımaya yapmadığı, deniz suyunda sayıları 10^{10} - 10^{11} kob/mL düzeyine geldiğinde ise ışımaya olduğu tespit edilmiştir (Nealson vd., 1970; Miller ve Bassler, 2001). Ancak ilk yayınlarda ortaya konulan, bakterilerin hücre dışı bazı kimyasal moleküllerle iletişim kurduğu fikrine şüpheye yaklaşılmış ve yaklaşık 20 yıl konu ile ilgili bu bulgular göz ardı edilmiştir (Leoni ve Rampioni, 2018).

ÇA ile ilgili 1980'li yıllarda iki önemli keşif yapılarak; (i) *V. fischeri* bakterisinde biyoluminesans (lux) oluşumundan sorumlu olan genler (LuxI/LuxR) tanımlanmış ve (ii) üretilen sinyal molekülü N-3-oxohexanoyl-l-homoserine lactone (3OC6-HHL) olarak belirtilmiştir (Eberhard vd., 1981; Engebrecht vd., 1983; Engebrecht ve Silverman 1984). Bu sistem, bundan sonraki ÇA çalışmaları için model olarak kullanılmış ve çalışmalar bu doğrultuda ilerlemiştir (Whiteley vd., 2017). 1994 yılında Clay Fuqua, Stephen C. Winans ve E. Peter Greenberg tarafından bakteriler arasındaki bu iletişim sistemi quorum sensing olarak adlandırılmıştır (Quave vd., 2010). Sonraki çalışmalarda LuxI/LuxR sisteminin Gram negatif bakterilerde bulunduğu, sinyal moleküllerinin çeşidi ve bu

moleküllerin algılanma şekline göre üç farklı iletişim mekanizması olduğu belirlenmiştir (Ivanova vd., 2018). Gram pozitif bakterilerin “otoindüktör peptidler” (AIP) olarak ifade edilen sinyal moleküllerini kullanarak oligopeptid sistemi adı verilen bir sistem ile iletişim kurduğu tespit edilmiştir (Monnet vd., 2016). Yapılan araştırmalar hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilerde görülebilen, tür içi ve türler arası iletişim sağlayan ve bu iki sisteme de benzeyen özellikleri olan hibrit sistemi adında üçüncü bir sistemin daha bulunduğunu ortaya koymuştur (Miller ve Bassler, 2001). Son yıllarda yapılan çalışmalarda ÇA mekanizmasının yalnızca bakterilerde meydana gelmediği küf ile mayalar (Padder vd., 2018, Barriuso vd., 2018) ve hatta virüslerde (Erez vd., 2017) bu mekanizmanın görüldüğü belirlenmiştir. Fakat bakteriler dışında diğer canlılarda görülen ÇA mekanizmasının ve bu mekanizmada görev alan sinyal moleküllerinin özellikleri henüz net olarak tanımlanamamıştır (Var ve Çelik, 2019).

1.2.1 ÇA Sisteminde Kullanılan Sinyal Molekülleri

ÇA sisteminde kullanılan sinyal molekülleri, popülasyondaki iletişim ve koordinasyonu sağlamak için sayıdaki değişikliklere göre üretilen kimyasal bileşiklerdir (Kim ve Yeon, 2018; Abdul Hamid ve Nadarajah, 2022). Türe özgü davranışların ortaya çıkarılması ve bakterilerin direnç mekanizmasının artırılması açısından bu sinyal moleküllerinin üretilmesi oldukça önemlidir (Ruhal ve Kataria, 2021; Bhatt vd., 2022). Bilinen en yaygın sinyal molekülleri aşağıda belirtilmiştir (Prathyusha vd, 2019).

- i) **Otoindükleyici-1 (AHL);** Gram negatif bakteriler tarafından üretilen ve açıl-homoserin laktonlar olarak bilinen bu sinyaller bakteri membranı boyunca yayılabilen küçük moleküllerdir. Bir homoserin lakton halkası ve farklı uzunluklardaki bir açıl yan zincirinden meydana gelen AHL sinyallerinde reseptör proteinine bağlanma özgünlüğü yan zincirin uzunluğuna ve yapısına göre değişmektedir (Önbaş vd., 2023).
- ii) **Otoindükleyici-2 (AI-2); AI-2’ler,** furanosil borat diesteri yapısında olan ve LuxS enzimi tarafından sentezlenen moleküllerdir. Hem Gram negatif, hem de Gram pozitif bakteriler tarafından üretilmekte ve hibrit ÇA sisteminde AHL bağlantılı olarak görev aldığı bilinmektedir (Narendrakumar vd., 2018). Farklı bakteriler tarafından üretilen ve

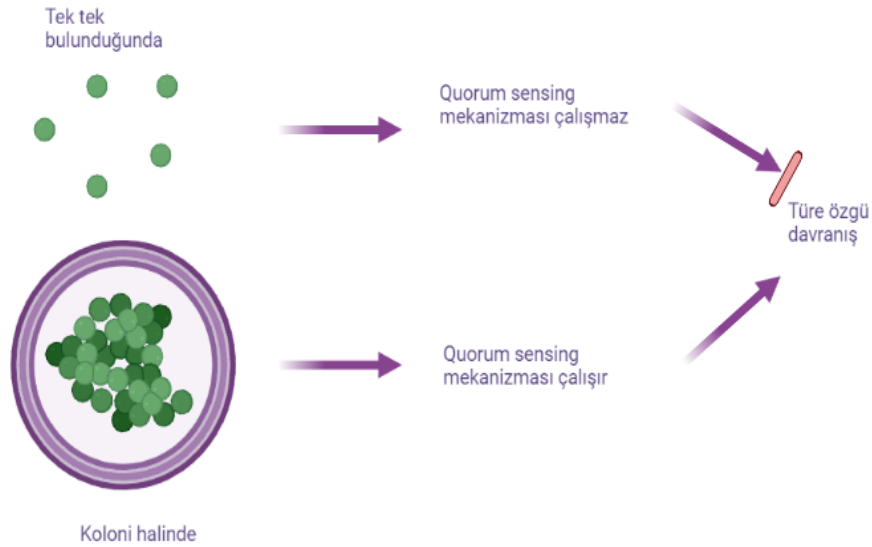
türler arası haberleşmede kullanılan önemli bir moleküldür. AI-2 sistemi ayrıca ilk olarak deniz bakterisi olan *V. fischeri*'de tespit edilmiştir (Nealson ve Hastings, 1979).

- iii) **Otoindükleyici-3 (AI-3);** Yeni keşfedilen ve ilk olarak enterohemorajik *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7'den izole edilen bu sinyal molekülünün yapısı henüz tam olarak tanımlanamamıştır (Sperandio vd., 2003; Önbaş vd., 2023). Hem patojenik hem de patojenik olmayan bakteriler tarafından üretilebildiği bilinen (Nahar vd., 2018) AI-3 sinyal molekülü, mikroorganizmanın konakçı hücrede hayatta kalmasına, patojenite göstermesine ve kamçı hareketliliğine yardımcı olmaktadır (Sperandio vd., 2002; Clarke ve Sperandio 2005). Sinyal molekülünün sensör kinaz (QseC) ve yanıt regülatörü (QseB) bulunduran 2 bileşenli bir sistem tarafından tanındığı bilinmektedir (Yousuf vd., 2018).
- iv) **Otoindükleyici-4 (AIP);** Bu sinyaller, Gram pozitif bakteriler tarafından üretilmekte ve otoindükleyici peptidler olarak bilinmekte olan aminoasit ve kısa zincirli peptidlerdir. İlk olarak *Staphylococcus aureus*'ta bulunan Agr sistemi içerisinde tanımlanan AIP'ler, düz (*Streptococcus pneumoniae* ve *Bacillus subtilis*) veya siklik yapıda (*S. aureus*) olabilmektedir (Önbaş vd., 2023). Bu moleküllerinin birçoğu, translasyon sonrası değişikliğe uğrayan 5-26 aminoasitten oluşan peptidlerden üretilmektedir (Ng ve Bassler, 2009). Ugradıkları bu değişimler AIP'lerin kararlılıklarını ve işlevselliklerini arttırmalarını sağlamaktadır (Skandamis ve Nychas, 2012).

1.2.2 ÇA Etki Mekanizması

ÇA sistemi, son yıllarda mikroorganizmaları kontrol altına almak amacıyla kullanılabilecek alternatif bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bu sistemde mikroorganizmaların ürettikleri sinyal molekülleri birbirinden farklılık gösterse de etki mekanizması temel olarak birbirine benzerdir. ÇA mekanizması kullanılarak mikroorganizmalar tarafından çevrenin değişen koşullarına adaptasyon sağlamaya yardımcı olan türe özgü davranışlar sergilenmektedir. Biyofilm oluşumu, virülans, spor oluşturma, biyoluminesans, antibiyotik üretimi, bakteriyosin üretimi, patojenite özelliği gibi türe özgü pek çok davranış ÇA ile kontrol edilmektedir (Wu vd., 2019; Filik ve Filik, 2022).

Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerde sinyal molekülleri farklılık göstermekte; ancak ÇA mekanizması birbirine benzer 3 temel aşamadan meydana gelmektedir. İlk aşamada, her tür kendine özgü genleri kullanarak sinyal moleküllerini üretmektedir. Düşük hücre yoğunluğunda üretilen sinyal molekülleri dağılmakta ve herhangi bir tepkiye yol açmamaktadır. Yüksek hücre yoğunluğundaki sinyal moleküllerinin üretiminde sinyal konsantrasyonu fazla olduğu için topluluk tarafından tepki oluşmaktadır (Şekil 1.1, Önbaş vd., 2023). Bu aşamada, sinyal moleküllerinin ortama salınması, hücre zarı yapısındaki özel bir sistemle gerçekleşmektedir. İkinci aşamada, sinyal molekülleri stoplazmada veya zarda bulunan reseptörler tarafından tespit edilir. Son olarak, sinyal molekülü uygun reseptöre bağlandığında aktifleşmekte ve oluşan bu kompleks hedef gene bağlanmaktadır. Böylece gen transkripsiyonu aktive olmakta ve türe özgü davranışlar sergilenmektedir (Kaplan ve Greenberg, 1985; Seed vd., 1995; Papenfort ve Bassler, 2016; Reddy vd., 2019).



Şekil 1.1. ÇA mekanizmasında bakteri popülasyonunun etkisi

ÇA mekanizmasında sinyal moleküllerinin türü ve algılanma şekline göre 3 farklı haberleşme mekanizması bulunmaktadır. Bu mekanizmalar: i) LuxI/LuxR Sistemi (Gram negatif bakterilerde) ii) Oligopeptid Sistemi (Gram pozitif bakterilerde) iii) Hibrit Sistem (Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerde) (Yılmaz-Yaldıran vd., 2015).

1.2.2.1 LuxI/LuxR Sistemi

LuxI/LuxR sistemi, Gram-negatif bakterilerde bulunmakta ve bu sistemde LuxI ve LuxR olarak adlandırılan düzenleyici iki protein rol almaktadır. LuxI tipi enzimler, AHL'nin sentezinden sorumlu olan enzimlerdir (Yılmaz-Yaldıran vd., 2015; Narendrakumar vd., 2018). Bu enzimler tarafından üretilen sinyal molekülleri hücre zarında yayılarak hücre içinden difüzyonla hücre dışına geçmektedir. Hücre dışı ortamda birikmeye başlayan bu düşük yoğunluklu moleküller belli bir eşik değere ulaştığında diğer hücrelerde bir uyarılma gerçekleşmektedir. AHL'lerin hücre zarı tarafından tanınması ve difüzyonla stoplazmaya alınmasından sonra LuxR tipi düzenleyiciler devreye girmekte ve sinyal moleküllerini algılamaktadır. Bu düzenleyicilerin görevi sinyallerin transkripsiyon faktörlerine (TF) bağlanmasını ve aktif hale gelmesini sağlamaktır. TF'ler ise gen ekspresyonunu düzenlemek amacıyla ilgili operonların promotorlarına bağlanmaktadır (Miller ve Bassler 2001; Kalia vd., 2013; Ćirić vd., 2019). Böylece türlerin kendilerine özgü olan biyofilm oluşumu, pigmentasyon, patojenite, spor oluşumu, hareketlilik, bakteriyosin üretimi ve antibiyotik direnci gibi fenotipleri ortaya çıkmaktadır (Seed vd., 1995; Mcclean vd., 1997; Karlsson vd., 2012).

V. harveyi ve *Myxococcus xanthus* hariç diğer Gram negatif bakterilerin ÇA sistemlerinin döngüsü *V. fischeri*'ye benzemektedir ve düzenleyici protein olan LuxI/LuxR proteinlerinin homologlarına sahiptir (Eriş, 2011). Örneğin; *Pseudomonas aeruginosa*'nın LasI/LasR ve Rh1I/Rh1R sistemleri, *Chromobacterium violaceum*'un CviI/CviR sistemi, *Agrobacterium tumefaciens*'in TraI/TraI sistemi ve *Erwinia carotovora*'nın ExpI/ExpR sistemi LuxI/LuxR sistemindeki proteinlerin homologlarıdır (Vaddakan vd., 2018; Tülüce vd., 2021). ÇA sistemi, patojen bakterilerde virülens faktörlerin ve sekonder metabolitlerin üretiminde rol almaktadır. Bu sebeple, LuxI/LuxR sistemi ilgili son zamanlarda yapılan araştırmalar *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *Salmonella* spp. gibi patojenler üzerinde yoğunlaşmıştır (Yılmaz-Yaldıran vd., 2015).

1.2.2.2 Oligopeptid Sistemi

Gram pozitif bakterilerin ÇA sisteminde Gram negatif bakterilerden farklılıklar bulunmaktadır (Xavier ve Bassler, 2003). Öncelikle bu sistemde Gram negatif bakterilerde bulunan AHL'lerin aksine "otoindüktör peptidler" (AIP) olarak

adlandırılan sinyal molekülleri görev almaktadır. AIP'lerin hücre zarından taşınma sistemleri de Gram negatif bakterilerden farklılık göstermektedir. Burada sinyallerin hücre içinden dışarıya çıkışı difüzyon yerine genellikle hücre zarında bulunan “ATP-binding cassette” (ABC transporter) sistemi tarafından gerçekleştirilmektedir (Çepni, 2014). İki bileşenden oluşan bu sinyal algılama sisteminde birinci bileşen olan histidin kinaz proteini hücre zarına yerleşmiş haldedir. Diğer bir bileşen olan TF'nin çalışması ise histidin kinazın aktif olmasına bağlıdır (Kleerebezem vd., 1997). Hücrelerin salgıladığı sinyal molekülü konsantrasyonu yeterli miktara ulaştığında, hücre yüzeyinde bulunan reseptörler ile AIP'ler etkileşime girmekte ve histidin kinaz proteinleri aktif hale gelmektedir. Yüzey proteinlerinin aktifleşmesinin ardından, bu proteinler sistemin ikincil bileşeni olan TF proteini fosforlayarak aktif hale getirmektedir. Böylece ÇA mekanizması tamamlanmakta ve türe özgü olan davranışlar ortaya konulmaktadır (Federle ve Bassler 2003; Lyon ve Novick 2004). *Bacillus* türleri, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus* türü bakteriler ile *Enterococcus faecalis* bu sistemi kullanan ve üzerinde en çok çalışma yapılan bakterilerdir (Abee vd., 2011; Yılmaz-Yaldıran vd., 2015).

1.2.2.3 Hibrit Sistem

Hem LuxI/LuxR sistemine, hem de oligopeptid sistemine benzer özellikleri nedeniyle hibrit olarak adlandırılan bu sistem ilk olarak *V. harveyi* bakterisinde keşfedilmiştir (Freeman vd., 2000). Bu bakteride bulunan ÇA sistemi, üç farklı sinyal molekülü ve paralel olarak üç eşlenik reseptör işleyicisinden oluşmaktadır. Sistemde AHL benzeri (HAI-1) sinyal molekülleri difüzyon yolu ile ortama salgılanmaktadır. Hibrit sistem, AHL türevi sinyal moleküllerinin kullanılması yönüyle LuxI/LuxR sistemine benzemektedir. Furan türevleri (AI-2 olarak da bilinen furanosil borat diesterleri) sistemde kullanılan ve LuxS enzim üretimi için gerekli olan diğer sinyal molekülleridir. Her iki tür molekülün de miktarları eşik değerini aştığında moleküller diğer hücreler tarafından algılanmaya başlamaktadır. Ancak bu moleküllerin hücre zarında algılanmaları iki aşamalı sistem ile gerçekleşmektedir. Sistem, bu yönüyle de oligopeptid sistemine benzer özellik taşımaktadır. Bu sistem de otoindükleyici-2 (AI-2) olarak bilinen sinyal molekülleri AHL'lerden farklı olarak türler arası iletişimi sağlamak için kullanılmaktadır (Federle ve Bassler, 2003; Erdi, 2013; Çepni, 2014; Kaya ve Yardımcı 2014). AI-

2'nin üretiminden sorumlu olan LuxS gen homologlarının *Mycobacterium tuberculosis*, *E. coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Streptococcus pyogenes*, *B. subtilis*, *Helicobacter pylori* ve *S. aureus* gibi bakterilerin de içerisinde yer aldığı pek çok bakteri türünde bulunduğu bilinmektedir (Sperandio vd, 2002; Lyon ve Novick, 2004; Bassler ve Miller, 2006). Ayrıca *V. harveyi*'de bulunan ve CAI-1 olarak adlandırılan bir diğer sinyal molekülü daha bulunmaktadır. Bu molekül CqsA enzimi tarafından üretilmekte ve membrana bağlı histidin kinaz sensörü CqsS ile etkileşim halinde bulunmaktadır (Waters ve Bassler, 2005).

Hibrit sistemde bulunan LuxLM proteini tarafından üretilen AI-1 sinyal molekülünün alıcısı LuxN proteindir. AI-2 sinyal molekülü ise *luxS* geni tarafından kodlanan LuxS proteininin LuxP proteinine bağlanması sonucu oluşan LuxQ proteini tarafından alınmaktadır. Sistemde görev yapan LuxN ve LuxQ histidin kinazları membrana bağlı bulunmaktadır. Bu enzimler, hücre içine sinyal moleküllerinin taşınması sırasında fosfat gruplarının eklenmesinden sorumludur. Fosforilizasyon işlemi çok aşamalı bir yoldur. *V. harveyi* bakterisinde düşük hücre yoğunluğunda LuxN ve LuxQ sensörleri fosfatı stoplazmik protein olan LuxU'ya aktarır. LuxU'da, fosfatı DNA-bağlayan yanıt düzenleyici protein olan LuxO'ya aktarmaktadır. Fosfo-LuxO ve transkripsiyon faktör σ_{54} kompleksi, düzenleyici olarak görev yapan küçük RNA moleküllerinin transkripsiyonunu aktive etmektedir. sRNA'lar olarak bilinen bu RNA molekülleri, Hfq olarak bilinen RNA şaperonu ile birlikte LuxR (*V.fischeri*'nin LuxR'sine benzemeyen) olarak adlandırılan transkripsiyonel aktivatörü kodlayan mRNA'ya bağlanmaktadır. LuxR operonu, *luxCD-ABE*'nin transkripsiyonunun aktivasyonu için gereklidir. Böylece, düşük hücre yoğunluğunda LuxR mRNA'sı indirgendiği için bakterinin gen transkripsiyonunun (*luxCD-ABE*) gerçekleşmesi önlenmektedir. Yüksek hücre yoğunluğunda ise LuxN ve LuxQ, LuxO üzerindeki fosfat gruplarını almaktadır. Bu durumda alıcı proteinin sentezi gerçekleşmediğinden transkripsiyon aktivatörü olan LuxR, *luxCDABE* gen ekspresyonunu uyarmakta ve türe özgü davranış olarak bilinen biyoluminisans ortaya çıkmaktadır (Freeman ve Bassler 1999; Waters ve Bassler 2005; Kaya ve Yardımcı, 2014; Yılmaz-Yaldıran vd., 2015; Abisado vd., 2018).

1.2.3 ÇA Mekanizması ile Düzenlenen Türe Özgü Davranışlar

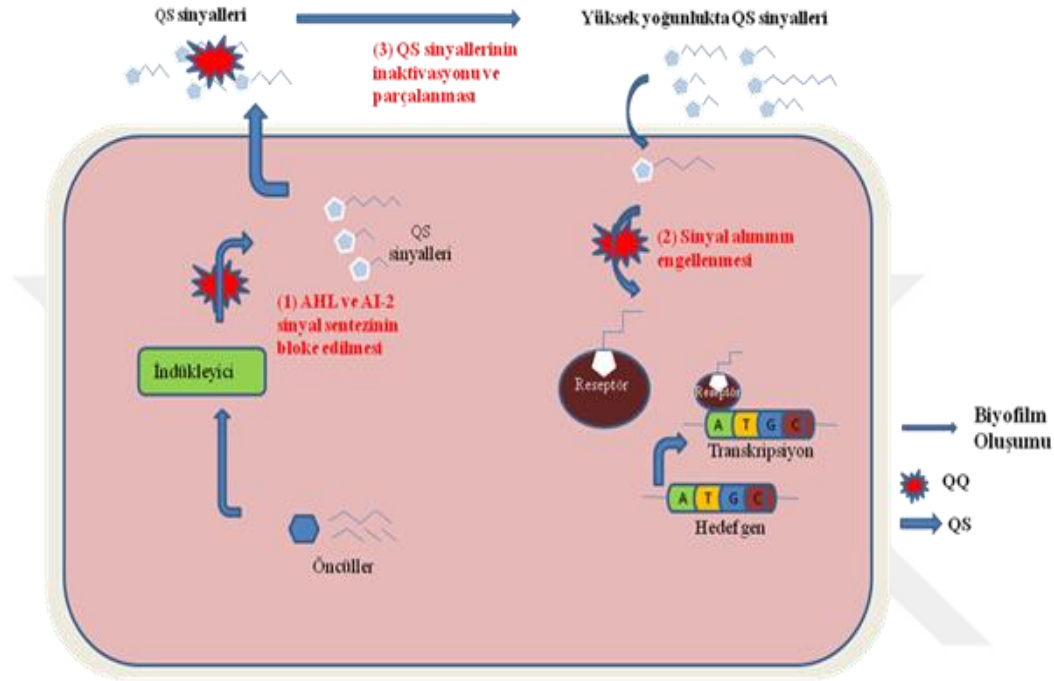
ÇA, bakterilerin yaşamlarını sürdürebilmesine yardımcı olan, onların zorlu çevre koşullarına uyum sağlamasına katkı sağlayan önemli bir mekanizmadır. Bu adaptasyon ve direnç mekanizmasının oluşmasında ÇA sayesinde ortaya çıkan fenotipler önemli rol oynamaktadır (Önbaş vd., 2023). Bakterilerde gözlemlenen ilk türe özgü davranış biyoluminans denilen *V. fischeri* ve *V. harveyi* bakterileri tarafından yaptığı belirlenen ışımadır (Nealson vd., 1970). ÇA mekanizmasının bakteriyel patojenitedeki önemi ise 1990'ların başında anlaşılmaya başlanmıştır. Özellikle, *P. aeruginosa*'nın biyofilm oluşturma, hareketlilik ve hücre dışı enzim salgılama gibi patojenik işlevlerini ÇA mekanizmasına bağlı olarak gerçekleştirdiğinin bulunması bu hususta önemli bir gelişme olmuştur (Sifri, 2008; Çepni ve Gürel, 2011). Bunlarla birlikte, spor oluşumu, toksin üretimi, fimbria, pili, yüzey proteinler gibi virülans faktörlerin üretimi, kapsül üretimi, lipopolisakkarit sentezi ve antibiyotik direnci gibi türe özgü davranışlar da bakterilerde patojenitenin oluşmasını ve artmasını sağlamaktadır (Önbaş vd., 2023).

1.2.4 ÇA Sisteminin İnhibisyonu (ÇAI)

ÇA mekanizmasının tanımlanması *Bacillus* sp. 240B1 bakterisinde AiiA enziminin AHL sinyallerini inhibe ettiğinin bulunmasıyla olmuştur. Araştırmada bu inhibisyonun ÇA mekanizmasını da baskıladığı belirtilmiştir (Dong vd., 2001). ÇAI ile amaçlanan uygun bazı yöntemler vasıtasıyla haberleşme mekanizmasını inhibe etmek ya da düzgün çalışmasını engellemektir. Böylelikle mikroorganizma topluluklarının kontrol altına alınması sağlanmakta ve istenmeyen fenotipik özelliklerin ortaya çıkması önlenmektedir (Gülgör ve Korukluoğlu, 2014; Öztürk Oruç vd., 2023). Lakton halkasını kıran laktonazlar, AHL'lerin amid bağı hidrolyze ederek yağ asidine ve homoserin laktone parçalayan asilazlar ve AHL'lerin asil zincirini oksitleyen veya 3-okso-AHL'leri karşılık gelen 3-hidroksi-AHL karşılıklarına indirgeyen oksidoredüktazlar mekanizmada rol alan enzimlerdir (Sikdar vd., 2020).

Bakterilerin ÇA inhibisyonunu belirlemek için çeşitli biyomonitör bakteriler (*C. violaceum*, *A. tumefaciens*, *V. harveyi*, *Erwinia carotovora*, *P. aeruginosa* vb.) kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarla kullanılan bakterilerin ÇA mekanizması sonucu ortaya koyduğu türe özgü bazı davranışların inhibisyonu ölçülmektedir (Çepni ve Gürel, 2011).

Biyofilm oluşumu, sinyal molekülleri sentezine bağlı pigment (viyolasin, piyosiyanin vb.) üretimi, ekzopolisakkarit (ramnolipid vb.) üretimi, bakteri hareketliliği (kayma, yüzme ve titreme hareketleri, flagella hareketi vb.) ve bazı enzimlerin (elastaz, proteaz vb.) üretimi söz konusu mekanizmalara örnektir (Yurt Göze, 2009).



Şekil 1.2. ÇA mekanizmaları (Öztürk Oruç vd., 2023).

1.2.4.1 *P. aeruginosa*

P. aeruginosa, *Pseudomonadaceae* ailesinden insan patojeni bir bakteri olup, en iyi tanımlanan *Pseudomonas* türü olarak bilinmektedir. Gram negatif, spor oluşturmeyen, zorunlu aerob, zor koşullar altında kolay üreyebilen, polar flagellası ile hareketli bir bakteri türüdür. *P. aeruginosa*, enfekte ettiği konakta patojenitesine katkı sağlayan ve ÇA sistemi tarafından kontrol edilen virülens faktörler üretmektedir. Kirpik (flagella), pilus (fimbriae), biyofilm maddeleri (lipopolisakkarit, aljinat), piyosiyanin, piyoverdin, proteaz, elastaz, fosfolipaz bu virülens faktörlerden bazılarıdır. Bakteri virülensinin azaltılabilmesi ya da ortadan kaldırılabilmesi için bu faktörlerin üretilmesine yol açan gen ekspresyonlarının engellenmesi gerekmektedir (Hançer Aydemir, 2012; Küçükiğci, 2013). *P. aeruginosa* PAO1 suşu doğal ve kimyasal maddelerin ÇAI etkisini ölçmek ve

inhibitör madde olarak kullanım potansiyelini araştırmak için kullanılan en güvenli model sistemlerdendir (Yurt Göze, 2009).

P. aeruginosa'da tanımlanmış iki temel ÇA sistemi vardır. Bunlar, birbiriyle bağlantılı şekilde çalışan Las ve Rhl sistemleridir. Bu iki sistem birlikte hücre dışı enzim salgılanması (elastaz ile alkalın proteaz, fosfolipaz C, kollajenaz, lesitinaz, jelatinaz gibi hücre dışı proteazlar) ve biyofilm oluşumunu da içeren iki yüzden fazla genin ekspresyonunu kontrol etmektedir (Tümmeler, 2006; Yurt Göze, 2009; Doğru, 2013; Küçükiğci, 2013). *V. fischeri*'deki *LuxI* ve *LuxR* genlerine homolog olan *lasR* ve *lasI* genleri hücre dışı enzim salgılanması ve biyofilm oluşumuna neden olur. *Rh1I* ve *Rh1R* genleri ise hücre dışı enzim sentezinin yanı sıra biyofilm oluşumunda kullanılan ramnolipid ve piyosiyenin üretimini de sağlamaktadır (Maier ve Soberon Chavez, 2000; Çepni ve Gürel, 2011). Daha sonra keşfedilen PQS-MvfR sisteminde ise 2-heptil-3-hidroksi-4 (1H) kinolon ve öncül maddeleri düzenleyici olarak görev yapan MvfR'yi bağlamaktadır. Bu sinyal molekülü (2-heptil-3-hidroksi-4 (1H) kinolon) homoserin AHL'lerden farklıdır. *LasB* geni, Las ve Rhl sistemi ekspresyonunu kontrol eden kinolon sinyali tarafından dizayn edilmiştir. Kinolon sinyallerinin üretiminden sorumlu PQS'in Las ve Rh1 sistemleri arasında köprü görevi gördüğü, iki sistemi birbirine bağladığı belirtilmektedir (Sırıken ve Öz, 2017).

P. aeruginosa'da önemli virülens faktörlerden olan elastaz, *lasB* geni tarafından kodlanmaktadır. *lasB* geni, LasR/LasI ÇA sisteminin kontrolündeki LasR düzenleyicisi tarafından kontrol edilmektedir (Passador vd., 1993). LasB elastaz, tek başına veya *Pseudomonas* tarafından üretilen diğer proteazlarla bir arada işlev göstererek biyolojik olarak önemli birçok substratı parçalar veya inaktivasyona uğratar (Yurt Göze, 2009). LasB elastaz ile birlikte çalışan LasA proteaz, geniş bir pH aralığında aktivite gösterebilen, çinko içeren elastini yıkamayan; ancak elastini yıpratarak lasB elastazın elastolitik aktivitesini arttıran bir enzimdir. Elastaz ile bu yönüyle sinerjik çalışan LasA proteaz, elastinle birlikte fibrin ve kollejeni de hasara uğratmaktadır. *LasA* geni tarafından kodlanıp, LasR/LasI sistemi ile düzenlenmektedir (Kessler vd., 1997; Grande vd., 2007).

Patojenitede önemli rol oynayan bir diğer enzim ise alkalın proteazdır. Bu enzim, lasA sistemi tarafından kontrol edilmekte olup, *aprA* geni tarafından

kodlanmaktadır. Fibrini parçalayan bir metalloproteaz olan alkalın proteaz, alkalı pH değerlerinde optimum aktivite gösterdiğinden böyle isimlendirilmiştir (Guzzo vd., 1991; Doğru, 2013). *P. aeruginosa* tarafından salgılanan diğer proteazlara benzer şekilde Proteaz IV de patojenitede rol almaktadır. Proteaz IV'ün keratin patojenitesine katkı sağladığı bilinmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda yüzey proteinleri olan A, D ve B'nin yıkımına neden olduğu belirlenmiştir (Matsumoto, 2004; Malloy vd., 2005). ÇAI inhibisyonu tespiti için elastaz ve proteaz testi de sıklıkla yapılan analizlerdir.

P. aeruginosa suşlarının ürettiği iki renk pigmentinden biri olan piyosiyenin (N-metil-1-hidroksifenazin), *P. aeruginosa*'ya özgüdür ve bakterinin önemli patojenite faktörlerinden birisidir. Suda ve kloroformda çözünme özelliği olan piyosiyenin asit ortamda kırmızı, bazik ortamda ise mavi veya yeşilimsi renk oluşturmaktadır. Diğer renk pigmenti olan piyoverdin kloroformda erimeydiğinden kloroform ile hücre ekstraksiyonu yapıldığında hücrenin ürettiği renklerden yalnızca piyosiyenin çözücüye geçmektedir (Erdem, 1999; Ra'ooof ve Latif, 2010; Hançer Aydemir, 2012). *P. aeruginosa*'da ÇA sisteminin baskılanması ile kültür ortamında yeşil renk veren piyosiyenin pigmentinin üretimi inhibe edilebilmektedir. Bu nedenle, piyosiyenin analizi ÇAI araştırmalarında sıklıkla kullanılmaktadır.

P. aeruginosa'nın kayma, yüzme ve titreme hareketleri patojenitesine katkı sağlayan önemli faktörlerdir. Yüzme hareketinden *P. aeruginosa*'nın yüzeyinde kutupsal olarak yerleşmiş bir uzantı şeklinde olan kirpik de denin flagella sorumludur. Sıvı ortamlarda gerçekleşen yüzme hareketinde tek polar flagellanın dönmesiyle ve yer değiştirmesiyle yüzme hareketi gerçekleşir. Flagella, yaşamsal bir öneme sahip olmasa da patojenite için oldukça önemlidir. Kayma hareketi de flagellaya bağımlı bir harekettir. Bakterinin yarı katı ortamda hareketinin gözlemlendiği bu davranışta hücrelerin boyu uzamakta ve flagella yapısı değişmektedir. Kayma hareketinde bakteride normalin aksine çift polar flagella yapısı görülmektedir. Fimbria olarak da bilinen pili ise, genellikle çoklu şekilde bulunan ve titreme hareketinden sorumlu olan kısa filament yapısında yüzey uzantılarıdır. Titreme hareketi bakterinin katı yüzeyde ilerlemesiyle oluşmaktadır. Bu ilerleme pilinin yüzeyde bir noktaya tutunması, sonra kısalarak hücreyi o noktaya çekmesiyle gerçekleşmektedir. Hem flagella hem de pili epitel hücre

yüzeyinde asialoGM1 yapılarına bağlanarak adezyonda görev almaktadır (Rashid ve Kornberg, 2000; Shrout vd., 2006; Hançer Aydemir, 2012).

1.2.4.2 *C. violaceum*

C. violaceum, yaygın olarak tropikal ve subtropikal alanlardaki toprak ve sulardan izole edilen, Gram negatif, zorunlu anaerob, çubuk şeklinde, hareketli, fermantasyon yapabilen, katalaz ve oksidaz pozitif, viyolasin adlı mor renkli pigment üretimi ile karakterize edilen fırsatçı bir bakteridir. İnsanlar için patojen kabul edilmese de özellikle bağışıklığı baskılanmış kişilerde ciddi akciğer, karaciğer ve deri enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Justo ve Duran, 2017). Ekzoproteaz, antibiyotik, hidrojen siyanit üretimi vb. fenotipler gibi viyolasin üretimi de ÇA sistemi ile kontrol edilmekte olup, hücreler bu pigmentin üretimi için oksijen ve L-triptofana gereksinim duymaktadır. Ayrıca genom dizilimi oldukça iyi bir şekilde belirlenmiş olup, 1989'dan beri *C. violaceum* genomunun biyoteknolojik yöntemlerle önemli bölgeleri klonlanmakta ve sekanslanmaktadır. *Ars* operon, *hcn* operon, asit dehalogenaz ve viyolasin biyosentez genleri bunlardan birkaçıdır (Eriş, 2011).

C. violaceum'un *CviI/CviR* olarak tanımlanmış ÇA sisteminde görev yapan sinyal molekülü olan AHL'nin N-hekzanoil-homoserin lakton (HHL) şeklinde bulunduğu belirlenmiştir (McClellan vd., 1997). *C. violaceum* ÇA mekanizmasında bakteri sayısı yeterli çoğunluğa eriştiğinde *cviI* geni aktif hale gelerek HHL molekülleri birikmeye başlamaktadır. Sinyal molekülü daha sonra hücreden salınarak *cviR* operatörüne bağlanmakta ve *CviR* genini aktive etmektedir. Viyolasin üretiminden sorumlu genin ekspresyonu ile viyolasin pigment üretimi gerçekleşmektedir. Viyolasin üretimi gibi kitinaz ve ekzoproteaz gibi virülens diğer faktörlerin üretimi de *CviR* geninin kontrolü altındadır (Chernin vd., 1998).

ÇA inhibisyonunu araştırmak için en sık kullanılan *C. violaceum* türleri *C. violaceum* CV12474, CV026 ve CVIR 07 suşlarıdır. Bunlardan *C. violaceum* CV12472 bakterisi ile yapılan testler de dışarıdan sinyal molekülü ilavesi olmadan sentezlenen viyolasin görsel olarak izlenebilmektedir. Diğer mutant suşların kullanımı halinde ise uygun sinyal molekülleri (C4-HHL ve C6-HHL) dışarıdan verilerek viyolasin üretilmektedir. Disk difüzyon testi veya kuyu difüzyon testi kullanılarak araştırılan maddelerin ÇA inhibisyonuna neden olup olmadığı belirlenebilmektedir. Eğer araştırılan maddelerin ÇAI etkisi var ise disklerin veya

açılan kuyuların etrafında renksiz opak yapıda zonlar oluşmakta ve viyolasin inhibisyonu arttıkça zon çapları da artmaktadır. ÇA inhibisyon etkisi göstermeyen maddeler viyolasin sentezini baskılamadığından disk veya kuyuların etrafında herhangi bir zon oluşmamakta ve üretilen viyolasinden dolayı mor renk gözlemlenmektedir (Choo vd., 2006; Çepni ve Gürel, 2011).

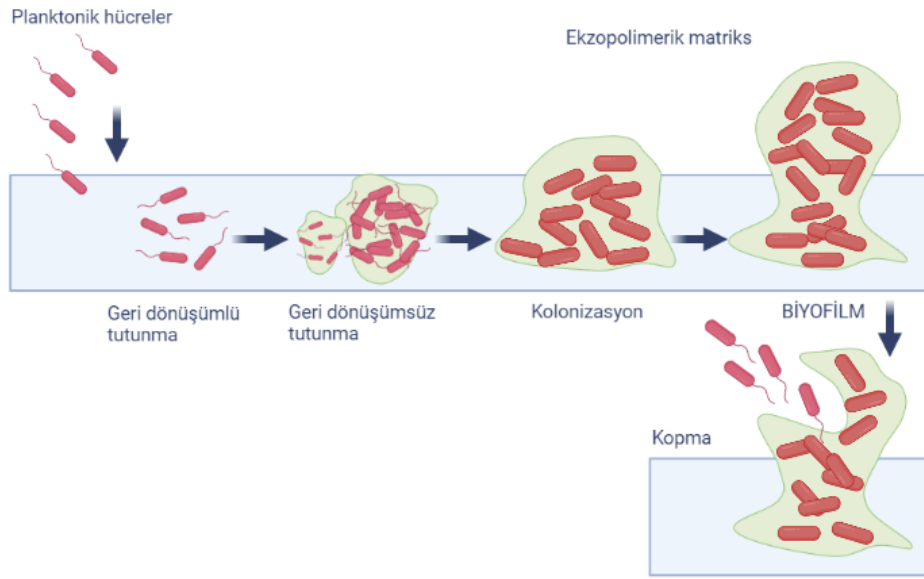
1.3 Biyofilm

Biyofilm, mikroorganizmaların sentezledikleri hücre dışı maddelerden oluşan bir yapı içerisinde (ekzopolisakkarit yapı) birbirlerine veya bir yüzeye geri yapışarak geri dönüşümsüz şekilde tutunan, serbest haldeki planktonik hücre formundan farklı özellikler taşıyan topluluktur (Roy vd., 2017; Veerubhotla vd., 2018; Akoğlu, 2023). Tür içi veya türler arasında oluşabilen biyofilm yapısını meydana getiren ekzopolisakkarit (EPS) yapı kompleks bir yapı olup, içerisinde su, çeşitli iyon türleri, protein, polisakkarit, fosfolipit ve DNA gibi bileşenler barındırmaktadır (Liu vd., 2023; Önbaş vd., 2023). Biyofilm yapısı, hücreleri hem çevresel stres koşullarından (besin yetersizliği, pH değişikliği, UV ışınları vb.) korumakta, hem de antibiyotik, dezenfektan madde gibi antimikrobiyal maddelerin hücreye geçişini zorlaştırarak sessil hücreleri planktonik forma kıyasla daha dirençli hale getirmektedir (Temel ve Eraç, 2018). Biyofilm içerisinde ÇA mekanizmalarını kullanan mikroorganizmalar tür içi veya türler arası sinyal iletimi ile yeni çevresel koşullara karşı adaptasyon da sağlamaktadır. Gıda kaynaklı enfeksiyonlara yol açan bakteriler ile ilgili pek çok araştırmada ÇA mekanizması ile biyofilm arasındaki ilişki gösterilmiştir (Chari, 2018).

1.3.1 Biyofilm Oluşum Aşamaları ve ÇA Mekanizmalarının Etkisi

Biyofilm tanımı ilk olarak Marshall vd. (1971), tarafından geliştirilmiş olup, ilerleyen yıllarda yapılan araştırmalarla biyofilm yapısının serbest mikroorganizmaların koloniler halinde bir araya gelmesiyle oluşturdukları farklı bir büyüme şekli olduğu ve bu yapının hücrelere belirli özellikler ve avantajlar sağladığı ortaya konmuştur (Characklis, 1973; Fletcher ve Floodgate, 1973; Geesey vd., 1978). Son yıllarda yapılan çalışmalarda biyofilm yapısının oluşumunda mikroorganizmaların öncelikle mikrokoloniler oluşturduğu, ardından mikrokolonilerin birleşerek makrokoloniler halinde çok katmanlı bir yapıya dönüştüğü belirtilmiştir (Flemming ve Wuertz, 2019). Ortaya konulan bilgiler

ışığında biyofilm oluşumunun 5 temel aşamada gerçekleştiği söylenebilir (Şekil 1.3, Önbaş vd., 2023). Bunlar: (i) geri dönüşümlü tutunma da denilen ve yüzeyden kolayca ayrılabilen zayıf bağlarla hücrelerin yüzeylere tutunduğu tersinir bağlanma aşaması, (ii) geri dönüşümsüz tutunma olarak bilinen hücrelerin elektrostatik bağlarla yüzeye tutunduğu ve onları uzaklaştırmaya çalışan çevresel faktörlere direnç gösterdiği aşama, (iii) hücre dışı polimerik maddelerin sentezlenmesi ile mikrokolonilerin oluşumu, (iv) mikrokolonilerin büyüyerek üç boyutlu yapıya dönüştüğü ve biyofilmin olgunlaştığı aşama, (v) besin yetersizliği, bazı yıkıcı enzimlerin faaliyeti gibi nedenlerle hücrelerin biyofilmden ayrılmaya başladığı dağılma aşamasıdır (Kartal vd., 2021; Liu vd., 2023; Önbaş vd., 2023). ÇA mekanizması, biyofilm oluşumunun sayılan bütün aşamalarında rol oynamaktadır (Skandamis vd., 2012).



Şekil 1.3. Biyofilm oluşum aşamaları

Geri dönüşümlü bağlanma olan ilk aşamada, serbest şekildeki hücreler elektrostatik etkileşimler, hidrodinamik kuvvetler, Van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimler gibi kuvvetlerin etkisi ile yüzeye tutunmaktadır (Vasudevan, 2014). Bu aşamada hücrelerin birbiri ve yüzeyle arasında kamçı, flagella ve kemotaksi hareketi ile bazı zayıf etkileşimler söz konusu olup, bu etkileşimlerle bağlanma gerçekleşmektedir (Lejeune, 2003; Pavithra ve Doble, 2008). Kamçı ve flagella gibi hareket organlarıyla gerçekleştirilen kayma, yüzme

ve titreme hareketleri ÇA mekanizmasının kontrolündedir. Bu aşamanın ardından uyarılan membran proteinleri vasıtasıyla iletişim mekanizmaları devreye girmekte ve proteinlerden EPS sentezi başlamaktadır (Temel ve Eraç, 2018). EPS sentezi ile ikinci aşamada mikroorganizmalar birbirlerine ve tutunmuş oldukları yüzeylere geri dönüşümsüz olarak bağlanmaktadır (Donlan, 2002; Liu vd., 2023; Önbaş vd., 2023). Geri dönüşümsüz tutunmadan sonra hücreler polisakkarit, protein ve DNA gibi bileşenlerden oluşan polimerik matriks sayesinde mikrokoloniler oluşturmaktadır. Bu evre, biyofilm oluşumunun üçüncü aşamasıdır.

Her türün kendi içinde oluşturduğu mikrokoloniler arasında su, oksijen ve besin transferini gerçekleştiren kanallar vardır. Aynı şekilde atıklar da kılcal su kanalları ile uzaklaştırılmaktadır. Kanallar içerisindeki dolaşım pasif difüzyon ile sağlanırken, dışarıdan besin maddelerinin alımı kolaylaştırılmış difüzyon ile gerçekleştirilir. Ortamdaki serbest hücreler mikrokolonilere tutunarak biyofilmi büyütmekte, makrokoloniler oluşmakta ve üç boyutlu yapı ortaya çıkmaktadır. ÇA sistemi hücrelerde spesifik genlerin ekspresyonunu etkileyerek olgun biyofilm oluşumunu desteklemektedir (Omar vd., 2017; Kartal vd., 2021). Dördüncü aşamada ise olgun biyofilmlerin metabolik faaliyetlerinin ve hücre yoğunluğunun düzenlenmesinde ÇA mekanizması rol almaktadır (Asad ve Opal, 2008; Skandamis vd., 2012). Hücre yoğunluğunun ÇA ile tespit edilmesi sayesinde biyofilm fenotipi de ortaya çıkmaktadır. Mikroorganizma bu aşamada biyofilm yapısı içinde korunan ve olumsuz çevresel koşullarına karşı direnç gösteren sesil formda bulunmaktadır (Kartal vd., 2021). Zamanla biyofilm yapısında artan hücre yoğunluğundan dolayı hücreler yine ÇA mekanizmasını kullanarak polimerik matriksten kaçma eğilimine girmektedir. Burada besin yetersizliği, artan yıkım ürünleri vb. sebeplerden dolayı ÇA regülasyonları ile flagella, pili gibi hareket organları oluşmaktadır. Hareket yeteneği kazanan hücreler biyofilm dışına kaçmaktadır (Gupta vd., 2016; Temel ve Eraç, 2018). Kopma aşaması olarak bilinen bu son aşamada, ÇA mekanizması sayesinde EPS üretimi azaltılarak hücrelerin dışarı sızması kolaylaşmaktadır. Biyofilm yapısı bu kopuşlar nedeniyle bozulmakta ve en sonunda parçalanmaktadır. Bir araştırmada *Staphylococcus* cinsine ait bakterilerin EPS üretimini azaltarak biyofilmden sızmak için AI-2 sinyalleri ürettikleri belirtilmiştir (Novick, 2003).

1.3.2 Gıda Endüstrisinde Biyofilm Oluşumunun Önemi

Gıda endüstrisinde kaliteli ve güvenli gıda üretebilmek için mikrobiyel bulaşmayı önlemeye yönelik uygulanan temizlik ve dezenfeksiyon yöntemleri oldukça önemlidir (Fagerlund vd., 2020). Çünkü ham madde, ara ürün ya da son ürünün temas ettiği konveyör sistemlerde ya da boruların iç yüzeylerinde ve dirsek kısımlarında yeterli temizliğin sağlanamaması sonucunda biyofilm oluşumu meydana gelebilmektedir. Biyofilm oluşumu, gıda endüstrisinde kalıcı bir bulaşma kaynağı olmasından dolayı ciddi sorunlara yol açmaktadır (Houdt ve Michiels, 2010; Skandamis ve Nychas, 2012; Galié vd., 2018). Biyofilm oluşumu ısıtma işlemi uygulanan proseslerde, ısı transferini zorlaştırmakta ve ısıtma işlemin etkinliğini düşürmektedir. Bu durum ise istenilen sıcaklıklarda ısıtma işlemi uygulanmasına engel olmakta ve son ürünün güvenilirliğini olumsuz olarak etkilemektedir (Shi ve Zhu, 2009; Flemming vd., 2016). Biyofilm oluşumu nedeniyle meydana gelen bozulmalardan dolayı gıdalar çöpe atılmakta ve bu durum gıda endüstrisinde ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Gülgör ve Korukluoğlu, 2014).

L. monocytogenes, *Pseudomonas* spp., *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *Y. enterocolitica*, *C. jejuni*, *Salmonella* spp. ve *E. coli* O157:H7 gibi gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar gıda işlenen yüzeylerde ve alet-ekipmanlarda biyofilm oluşturabilmektedir (Bai ve Rai, 2011; Gopu vd., 2015; Giaouris vd., 2015). Patojenik biyofimler, çapraz bulaşma kaynağı olarak ekipman ve yüzeylerden gıdalara bulaşmaktadır. Söz konusu gıdaların tüketimi hastalıklara yol açmakta ve insan sağlığını tehdit edebilmektedir (Shi ve Zhu, 2009; Elafify vd., 2024). Örneğin; gıda kaynaklı hastalık etmeni olan ve ölüm oranı en yüksek patojen olarak bilinen *L. monocytogenes*, yılda 200 milyon dolara yakın parasal kayba sebebiyet vermektedir. Ayrıca bu bakteri bağışıklığı düşük olan hamile, yenidoğan, çocuk ve yaşlılarda sağlığı ciddi oranda tehdit ettiğinden gıda endüstrisindeki pek çok sektörün öncelikli sorunlarından biridir (Altuntaş ve Korukluoğlu, 2018).

Biyofilm yapısındaki bakterilerin içinde tutundukları EPS yapı, kimyasallara ve antimikrobiyal ajanlara karşı bariyer görevi görmekte ve hücreler bu yapı sayesinde kimyasallara karşı plaktonik forma göre çok daha dirençli olmaktadır (Ünal ve Tayfur, 2017; Rather vd., 2021). Yapılan çalışmalar biyofilm hücrelerinin hijyen uygulamalarına karşı 10-1000 kat daha fazla direnç gösterdiğini ortaya koymuştur (Wang vd., 2021). Bu nedenle gıda endüstrisinde biyofilmle

mücadelede seçilecek yöntemler gıda güvenliği açısından son derece önemlidir. Yüksek basınçlı temizlik, klor, peroksit, formaldehit ve ozon gibi kimyasalların kullanımı, çeşitli dezenfektan uygulamaları, sıcak su ile temizleme vb. farklı yöntemler biyofilmle mücadele amacıyla uzun yıllardır kullanılmaktadır (Gün ve Ekinci, 2009). Ancak biyofilm direncinden dolayı kimyasallar kullanılarak geleneksel yöntemle yapılan dezenfeksiyon işlemlerine alternatif olabilecek yeni antibiyofilm ajanları ve teknolojilerinin araştırılması da oldukça önemlidir. Uygulanacak yöntemlerin ve kullanılacak antibiyofilm ajanların etkili olmasının yanında ucuz, güvenilir ve ekoloji dostu olması da önem arz etmektedir (Akoğlu, 2023). Elektriksel alan uygulaması, katalize modifiye yüzeyler, nanoteknolojik ajanlar, ultrason, enzimler, laktik asit bakterileri, bakteriyosin ve faj uygulamaları son yıllarda geleneksel yöntemlere alternatif olabilecek yeni antibiyofilm uygulamaları olarak öne çıkmaktadır (Ünal ve Tayfur, 2017). Ayrıca ÇAI ve antibiyofilm etkisi gösteren bitki ekstraktları, gıda özütleri ve bunlardan elde edilen esansiyel yağlar, fitokimyasallar, organik asitler gibi bileşenler üzerine de pek çok araştırma yapılmaktadır (Machado vd., 2020). Kimyasalların fazla miktarlarda kullanıldığında korozyona neden olması, dezenfektan kalıntılarının uzaklaştırılmasındaki zorluklar ve tüketicilerin doğal ürünlere olan talebinin artması doğal antibiyofilm maddelerinin popülerliğini arttırmaktadır.

Gıdaların temas ettiği yüzeylerde biyofilm oluşumunda pek çok faktör rol oynamaktadır. Temas edilen yüzeyin türü ve özellikleri, işlenen gıdaların çeşidi ve yapısında bulunan bileşenler (yağ, karbonhidrat, protein vb.), çevresel koşullar ve bakterilerin türü bu faktörlerden en önemlileridir. Gıda endüstrisinde kullanılan paslanmaz çelik, granit, plastik, cam, polistren, polietilen, ahşap vb. yüzeylerde biyofilm oluşumu meydana gelmektedir. Bu yüzeylerden paslanmaz çelik (özellikle 316s) kimyasal muamelelere ve korozyona karşı oldukça dayanıklıdır. Endüstride daha sık kullanılan 304S paslanmaz çelik de korozyona karşı dayanıklılığı yüksek bir tür olmasına rağmen sürekli kullanımlarda aşınma kaynaklı yarıma ve çatlama meydana gelebilmektedir (Carrascosa vd., 2021; Akoğlu, 2023). Ahşap ve plastik yüzeyler de gözenekli yapılarından ve kolay aşındıklarından gıda endüstrisinde tercih edilmemesi gereken yüzeylerdir. Yapılan çalışmalar, ahşap ve plastik yüzeylerde paslanmaz çeliğe oranla biyofilm oluşumunun daha yüksek olduğunu göstermektedir (Gülhan, 2021). Biyofilm oluşumunda kullanılan yüzeylerin türü kadar özellikleri de önemlidir. Örneğin; pürüzlü yüzeylerin

pürüzsüz olanlara göre biyofilm oluşumuna daha yatkın yüzeyler olduğu belirtilmektedir. Özellikle genç biyofilm oluşumunda yüzeyin pürüzlü olması tutunmayı kolaylaştırmaktadır. Ancak, olgunlaşma aşamasından sonra yüzey pürüzlülüğünün etkisi ortadan kalkmaktadır (Donlan, 2002; Kartal vd., 2021).

Et ve süt ürünleri gibi yağ, protein ve karbonhidrat içeriği yüksek olan gıdaların işlenmesi sırasında yüzeylere bulaşan artıklar bakterilerin büyümesini arttırmakta ve biyofilm oluşumuna destek olmaktadır. Bulaşların belli bir süre boyunca etkin şekilde temizlenmediği yüzeylerde *L. monocytogenes* ve *P. aeruginosa* ya da *E. coli* ve *S. aureus* gibi bakteri çiftlerinin oluşturduğu çoklu tür biyofilmler gelişmektedir (Wang vd., 2021). Sıcaklık, pH, besin maddelerinin türü gibi çevresel faktörler de biyofilm oluşumunda etkilidir (Shi ve Zhu, 2009). Örneğin; et, süt, hazır yemek endüstrisi gibi pek alanda sorunlara yol açan *L. monocytogenes*'in 143 farklı suşu ile dört farklı sıcaklıkta (12, 20, 30, 37°C) yapılan araştırmada sıcaklık düştükçe biyofilm oluşumunun da azaldığı belirlenmiştir (Kadam vd., 2013). Bakterilerin türü, özellikleri ve formları da biyofilm oluşumunu etkileyen bir diğer faktördür. Hücrelerin hidrofobitesi, kamçı veya pili gibi uzantılara sahip olması, genetik yapısı gibi özellikleri biyofilm oluşturma kapasitesi üzerinde etkilidir (Akoğlu, 2023). Bunun yanında bakterilerin spor formlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin vejetatif hücre formuna göre daha fazla olduğu ve bu şekilde yüzeylerde kalma süresinin arttığı belirtilmektedir (Kartal vd., 2021).

1.3.3 Biyofilm Oluşturan Gıda Patojeni Bakteriler

Biyofilm oluşturarak gıda endüstrisinde sorunlara yol açan patojen bakterilerin türleri sektörlere göre değişiklik göstermektedir. *Listeria* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Bacillus* spp., *S. aureus*, *Yersinia* spp., *Vibrio* spp., *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. ve *E. coli* gibi bakteriler tarafından oluşturulan biyofilmler çapraz bulaşı ile ürünlere bulaşarak hem gıda kaynaklı hastalıklara hem de ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Bai ve Rai 2011; Turhan ve Erginkaya, 2019). Aşağıda bazı biyofilm oluşturan bakterilerin özelliklerine değinilmiştir.

1.3.3.1 *L. monocytogenes*

L. monocytogenes, Gram pozitif, spor oluşturmayan, fakültatif anaerobik, çubuk şeklinde bir bakteridir. Doğada yaygın şekilde bulunan bu bakteri türü,

sudan, topraktan, kanalizasyondan ve hayvan dışkılarından izole edilmiştir. *L. monocytogenes* 1 °C'nin üstünde gelişebilen psikrotrof bir bakteri olması ve geniş bir pH aralığında (pH 5-9) canlı kalabilmesi nedeniyle gıda endüstrisinde pek çok sektörde sorunlara yol açmaktadır (Farber ve Peterkin, 2000; Møretro ve Langsrud, 2004). Et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, hazır yemekler, meze ve salatalar ile soğutulmuş tüketime hazır gıdalar *L. monocytogenes* açısından risk teşkil etmektedir (Altuntaş ve Korukluoğlu, 2018). *L. monocytogenes* listeriosis denilen hastalığa yol açmaktadır. Bu hastalığın ölüm oranı diğer gıda kaynaklı patojenlerin meydana getirdiği hastalıklara göre çok daha yüksektir (Donnelly, 2001). Listeriosis, özellikle yaşlı, hamile ve bağışıklığı baskılanmış bireylerde menenjit, bakteriyemi, sepsis, gastroenterit, hamilelerde düşük veya ölü doğumlar gibi ciddi problemlere neden olmaktadır (Schlech, 2000; Altuntaş ve Korukluoğlu, 2018).

L. monocytogenes, paslanmaz çelik de dahil olmak üzere gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan tüm yüzeylere yapışarak biyofilm oluşturabilmektedir. Gıda işletmelerinde kontalar, dilimleme ve doğrama makineleri, bıçaklar, tezgahlar, taşıma bantları, zemin ve duvar yüzeyleri, boruların iç kısımları gibi pek çok yere tutunabilmektedir. Yüzeye yapışmasını kolaylaştıran polar flagellaya sahip olması ve kimyasallara karşı oldukça dirençli oluşu nedeniyle gıda işleme ortamlarından kalıcı bir şekilde uzaklaştırılması zordur (Møretro ve Langsrud, 2004). Yapılan bir çalışma da *L. monocytogenes*'in optimum metabolik aktivite ve yüzeye tutunma koşullarının pH 7'de 30 °C olduğu gösterilmiştir. 37 °C civarında flagellasını kaybettiğinden hücre yüzeyindeki elektronegatiflik azalmaktadır. Flagella dışındaki yüzey proteinleri ve glikoproteinler de yüzeylere bağlanma açısından önem taşımaktadır (Chmielewski ve Frank, 2003).

L. monocytogenes'de biyofilm oluşumu da dahil virülens faktörlerin kontrolü karmaşık bir Agr sistemi tarafından düzenlenmektedir. AIP'lerin iletimi AgrC ve AgrA sensör kinazları ve AgrBDCA yanıt düzenleyici operon sayesinde sağlanmakta ve gen ekspresyonları gerçekleştirilmektedir (Vera vd., 2013; Zetzmann vd., 2016; Önbaş vd., 2023). Biyofilm oluşumunun yanında istilada görevli proteinler, internalin A ve listeriolysin O (LLO) gibi virülans faktörler de AIP ile düzenlenmektedir (Naik vd., 2017). *L. monocytogenes*'de bulunan AI-2 sinyallerinin Pfs ve LuxS yolları aracılığıyla üretildiği belirtilmiş; ancak

mekanizma henüz açıklığa kavuşturulamamıştır (Prabhu vd., 2019; Önbaş vd., 2023).

1.3.3.2 *S. aureus*

S. aureus, Gram pozitif, spor oluşturmeyan, hareketsiz, fakültatif anaerobik, katalaz pozitif, üzüm benzeri salkımlar oluşturan kok şeklinde bir bakteridir. İnsanların üst solunum yolları, cilt mukozası ve ter, salya vb. vücut salgılarında yaygın olarak bulunmaktadır (Kalpar, 2019; Mahros vd., 2021). Gıdalara genellikle personel kaynaklı olarak bulaşan bu bakteri, et ürünleri, süt ürünleri, pastacılık ürünleri, sandviçler, salatalar, mezeler, balık, patates vb. gıdalarda risk oluşturmaktadır (Umeda vd., 2021; Yonsul Tuncer ve Ayaz 2023). *S. aureus* hücreleri normalde ısıl işleme karşı duyarlı olmakla birlikte, gıdalarda uygun koşullarda çoğalarak ürettikleri enterotoksinlerin ısıl işleme oldukça dayanıklı olduğu bilinmektedir. Enterotoksin içeren gıdaların tüketimi ise gıda kaynaklı hastalık ve zehirlenmelere yol açmaktadır (Tükel, 2000). Toksinler, bulantı, kusma ve ishal gibi belirtilerle kendini gösteren gastroenterite; bazı durumlarda ise menenjit, abse ve yara oluşumu gibi rahatsızlıklara neden olmaktadır (Kalpar, 2019). *S. aureus* tarafından oluşturulan biyofilmlerin antibiyotiklere özellikle metisiline karşı yüksek direnç gösterdiği belirtilmektedir (Yonsul Tuncer ve Ayaz, 2023).

S. aureus, optimum optimum 30-37°C arasında üremesine rağmen 7-48,5°C gibi geniş bir sıcaklık aralığında gelişebilmektedir. Optimum gelişim pH'sı 7-7,5 iken; 4,2-9,3 aralığında çoğalabilmektedir. Düşük su aktivitesine (a_w 0,83) ve yüksek tuz konsantrasyonuna sahip (%15'e kadar) gıdalarda bile gelişebilmektedir (Mahros vd., 2021). Nişasta ve protein içeriği yüksek olan gıdaların işlendiği sektörlerde *S. aureus* gelişimi, toksin ve biyofilm üretimi de hızlı olmaktadır. *S. aureus* biyofilmleri özellikle hayvansal ürünlerin üretildiği (et, süt, yumurta, su ürünleri vb.) yüzeylerden kolaylıkla izole edilebilmektedir. Tuza dirençli oluşu sebebiyle tuzlanmış, kurutulmuş veya salamura edilmiş gıdalarda da çoğalabilmektedir. Bakterilerin hücre duvarında bulunan teikoik asit negatif yük taşımasından dolayı biyofilm oluşumunun tutunma aşamasında önemli rol oynamaktadır (Kalpar vd., 2019). Fakat *S. aureus* hücrelerinin yüzeylere yapışmasında en büyük görevi adhezyon genleri olan *icaA* ve *icaD* üstlenmektedir. Yapılan çalışmalar bu genleri bulunduran hücrelerin biyofilm oluşturma

kapasitesinin yüksek olduğunu göstermiştir (Kaya, 2021). Bununla birlikte yüzey proteinleri de hücrelerin konakçı yüzeylerine tutunmasına ve biyofilm oluşturmaya yardımcı olmaktadır (Wolz vd., 2002).

S. aureus'da biyofilm oluşumunu da içeren virülans faktörler *Agr* sistemi ile kontrol edilmektedir (Song vd., 2014). Hücreler belli bir yoğunluğa geldiğinde *AgrB* ve *AgrD* proteinleri tarafından AIP sinyal molekülleri sentezlenmektedir (Roux vd., 2014). AIP'ler membrana bağlı reseptör-histidin kinaz yapıdaki *AgrC* proteini tarafından algılanır (Öztürk Oruç vd., 2023). Son olarak *agrA* geni *S. aureus*'un virülans özelliğinin oluşmasını sağlamakta ve gen ekspresyonu gerçekleştirilmektedir (Vasquez vd., 2017).

1.3.3.3 *B. cereus*

B. cereus, Gram pozitif, sporlu, peritrik flagellası ile hareketli, aerobik veya fakültatif anaerobik, beta hemolitik çubuk şeklinde bir bakteridir. Isıya dirençli spor üretmesi, soğuk muhafaza koşullarında gelişebilmesi ve toksin üretmesi nedeniyle gıda endüstrisinde sıkıntı yaratmaktadır (Wang, 2015). Toprak başta olmak üzere, hava, su, toz gibi çevresel kaynaklarda bulunmaktadır. Bu kaynaklardan gıdalara yetersiz hijyen koşullarında bulaşması sonucunda gıda kaynaklı enfeksiyon ve zehirlenmelere sebep olmaktadır (Alina vd., 2015). *B. cereus*, kusma, ishal ve diyare gibi belirtilerle kendini gösteren gastrointestinal hastalıklara veya göz enfeksiyonları, menenjit, sepsis, solunum yolu hastalıkları ve kanser gibi gastrointestinal olmayan enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Ehling ve Schulz, 2004). Genellikle mezofilik olmasına rağmen (30-37 °C), daha düşük ve yüksek sıcaklıklarda üreyebilen (4-50 °C) suşları da bulunmaktadır. Sahip olduğu lipolitik (lipaz), proteolitik (proteaz, jelatinaz) ve sakkarolitik (amilaz) enzimler sayesinde protein ve karbonhidrat içeriği yüksek gıdalarda kolaylıkla çoğalabilmektedir (Kalkan ve Halkman, 2006). Aside karşı dayanıklı olmayan bu bakterinin gelişimi için ortam pH'sının 4,75-9,3 arasında, su aktivitesi değerinin ise 0,92'nin üzerinde olması gerektiği belirtilmiştir (Wijnands vd., 2002).

B. cereus'un yalnızca oksijen varlığında oluşturabildiği sporlar sıcaklık kadar kimyasal işlemlere ve UV radyasyonuna karşı da direnç göstermektedir (Soni vd., 2016). Bakterilerin spor formları biyofilm oluşumu için yüzeye tutunmaya meyilli olduğundan sporlar biyofilm oluşumunu başlatabilmektedir. Bunun yanında

sporlar, uygun şartlarda yeniden vejetatif hücre formuna dönerek de biyofilm yapısına katılabilmektedir (Şar ve Yeşilçimen Akbaş, 2018). Sahip olduğu flagella biyofilm oluşturmak için yüzeylere erişim sağlamaktadır. Ayrıca flagella bakterinin yüzeylere yayılması ve biyofilm yapının büyümesi için de gereklidir. *B. cereus* flagellasının hücrenin cam yüzeylere yapışmasında doğrudan etkisi olmadığı; ancak hareketleri sayesinde biyofilm oluşumuna büyük katkı sağladığı belirtilmiştir (Carrascosa vd., 2021; Akoğlu, 2023). *B. cereus*, gıda endüstrisinde sıklıkla kullanılan paslanmaz çelik yüzeylerde de biyofilm oluşumuna yol açmaktadır. Sıcaklık ve muamele süresi arttıkça bakterilerin yüzeye tutunma oranları da artmakta ve biyofilmler daha çok hava-sıvı ara yüzünde gelişmektedir. Bu durum üretim esnasında tam doldurulmayan veya üretim gerçekleşikten sonra sıvı artıkların kaldığı boru ve depolarda sorun yaratmaktadır. Özellikle süt endüstrisinde üretim hattında ve soğutma tanklarında pastörizasyon sonrasında *B. cereus* biyofilmlerinin oluşumu kontaminasyonlara ve taze sütlerde bozulmaya yol açmaktadır (Albayrak, 2018).

B. cereus'da ÇA sisteminin LuxS/AI-2 sistemi olduğu bilinmekte olup, mekanizmada *PlcR* ve *PapR* genleri görev yapmaktadır. *PlcR* geni, bir transkripsiyon düzenleyicisi için kodlayıcı fonksiyona sahipken, *PapR* geni ise sinyal molekülünü kodlamaktadır (Slamti ve Lereclus, 2002; Önbaş vd., 2023). ÇA sistemi, bakterinin toksin üretimi, sporlanma, biyofilm oluşumu, hemolizinlerin fosfolipazların ve diğer enzimlerin sentezlenmesi gibi türe özgü davranışlarının düzenlenmesini sağlamaktadır (Rutherford ve Bassler, 2012).

1.3.3.4 *P. aeruginosa*

P. aeruginosa, Gram negatif, aerobik, spor oluşturmeyen, flagellalı ile hareket etme kabiliyeti olan, çubuk şeklinde insan patojeni fırsatçı bir bakteri türüdür. Genellikle toprakta ve suda bulunmakta olan bu bakteri meyve, sebze ve çiçeklerden de izole edilmiştir (Gomila vd., 2018, Aksu, 2020). Klinik olarak oldukça önemli bir bakteri olup, özellikle bağışıklığı baskılanmış bireylerde ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Streeter ve Katouli, 2016). Kulak iltihabı, göz iltihabı, gastrointestinal enfeksiyonlar, dermatit, menenjit, kemik enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları ve solunum yolları enfeksiyonlarına da sebep olan fırsatçı bir patojendir (Tümmeler, 2006; Gomila vd., 2018). Buzdolabı sıcaklıklarında gelişebilen, yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanıklı ve nemli ortamlarda oldukça

iyi üreyen bir bakteridir. Zorunlu aerob olan *P. aeruginosa* oksijensiz ortamlarda son alıcı olarak nitrata kullanabilmekte ve bu şekilde hayatta kalabilmektedir. Aerobik koşullarda ise oksidasyonla glikozu parçalamaktadır (Sırıken ve Öz, 2017).

P. aeruginosa aerobik olması nedeniyle özellikle gıdaların yüzey kısımlarında çok hızlı çoğalabilmekte ve EPS üreterek biyofilm oluşturmaktadır (Doğru, 2013). Salgılanan ekstremler enzimler, flagella ve fimbria gibi yüzey çıkıntıları ve biyofilm oluşturma özelliği, hücre duvarı yapısı ve inatçı bir doğası olması antibiyotik direncini arttıran özelliklerdir (Sırıken ve Öz, 2017) Bir araştırmada paslanmaz çelik yüzeylerde *P. aeruginosa*, *Salmonella* Typhimurium ve *Pseudomonas fragi* tarafından üretilen biyofilmlerin dezenfektanlara karşı direnç oluşturduğu belirtilmiştir (Liao, 2006). Başka bir araştırma ise, domuz karkasından elde edilen *P. aeruginosa* hücrelerinin farklı antibiyotiklere karşı direnç oluşturduğunu ortaya koymuştur (Sala vd., 2012). Yüksek direnç mekanizması nedeniyle endüstride *P. aeruginosa* tarafından oluşturulan biyofilmlerin kontrolü için doğal bileşiklerin kullanımı, soğuk plazma, bakteriyofaj kullanımı, ultrasonikasyon, elektrik alan uygulaması vb. yeni yöntemler üzerine pek çok araştırma yapılmaktadır (Sadeghzadeh vd., 2024).

P. aeruginosa ÇA mekanizması en iyi şekilde tanımlanan sistemlerden biri olup, ÇA İnhibisyonunu Ölçmek için Kullanılan Bakteriler bölümünde sisteme ait bilgiler detaylı olarak verilmiştir (bkz, 1.2.5.1). ÇA Sistemi, biyofilm oluşumu ve diğer virülens faktörlerin üretiminde rol oynamaktadır. Ayrıca, bozulmuş gıdalardan sinyal moleküllerinin izole edilmesi, karmaşık süreçler sonucu ortaya çıkan gıda bozulmalarında ÇA sisteminin etkisinin bulunduğunu göstermektedir (Küçükata vd., 2024). Bir çalışmada kıyma ve tavuk etinden izole edilen *P. aeruginosa* 'nın yüksek konsantrasyonlara ulaştığında ürettiği sinyal moleküllerinin etlerin bozulmasında ve yapışkan bir yapı oluşmasında etkisi olduğu belirtilmiştir (İnat vd., 2021). *P. aeruginosa* gıda endüstrisinde yalnızca et ve et ürünleri değil, süt ve süt ürünleri, su ürünleri gibi yağ ve protein içeriği yüksek diğer gıdalar için de bozulma etmenidir. Süt endüstrisinde kullanılan borularda, soğutma tanklarında soğutma sıcaklıklarında da çoğalarak biyofilm oluşturmaktadır. Ayrıca diğer *Pseudomonas* spp. türleriyle birlikte *L. monocytogenes* gibi patojen bakterilerle çoklu biyofilm yapısı oluşturmakta ve salgıladıkları ısıya dayanıklı enzimler

nedeniyle ısıtıl işlem sonrası süt ürünlerinde bozulmalara yol açabilmektedir (Önbaş vd., 2023).

1.3.3.5 *E. coli* O157:H7

E. coli, *Enterobacteriaceae* familyasından Gram negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob, hareketli, çubuk şeklinde bir bakteridir. İnsan ve hayvanların bağırsak florasında normal olarak bulunmakta ve dışkı kaynaklı bulaş indikatörü olarak bilinmektedir (Halkman, 2019). Memeli ve kanatlı hayvanların dışkıları ile su, toprak, çiğ et ve çiğ süte kolaylıkla bulaşmaktadır. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) grubunda yer alan *E. coli* O157:H7 serotipi, gıda kaynaklı patojenlerin en önemlilerinden biridir. Ürettiği Shiga toksini nedeniyle hemolitik üreme sendromu (HUS) olarak bilinen ölümcül bir hastalığa yola açmaktadır. Hastalığın belirtileri arasında kanlı ishal, sulu dışkılama, karın ağrısı gibi septomlar bulunmaktadır (Zhang vd., 2024). *E. coli* O157:H7, et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri, hazır yemek endüstrisi gibi pek çok sektörde sorun yaratmaktadır. Özellikle yetersiz ısıtıl işlem uygulanmış sığır etleri, en önemli enfeksiyon ve zehirlenme sebebi olarak rapor edilmektedir. Yetersiz ısıtıl işlem görmüş içme suları veya yıkama suyu ya da topraktan enfekte olan marul, çeşitli filizler gibi sebzelerde riskli gıdalar arasında sayılmaktadır (Turgut, 2021).

Et endüstrisinde kesim alanı, parçalama bölümleri, kemik sıyırma bölümü gibi işleme alanlarından, etlerle temas eden paslanmaz çelik yüzeylerden, taşıma bantları, kesme ve doğrama tahtalarından swab ile alınan örneklerde biyofilm oluşturan *E. coli* O157:H7 suşları izole edilmiştir. Dezenfeksiyon işlemleri sonrasında da yüzeylerde *E. coli* O157:H7 biyofilmlerine rastlandığı belirtilmektedir (Marouani-Gadri vd., 2009). *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* gibi patojenlerle birlikte çoklu tür biyofilmler oluşturmaktadır (Kim ve Oh, 2024). Çoklu tür biyofilm yapısına katılması biyofilm oluşumunun ve antibiyotik direncin artmasına neden olmaktadır. Paslanmaz çeliğe ilaveten cam, silikon, polietilen vb. yüzeylerde de rahatlıkla biyofilm oluşturabilmektedir (Srey vd., 2013). *E. coli* O157:H7, işletmelerde karkas yıkanan asidik et yıkama sularında asitliğe karşı direnç kazanarak varlığını sürdürebilmektedir (Duran, 2021). *E. coli*'de önemli bir virülans olan kamçı hareketliliği yalnızca adezyonla biyofilm oluşumunun başlatılmasında etkili olmayıp, biyofilmlerin yüzey boyunca yayılmasında da önemli rol oynamaktadır (Genevaux vd., 1996). *E. coli* geri dönüşümsüz tutunma

için ise 3 farklı organel kullanmaktadır. Bunlar, konjugatif pili, kıvrımlı fimbria ve tip-1 fimbria'dır. Biyofilm olgunlaşmasında ve hücrelerin hayatta kalmasında rol oynayan bir başka önemli faktör de kolanik asittir. Kolanik asit, bünyesinde glikoz, galaktoz, früktoz ve glukuronik asitten oluşan dallanmış ve negatif yüklü bir polimerdir (Ballen vd., 2022).

E. coli'de ÇA sistemi, adezyon, biyofilm üretimi, hareket, tip III salgı sistemi (T3SS), toksin üretimi, patojenite gibi virülans genlerinin ifadesini düzenlemektedir. Yapılan çalışmalarda *E. coli* O157:H7 bakterisinde biyofilm oluşumunda LuxS/AI-2 sisteminin rol oynadığı belirtilmiştir (Zhang vd., 2024). Sonraki çalışmalar neticesinde bakterinin virülansında yol oynayan AI-2, AI-3, SdiA, İndol Sinyali ve Hücre Dışı Ölüm Faktörü (EDF) olmak üzere 5 ana mekanizma olduğu belirlenmiştir. Bunlardan SdiA ve İndol Sinyali biyofilm oluşumunu ve hareketliliğini düzenlemede birlikte görev yapmaktadır (Önbaş vd., 2023). Ayrıca ilk olarak *E. coli*'de tanımlanan AI-3/epinefrin/norepinefrin sinyalleri *E. coli* O157:H7'nin de içinde bulunduğu EHEC tipi patojenlerin virülans genlerini aktive etmek ve konağa yerleşerek hastalığın ortaya çıkmasını sağlamak için kullanılmaktadır (Walters ve Sperandio, 2006; Bai ve Rai, 2011).

1.3.3.6 *C. sakazakii*

C. sakazakii, *Enterobacteriaceae* familyasından Gram negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerob, hareketli, çomak şeklinde bir bakteridir (Endersen vd., 2017). Doğada su, toprak, toz ve bitkilerden izole edilmiştir (Shi vd., 2017). Gıdalarda ise meyve ve sebzelerde, tüketime hazır gıdalarda, pirinçte, kahvaltılık gevreklerde, buğday, arpa gibi tahıllarda, baharatlarda, kurutulmuş gıdalarda, tıbbi bitkilerde ve toz haldeki bebek mamalarında bulunabilmektedir (Beuchat vd., 2009; Endersen vd., 2017; Ling vd., 2020). Fırsatçı bir patojen olan *C. sakazakii*'nin özellikle bebek mamalarında bulunması önemli bir risk etmenidir. Bu bakteri ile enfekte olan bebeklerde nekrotizan enterokolit, sepsis, menenjit, pnömoni gibi solunum yolu enfeksiyonları gibi hayatı tehdit eden ciddi hastalıklar ortaya çıkmaktadır. Özellikle 6 aydan küçük, prematüre ve düşük doğum ağırlığındaki bebeklerde ölüm riski (%40-80) yüksektir (Jaradat vd., 2014; Doğangün ve Uylaşer, 2016). Altı aydan büyük bebek, çocuk ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde akut gastroenterite yol açmaktadır. Yetişkinlerde ise bakteriyemi, sepsis, apandisit, üriner sistem enfeksiyonları hastalıkları görülmektedir (Ling vd., 2020).

Yüksek sıcaklıklara dayanıklı olan *C. sakazakii* suşlarının optimum gelişim sıcaklığı 37-42 °C arasında iken, bakteri 6-47 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında çoğalabilmektedir. *C. sakazakii*, bebek maması üretiminde uygulanan pastörizasyon normlarında normal koşullarda inaktive olmaktadır (Iversen vd., 2004; Doğangün ve Uylaşer, 2016). Ancak bebek mamalarına pastörizasyon sonrasında ilave edilen yardımcı bileşenlerden veya sulandırma materyallerinden bulaşarak sorunlara yol açtığı rapor edilmiştir. Buzdolabı koşullarında da gelişebilmeye devam etmesi nedeniyle sulandırma sonrası buzdolabında bekletilen bebek mamalarının da risk oluşturduğu bilinmektedir (Toğay vd., 2008). Yapılan bir çalışma bakterinin düşük pH koşullarına da dayanıklılık gösterdiğini ve pH 4.5’da çalışmada kullanılan tüm suşlar gelişirken, bu oranın pH 3,9 değerinde %79,2’ye düştüğünü ortaya koymuştur (Dancer vd., 2009). Bu durum mide asitliği düşük olan ve bakteri ile enfekte olan yenidoğanlar açısından önemlidir. Bir başka çalışmada ise pH 2,5’in altında gelişiminin durduğu belirtilmiştir (Fakruddin vd., 2014). *C. sakazakii* düşük su aktivitesi ve yüksek ozmatik basınç değerlerine karşı da oldukça dirençlidir. Bu nedenle bebek mamalarında depolama boyunca canlılığını kaybetmemekte ve bulaştığı ürünlerde raf ömrü sonuna kadar kayatta kalabilmektedir (Doğangün ve Uylaşer, 2016).

C. sakazakii endüstride kullanılan pek çok farklı yüzeyde (silikon, cam lateks, paslanmaz çelik, polikarbonat ve PVC gibi) yüzeylere tutunarak biyofilm oluşturma yeteneğine sahiptir (Toğay vd., 2008; Arsalan vd., 2013). Bir çalışmada toz bebek maması üretim fabrikasında vakumlu temizleyicilerinden toplanan örneklerde %28, doldurma makinelerinden toplananlarda %5,3 ve doldurma hattından toplananlarda %8 oranında *Cronobacter* spp. bulunduğu ortaya konmuştur (Reich vd., 2010). Ortamdaki azot miktarı sınırlandığında ürettiği kapsül polisakkaritleri ve peritrik flagellası biyofilm oluşumunda yüzeye tutunmada önemli rol oynamaktadır. Kapsül ayrıca zor koşullara karşı bakterinin direncini arttırmaktadır. Bakterinin bebek mamaları ve diğer gıdalarda raf ömrü sonuna dek canlı kalmasını sağlamak ve temizlik için kullanılan kimyasal ajanların etkinliğini azaltmaktadır (Iversen vd., 2004; Grimm vd., 2008; Endersen vd., 2017). Bu durum *C. sakazakii* tarafından oluşturulan biyofilmlerin bebek mamalarının üretim alanlarından veya evlerde mama hazırlanan ekipmanlardan uzaklaştırılmasını

zorlaştırmakta ve çapraz kontaminasyona neden olmaktadır (Doğangün ve Uylaşer, 2016).

C. sakazakii ÇA sisteminde Gram negatiflerde kullanılan LuxI/LuxR sistemine benzer bir sistem ve AHL sinyalleri görev almaktadır. *C. sakazakii*'nin üç farklı AHL molekülü (N-heptanoil-AHL, N-dodekanoil-AHL ve N-tetradekanoil-AHL) kullandığı belirlenmiştir (Ling vd., 2020). Sistemde sinyal molekülü alıcısı olarak LuxR homoloğu SdiA görev yapmaktadır. Ancak *C. sakazakii*'nin transkripsiyon düzenleyici mekanizması henüz tam olarak açığa kavuşturulamamıştır (Cheng vd., 2022).

1.4 Antimikrobiyal Aktivite, ÇAI ve Antibiyofilm Etkisi Gösteren Bitkiler

Bitkilerden elde edilen ekstrakt ve bileşenler, güvenilir olmaları, doğada çözünülebildikleri ve geniş spektrumlu antimikrobiyal etkileri nedeniyle sentetik kimyasallara potansiyel alternatif olarak son yıllarda büyük ilgi görmektedir (Rasmussen ve Givskov, 2006; Gündüz ve Korkmaz Vurmaz, 2021). Bitkiler bakterilerin ürettikleri sinyal moleküllerine yanıt vermek amacıyla antimikrobiyal etkisi olan bazı maddeler üretmektedir. Bu maddeler hem bitkileri korumakta hem ÇAI ve antibiyofilm etkisi göstermektedir (Majdura vd., 2023). Bitkilerin ÇAI ve antibiyofilm etkileri ile ilgili olarak yapılan çalışmalardan bazıları hangi bakteriler ve fenotip özellikleri üzerinde etki gösterdiği belirtilerek Tablo 1.1.'de verilmiştir (Öztürk Oruç vd., 2023).

Bitkilerden elde edilen ekstraktlar, ÇAI ve antibiyofilm etkilerini farklı şekillerde sağlamaktadır. Bitkisel maddeler, sinyal moleküllerinin sentezini baskılayarak veya üretilen sinyal moleküllerini inhibe ederek ya da sinyal moleküllerinin yerine geçip onların yerine reseptöre bağlanarak bu etkileri gösterebilmektedir. Reseptör proteinlerin inaktivasyonu ve işlevsiz hale getirilmesi de bir diğer yöntemdir (Truchado vd., 2012; Var ve Çelik, 2019). Bitkilerde bulunan fitokimyasal maddeler, esansiyel yağ asitleri ve çeşitli organik asitlerin ÇAI ve antibiyofilm etkisinin olduğu belirtilmektedir (Machado vd., 2020; Majik vd., 2020).

Tablo 1.1. Bazı bitkisel ekstraktların ÇAI üzerine yapılan araştırmalar

QS İnhibitörü	Ekstrakt Kompozisyonu	QS Mekanizması	İnhibe Olan Bakteriler	Kaynak
Çörek otu	Alkoloidler, steroidler, karbonhidratlar, flavonoidler, yağ asitleri	AHL üretiminin baskılanması	<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> , <i>C. violaceum</i>	Al-Shabib vd., 2016
Tarçın	Sinamaldehit	Ekstraselüler proteaz üretimi, yüzme ve kayma hareketi, biyofilm oluşumu	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Li vd., 2018
Geraniol	Geraniol	Biyofilm oluşumu	<i>E. carotovora</i> , <i>P. fluorescens</i>	Zhang vd., 2021
Quersetin	Quersetin	Biyofilm oluşumu	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Y. enterocolitica</i> , <i>K. pneumoniae</i>	Gopu vd., 2015
Mango	Polifenoller, flavonoidler, triterpenoidler	AHL üretimine bağlı pigment üretiminde azalma	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Aeromonas hydrophila</i>	Husain vd., 2017
Nar kabuğu	Tanince zengin fraksiyon	Biyofilm oluşumu ve hareketlilik	<i>E. coli</i>	Yang vd., 2016
Limon yağı	Sitral	Hareketlilik, biyofilm oluşumu ve endotoksin üretimi	<i>C. sakazakii</i>	Shi vd., 2017
Fenolik bileşikler	Kurkumin, kapsaisin ve resveratrol	Biyofilm oluşumu ve kayma hareketi	<i>C. violaceum</i> , <i>A. hydrophila</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Salmonella enterica</i> serovar Montevideo	Santos vd., 2021
Yıldız anason	Fenolik bileşikler ve flavonoidler	Biyofilm oluşumu ve kayma hareketliliği	<i>S. aureus</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Rahman ve ark., 2017
Zencefil	[6]-gingerol, [6]-shogaol, zingerone	QS inhibisyonu, bakteri gelişiminin inhibisyonu	<i>C. violaceum</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Kumar ve ark., 2014

Yapılan çalışmalarda bitkisel maddelerin, patojenin kendine, hücre yapısına ve metabolik döngüsüne zarar vermeden sadece istenilen gen ifadesinin (spor

oluşumu, hareketlilik, virülans ve biyofilm oluşumu) oluşmasını engellemek amaçlanmaktadır (Quecán vd., 2018). Bir araştırmada ginkgo biloba özütü ve ginkgolik asit, komensal *E. coli*'nin büyümesini etkilemeden enterohemorajik (EHEC) *E. coli* O157:H7 biyofilmlerinin oluşumunu önemli ölçüde engellediği ortaya konmuştur. Aynı çalışmada *S. aureus* biyofilm oluşumunun da engellendiği belirtilmiştir (Lee vd., 2014). Bakterinin fimbria üretimini azaltması ile yapışma ve biyofilm oluşumu engellenmiştir. Benzer şekilde elma flavonoidlerinin komensal bakterileri etkilemeden fimbria üretimini azalttığı ve *E. coli* O157:H7 biyofilmlerini engellediği belirtilmiştir (Lee vd., 2011).

Kurkumin, resveretrol, elajik asit, gallik asit, luteolin, sinnemaldehit, quersetin, gibi pek çok madde ÇAI etkisi göstermektedir (Zhou vd., 2018; Santos vd., 2021; Nayak vd., 2023; Öztürk Oruç vd., 2023). Bitkisel ajanlar, bazı çalışmalarda ekstraktlardan elde edilen saf bileşen haliyle, bazı çalışmalarda ise toplam bitki ekstraktı halinde kullanılmıştır. Ekstraktın tüm haliyle kullanıldığında ortaya çıkan ÇAI etkisinin, bileşenlerinin saf haliyle tek tek kullanımına kıyasla daha yüksek olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur. Bu durum, ekstraktta bulunan minör bileşenlerin sinerjistik etki ile ÇAI ve antibiyofilm etkisine katkı sağlaması ile açıklanmaktadır (Luciardi vd., 2020). Bir çalışmada, Güney İtalya'da yetişen bir elma çeşidinde fenolik bileşenler tek başına incelendiğinde ÇAI etkisi göstermemiş, ama toplam ekstraktın ÇAI etkisi olduğu belirlenmiştir (Fратиanni vd., 2011; Öztürk Oruç vd., 2023).

Esansiyel yağlar, timol, karvakrol, anetol, geraniol, sitral gibi antimikrobiyal özellikte maddeler taşımakta ve ayrıca bu maddelerin ÇAI ve antibiyofilm etkileri de bulunmaktadır (Başyigit vd., 2017). Yapılan çalışmalarda çeşitli esansiyel yağlar ve bileşenlerinin, ÇAI ve antibiyofilm aktivitesine dayalı olarak gıdalarda raf ömrünü uzatmak ve gıda güvenliğini sağlamak amacıyla kullanılabilecek yeni bir yöntem olabileceği bildirilmiştir (Ying vd., 2018; Liu ve vd., 2022). Kekik yağı (karvakrol, timol, anetol), çörek otu yağı, biberiye yağı, karanfil yağı (öjenol) ve tarçın yağı (sinnemaldehit) gibi esansiyel yağların gıdalarda veya gıda endüstrisinde kullanılan yüzeylerdeki ÇAI üzerine olumlu etkileri rapor edilmiştir (Khan vd., 2009; Elhariry vd., 2014; Myszka vd., 2016; Li vd., 2018; Liu vd., 2022).

Bir çalışmada narenciye ekstraktından ticari bir dezenfektan geliştirmek amaçlanmış ve *in vitro* testlerle çevre dostu formülün antimikrobiyal özelliği araştırılmıştır. Sonuçlar, dezenfektan formülünün çift tür biyofilm yapısında (*Listeria* spp. ve *Pseudomonas* spp.) bulunan bakterilerin yok edilmesinde etkili olduğunu ortaya çıkarmıştır. *P. aeruginosa* suşları dezenfektana daha fazla duyarlılık göstermiş olup doğal dezenfeksiyon formülünün geleneksel kimyasallara alternatif olabileceği belirtilmiştir (Medina-Rodríguez vd., 2020).

Bir başka çalışmada kekik, tarçın ve mercanköşk esansiyel yağlarının polipropilen yüzey üzerindeki *L. monocytogenes* ve *E. coli* bakterilerinin biyofilmlerini yok etme kapasiteleri araştırılmıştır. Konsantrasyonları (1.1-15.8 mg/mL) ve pH'ları (4.5-7.5) optimize edilerek 10 dakika süreyle yüzey ile muamele edilen doğal formüllerden yalnızca tarçın yağının *E. coli* biyofilmlerini yok etmede yetersiz kaldığı, diğer tüm formüllerin bakterilerin olgun (168 saat) ve henüz olgunlaşmamış (24 saat) biyofilmlerini gidermede başarılı olduğu ortaya konmuştur. Hazırlanan formüllerin dezenfeksiyon etkisinin endüstride kullanılan sodyum hipoklorit veya perasetik bazlı kimyasallara eşdeğer olduğu belirtilmiştir (Vidács vd., 2018).

Pandemi sonrasında yeşil ürün veya yeşil dezenfektan olarak nitelendirilen doğal maddelerden hazırlanan dezenfeksiyon ajanlarının pazarında benzeri görülmeyen bir büyüme yaşanmıştır. Özellikle temizlikte kullanılan kimyasalların (amonyum bileşikleri, klor ve alkol bazlı dezenfektanlar) çevresel kirliliğe yol açması nedeniyle pandemi sonrası dönemde çevresel sürdürülebilirlik açısından endüstriyel atıkların değerlendirilmesi, doğal dezenfektanlar, elektrokimyasal dezenfeksiyon ve nano dezenfektanların kullanımı gibi konularda yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Mohapatra vd., 2023; Tong vd., 2024)

1.4.1 Nar

Nar (*Punica granatum* L.), anavatanı Güneydoğu Asya olmasına rağmen farklı iklim ve toprak koşullarına adaptasyonunun yüksek olması nedeniyle üretim alanı oldukça geniş (Kuzey Hindistan'dan İran'a kadar uzanan bölgeler) bir bitki türüdür (Ramawat ve Merillon 2019). Yetiştirme koşullarına seçici olmamasından ötürü ülkemizin neredeyse tüm bölgelerinde üretilen oldukça önemli bir meyvedir (Akarca ve Başpınar, 2019). Fenolik madde içeriği ve antioksidan

kapasitesi yüksek bir meyve olan nar ‘‘süper gıda’’ olarak da adlandırılmaktadır (Vatansever, 2018).

Hoş tadı ve sağlığa olumlu etkileri nedeniyle sevilerek tüketilen nar, kabuk, meyveleri saran iç zarı, meyve ve çekirdek gibi bölümlerden oluşmaktadır. Nar meyvesinden nar suyu, nar ekşisi, jöle, reçel ve marmelat gibi ürünler de üretilmekte ve bu sırada kabuk, çekirdek ve iç zar gibi kısımları atık olarak ayrılmaktadır. Narın endüstride faydanılamayan ve bütün meyvenin yaklaşık %40-50’sini oluşturan yan kısımlarında bulunan biyoaktif bileşenlerin (tanninler, fenolik asitler, flavonoidler, organik asitler, triterpenler, alkoidler ve yağ asitleri) antimikrobiyal, antioksidan, antiviral, antidiyabetik, antikanserojen gibi fonksiyonel ve terapötik etkileri bulunmaktadır (Andrade vd., 2019; Aydın, 2024).

Narda yenilebilir sulu tanelerin %15-25’ini oluşturan çekirdek kısmında polifenol içeriği düşüktür; ancak fitosterol, tokoferol, konjuge alfa-linolenik asit ve punisik asit gibi omega yağ asitleri için iyi bir kaynaktır (Akarca ve Başpınar, 2019). Ayrıca nar kabuğunun fenolik madde içeriğinin pulp kısmından 10 kat fazla olduğu belirtilmektedir (Okumuş vd., 2015). Kabuk kısmında yüksek oranda bulunan elajik asit, punikalajin, gallik asit gibi tanninler, proantosiyanidinler, kompleks polisakkaritler ve flavanoidler ise, kabuğun meyve pulpuna göre daha güçlü antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik etki göstermesini sağlamaktadır (Tanveer vd., 2015; Aydın, 2024).

Nar ekstraktının antibakteriyel ve antifungal özellikleri yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur (Tanveer vd., 2015). Narın çekirdek, kabuk, meyve eti gibi kısımlarının her birinin antibakteriyel ve antifungal özelliklerinin ayrı ayrı değerlendirildiği bir çalışmada nar kabuğunun *S. aureus* ve *Aspergillus niger* üzerinde meyvenin diğer kısımlarına göre çok daha etkili bir inhibitör olduğu belirtilmiştir (Dahham vd., 2010). Bir başka çalışmada nar kabuğunun %80’lik metanol ekstraktının (0.5 mg/mL’lik minimum inhibisyon konsantrasyonunda) *L. monocytogenes* üzerinde inhibitör etki gösterdiği tespit edilmiştir (Al-Zoreky, 2009). Wu vd., (2018), Amerika’da tıbbi amaçla kullanılan farklı bitkisel ekstraktların *L. monocytogenes* ve *Vibrio parahaemolyticus* patojen bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkisini belirlemek için yaptığı çalışmada nar kabuğu ve

Çin sumaaının her iki bakteri üzerinde de (0.04-5 mg/mL minimum inhibisyon konsantrasyonu aralıaında) mükemmel bir inhibitör etki gösterdiğini bulmuştur.

Narın antibiyofilm özellikleriyle ilgili de bazı çalışmalar yapılmıştır. Nostro vd., (2016), 5 farklı bitkisel ekstraktın biyofilm üreten gıda kaynaklı patojen bakteriler (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*) üzerindeki antibiyofilm etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonuçları sumak ve narın metanol ekstraktlarının en etkili antibiyofilm ajanı olduğunu ve narın *L. monocytogenes* suşlarında biyofilm oluşumunu %60-80 oranında inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Brezilya'da tarım ürünleri artıklarının fırsatçı patojenlere karşı antibiyofilm potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada nar artıklarının *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'nın da dahil olduğu 7 fırsatçı patojenin olgun biyofilmlerini inhibe ettiğini belirtilmiştir (Rochelle vd., 2016).

Nar kabuğu fenoliklerinin patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal ve antibiyofilm özelliklerinin değerlendirildiği güncel bir çalışmada, fenolik maddelerin Gram pozitif bakteriler, (*S. aureus* ve *L. monocytogenes*) üzerindeki antimikrobiyal etkisinin Gram negatiflere (*Salmonella bongori*, *E. coli*), oranla yüksek olduğu, antibiyofilm etkisinin punikalajin, flavanoid ve klorojenik asit içeriğiyle orantılı olarak arttığı ve biyofilm aktivitesinin %70'den fazla azaldığı belirtilmiştir (Salim vd., 2023).

Ülkemizde de nar kabuğu ve artıklarının antibiyofilm özelliklerinin araştırıldığı bazı çalışmalar yapılmıştır. Meyve sanayi işleme yan ürünü olan nar atıklarının, *B. subtilis* ve *B. cereus* suşları üzerinde antibakteriyel ve antibiyofilm etkili biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak kullanılabilirliğini araştırmıştır. *B. subtilis* suşunun biyofilmlerinin, en fazla metanol-asit-su ile hazırlanan ekstrakt ile %80 oranında önlendiği ve etanol ile hazırlanan ekstrakt ile %67 oranında ortadan kaldırıldığı belirlenmiştir. *B. cereus* suşunun biyofilmlerinin ise en fazla etanol-asit ile hazırlanan ekstrakt ile %79 oranında önlendiği ve %83 oranında ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir (Albayrak, 2018).

Kalpar (2019), meyve suyu endüstrisinden elde edilen nar atığı ekstraktlarının *S. aureus* bakterisi üzerindeki antibakteriyel ve antibiyofilm etkilerini incelemiştir. En güçlü antibiyofilm aktivite, 1:5 oranında seyreltilen metanol ekstraktı ile paslanmaz çelik yüzeyde (%93 önlenme, %62 ortadan

kaldırılma) ve 1:10 oranında seyreltilen etanol ekstraktı ile polistiren yüzeyde (%79 önlenme, %42 ortadan kaldırılma) elde edilmiştir. Gıda endüstrisinde nar atığı ekstraktlarının *S. aureus* biyofilmleri için kullanılan kimyasal dezenfektanlara önemli potansiyel alternatifler olabileceği belirlenmiştir. Literatürde nar atığı ekstraktlarının gıda endüstrisinde kullanılan yüzeylerde gelişen patojen bakteriler üzerindeki antibiyofilm etkilerini gösteren başka bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Yapılan çalışmalar narın ÇAI etkisine sahip olduğunu göstermektedir. Bir çalışmada narın *Y. enterocolitica* ve *E. carotovora* patojen bakterilerinde AHL sistemini baskıladığı ve AHL üretimini azalttığı ortaya konulmuştur (Truchado vd., 2012). Koh ve Tham (2011), geleneksel Çin tıbbında kullanılan 10 farklı bitkinin ÇAI aktivitesini araştırmış ve narın da dahil olduğu 8 bitkinin 2 biyomonitör suş üzerinde (*C. violaceum* CVO26 ve *P. aeruginosa* PA01) inhibitör etkisi olduğunu belirtmiştir. Söz konusu bitkilerin antibiyotik direncini düşürmek amacıyla bakteri inhibisyonunda kullanılabileceği ortaya konmuştur.

1.4.2 Elajik Asit ve Punikalajin

Elajik asit, gallik asit ara ürünü olan elajitanin veya elajik asit glikozidleri şeklinde ahududu, böğürtlen, çilek ve nar gibi üzüksü taze meyveler ile ceviz, kestane ve fındık gibi kabuklu meyvelerin yapısında bulunan doğal bir bileşiktir. Gerek in vivo gerekse in vitro yapılan birçok çalışmada elajik asitin antioksidan, antienflamatuar, antidiabetik, antikanserojen ve antimutajenik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Elajik asidin insan hücrelerinde genotoksik veya sitotoksik bir etkisi olmadığı belirtilmektedir (Dördü, 2018). Yapılan çalışmalar elajik asidin narın kabuğunda, çekirdeğinde ve suyunda bulunduğunu göstermektedir (Sreekumar vd., 2014).

Punikalajin, nar kabuğunun en önemli bileşenlerindendir. Sağlık üzerine olumlu etkileri ve toksik olmayan, suda kolayca çözünebilen yapısı punikalajinin fonksiyonelliğini arttırmaktadır. Punikalajin A ve B olmak üzere iki anomeri bulunmaktadır. Elajik asit ve punikalajin elajitanenleri nar kabuğunda birlikte bulunarak sinerjistik etki göstermekte ve nar kabuğunun yüksek biyolojik aktivitesinden sorumlu olduğu belirtilmektedir (Okumuş, 2016).

Elajik asit ve punikalajinin enterik patojenlere karşı güçlü bir silah olabileceği fikri uzun zaman önce ortaya konulmuştur (Aviram vd., 2008). Son

yıllarda punikalajinin antibakteriyel ve antibiyofilm özelliği üzerine bazı çalışmalar yapılmış ve punikalajinin gıda patojenlerinden *S. aureus* (Xu vd., 2017), *S. Typhimurium* (Li vd., 2020), *Vibrio parahaemolyticus* (Liu vd., 2022) ve *E. coli* O157:H7 (Man vd., 2024) üzerindeki inhibisyon etkisi gösterilmiştir. Benzer şekilde elajik asit glikozitlerinin antibiyofilm ajanı olarak kullanım potansiyelleri olduğu belirtilmektedir (Melander vd., 2020).

Yapılan bir çalışmada, nar kabuğunda bulunan %13 oranındaki elajik asidin yüksek konsantrasyonlarda bakterilerin büyümesini, düşük konsantrasyonlarda ise biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Aynı çalışmada narın metanol ekstraktının *S. aureus*, *E. coli* ve *Candida albicans* üzerinde antibiyofilm özelliği gösterdiğini belirtilmiştir (Bakkiyaraj vd., 2013). Nar kabuğunun önemli bileşenlerinden olan punikalajinin antibiyofilm özelliği üzerine yapılan sınırlı sayıda çalışma vardır (Xu vd., 2017).

Nar kabuğunda yüksek oranda bulunan tanninlerin ÇA inhibitörü olarak kullanılabileceği ve antibiyofilm etkisine sahip olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Farha vd., 2020). Punikalajinin ÇAI üzerine yapılan bir çalışmada, söz konusu bileşenin *Salmonella* spp. virülans faktörleri üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği ve minimum inhibisyon konsantrasyonlarında ÇAI etkisine sahip olduğu belirtilmiştir (Li vd., 2014).

Literatürde bazı çalışmalarda nar kabuğunun antibiyofilm etkisinin içerdiği elajik asit, punikalajin, gallik asit gibi bileşenlerinden kaynaklandığı belirtilmiş (Bakkiyaraj vd., 2013), bazı çalışmalarda ise söz konusu bileşen miktarı daha fazla olan nar kabuğu ekstraktlarının biyofilm oluşumu önleme ve gidermede en iyi etkiyi göstermediği görülmüştür (Albayrak, 2018; Kalpar, 2019). Bitkilerdeki önemli bileşik gruplarının ayrı ayrı incelenmesi çalışmaları ayrıntılandırmak açısından önemlidir. Saf bileşenler genellikle toplam ekstraktlara göre daha yüksek antimikrobiyal, anti-QS ve antibiyofilm özelliği göstermektedir. Ancak bitkisel ekstrakt içerisindeki bileşenlerin tek tek olduğu kadar sinerjik şekilde etki gösterme olasılığı vardır.

1.4.3 Gül

Gül, dünyada 200'den fazla türü, 18.000 civarında çeşidi olan, tıbbi yararları bilinen önemli bir bitkidir. Bulgaristan'dan sonra gül yağının en fazla üretildiği ülke

Türkiye’dir. Ülkemize ait yerli bir tür olan *Rosa damascena* M. türü Isparta bölgesinde yaygın bir şekilde yetiştirilmektedir Gül meyvesinden elde edilen ekstraktlar geleneksel tıpta sakinleştirici, ağrı kesici, yara iyileştirici ve depresyon, üzüntü gibi durumları tedavi edici etkileri ile kullanılmaktadır (Bali vd., 2021). Bu ekstraktlardan biri olan doğal gül yağının içerisinde farklı oranlarda sitrenellol, geraniol, nerol, metil öjenol, fenil etil alkol gibi antioksidan ve antimikrobiyal özellik taşıdığı bilinen maddeler bulunmaktadır (Gözetici, 2017; Akram vd., 2019). Gül yağı, taze gül çiçeklerinin damıtılması ile elde edilen doğal ve saf bir üründür. Gül absölütü ise gül çiçeklerinden ekstraksiyon metoduyla elde edilen gül konkretinin etanolde çözündürülmesi ve etanolün buharlaştırılıp uzaklaştırılması ile elde edilmektedir (Çevikbaş, 2021).

Araştırmacıların toksik olmayan ve çevreyi algılama sistemi inhibitörleri olarak işlev görebilecek, tedavi edici ve antipatojen özelliklere sahip yeni bitkilere giderek artan ilgileri vardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Rosa damascena* M. taç yapraklarından elde edilen ekstraktların antibakteriyel etki gösterdiği (Ramdan vd., 2021; Nazir vd., 2021; Shohayeb vd., 2014) yapılan test sonuçlarında ekstarktın sitotoksiste göstermediği (Ramdan vd., 2021) belirtilmiştir.

Ulusoy vd. (2009), gül yağı ve absölütünün kuvvetli antibakteriyel etkiye sahip olduğunu, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. violaceum*, *E. carotovaro* suşları üstünde göstermişlerdir. Bu çalışmada *R. damascena*'nın hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakteriler üstünde antibakteriyel etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır. Yapılan araştırmalar gül yağının içinde bulunan bileşenlerin de antimikrobiyal etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. *Rosa damascena* M. bitkisinin *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus* üstündeki antibakteriyel etkisi araştırılmış ve en yüksek etki *S. aureus* üzerinde olmuştur (Arıdoğan vd., 2002). Gözetici (2017), 17 farklı esansiyel yağ bileşeninin antibakteriyel etkilerini araştırmış ve *S. aureus* ve *E. coli*’ye karşı en etkili bileşenin gül yağı bileşeni geraniol olduğunu bulmuştur.

Rosa damascena M. türü gül ekstraktları ve bileşenlerinin patojen mikroorganizmalar üzerinde antibiyofilm etkisini gösteren çalışmalar ise sınırlıdır. Yapılan literatür taramasında *Rosa damascena* M. çiçek ekstraktının *S. aureus* üzerindeki antibakteriyel ve antibiyofilm etkisi ölçülmüştür. Ekstraktla 5 dk’lık muamele sonucunda biyofilm oluşumu yaklaşık %60 oranında önlenmiştir.

Çalışmada kontrol olarak klorheksidin (%0,12) kimyasalı kullanılmış ve bu kimyasalın inhibisyon oranı %50 civarında kalmıştır (Amin vd., 2019). Başka bir çalışmada Bali vd., (2021), gül yağının *B. cereus*, *S. aureus* ve *E. faecalis* gibi patojenlerin bulunduğu Gram pozitif bakterilerin (%32,15±0,20-%52,40±1,30) biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini bulmuştur. *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *P. aeruginosa* gibi patojenlerin bulunduğu Gram negatif (%32,01±1,65-%61,00±0,84) bakteriler üzerinde de benzer şekilde biyofilm inhibisyonu gözlemlenmiştir. En yüksek inhibisyon değeri 93,07±1,90 değeri ile *P. aeruginosa* PA01 suşunda bulunmuştur. Bir başka çalışmada ise gül yağının *P. aeruginosa* PA01 suşu için biyofilm oluşumunu (%0,25-1 v/v seyreltme aralığında) %54-68, sitronellol, geraniol, nerol bu üç maddenin karışımından oluşan CGN örneklerinin ise %10-15 oranında baskıladığı belirtilmiştir (Çevikbaş ve Ulusoy vd., 2023).

R. damascena M. türü gülden elde edilen gül yağı ve gül absolütü örneklerinin *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii* patojen bakterilerinin oluşturduğu biyofilmleri giderme etkileri üzerine literatürde yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayrıca bu örneklerin gıda endüstrisinde kullanılan paslanmaz çelik, polietilen, cam gibi yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme veya giderme kapasiteleri üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak güncel bir çalışmada gül yağının bileşenlerinden olan geraniolün paslanmaz çelik yüzeyde *E. carotovora* ve *Pseudomonas fluorescens* bakterilerinin biyofilm oluşumunu engelleme kapasitesinin (%61,27) yüksek olduğu bulunmuştur (Zhang vd., 2021). Bu durum gül yağı ve gül absolütünün de yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme ve giderme kapasitesinin yüksek olabileceğini düşündürmektedir.

Gül yağı ve gül absolütünün bazı bakterilerin (*C. violaceum* ve *P. aeruginosa*) ÇA sistemini inhibe etme özellikleri çalışmalarla ortaya konulmuştur (Eriş, 2011). Gül yağı bileşenlerinin (sitronellol, geraniol ve nerol) ÇAI etkisi üzerine de çalışmalar mevcuttur (Çevikbaş, 2014). Çeşitli doğal maddelerin (gül absolütü, gül yağı, karanfil yağı, tarçın yağı ve çam terebentini) *P. aeruginosa* bakterisinde ÇAI aktivitesinin ölçüldüğü bir çalışma tüm maddelerin bu özelliği taşıdığını ve en yüksek etkiyi gül absolütünün gösterdiğini ortaya koymuştur (Seçer, 2012). Başka bir çalışmada ise, farklı bitkilerin esansiyel yağlarının *C. violaceum* CV026 ve *E. coli* ATCC 31298 bakterileri üzerindeki ÇAI en yüksek olanların gül, sardunya, lavanta ve biberiye yağları olduğu ifade edilmiştir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1 Materyal

2.1.1 Kullanılan Sarf Malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan nar atıkları bir meyve suyu işletmesinden (Göknur Gıda Maddeleri Enerji İml. İth. İhr. Tic. ve San. A.Ş.), gül yağı ve gül absolütü ise esansiyel yağ üretimi yapan Sebat Gülyağı Ltd. Şti. (Isparta) adlı işletmeden temin edilmiştir. Elajik asit ve punikalajin ekstraktları Cayman Chemical Company (Michigan, ABD)'den saf halde satın alınmıştır. Tez çalışmasında kullanılan sarf malzemelerinden Tryptic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Mueller Hinton Broth (MHB), Mueller Hinton Agar (MHA), Brain Heart Infusion Agar (BHA), Brain Heart Infusion Broth (BHI), sodyum klorür (NaCl), glukoz, tetrazolium (2,3,5-Trifenil-tetrazolyum klorid), gliserol, etanol, asetik asit, kristal viyole, yağsız süt tozu ve kloroform MERCK (Darmstadt, Almanya)'den, Luria Bertani (LB) Broth Condalab (Madrid, İspanya), metanol, dimetilsülfoksit Honeywell (Kuzey Karolina, ABD)'den, hidroklorik asit (HCl), İnterlab (İstanbul, Türkiye)'den satın alınmıştır. Kaba filtrasyonda Whatman No.1 filtre kâğıdı (Sigma Aldrich, Darmstadt, Almanya) ve mikrofiltrasyonda 0.22 µm ile 0.45 µm gözenek çaplı İsolab markalı filtreler (İnterlab, İstanbul, Türkiye) kullanılmıştır. Antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesinde 6 mm'lik Biolife steril diskler (Biolife Italiana S.r.l, Milano, İtalya) ve antibiyotik diskleri (Liofilchem, Roseto degli Abruzzi, İtalya) kullanılmıştır.

2.1.2 Kullanılan Alet-Ekipman

Çalışmada nar atıklarının, elajik asit ve punikalajinin -18 °C'de kullanıma dek muhafazasında dondurucu (Arçelik, Türkiye) kullanılmıştır. Liyofilizasyon işleminde nar atıklarını -80°C'de dondurmak için bir dondurucu (Panasonic Ultra-Low Temperature Freezer MDF-U5386S, Japonya), kurutmak için bir liyofilizatör cihazı (Christ Alpha 1-2 LDplus, Almanya), toz hale getirmek için bir öğütücü (Aromatic Kahve ve Baharat Öğütücü, Fakir) ve elde edilen nar ekstraktları ile gül yağı ve absolütünün kullanıma kadar 4°C'de muhafazası için bir buzdolabı (Arçelik, Türkiye) kullanılmıştır. Tartım yapmak için bir hassas terazi (Precisa 321LX, Biltek, İstanbul, Türkiye), ekstraksiyon amacıyla bir ultrasonik su banyosu cihazı (Wise Clean, Ultrasonik Cleaner WUC-A06H, Gangwon, Kore) ve

ekstraktlardan çözücünün uzaklaştırılmasında bir evaporatör cihazı (Heidolph Hei-VAP value, Bavyera, Almanya) ile çalışılmıştır. Santrifüj işlemleri, soğutmalı bir santrifüj cihazı (Hitachi High Speed Refrigerated Centrifuge CR22N, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmasında besiyeri hazırlamak amacıyla ısıtıcılı bir manyetik karıştırıcı (DragonLab MS-H-S, Kocintok, Ankara, Türkiye), besiyeri ve diğer sarf malzemelerinin sterilizasyonu için bir otoklav (ALP CL-32L, Tokyo, Japonya), bakteri kültürlerinin üretilmesi için ise bir inkübatör (Mettler IN75, Bavyera, Almanya) kullanılmıştır. Bakteri kültürlerinin standart hale getirilmesinde McFarland cihazı (Biosan DEN-1, Letonya) kullanılırken, Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerleri ve biyofilm oluşumunun absorbans değerleri ELISA okuyucu (Allsheng AMR-100, Hangzhou, Çin Halk Cumhuriyeti) kullanılarak hesaplanmıştır. MİK değerlerinin tespiti ve biyofilm analizleri 24 ve 96 kuyucuklu mikropalakalar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme analizlerinde kullanılan 3,4 cm²'lik paslanmaz çelik levhalar Ukinox Ankastre Sistemleri Sanayi Ticaret Limited Şirketi (Düzce, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Piyosianin ve viyolasin inhibisyonu analizlerinde absorbans ölçümü için UV-Visible spektrofotometre (UV-1800, Shimadzu, Japonya) kullanılmıştır. Gene aynı analizlerde yapılan santrifüj işlemleri Thermo marka mikrosantrifüjde (Micromax model, Thermo, Çin Halk Cumhuriyeti) gerçekleştirilmiştir.

2.1.3 Kullanılan Bakteriler

Tez çalışmasında ekstraktların ÇA sistemi ile düzenlenen virülans faktörler üzerindeki etkisini tespit etmek için *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu, AHL moleküllerinin inhibisyonunun tespiti için ise *C. violaceum* ATCC 12472 indikatör suşu kullanılmıştır. Ekstraktların antibakteriyel ve antibiyofilm özelliğini ölçmek için kullanılan patojen bakteriler (*E. coli* O157:H7 ATCC 43888, *E. coli* O157:H7 ATCC 43889 *L. monocytogenes* ATCC 13932, *S. aureus* ATCC 25923, *B. cereus* ATCC 11778) Bolu Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü'nden temin edilmiştir. *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan, *C. sakazakii* ATCC 29544 suşu Sakarya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı'ndan

ve *C. violaceum* ATCC 12472 suşu ise Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

2.2 Yöntem

2.2.1 Nar Atıklarından Toz Eldesi

Meyve suyu ve konsantresi üretim işletmesinden alınan nar atıkları soğuk zincirle laboratuvara getirildikten sonra bozulmayı önlemek amacıyla kullanılmaya kadar -18°C'de muhafaza edilmiştir. Kullanılacak olan nar atıkları bir gece öncesinden 4°C'ye alınarak çözündürülmüştür. Çözünmüş atıklar elle küçültülerek petrilere konulmuş ve ağızları kapatılarak -80 °C'de dondurucuda 24 saat bekletilmiştir. Ardından petrilerin kapakları açılıp ağızları parafilm ile kaplanarak liyofilizatör cihazının tepsilerine konulmuştur. -60 °C sıcaklık 0,75 mPa basınçta 24 saat süren liyofilizasyon işleminin ardından kurumuş nar atıkları kahve öğütücü yardımıyla toz hale getirilmiştir. Nar atığı tozları ağız kapalı cam bir kavanoza alınarak kullanıma dek 4°C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.2 Nar Atığı Tozundan Ekstrakt Eldesi

Ekstraksiyon işlemi, bazı değişiklikler yapılarak Kalpar'a, (2019) göre gerçekleştirilmiştir. Toz haldeki nar atıklarından 5 g alınarak 100 mL çözücü (A: %80 metanol:%20 saf su; B: %80 metanol:%5 HCl:%15 saf su; C: %60 metanol:%5 HCl:%35 saf su ve D: %100 saf su) cam şişede karıştırılmıştır. Karışımlar 4°C'de 18 saat buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra karışım ultrasonik su banyosunda 50°C sıcaklıkta 40 dakika süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. Santrifüj cihazı yardımıyla karışım 4 °C'de 4000 rpm'de 20 dakika süre ile santrifüj edilip nar atığı tozları çöktürülmüş ve süpernatant kısmı Whatman no.1 filtre kağıdı yardımıyla süzölmüştür. Süpernatantlar şilifli balonlara alınarak evaporatör cihazı yardımıyla karışımlardan çözücüler uzaklaştırılmıştır. Ekstraktlar, 4000 rpm, 4°C'de, 20 dakika süre ile yeniden santrifüj edilip, ardından 0.45 µm gözenek çaplı filtrelerden geçirilmiştir. Işık görmeyecek şekilde 4°C sıcaklıkta saklanan ekstraktlar, analizlerden önce yeniden mikrofiltrasyona tabi tutularak kullanılmıştır. 3 aylık periyotlar halinde ekstraksiyon işlemi tekrarlanmıştır.

2.2.3 Nar Atığı ve Gül Ekstraktlarının Bileşenlerinin Analizi

2.2.3.1 Nar Atığı Ekstraktlarında LC-MS ile Elajik Asit ve Punikalajin Tespiti

Elajik asit ve punikalajin analizleri ODTÜ Merkez Laboratuvar, Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Ar-Ge Merkezi, Kütle Spektroskopi Laboratuvarı'nda yaptırılmıştır. Nar atığı ekstraktları 4000 rpm hızında 15 dakika santrüfuj edildikten sonra ekstraktların süpernatant kısmı 0.22 µm gözenek çaplı filtreden geçirilerek yonteme uygun hale getirilmiştir. AGILENT 6460 kütle dedektörü ve AGILENT Zorbax Eclipse Plus C18 2.(2,1x100x1,8 µm) kolonu kullanılarak elajik asit ve punikalajin miktarları belirlenmiştir. Yürütme fazı olarak asetonitril (13 dakika) ve formik asit (%0,1) solüsyonu kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 40 °C, yürütücü faz akış hızı 0,4 mL/dakika ve enjeksiyon miktarı 2 µL olacak şekilde analiz yapılmıştır. Hazırlanan standart çözeltiler kullanılarak elde edilen sonuçlar (mg/g) olarak verilmiştir.

2.2.3.2 Gül Yağı ve Gül Absolütünün GC-MS ile Uçucu Bileşenlerinin Tespiti

Örneklerin uçucu yağ bileşen analizi BAİBÜ-BETUM Kromatografi Laboratuvarı'nda GC/GC-MS (Gaz kromatografisi (Thermo Scintific Trace 1300)-kütle detektör (Thermo Scintific ISQ QD)) cihazı ile kapiler kolon (TG-624; 30,0 m x 0,25 mm x 1,4 µm) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz öncesinde 50 µL gül yağı 1000 µL hekzan içerisinde, 50 µL gül absolütü ise 1000 µL metanol içerisinde çözülmüştür. Analizde taşıyıcı gaz olarak 1,00 mL/dk akış hızında helyum kullanılmıştır.

Örnekler cihaza 1 µL olarak enjekte edilmiştir. Enjektör sıcaklığı 230 °C'de tutulmuş, kolon sıcaklık programı 60 °C (0 dakika), 60 °C'den 220 °C'ye 5 °C/dakika ve 220 °C (15 dakika) olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu sıcaklık programı doğrultusunda toplam analiz süresi 47 dakika olarak gerçekleşmiştir. Kütle detektörü için tarama aralığı (m/z) 30-350, atomik kütle ünitesi ve elektron bombardımanı iyonizasyonu 70 eV, transfer hattının sıcaklığı 250 °C ve iyon kaynağı sıcaklığı 220 °C olarak kullanılmıştır. Uçucu yağın bileşenlerinin teşhisinde ise WILEY ve NIST kütüphanelerinin verileri esas alınmıştır. Sonuçların bileşen yüzdeleri ve bileşenlerin teşhisi için MS dedektör kullanılmıştır.

2.2.4 Antimikrobiyal Aktivite Testi

2.2.4.1 Stok Kùltürlerin Aktifleřtirilmesi, Ön Kùltürlerin Hazırlanması ve Pasajlama

Stok bakteri çözeltileri (-18 °C’de bulunan) oda sıcaklığında çözöndüröldükten sonra stoktan 50 µL alınarak patojen bakteriler için 5 mL TSB besiyerine ilave edilmiştir. Ardından kùltürler inkübatöre konularak 37°C’de 24 saat inkübe edilmiştir. Taze kùltürden steril öze yardımıyla alınarak TSA besiyerine ekim yapılmış ve petriler 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında saf kolonilerden steril öze yardımıyla alınarak %0,85’lik NaCl içeren fizyolojik tuzlu suya (FTS) aktarılmış ve McFarland cihazı yardımıyla kùltürler standart hale getirilerek kullanılmıştır. TSA besiyerinde üretilen kùltürler 4°C sıcaklıkta muhafaza edilerek on günde bir kez şekilde pasajlanarak kullanılmıştır.

2.2.4.2 Disk Difüzyon Testi

Nar kabuğı ekstraktları, gül absöütü, gül yağı, elajik asit ve punikalajinin antimikrobiyel aktivitesinin belirlenmesinde disk difüzyon tekniğı kullanılmıştır (Akarca ve Başpınar, 2019). Elajik asit ve punikalajin dışındaki örnekler derişik, 5 ve 10 kat olacak şekilde seyreltilmiştir. Nar kabuğı ekstraktlarının seyreltilmesinde saf su, gül absöütü, gül yağı, elajik asit ve punikalajinin seyreltilmesinde ise %5’lik dimetilsülfoksit çözeltisi kullanılmıştır. Elajik asidin antimikrobiyel aktivitesinin belirlenmesi için 10 mg/mL, 5 mg/mL ve 2,5 mg/mL’lik konsantrasyonları hazırlanırken; punikalajinin analizinde 2 mg/mL, 1 mg/mL ve 0,5 mg/mL’lik konsantrasyonlar kullanılmıştır.

MHA besiyeri üzerine 0,5 McFarland (10^8 kob/mL) bulanıklığa ayarlanmış bakteri kùltürleri steril eküvyon yardımıyla sürölerek kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan petrilerin üzerine steril kâğıt diskler pens yardımıyla yerleştirilmiştir. Diskleri yerleştirirken pens ucunun her defasında %70’lik alkol çözeltisi ile bek alevinden geçirilmesine ve disklerin birbirine çok yakın yerleştirilmemesine dikkat edilmiştir. Daha önceden seyreltilen örneklerden 30’ar µL alınarak disklerin üzerine konulmuştur. Ardından petriler 37 °C’de 20-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda inhibisyon zonlarının çapları milimetrik cetvel ile ölçölerek değeriendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kanamisin ve tetrasiklin antibiyotik diski, negatif kontrol olarak örneklerin seyretildiğı saf su ve dimetilsülfoksit çözeltisi kullanılmıştır.

2.2.4.3 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK) Tespiti

MİK, bir organizmanın gelişmesini en az düzeyde engelleyecek konsantrasyonu ifade etmektedir ve mg/L veya v/v seyreltme oranı olarak belirtilmektedir. Örneklerin patojen bakteriler üzerindeki MİK değerleri 96 kuyucuklu mikropkaya üzerinde mikro seyreltme teknikleri ile sıvı haldeki besiyerlerine ekim yapılarak gerçekleştirilmiştir. Mikropkaya okuyucuda plakalar okutulmak suretiyle MİK değerleri belirlenmiştir (Bazargani ve Rohloff, 2016; Gürbüz, 2019). Besiyeri olarak analizlerde BHI broth kullanılmıştır. Sıvı besiyerinde 37°C’de 24 saat etüvde inkübe edilen bakteriler, 10⁸ kob/mL seviyesine (McFarland 0,5) ayarlanmıştır. Her bir mikropkaya kuyucuğuna 60 µL besiyeri ve 60 µL farklı oranlarda seyreltilmiş örnek (%50, %25, %12,5, %6,25, %3,12, %1,56, %0,78, %0,39, %0,19 ve %0,095) konulmuştur. Nar atığı ekstraktlarının seyreltilmesinde steril saf su, gül yağı, gül absölütü, elajik asit ve punikalajin örneklerinin seyreltilmesinde %5’lik dimetilsülfoksit çözeltisi kullanılmıştır. Yine her bir kuyucuğa 60 µL 10⁸ kob/mL seviyesinde bakteri kültürü eklenerek pipetaj yapılmış ve mikropkaların üzerine film kaplanarak okuyucuya yerleştirilmiştir. Mikropkaya okuyucuda 40 sn çalkalandıktan sonra 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sırasında 0. ve 24. saatlerde mikropkaların 600 nm’de OD değerleri ölçülerek kaydedilmiştir.

İnkübasyon sonrası tüm farklı yüzdelikteki maddeler varlığında bakterilerin bulunduğu kuyucuklardan örnekler BHA’ya ekilerek MBK tespiti yapılmıştır. MBK analizi sonrası mikropkaların her bir kuyucuğuna 40 µL %0,01’lik tetrazolium çözeltisi konularak renk değişimlerine ve okuma sonuçlarına göre MİK değerleri tespit edilmiştir. Bakteriyel büyüme olan kuyularda kırmızı benzeri renk oluşumu gözlemlenmiş, pembe veya kırmızı renk oluşumunun görülmeye başladığı kuyucuklar bakteri üremesinin önlendiği en düşük konsantrasyonlar olarak belirlenmiştir. Son olarak MBK ve MİK değerleri kullanılarak %inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Örnek ilavesi yapılmayan kuyucuk pozitif kontrol olarak kabul edilirken, kültür ilavesi yapılmayan sadece besiyeri ve seyreltme sıvıları bulunan kuyucuklar negatif kontrol olarak kabul edilmiştir.

2.2.5 Antibiyofilm Aktivite Testleri

2.2.5.1 Antibiyofilm Oluşturma Analizi

Antibiyofilm aktivite testleri Eryaşar rer, (2022) ve Kalpar (2019) tarafından uygulanan yöntemlerde bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Patojen bakterilerin bir gecelik taze n kültürleri biyofilm oluşumunu arttırmak amacıyla %2 (w/v) glukoz içeren TSB ile karıştırılarak 0,5 McFarland bulanıklığa ayarlanmıştır. Hazırlanan karışımdan 200'er µL alınarak 3 tekerrür şeklinde 96 kuyucuklu mikroplakaya aktarılmıştır. Sıvı besiyeri 37 C'de 48 saat inkübasyon sonunda mikroplakalardan boşaltılmıştır. Kuyucuklar distile su ile 3 kez yıkandıktan sonra bek alevinin etrafında kurutulmuştur. Ardından kuyucuklara 200 µL saf metanol konularak 15 dk bekletilmiş ve fiksasyon işleminden sonra metanol kuyucuklardan boşaltılmıştır. %1'lik (w/v) kristal viyole zeltisinden 200 µL alınarak kuyucuklara eklenmiş ve 15 dakika bekletilmiştir. Kuyucuklar distile su ile nazikçe 3 kez yıkandıktan sonra iyice kurutulmuş ve 200 µL etanol:asetik asit (% 90:10) karışımı ilave edilerek 10 dakika bekletilerek boya zdrlmştr. Mikroplakalar ELISA okuyucuya yerleştirilerek 595 nm'de OD değerleri ölçülmüştür.

Bakteri kültürü eklenmemiş, yalnızca sıvı besiyeri içeren plakalar negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Çalışmada ekstraktların antibiyofilm etkisi biyofilm oluşumunu nleme ve biyofilm oluşumunu giderme olarak 2 farklı şekilde belirlenmiş ve sonuçlar hesaplanarak % olarak verilmiştir.

Analizlerde nar ekstraktları için kr olarak ekstraksiyon sırasında örneklerle aynı işlemlere tabi tutulan zcler kullanılmıştır ve zclerden kaynaklı bir inhibisyon olup olmadığı belirlenmiştir. Gül yağı, gl absolütü, elajik asit ve punikalajinin antibiyofilm analizlerinde ise kültür içermeyen besiyeri ve örnek karışımı kr olarak kabul edilmiştir. Tüm ekstraktlar için örnek eklenmeyen yalnızca kültür aşılanan kuyucuklar pozitif kontrol olarak ölçülmüştür.

2.2.5.2 Mikroplakada Biyofilm Oluşumunun nlenmesinin Araştırılması

Biyofilm oluşumunun önlenebilmesi için her örnek için tespit edilen MİK/2 değerinde hazırlanan konsantrasyondan 200 µL alınarak 3 tekrarlı olacak şekilde polistren yzeyeye sahip kuyucuklara eklenmiştir. Ekstraktlar 30 dakika boyunca

kuyucuklarda bekletilmiştir. Süre bitiminde mikropalakalardaki ekstraktlar dökülmüş ve ekstrakt bulunan kuyucuklar yıkanmadan üzerine 0,5 McFarland bulanıklığında (10^8 kob/mL seviyesinde) %2 (w/v) glukoz içeren TSB içinde bulunan bir gecelik taze patojen kültürden 200 µL ilave edilmiştir. Mikroplaka 37 °C’de 48 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyondan sonra sıvı besiyeri dikkatli bir şekilde dökülerek kuyucuklar distile su ile 3 kez nazikçe yıkanmış ve bek alevi etrafında kurutulmuştur. Bu aşamadan sonra bir önceki bölümde belirtildiği şekilde biyofilm oluşumu tespit edilmiştir. Analiz 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

2.2.5.3 Mikroplakada Oluşan Biyofilmlerinin Giderilmesinin Araştırılması

Patojen bakterilerin bir gecelik taze ön kültürleri %2 (w/v) glukoz içeren TSB ile karıştırılarak 0,5 McFarland bulanıklığa (10^8 kob/mL seviyesine) ayarlanmıştır. Hazırlanan karışımdan 200 µL alınarak 3 tekerrür şeklinde polistren yüzeye sahip kuyucuklara aktarılmıştır. 37°C’de 48 saat inkübasyon sonunda sıvı besiyeri mikropalakalardan boşaltılmıştır. Kuyucuklar tutunmayan hücreleri gidermek için distile su ile 3 kez yıkanarak kurutulmuş ve örneklerin MİK/2 değerlerinde hazırlanan konsantrasyonlarından 200’er µL alınarak kuyucuklara ilave edilmiştir. Plakalar buzdolabına konularak 30 dakika süre bekletilmiştir. Ardından örnekler nazikçe dökülerek boşaltılmış ve kuyucuklar distile su ile 3 kez yıkandıktan sonra bek alevinin etrafında kurutulmuştur. Bu aşamadan sonra bir önceki bölümde belirtildiği şekilde biyofilm oluşumu tespit edilmiştir. Analiz 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Aşağıda verilen formüle göre sonuçlar hesaplanarak % olarak verilmiştir. (PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol)

$$\text{Biyofilm inhibisyonu (\%)} = \frac{\text{OD}_{595} (\text{PK-NK}) - \text{OD}_{595} (\text{Örnek-NK})}{\text{OD}_{595} (\text{PK-NK})} \times 100$$

2.2.5.4 Paslanmaz Çelik ve Cam Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunun Önlenmesinin Araştırılması

Yüzeylerde yapılan antibiyofilm analizlerinde Kıran vd., (2021) tarafından uygulanan metot bazı modifikasyonlar yapılarak kullanılmıştır. Patojen bakterilerin bir gecelik taze ön kültürleri %2 (w/v) glukoz içeren TSB ile karıştırılarak 0,5 McFarland bulanıklığa (10^8 kob/mL seviyesine) ayarlanmıştır. Paslanmaz çelik

yüzey için yapılan analizde 1,2 x 1,2 x 0,1 cm ölçülerde olan 316L paslanmaz çelik plakalar kullanılmıştır. Cam yüzeylerde yapılan analiz için ise hepsi aynı boyutta yuvarlak tabanlı (14 mm çapında) cam tüpler kullanılmıştır. İlk olarak plakalar ve tüpler izopropenol ile muamele edilmiş ve deterjanla 15 dakika kaynatılmıştır. Ardından plakalar ve tüpler distile su ile iyice durulanmıştır. Plakalar ve tüpler kurutulduktan sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Steril plakalar 24 kuyucuklu mikropakanın kuyucuklarına yerleştirilerek örneklerin MİK/2 altı değerlerinde hazırlanan kontrasyonlarından 400 µL ilave edilerek 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda plakalar kuyucuklardan çıkarılarak ekstraktlar dökülmüş ve kuyucuklar yıkanmıştır. Steril ortamda kurutulan plakalar kuruyan kuyucuklara yeniden yerleştirilmiştir. Plakaların bulunduğu kuyucuklara 0,5 McFarland bulanıklığında patojen bakterilerden 400 µL ilave edilmiştir. Plakalar 37°C'de 48 saat inkübasyon sonunda kuyucuklardan çıkarılmıştır. Tutunmayan hücreleri gidermek için plakalar distile su ile 3 kez yıkanarak kurutulmuştur. Benzer şekilde steril cam tüplere örneklerin MİK/2 altı değerlerinde hazırlanan kontrasyonlarından 400 µL ilave edilerek 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda ekstraktlar dökülerek cam tüpler kurutulmuştur. 0,5 McFarland bulanıklığında patojen bakterilerden 400 µL alınarak cam tüplere ilave edilmiştir. Cam tüplerde bulunan besiyeri 37°C'de 48 saat inkübasyon sonucunda dökülerek tutunamayan hücreleri gidermek için distile su ile 3 kez yıkanarak kurutulmuştur. Bu aşamadan sonra bir önceki bölümde belirtildiği şekilde biyofilm oluşumu tespit edilmiştir. Ancak, metanol, kristal viyole ve etanol:asetik asit çözeltilerinin miktarları 400 µL, 400 µL olarak kullanılmıştır. Analiz 3 tekrür olacak şekilde gerçekleştirilmiş olup, son aşamada etanol:asetik asit çözeltisi ile 15 dakikalık muamele sonrası çözeltilerden 150 µL alınarak 96 kuyucuklu mikropakaya aktarılmıştır. Mikropakalar ELISA okuyucuya yerleştirilerek 595 nm'de OD değerleri ölçüldü. Bakteri kültürü eklenmemiş, yalnızca sıvı besiyeri içinde inkübe edilen plakalar negatif kontrol, örnekle muamele edilmeden üzerine sadece kültür ilave edilen plakalar ise pozitif olarak kullanılmıştır. Aşağıda verilen formüle göre sonuçlar hesaplanarak % olarak verilmiştir. (PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol)

$$\text{Biyofilm inhibisyonu (\%)} = \frac{\text{OD}_{595} (\text{PK-NK}) - \text{OD}_{595} (\text{Örnek-NK})}{\text{OD}_{595} (\text{PK-NK})} \times 100$$

2.2.5.5 Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Bakterilerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Araştırılması

Patojen bakterilerin bir gecelik taze ön kültürleri %2 (w/v) glukoz içeren TSB ile karıştırılarak 0,5 McFarland bulanıklığa (10^8 kob/mL seviyesine) ayarlanmıştır. Steril plakalar 24 kuyucuklu mikropiakanın kuyucuklarına yerleştirilerek örneklerin MİK/2 altı değerlerinde hazırlanan konstrasyonlarından 400 µL ilave edilerek 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda plakalar kuyucuklardan çıkarılarak ekstraktlar dökülmüş ve kuyucuklar yıkanmıştır. Steril ortamda kurutulan plakalar kuruyan kuyucuklara yeniden yerleştirilmiştir. Plakaların bulunduğu kuyucuklara 0,5 McFarland bulanıklığında patojen bakterilerden 400 µL ilave edilmiş, 37 °C’de 48 saat inkübasyon sonunda plakalar kuyucuklardan çıkarılmıştır. Tutunmayan hücreleri gidermek için plakalar fosfat tampon çözeltisi (PBS) ile 3 kez yıkanarak kurutuldu. Plakalar önce oda sıcaklığında %4’lük formaldehit çözeltisi içerisinde 3 saat bekletilmiş, daha sonra PBS ile yeniden yıkama yapılarak formaldehit uzaklaştırılmıştır. Plakalar sırasıyla %30, %50, %60, %70 ve %90’lık etanol çözeltileri içerisinde 5’er dakika bekletilerek dehidre edilmiştir. En son %100’lük etanol içerisinde 10 dakika daha bekletildikten sonra inkübatörde kurutma yapılmıştır (Kıran vd., 2020).

Paslanmaz çelik yüzeylerin SEM ile görüntüleme işlemleri Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi bünyesindeki ARTMER’de gerçekleştirilmiştir. Analizlerde FEI marka Quanta FEG 450 model (FEI Company, Oregon, ABD) cihaz ve BSED dedektör kullanılarak yüksek vakum modunda örneklerin farklı boyutlarda (x28, x1000, x2500, x5000, x10000) 2 boyutlu görüntüleri elde edilmiştir.

2.2.5.6 Paslanmaz Çelik ve Cam Yüzeylerde Biyofilmlerde Bulunan Canlı Hücre Sayısının Tespit Edilmesi

Canlı hücre varlığının tespiti için biyofilm oluşmuş olan paslanmaz çelik yüzeyler, 37 °C’de 48 saat inkübasyon sonunda steril koşullarda fosfat tamponlu tuzlu su (PBS) ile yıkanarak kurutulmuş ve ardından steril cam boncukla karıştırılıp vortekslenerek homojenize edilmiştir. Homojenleştirilmiş solüsyonlar seyreltilerek TSA besiyerine yayma kültür yöntemi ile ekim yapılmış ve 37 °C’de 24 saat inkübasyondan sonra biyofilmlerdeki canlı patojen hücreleri log kob olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde cam yüzeyler de 37 °C’de 48 saat inkübasyon

sonunda steril koşullarda PBS ile yıkanarak kurutulmuş ve ardından steril cam boncukla karıştırılıp vortekslenerek homojenize edilmiştir. Seyreltilerden ekim yapılarak yukarıda anlatıldığı şekilde canlı patojen hücreslerin sayısı belirlenmiştir (Vidács vd., 2018; Tamfu vd., 2020).

2.2.6 Örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27583 Suşunda Bazı Virölens Faktörler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması

2.2.6.1 Kayma Testi

Testler için öncelikle tüm örneklerin daha önceden belirlenen MİK/2 değerslerine kadar seyreltme yapılmıştır. Besiyeri olarak %0,5 agar içeren LB kullanılmıştır. Örnek ile besiyeri karışımının bulunduğu petrinin ortasına *P. aeruginosa* ATCC 27583 suşunun bir gecelik taze ön kültüründen iğne öze ile alınarak inoküle edilmiştir. İnokülasyon yapılan noktadan çevreye doğru olan yayılmanın çapı 37 °C’de 24-48 saatlik inkübasyon sonucunda ölçülerek kaydedilmiştir (Rashid ve Cornberg, 2000). İçinde örnek bulunmayan yalnızca kültür inoküle edilen petri pozitif kontrol; içinde kültür bulunmayan yalnızca besiyeri bulunan petri ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

2.2.6.2 Yüzme Testi

Testler için öncelikle tüm örneklerin daha önceden belirlenen MİK/2 değerslerine kadar seyreltme yapılmıştır. Besiyeri olarak %0,3 agar içeren LB kullanılmıştır. Örnek ile besiyeri karışımının bulunduğu petrinin ortasına *P. aeruginosa* ATCC 27583 suşunun bir gecelik taze ön kültüründen iğne öze ile alınarak inoküle edilmiştir. İnokülasyon yapılan noktadan çevreye doğru olan oluşan bulanıklık zonu çapı 37 °C’de 24-48 saatlik inkübasyon sonucunda ölçülerek kaydedilmiştir (Rashid ve Cornberg, 2000). İçinde örnek bulunmayan yalnızca kültür inoküle edilen petri pozitif kontrol; içinde kültür bulunmayan yalnızca besiyeri bulunan petri ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

2.2.6.3 Proteaz Testi

Proteaz testinin yapılması için öncelikle tüm örneklerin MİK/2 değerslerine kadar seyreltme yapılmıştır. Besiyeri olarak %2 yağsız süt tozu (Sigma) içeren LB agar besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri mikrodalgada kaynatılarak sterilize edildikten ve soğutulduktan sonra örnekler aseptik koşullarda besiyerine karıştırılarak petrilere dökülmüştür. Bir gecelik taze *P. aeruginosa* ATCC 27583 kültüründen

agar ortasına iğne öze ile inokülasyon yapılmıştır. Bakteri kolonisi etrafındaki berrak zon çapı 37 °C’de 24 saat inkübasyon sonrasında ölçülerek proteolitik aktivitenin göstergesi mm olarak kabul edilmiştir (Önbaş, 2017). İçinde örnek bulunmayan yalnızca kültür inoküle edilen petri pozitif kontrol; içinde kültür bulunmayan yalnızca besiyeri bulunan Petri ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

2.2.6.4 Piyosianin Testi

LB besiyerinde 37 °C’de bir gece çalkalamalı inkübasyona tabi tutulan *P. aeruginosa* kültürü 0,5 McFarland seviyesine TSB’de ayarlandı. Kültür içeren 5 mL TSB besiyerine MİK dozunda örnek ilave edilerek tüpler 37 °C’de 24 saat çalkalamalı inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında 2 mL kültür üzerine 2 mL kloroform ilave edilerek 5000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında piyosianince zengin supernatant kısmından 1,5 mL alınarak üzerine 1,5 mL 0,2 M HCl çözeltisi eklenerek 5000 rpm’de 15 dakika tekrar santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan küvetlere alınarak 520 nm’de spektrofotometrede yapılan ölçüm sonucunda elde edilen OD değerleri kaydedilmiştir İçinde örnek bulunmayan yalnızca kültür bulunan tüp pozitif kontrol; içinde kültür bulunmayan yalnızca besiyeri bulunan tüp negatif kontrol olarak kullanılmıştır (Essar vd., 1990; Ulusoy, 2007). Piyosianin inhibisyonu % olarak hesaplanarak verilmiştir.

2.2.7 *C. violaceum* ATCC 12472 Suşunda Viyolasin

İnhibisyonunun Araştırılması

2.2.7.1 Örneklerin *C. violaceum* ATCC 12472 Suşu

Üzerindeki MİK Tespiti

LB broth besiyerinde 30 °C’de bir gece inkübasyona bırakılan *C. violaceum* ATCC 12472 suşu 0,5 McFarland bulanıklığa ayarlandıktan sonra 60 µL kültür alınarak 96 kuyucuklu mikropalakaya aktarılmıştır. Üzerine farklı oranlarda seyreltilmiş örneklerin her bir konsantrasyonundan sırasıyla 60’ar µL ilave edilmiştir. 80 µL steril LB Broth besiyeri ilave edilerek kuyucuklar 200 µL’ye tamamlanmıştır. Ardından kuyucuklara pipetaj yapılarak mikropalaka, okuyucuya yerleştirilmiştir ve 30°C’de 24 saat çalkalamalı olarak inkübasyona bırakılmıştır. 0. ve 24. saatlerde 585 nm’de yapılan okuma sonuçlarına ve renk farklılıklarına göre MİK değerleri belirlenerek kaydedilmiştir (Bazargani ve Rohloff, 2016; Gürbüz, 2019).

2.2.7.2 Disk Difüzyon Tekniği ile Viyolasin İnhibisyonunun Belirlenmesi

LB Broth besiyerinde 30 °C’de bir gece inkübasyona bırakılan *C. violaceum* ATCC 12472 suşu 0,5 McFarland (10^8 kob/mL) bulanıklığa ayarlanmıştır. Ardından tüm örneklerin önceden belirlenen MİK değerlerinde örnekler hazırlanmıştır. Hazırlanan kültür LB agar besiyerine homojen şekilde sürüldükten sonra kuruması beklenmiştir. Kuruyan agar ortamına steril diskler yerleştirilmiştir. Disklerin üzerine 30 µL örnek damlatılmış ve petriler 30 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda diskin etrafında oluşan ve viyolasin inhibisyonunu gösteren opak zonlar cetvelle ölçülerek mm olarak kaydedilmiştir. Pozitif kontrol olarak tetracycline antibiyotik diski, negatif kontrol olarak ise steril saf su kullanılmıştır (Eriş, 2011).

2.2.7.3 Viyolasin İnhibisyon Yüzdesinin Belirlenmesi

Eriş, (2011) tarafından uygulanan metotta bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilen analiz için öncelikle LB Broth besiyerinde 30 °C’de bir gece inkübasyona bırakılan *C. violaceum* ATCC 12472 suşu 0,5 McFarland (10^8 kob/mL) bulanıklığa ayarlanmıştır. 5 mL LB broth içeren tüplere 100 µL taze kültür inoküle edilmiştir. Ardından MİK değerinde örnekten 100 µL alınarak tüpe eklenmiştir. Tüpler vortekslendikten sonra 30 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında tüpler üst kısımda ve tüpün etrafında bulunan pigmentlerin karışması için iyice vortekslenmiştir. Ardından 1 mL kültür alınıp 1,5 mL’lik ependorf tüpüne aktarılmıştır. Tüpler 10000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında karışımın süpernatant kısmı dökülmüş ve dipte kapan pelletin üzerine 1 ml DMSO çözeltisi eklenmiştir. Vortekslenen tüpler mikrosantrifüj cihazına konularak 13000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından viyolasin içeren DMSO çözeltisinden 200 µL mikropalakalara alınarak 585 nm’de ELISA mikropalaka okuyucuda OD değerleri okunmuştur.

Negatif kontrol olarak yalnızca besiyeri içeren, pozitif kontrol olarak ise örnek içermeyen yalnızca kültür içeren tüpler kullanılmıştır. Viyolasin inhibisyonu pozitif kontrol ve örneklerin OD değerleri kullanılarak % olarak hesaplanmıştır.

$$\text{Viyolasin inhibisyonu (\%)} = \frac{\text{OD}_{585} (\text{PK-NK}) - \text{OD}_{585} (\text{Örnek-NK})}{\text{OD}_{585} (\text{PK-NK})} \times 100$$

2.2.8 İstatistiksel Analizler

Deneyler farklı zaman aralıklarında ve en az 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Analizler SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) versiyonu kullanılarak değerlendirilmiştir. ANOVA, bağımsız t-testi ve Tukey posthoc testi kullanılarak veriler analiz edilmiş ve $p<0.05$ tüm analizler için anlamlı kabul edilmiştir.



3. BULGULAR

3.1 Nar Atığı ve Gül Ekstraktlarının Bileşen Analizi Sonuçları

3.1.1 Nar Atığı Ekstraktlarında Elajik Asit ve Punikalajin Sonuçları

Bu tez çalışması kapsamında en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi gösteren metanol-asit-su ekstraktı (B) ve asit içermeyen metanol-su (A) ekstraktının antibiyofilm ve ÇAI etkileri araştırılmıştır. Tez kapsamında analizleri yapılan A ve B ekstraktlarında bulunan elajik asit ve punikalajin miktarları (mg/g) olarak tespit edilerek Tablo 3.1.'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere B ekstraktında biyolojik aktivite gösteren elajik asit ve punikalajin miktarlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ekstraksiyonlarda çözücü ortamına eklenen asitlerin fenolik maddelerin çözünürlüğünü arttırdığı bilinmektedir.

Tablo 3.1. Nar atığı ekstraktlarının elajik asit ve punikalajin miktarları

Nar Atığı Ekstraktı	Elajik asit (mg/g)	Punikalajin (mg/g)
A	39,7±0,03	6,7±0,01
B	42,8±0,02	24,6±0,03

3.1.2 Gül Yağı ve Gül Absolutünde Uçucu Bileşen Yüzdesi Sonuçları

Bu tez çalışması kapsamında araştırılan gül yağı örneğinin uçucu bileşenlerinin yüzdesine ilişkin sonuçlar Tablo 3.2'de, gül absolutüne ait sonuçlar ise Tablo 3.3.'de verilmiştir. Analizler sonucunda elde edilen spektrum grafikleri ise EK-2 (gül yağı) ve EK-3'te (gül absolutü) sunulmuştur.

Tablolar incelendiğinde gül yağında 42 farklı uçucu bileşen tespit edildiği, en fazla bulunan bileşenlerin nonadekan, geraniol, sitronellol, metil öjenol ve nerol olduğu görülmektedir. Alıkonma süreleri 6,91-38,02 dakika arasında değişmiştir. Gül absolutü örneğinde ise 20 farklı uçucu bileşen tespit edilmiş, en fazla bulunan bileşenlerin fenil etanol, sitronellol ve geraniol olduğu ortaya konmuştur. Alıkonma süreleri gül absolutü için 14,54-38,04 dakika arasında bulunmuştur. Sonuçlar gül yağında bulunan bileşenlerin gül absolutünden daha uçucu olduğunu göstermiştir.

Tablo 3.2. Gül yağının uçucu bileşen miktarları

No	Gül Yağı	Alıkonma zamanı (dakika)	Miktar (%)
1	n-Octane	6,91	0,44
2	n-hexanol	10,59	0,43
3	a-Pinen	11,36	3,8
4	Sabinene	12,82	0,24
5	2-a-Pinen	12,95	0,63
6	Myrcene	13,13	3,02
7	a-Terpinolene	14,22	1,01
8	d-Limonen	14,57	2,2
9	β -Phellanderen	14,77	0,77
10	delta-3-Carene	15,02	1,4
11	Ç-Terpinen	15,45	0,66
12	a-Terpinen	16,39	0,76
13	Rose Oxide A	17,57	1,27
14	Linalool	17,7	2,68
15	Nonanal	17,83	0,11
16	Rose Oxide B	18,11	0,63
17	Neroloxide	18,99	0,23
18	Benzene ethanol	19,43	4,48
19	4-Terpinol	20,28	1,93
20	a-Terpinol	20,93	1,03
21	a-Citronellol	21,81	6,95
22	Nerol	21,92	6,43
23	Isogeraniol	22,28	0,24
24	Trans-Geraniol	22,59	7,17
25	E-Citral	23,53	1,1
26	Citronellyl acetate	24,64	1,81
27	Nerol acetate	25	0,31
28	Lavandulyl acetate	25,48	2,99
29	Eugenol	26,16	2,23
30	Methyleugenol	26,72	7,51
31	n-Pantadecane	27,38	0,79
32	a-Humulene	27,71	1,39
33	Germacrene-D	28,42	0,28
34	β -selinene	28,5	2,62
35	a-Guaiene	28,67	1,7
36	n-Hexadecane	29,85	0,17
37	Nerodidole	30,42	0,12
38	3-heptadecane	31,88	0,42
39	n-Tetradecane	32,16	2,93
40	Farnesol	34,74	1,66
41	10-Henecosene	37,41	3,74
42	Nonadecane	38,02	10,45

Tablo 3.3. Gül absolütünün uçucu bileşen miktarları

No	Gül Absolütü	Alıkonma zamanı (dakika)	Miktar (%)
1	d-Limonen	14,54	0,26
2	Benzeyl alcohol	17,12	0,14
3	Linalool	17,7	0,24
4	Phenyl ethanol	19,44	46,79
5	4-Terpinol	20,29	0,21
6	B-Phenyl formate	20,64	0,18
7	a-Citronellol	21,81	18,47
8	Cis-Geraniol	21,92	3,85
9	Geraniol	22,06	0,02
10	B-Phenylethyl acetate	22,83	0,47
11	E-Citral	23,53	0,34
12	Citronellyl acetate	24,66	0,38
13	Lavandulyl acetate	25,5	0,5
14	Eugenol	26,18	2,94
15	Methyleugenol	26,73	2,82
16	a-Humulene	27,7	0,33
17	Germacrene-D	28,4	0,4
18	n-Heptadecane	32,2	0,9
19	Z-5-Nonadecane	37,43	1,25
20	Nonadecane	38,04	2,69

3.2 Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

3.2.1 Nar Atığı Ekstraktlarının Disk Difüzyon Testi Sonuçları

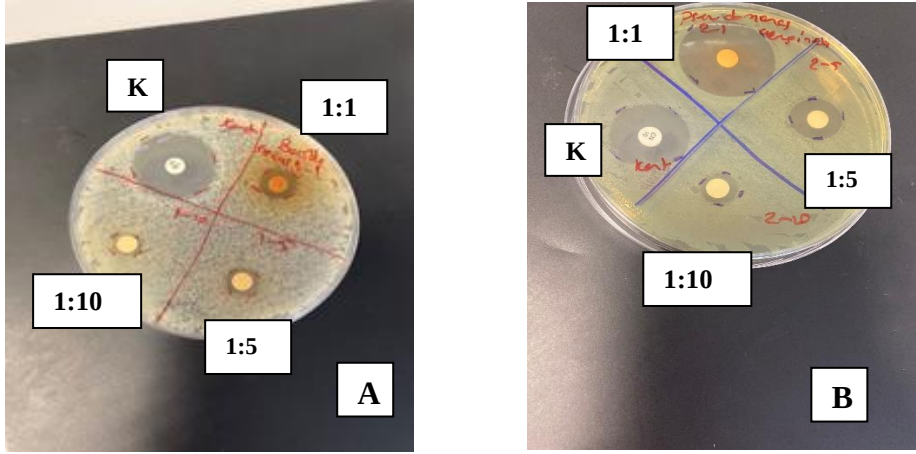
Tez çalışması kapsamında öncelikle ekstraksiyon optimizasyonu amacıyla 4 farklı çözücü kombinasyonu ile nar atığı ekstraktları hazırlanmıştır. Elde edilen ekstraktların kendisi, 1:5 ve 1:10 seyreltilmiş hallerinin antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 3.4’te verilmiştir. Buna göre A, B ve C ekstraktlarının tümünün seçilen patojen bakteriler (*L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* O157:H7 ve *C. sakazakii*) üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği ortaya konmuştur. Örneklerin patojen bakteriler üzerinde gösterdiği antimikrobiyal aktivite değişiklik göstermekle birlikte tüm patojenler üzerindeki en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi metanol-asit-su karışımı ile hazırlanan B ekstraktı göstermiştir. Etkinlik açısından B ekstraktını etanol-asit-su ile hazırlanan C ekstraktı izlemiştir. Su ile hazırlanan D ekstraktının antimikrobiyal aktivitesinin ise

düşük olduğu, *E. coli* O157:H7, *B. cereus* ve *S. aureus* dışındaki diğer patojenler üzerinde antimikrobiyal etki göstermediği belirlenmiştir. B ve C ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçlarının yüksek olması, bu durumun çözücülerde bulunan asit etkisinden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle ÇAI ve antibiyofilm analizlerinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olan B ekstraktı ve asit içermeyen metanol-su ile hazırlanan A ekstraktı kullanılmıştır.

Tablo 3.4. Nar atığı ekstraktlarına ait antimikrobiyel aktivite sonuçları (mm)

Patojen	Seyreltme oranı	A	B	C	D
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1:1	14,2	37,5	33,4	-
	1:5	10	20,2	17,5	-
	1:10	-	16,1	12,8	-
	PK	25,4	25,2	24,6	24,2
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	1:1	13	36,6	27	10
	1:5	10,5	21	13,5	-
	1:10	8,2	18,4	10	-
	PK	28,4	28,5	27,2	27,2
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	1:1	12,6	35,2	26	9,1
	1:5	7,2	22,3	11,5	-
	1:10	5,1	16	8,2	-
	PK	26,5	28,4	28,2	26,1
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1:1	21,1	37,1	30	12,4
	1:5	13	23,5	18,4	7
	1:10	10,2	16,1	12,8	-
	PK	27,2	28	26,4	27,6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1:1	10,5	26,1	23,2	-
	1:5	-	17,5	14,2	-
	1:10	-	10	9,3	-
	PK	26,5	22,4	22,2	21,5
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43888	1:1	21,2	24	18,2	14,9
	1:5	18	15	13,6	10
	1:10	14,2	11,1	9,1	-
	PK	29,9	26,2	27,4	29,4
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43889	1:1	23	24	17	13,8
	1:5	19,6	14,5	13,5	10
	1:10	12,6	11	8,1	-
	PK	29,4	25,1	28	29
<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	1:1	17,8	30	22,4	-
	1:5	12	17	12	-
	1:10	-	10	9,2	-
	PK	25,2	27	25,3	26,1

(A:metanol+su ekstraktı, B:metanol+HCl+su ekstraktı, C:etanol+HCl+su ekstraktı, D:su ekstraktı, NK:steril saf su, PK:kanamisin)



Fotoğraf 3.1. A ve B ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite görüntüsü
(A: A ekstraktının *B. cereus* ATCC 10876 suşu üzerindeki antimikrobiyal etkisi, B: B ekstraktının *P. aeruginosa* ATCC 275853 suşu üzerindeki antimikrobiyal etkisi, K:Kanamycin antibiyotığının antimikrobiyal aktivitesi)

3.2.2 Gül Yağı ve Gül Absolütünün Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Bu tez çalışması kapsamında gül yağı ve gül absolütü örneklerinin seçilen patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivitesine ilişkin sonuçlar Tablo 3.5'te verilmiştir. Tablo incelendiğinde hem gül yağının hem de gül absolütünün seçilen tüm patojenler üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmektedir.

Gül yağında en yüksek etki 35,6 mm zon çapı ile *B. cereus* ATCC 11778 üzerinde tespit edilmiştir. Gül yağının 1:10'luk konsantrasyonunun yalnızca *P. aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde etkisi olmadığı, 1:1, 1:5 ve 1:10'luk konsantrasyonlarının ise diğer tüm patojenler üzerinde etkisi olduğu görülmektedir.

Gül absolütü örneğinin antimikrobiyal aktivite sonuçları incelendiğinde en yüksek etki 33,2 mm zon çapı ile *C. sakazakii* ATCC 29544 üzerinde tespit edilmiştir. En düşük antimikrobiyal etkinin 19,6 mm ile *L. monocytogenes* ATCC 13932 üzerinde olduğu belirlenmiştir. Gül absolütünün yalnızca 1:10'luk konsantrasyonu *L. monocytogenes* ATCC 13932 üzerinde antimikrobiyal etki göstermemiş; diğer tüm konsantrasyonlar tüm patojenler üzerinde etkili olmuştur.

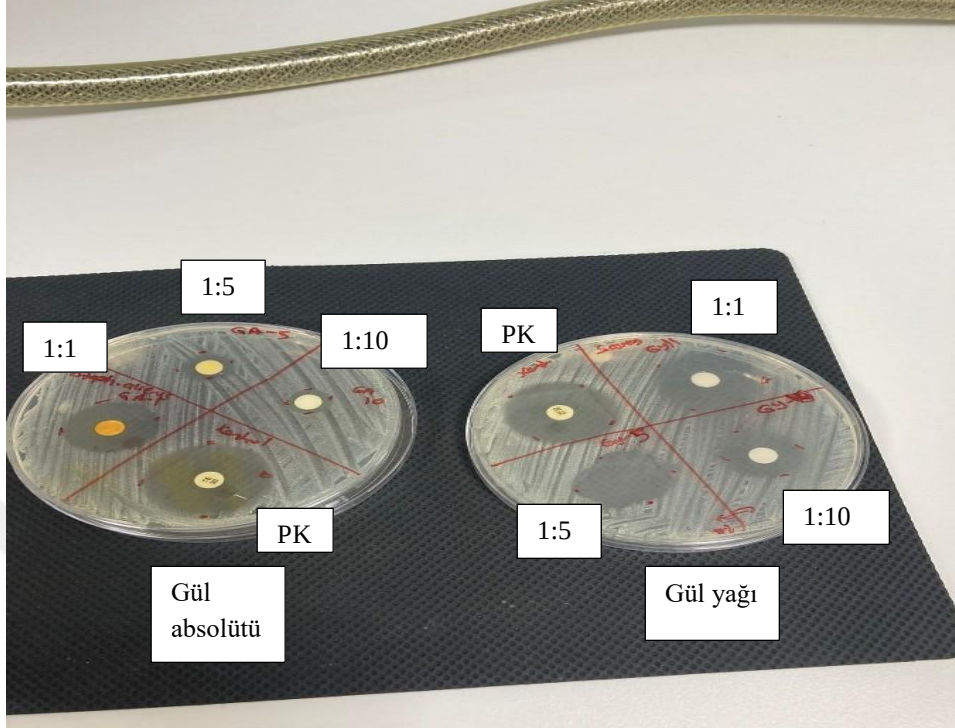
Tablo 3.5. Gül yağı ve gül absolütünün antimikrobiyal etki sonuçları (mm)

Patojen	Seyreltme oranı	Gül Yağı	Gül Absolütü
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1:1	34,2	19,6
	1:5	23,5	11
	1:10	18,1	-
	PK	27,2	25,8
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	1:1	32,2	24,1
	1:5	25,8	15
	1:10	18,2	9,2
	PK	27,5	20,3
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	1:1	35,6	21
	1:5	23	14,4
	1:10	18,2	9
	PK	30,4	31,6
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1:1	28,7	24,1
	1:5	19,1	12
	1:10	15	10,2
	PK	25,2	26,4
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1:1	15	33
	1:5	7,1	12,8
	1:10	-	7
	PK	13,4	13,1
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43888	1:1	20,1	25,2
	1:5	13,8	13,9
	1:10	7	9,2
	PK	24,2	21
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43889	1:1	18,8	29,2
	1:5	14,2	14,2
	1:10	12,5	10
	PK	26	24,5
<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	1:1	19,4	33,2
	1:5	15,6	22,6
	1:10	11	10,2
	PK	19,6	17,4

(PK: Tetrasiklin)

Analizlerde pozitif kontrol olarak tetrasiklin antibiyotiği kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak kullanılan dimetilsülfoksitin *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 üzerinde 7 mm, *E. coli* O157:H7 ATCC 43889 üzerinde ise 7,1 mm inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiş, diğer patojen bakteriler üzerinde herhangi bir inhibisyon gözlemlenmemiştir. Sonuçlar verilirken negatif kontrole ait sonuçlar örneklere ait sonuçlardan çıkarılarak verilmiştir.

Gül yağı ve gül absölütü örneklerinin *S. aureus* ATCC 25923 suşu üzerindeki inhibisyon etkisi Fotoğraf 3.2’te görölmektedir.



Fotoğraf 3.2. Gül absölütü ve gül yağı örneklerinin *S. aureus* ATCC 25923 suşu üzerindeki antimikrobiyal etkisi

3.2.3 Elajik Asit ve Punikalajinin Antimikrobiyal Aktivite

Sonuçları

Elajik asit ve punikalajin örneklerinin antimikrobiyal aktivite analizleri antibiyofilm analizlerinde de kullanılan *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* bakterileri ile gerçekleştirilmiştir. Elajik asit ve punikalajinin patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivitesine ait değerler Tablo 3.6’da verilmiştir. Elajik asidin 10 mg/mL konsantrasyonunun *C. sakazakii* dışındaki tüm bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği, en yüksek etkinin *S. aureus* (23,2 mm) üzerinde olduğu belirlenmiştir.

Punikalajinin 2 mg/mL konsantrasyonunun *C. sakazakii* dışındaki tüm bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği, en yüksek etkinin *P. aeruginosa* (13,9 mm) üzerinde olduğu belirlenmiştir. Hem elajik asit hem de punikalajin hazırlanan konsantrasyonlarda *C. sakazakii* üzerinde antimikrobiyal etki göstermemiş olup, MİK analizlerinde daha yüksek konsantrasyonları hazırlanmıştır.

Tablo 3.6. Elajik asit ve punikalajinin antimikrobiyal aktivite sonuçları

	Elajik asit (mg/mL)	Zon çapı (mm)	Punikalajin (mg/mL)	Zon çapı (mm)
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	10	14,5	2	11,2
	5	13,2	1	9,4
	2,5	12,4	0,5	-
	PK	9,4	PK	13,4
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	10	23,2	2	13,5
	5	20,4	1	11,4
	2,5	18	0,5	8,5
	PK	14,2	PK	13
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	10	21,6	2	13,5
	5	18,6	1	13,4
	2,5	14,8	0,5	-
	PK	10,4	PK	9,3
<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	10	-	2	-
	5	-	1	-
	2,5	-	0,5	-
	PK	12,6	PK	11,2

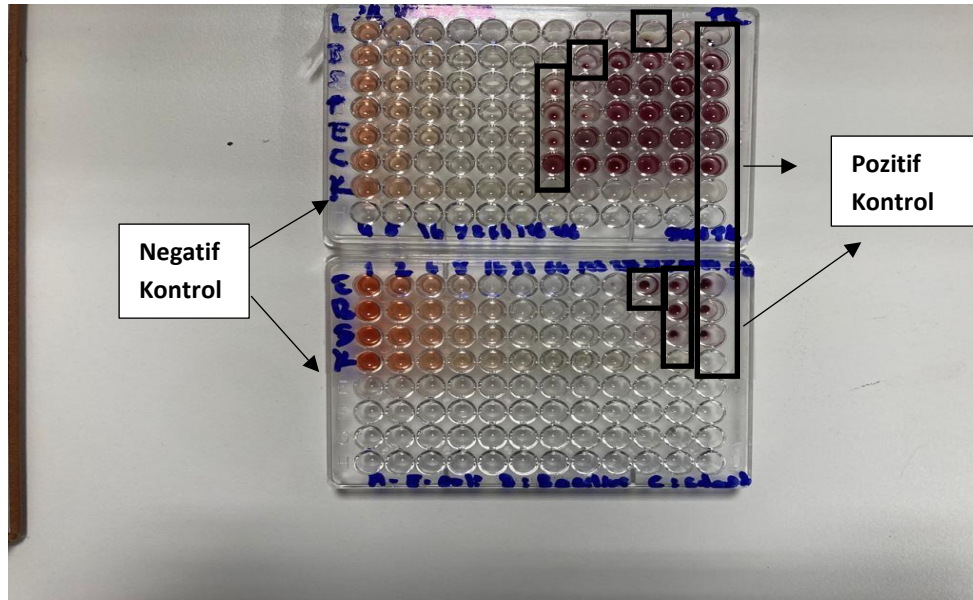
3.2.4 Nar Atığı Ekstratlarının MİK ve MBK Analizi Sonuçları

Bu tez çalışması kapsamında ÇAI ve antibiyofilm aktivitesi araştırılan ve tüm patojen bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkisi tespit edilen A ve B ekstraktlarının MİK ve MBK değerlerine ilişkin sonuçlar Tablo 3.7’de verilmiştir. Sonuçlar hacimce seyreltme oranları şeklinde verilmiştir. Örneklerin patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerleri değişiklik göstermekle birlikte tüm patojenler üzerindeki en düşük MİK ve MBK değerleri B ekstraktında tespit edilmiştir. B ekstraktında en düşük MİK değeri *L. monocytogenes* ATCC 13932 suşu üzerinde belirlenmiş olup 1/1024 olarak bulunmuştur. B ekstraktının MİK değerleri 1/128 ile 1/1024 arasında değişmekte iken; MBK değerlerinin 1/64 ile 1/256 arasında değiştiği bulunmuştur. Sonuçlar *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. sakazakii* ATCC 29544 bakterilerinin B ekstraktına diğer patojenlere göre daha dirençli olduğunu, en duyarlı patojenin ise antimikrobiyal aktivite sonuçlarına paralel şekilde *L. monocytogenes* ATCC 13932 olduğunu göstermiştir. B ekstraktının MİK tespitine ait mikropilaka görüntüsü Fotoğraf 3.3.’te verilmiştir.

Tablo 3.7. Nar atığı ekstraktlarının MİK ve MBK değerleri (v/v)

Örnek	Patojen	MİK (v/v)	MBK (v/v)
A	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1/64	1/32
	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	1/256	1/32
	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	1/256	1/32
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1/128	1/32
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1/4	1/1
	<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	1/8	1/1
	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43888	1/16	1/1
	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43889	1/16	1/4
B	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1/1024	1/128
	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	1/512	1/256
	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	1/256	1/256
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1/512	1/256
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1/128	1/128
	<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	1/128	1/64
	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43888	1/256	1/128
	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43889	1/128	1/64

A ekstraktına karşı tüm patojenler B ekstraktından daha fazla direnç göstermiştir. MİK değerleri 1/4 ile 1/256 arasında değişmekte iken; MBK 1/1 ile 1/32 değerleri arasında bulunmuştur.



Fotoğraf 3.3. B ekstraktının MİK tespitine ait mikroparka görüntüsü

(Plakaların sol bölümünde yer alan harfler ise MİK değeri araştırılan bakterilerin baş harfleridir. L: *L. monocytogenes*, B: *B. cereus*, S: *S. aureus*, P: *P. aeruginosa*, E: *E. coli*, C: *C. sakazakii*, K harfiyle belirtilen kuyucuklar yalnızca örneklerin bulunduğu negatif kontrole ait kuyucuklardır. Pozitif kontrol olarak belirtilen kuyucuklar örnek bulunmayan yalnızca kültür bulunan kuyucuklardır.)

C. sakazakii ATCC 29544, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 suşları A ekstraktına daha dirençli olup, yalnızca ekstraktların kendisi ile yapılan analizlerde patojenlerin %99,9'luk kısmı inhibe edilmiştir. Ekstrakta en duyarlı bakteriler ise *B. cereus* ATCC 10876 ve *B. cereus* ATCC 11778 olmuştur.

3.2.5 Gül Yağı ve Gül Absolütünün MİK ve MBK Analizi

Sonuçları

Gül yağı ve gül absolütünün MİK ve MBK analizi sonuçları Tablo 3.8'de verilmiştir. Örneklerin patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerleri değişiklik göstermektedir. Gül yağında en düşük MİK değerleri *S. aureus*, *C. sakazakii*, *B. cereus* ve *E. coli* O157:H7 bakterileri üzerinde belirlenmiş olup 1/32 olarak bulunmuştur. Gül yağının MİK değerleri 1/8 ile 1/32 arasında değişmekte iken; MBK değerlerinin 1/1 ile 1/16 arasında değiştiği bulunmuştur. Sonuçlar *P. aeruginosa* ATCC 13932 bakterisinin gül yağına diğer patojenlere göre daha dirençli olduğunu, örneğin sadece kendisinin bakteri popülasyonunun %99.9'unu yok ettiğini göstermiştir.

Tablo 3.8. Gül yağı ve gül absolütünün MİK ve MBK değerleri (v/v)

Örnek	Patojen	MİK (v/v)	MBK (v/v)
Gül Yağı	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1/16	1/4
	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	1/32	1/16
	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	1/32	1/16
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1/32	1/4
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1/8	1/1
	<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	1/32	1/16
	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43888	1/32	1/16
	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43889	1/32	1/16
Gül absolütü	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1/16	1/8
	<i>B. cereus</i> ATCC 10876	1/32	1/16
	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	1/32	1/16
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1/16	1/8
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1/32	1/16
	<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	1/32	1/16
	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43888	1/32	1/16
	<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43889	1/32	1/16

Gül absolütünde en düşük MİK değerleri *L. monocytogenes* ve *S. aureus* hariç tüm bakteriler üzerindeki MİK değeri 1/32 olarak bulunmuştur. Diğer iki bakteri için MİK değeri 1/16 olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde *L.*

monocytogenes ve *S. aureus* için MBK değerinin aynı olduğu (1/8), diğer bakterilerin MBK değerlerinin ise 1/16 olduğu belirlenmiştir.

3.2.6 Elajik Asit ve Punikalajinin MİK ve MBK Analizi Sonuçları

Elajik asit ve punikalajinin patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK sonuçları Tablo 3.9.'da verilmiştir. Sonuçlara göre elajik asidin MİK değerleri 2-20 mg/mL arasında değişirken; punikalajinin MİK değerleri 0,5-8 mg/mL arasında bulunmuştur. Hem elajik asidin hem de punikalajinin MİK değerinin en yüksek olduğu patojen *C. sakazakii* ATCC 29544 olmuştur.

Tablo 3.9. Elajik asit ve punikalajinin MİK ve MBK değerleri (mg/mL)

Örnek	Patojen	MİK (mg/mL)	MBK (mg/mL)
Elajik asit	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1	4
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,5	1
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2	4
	<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	8	16
Punikalajin	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1	4
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,5	1
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2	4
	<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	8	16

3.3 Antibiyofilm Aktivite Analizi Sonuçları

3.3.1 Biyofilm Oluşturma Analizi Sonuçları

Tez çalışmasında gerçekleştirilen antibiyofilm analizlerinde ilk olarak antimikrobiyal aktivite analizlerinde kullanılan 8 adet patojen bakterinin biyofilm oluşturma kapasiteleri araştırılmıştır. Analizler sonucunda elde edilen OD değerleri aralığı ve ortalama OD değerlerine ilişkin sonuçlar Tablo 3.10'da verilmiştir. Sonuçlar bakterilerin oluşturduğu biyofilme ait OD değerlerinden negatif kontrol olan besiyerinin oluşturduğu bulanıklık çıkarıldıktan sonra elde edilen OD değerleridir. Suşların biyofilm oluşturma kapasiteleri;

- ❖ OD kontrol > OD test grubu (biyofilm oluşturmayan),
- ❖ OD kontrol < OD test grubu < 2*OD kontrol (zayıf biyofilm),
- ❖ 2*OD kontrol < OD test grubu < 4*OD kontrol (orta dereceli biyofilm),
- ❖ 4*OD kontrol < OD test grubu (güçlü biyofilm) formülüne göre değerlendirilmiştir (Kıran vd., 2021).

Patojen bakterilerden biyofilm oluşturma kapasitesi en yüksek olan bakterilerin sırasıyla *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* olduğu tespit edilmiştir. *E. coli* O157:H7 ve *B. cereus* bakterilerine ait 2’şer farklı suşun biyofilm oluşturma kapasitelerinin düşük olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, 96 kuyucuklu mikrolakada gerçekleştirilen antibiyofilm analizlerinde Gram (+) bakterilerden *L. monocytogenes* ve *S. aureus*’un Gram (-) bakterilerden ise *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii* bakterilerinin kullanımının uygun olacağı değerlendirilmiştir.

Tablo 3.10. Örneklerin patojen bakterilerin biyofilm oluşturma kapasitelerini gösteren tablo

Patojen	Elde Edilen OD Aralığı	Ortalama OD Değeri
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	1,51-2,23	1,77
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	0,24-0,58	0,39
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	0,25-0,61	0,38
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1,33-3,07	2,06
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1,44-2,43	1,86
<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544	1,03-1,49	1,38
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43888	0,21-0,42	0,31
<i>E. coli</i> O157:H7 ATCC 43889	0,20-0,46	0,34

3.3.2 rneklerin Polistren Tabanlı 96 Kuyucuklu Mikrolakada Biyofilm Oluşumunu nleme Kapasitelerinin Araştırılması

Tez çalışmasında kullanılan örneklerin polistren yüzeylerde biyofilm oluşumunu nleme analizi biyofilm oluşturma kapasiteleri en yüksek olan 4 bakteri ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar (Tablo 3.11) farklı örneklerin farklı bakteriler üzerinde en yüksek inhibisyon etkisini gösterdiğini ortaya koymuştur. *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii* bakterilerinin biyofilm oluşumunu nleme etkilerinin araştırıldığı mikrolaka görüntüsü Fotoğraf 3.4’te sunulmuştur.

Gl absolütü, *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* bakterileri üzerinde en yüksek inhibisyon etkisini gösterirken, *C. sakazakii* zerindeki antibiyofilm etkisinin istatistiksel olarak diğer örneklerden farklı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). *L. monocytogenes* zerinde B ekstraktı, elajik asit ve punikalajinin biyofilm oluşumunu nleme özellikleri arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Gül yağı, *P. aeruginosa* zerinde diğer örneklerden daha etkili ($p<0,05$)

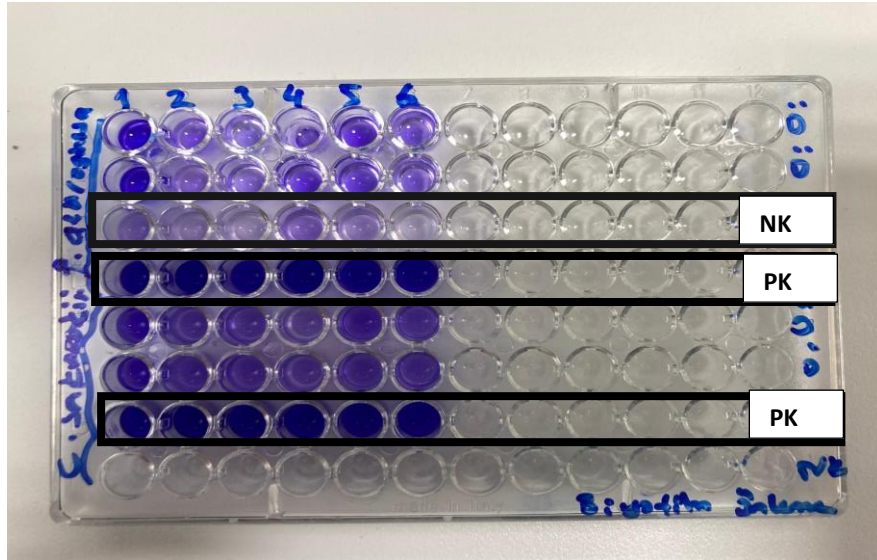
olmuştur. *S. aureus* üzerindeki en yüksek inhibisyon etkisini ise punikalajin göstermiştir. Ancak *S. aureus* üzerinde punikalajin ile A ekstraktı, B, ekstraktı ve elajik asit arasındaki farklılıkların önemli olmadığı bulunmuştur ($p<0,05$). B ekstraktının *S. aureus* dışındaki tüm bakteriler üzerindeki antibiyofilm etkisinin A ekstraktına göre önemli ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 3.11. 96 kuyucuklu mikropalakada biyofilm oluşumunun önlenmesi (%)

Örnek adı	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932 (%)	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 (%)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 (%)	<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544 (%)
A ekstraktı	65,83±3,77 ^a	74,23±2,72 ^a	40,63±2,42 ^a	39,58±4,92 ^a
B ekstraktı	72,77±1,60 ^{b,c}	76,00±3,26 ^a	67,83±6,15 ^b	66,53±4,29 ^b
Gül yağı	78,24±4,61 ^{c,d}	63,33±6,38 ^c	80,52±1,65 ^c	69,28±4,46 ^b
Gül absölütü	82,18±2,60 ^d	50,71±4,14 ^d	67,12±3,63 ^b	88,33±3,84 ^c
Elajik asit	76,38±3,84 ^{b,d}	70,47±2,43 ^{a,c}	62,42±3,48 ^b	68,82±2,64 ^b
Punikalajin	73,59±2,43 ^b	77,76±1,09 ^a	75,43±1,45 ^c	65,22±2,47 ^b

^{a,b,c} Aynı sütünde yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir. ($p<0,05$)

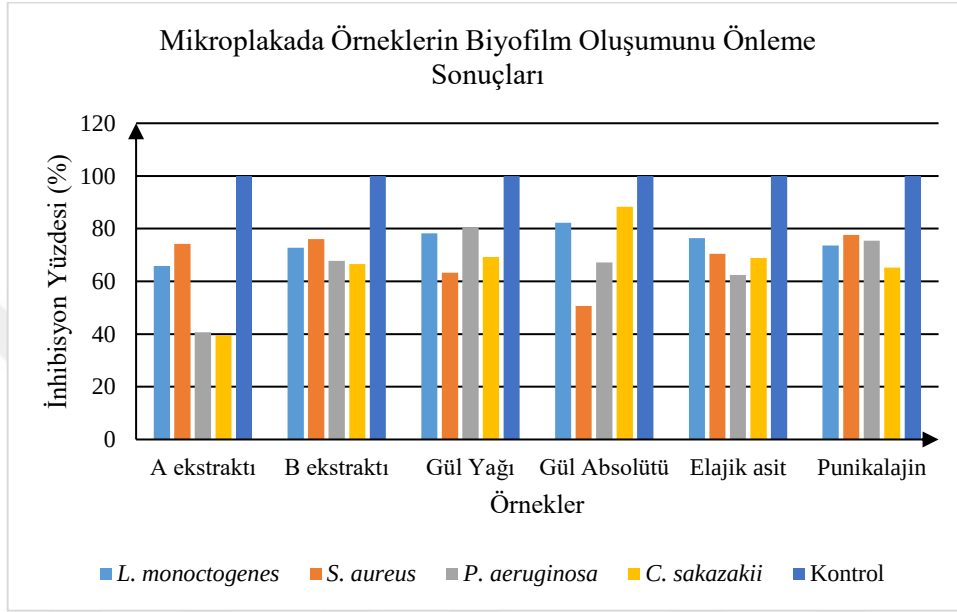
Sonuçlara göre A ekstraktının *P. aeruginosa* (%40,63) ve *C. sakazakii* (%39,58) üzerindeki inhibisyon etkileri dışında tüm örneklerin biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri %50'nin üzerinde bulunmuştur.



Fotoğraf 3.4. Örneklerin biyofilm oluşumunu önleme etkilerini gösteren mikropalaka görüntüsü

(1: A ekstraktı, 2: B ekstraktı, 3: Gül yağı, 4: Gül absölütü, 5: Elajik asit, 6: Punikalajin, Ö: Örnek, NK: Negatif kontrol, PK: Pozitif kontrol)

Şekil 3.1.'de kontrol olarak belirtilen 100 değeri örnek uygulanmamış kontrolün ürettiği biyofilmlerin tamamının inhibe olduğu değerdir. Şekil incelendiğinde inhibisyon yüzdeleri değişken olsa da B ekstraktı ve punikalajin örneklerinin tüm patojen bakteriler üzerinde diğer örneklerle göre dengeli bir antibiyofilm etkisi gösterdiği görülmüştür.



Şekil 3.1. Örneklerin mikropalakada biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri (%)

Nar atığı ekstraktlarının analizlerinde çözücülerin (metanol-asit-su ve metanol-su) sonuca etkisi olup olmadığının tespiti için ekstraksiyon sırasında örneklerle aynı işlemlere tabi tutulan çözücü karışımları da negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Çözücü karışımlarının biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri Tablo 3.12'de verilmiş olup, A ve B ekstraktlarının Tablo 3.11. ve Şekil 3.1 verilen antibiyofilm sonuçları bu yüzdeler çıkarılarak verilmiştir.

Tablo 3.12. Çözücü karışımlarının mikropalakada biyofilm oluşumunu önleme sonuçları (%)

Patojen	Metanol-su çözücüsü inhibisyon değeri (%)	Metanol-asit-su çözücüsü inhibisyon değeri (%)
<i>L. monocytogenes</i>	4,20±0,26	4,84±1,44
<i>S. aureus</i>	4,05±0,27	4,52±0,62
<i>P. aeruginosa</i>	2,91±1,21	6,37±1,35
<i>C. sakazakii</i>	5,05±1,66	9,47±1,23

Sonuçlara göre metanol-su çözücüsünün biyofilm oluşumunu önleme etkisi %2,91-5,05 arasında değişmekte olduğu belirlenmiştir. Metanol-asit-su çözücüsünün biyofilm oluşumunu önleme etkisi ise %4,84-9,47 arasında bulunmuştur. *C. sakazakii* (%6,37) ve *P. aeruginosa* (%9,47) biyofilmlerinin oluşumunu inhibe etme özelliğinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Çözücülerin seçilen patojenlerde biyofilm oluşumunu önleme etkilerinin çoğunlukla %5'i geçmediği ve tüm sonuçlara bakıldığında %10'un altında olduğu tespit edilmiştir.

3.3.3 Örneklerin Polistren Tabanlı 96 Kuyucuklu Mikroplakada Oluşan Biyofilmleri Giderme Kapasitelerinin Araştırılması

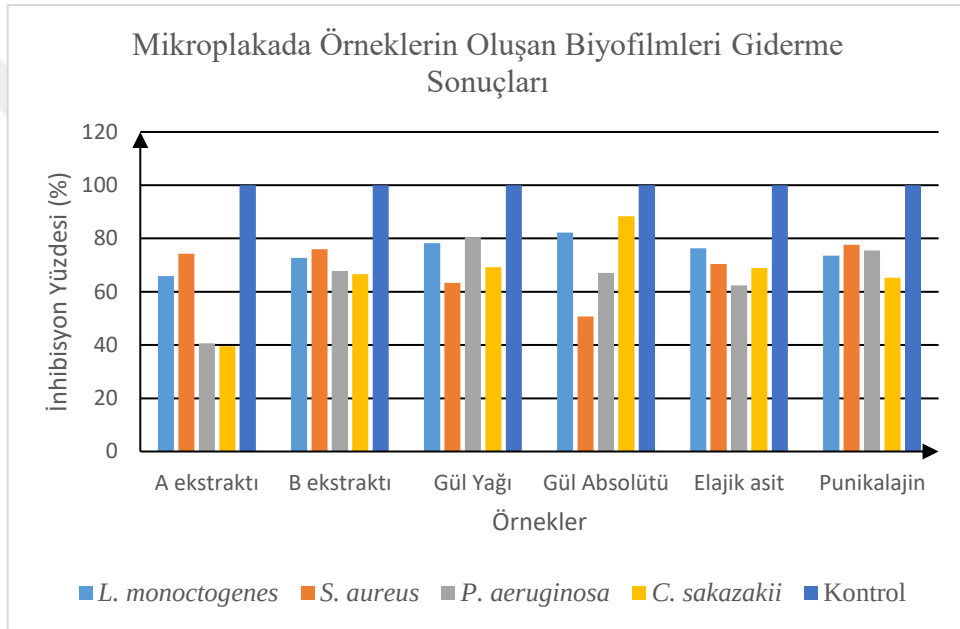
Örneklerin polistren tabanlı 96 kuyucuklu mikroplakada oluşan biyofilmleri giderme analizine ait sonuçlar Tablo 3.13'te sunulmuş olup sonuçlar %25,61-53,45 arasında değişmektedir. Tüm örneklerin patojen bakterilerin biyofilm oluşumunu giderme yüzdeleri oluşumunu önleme yüzdelerinden daha düşük çıkmıştır. *L. monocytogenes* üzerindeki en yüksek etkiyi gösteren B ekstraktı (%47,41) ve gül yağı (%46,38) örnekleri arasında istatistiksel açıdan herhangi bir farklılık bulunmadığı belirlenmiştir ($p < 0,05$). *S. aureus* (%50,08) ve *P. aeruginosa* (62,38) üzerindeki en etkili örnek punikalajin olmuştur. *S. aureus*'un biyofilm oluşumunu önleme etkisi açısından punikalajin ve B ekstraktı; elajik asit ve A ekstraktı arasında farklılık olmadığı ortaya konmuştur ($p < 0,05$). *C. sakazakii* üzerinde en yüksek inhibisyon etkisini ise gül absolütü (%64,14) göstermiştir ($p < 0,05$).

Tablo 3.13. Örneklerin 96 kuyucuklu mikroplakada oluşan biyofilmleri giderme yüzdeleri (%)

Örnek adı	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 13932	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>C. sakazakii</i> ATCC 29544
A ekstraktı	39,22±4,52 ^a	34,12±2,00 ^a	21,17±3,94 ^a	28,47±0,81 ^a
B ekstraktı	47,41±2,61 ^{b,c}	47,90±4,02 ^b	22,50±1,23 ^a	41,36±3,44 ^b
Gül yağı	46,38±2,52 ^{b,c}	25,61±3,72 ^c	41,46±3,80 ^b	53,45±2,74 ^c
Gül absolütü	34,60±3,77 ^a	42,46±2,77 ^b	40,41±5,00 ^b	64,14±3,57 ^d
Elajik asit	41,94±2,08 ^{a,c}	37,98±3,19 ^a	54,77±2,59 ^c	55,65±3,31 ^{c,d}
Punikalajin	39,36±1,05 ^a	50,08±3,65 ^b	62,38±3,64 ^c	53,77±1,21 ^c

^{a,b,c} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Şekil 3.2.'de verilen grafikte A ekstraktının patojen bakterilerin oluşturduğu biyofilmleri gidermede saf bileşenler elajik asit ve punikalajine göre daha az etkili olduğu; fakat *L. monocytogenes* ve *S. aureus* için bu etkinin istatistiksel olarak önemi olmadığı bulunmuştur ($p<0,05$). B ekstraktının *P. aeruginosa* dışındaki bakterilerin oluşturduğu biyofilmleri gidermede A ekstraktına göre daha başarılı olduğu ortaya konulmuştur ($p<0,05$). Hem gül yağı hem de gül absolütü örnekleri *C. sakazakii* tarafından oluşturulan biyofilmleri gidermede yüksek etki göstermiştir. Gül absolütünün *C. sakazakii* biyofilmlerini giderme etkisinin elajik asit dışındaki diğer örneklerden önemli ölçüde farklı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 3.2. Örneklerin mikroplakada oluşan biyofilmleri giderme yüzdeleri (%)

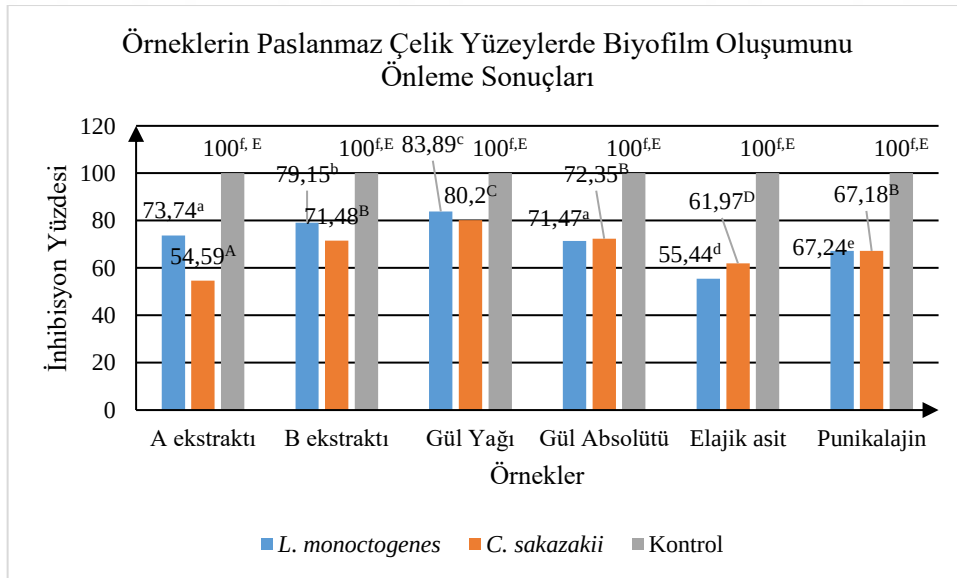
Çizelge 3.14.'te de görülen sonuçlara göre metanol-su çözücüsünün mikroplakada oluşan biyofilmleri giderme etkisi %2,81-6,02 arasında değişmekte iken, metanol-asit-su çözücüsü için bu değerlerin %2,46-6,81 arasında olduğu bulunmuştur. Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin oluşan biyofilmleri giderme yüzdeleri de biyofilmlerin oluşumunu önleme yüzdelerine benzer şekilde örneklerle oranla düşük bulunmuştur. Bu nedenle cam ve paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşumuna çözücülerin etkisi araştırılmamıştır.

Tablo 3.14. Çözücü karışımlarının mikropalakada oluşan biyofilmleri giderme sonuçları

Patojen	Metanol-su çözücüsü inhibisyon değeri (%)	Metanol-asit-su çözücüsü inhibisyon değeri (%)
<i>L. monocytogenes</i>	6,02±0,30	6,81±1,40
<i>S. aureus</i>	3,02±1,40	4,31±0,11
<i>P. aeruginosa</i>	2,81±0,59	2,46±1,47
<i>C. sakazakii</i>	3,32±1,08	4,58±0,47

3.3.4 Örneklerin Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunu Önleme Kapasitelerinin Araştırılması

Paslanmaz çelik yüzeylerde yapılan analizler için 1,2 x 1,2 x 0,1 cm ölçülerde olan 316L paslanmaz çelik plakalar kullanılmıştır. Analizler Gram pozitif bakterilerden *L. monocytogenes* ATCC 13932, Gram negatif bakterilerden ise *C. sakazakii* ATCC 29544 suşları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Paslanmaz çelik yüzeylerde örneklerin biyofilm oluşumunu inhibisyon yüzdeleri Şekil 3.3.'te verilmiştir.



Şekil 3.3. Örneklerin paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri (%)

^{a,b,c} ve ^{A,B,C} Aynı renk sütunlarda yer alan değerler kendi aralarında karşılaştırılmış olup, farklı küçük ve büyük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Şekil 3.3. ve 3.4.'de kontrol olarak belirtilen 100 değerleri kontrol örneğinin ürettiği biyofilm miktarının tümünün inhibe edildiği durumdur.

Paslanmaz çelik yüzeylerde hem *L. monocytogenes* hem de *C. sakazakii* bakterilerinin biyofilm oluşumunu en fazla engelleme kapasitesine sahip örnek gül yağı olmuş ve diğer örneklerden istatistiksel olarak farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Gül yağının her iki patojen üzerinde de %80'in üzerinde biyofilm oluşumunu inhibe ettiği ortaya konulmuştur. B ekstraktı ve gül absolütünün ise her iki bakteri üzerinde de diğer örneklerle oranla daha etkili olduğu görülmüştür. *L. monocytogenes* biyofilm oluşumu üzerinde en az etkili örnek elajik asit (%55,44), *C. sakazakii* biyofilm oluşumu üzerinde en az etkili örnek ise A ekstraktı (%54,59) olmuştur ($p<0,05$).

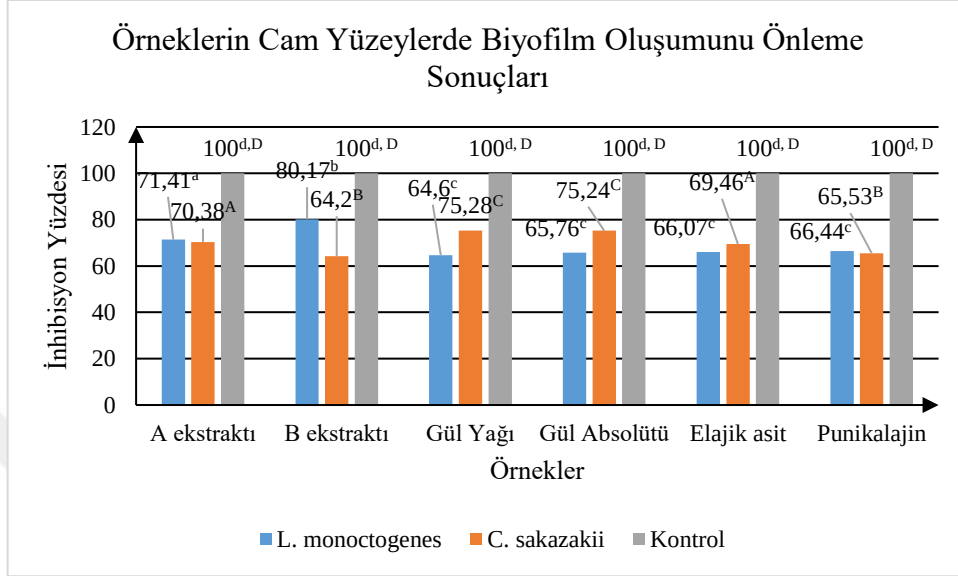
Tüm örnekler her iki bakteri üzerinde de %50'nin üzerinde biyofilm oluşumunu inhibe etmiştir. Paslanmaz çelik yüzeylerde nar atığı ekstraktlarının saf bileşenler olan elajik asit ve punikalajine kıyasla *L. monocytogenes* üzerindeki antibiyofilm etkilerinin yüksek olduğu ortaya konulmuştur. B ekstraktının ise her iki bakteri üzerinde de elajik asit ve punikalajinden etkili olduğu, ancak B ekstraktı ile punikalajin arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($p<0,05$).

3.3.5 Örneklerin Cam Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunu Önleme Kapasitelerinin Araştırılması

Cam yüzeylerde yapılan analizler için 11x100 mm ölçülerde olan yuvarlak tabanlı cam tüpler kullanılmıştır. Analizler Gram pozitif bakterilerden *L. monocytogenes* ATCC 13932, Gram negatif bakterilerden ise *C. sakazakii* ATCC 29544 suşları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Cam yüzeylerde örneklerin biyofilm oluşumunu inhibisyon yüzdeleri Şekil 3.4.'de verilmiştir.

Cam yüzeylerde *L. monocytogenes* üzerinde inhibisyon yüzdesi en fazla olan örnekler sırasıyla B ekstraktı (%80,17) ve A ekstraktı (%71,41) olurken, bu iki örnek arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmadığı ortaya konmuştur ($p<0,05$). Diğer örneklerin inhibisyon oranlarının (%64,6-66,44) birbirine oldukça yakın olduğu ve aralarındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemi olmadığı bulunmuştur ($p<0,05$). *C. sakazakii* üzerinde biyofilm oluşumunu en fazla engelleme kapasitesine sahip örnekler ise sırasıyla gül yağı (%75,28) ve gül absolütü (%75,24) olmuştur. İki örnek arasında antibiyofilm özelliği açısından istatistiksel olarak farklılık bulunmadığı belirlenmiştir ($p<0,05$). *C. sakazakii*

biyofilm oluşumu üzerinde en az etkili örneklerin ise B ekstraktı (%64,2) ve punikalajin (%65,53) olduğu ve aralarında istatistiksel olarak benzerlik olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

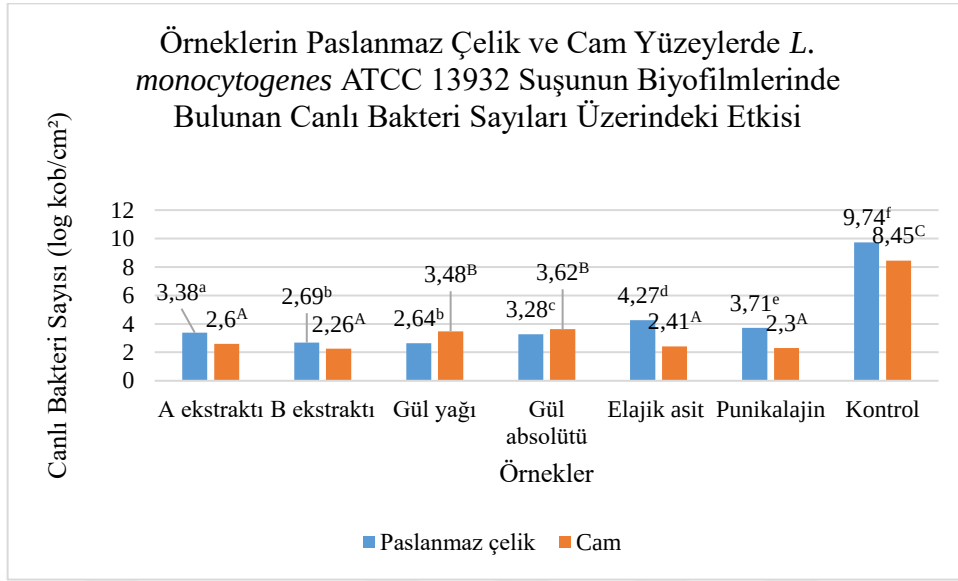


Şekil 3.4. Örneklerin cam yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri ^{a,b,c} ve ^{A,B,C} Aynı renk sütunlarda yer alan değerler kendi aralarında karşılaştırılmış olup, farklı küçük ve büyük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Cam yüzeylerde nar atığı ekstraktlarının *L. monocytogenes* üzerindeki antibiyofilm etkilerinin saf bileşenler olan elajik asit ve punikalajine kıyasla yüksek olduğu ortaya konulmuştur. A ekstraktı her iki bakteri üzerinde de elajik asit ve punikalajinden etkili olmuştur. Genel olarak tüm örneklerin iki bakteri üzerinde de birbirine yakın inhibisyon yüzdelerine sahip olduğu görülmüş ve inhibisyon yüzdesi aralığı %64-81 olarak bulunmuştur.

3.3.6 Paslanmaz Çelik ve Cam Yüzeylerde Biyofilmlerde Bulunan Canlı Hücre Sayısı Sonuçları

Yapılan analizler sonucunda örneklerin paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde oluşan *L. monocytogenes* ATCC 12932 (Şekil 3.5.) ve *C. sakazakii* ATCC 29544 (Şekil 3.6.) biyofilmleri içerisindeki canlı hücre sayılarında azalma sağladığı bulunmuştur ($p<0,05$). Yapılan hesaplamalar sonucunda paslanmaz çelik levhaların yüzey alanının 3,4 cm², cam tüplerin örneğin konulduğu kısma kadar olan yüzey alanının ise 1,9 cm² olduğu hesaplanmıştır. Bulunan canlı bakteri sayıları kullanılan yüzey alanlarına bölünerek sonuçlar log kob/cm² cinsinden verilmiştir.



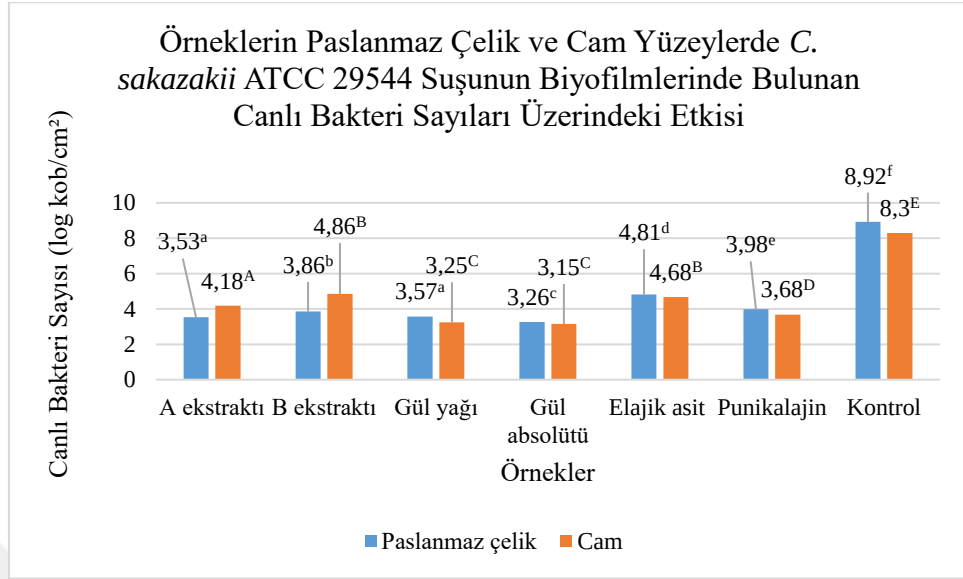
Şekil 3.5. Paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde *L. monocytogenes* ATCC 13932 biyofilmlerinde bulunan canlı bakteri sayıları (log kob/cm²)

^{a,b,c} ve ^{A,B,C} Aynı renk sütünlarda yer alan değerler kendi aralarında karşılaştırılmış olup, farklı küçük ve büyük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05).

Şekil 3.5.'te görüldüğü üzere örnek uygulanmayan paslanmaz çelik yüzeylerde 9,74 log kob/cm² canlı *L. monocytogenes* hücresi bulunurken, cam yüzeylerde bu değer 8,45 log kob/cm² olmuştur. Paslanmaz çelik yüzeylerde *L. monocytogenes* canlı hücrelerinde en fazla azalma (7,1 log kob/cm²) gül yağında olmuştur. İkinci en yüksek etki ise 7 log kob/cm² azalma ile B ekstraktı uygulanan yüzeyde görülmüştür. Bu iki örnek arasında istatistiksel olarak farklılık olmadığı belirlenmiştir (p<0,05). Nar atığı ekstraktları paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilmlerde bulunan *L. monocytogenes* canlı hücrelerinin sayısında elajik asit ve punikalajinden daha fazla azalma sağlamıştır (p<0,05). Elajik asit (5,5 log kob/cm²) en az etkiye sahip örnek olmuştur (p<0,05).

Cam yüzeylerde bakteri sayısında en çok azalmaya neden olan örnekler sırasıyla B ekstraktı (6,2 log kob/cm²) ve punikalajin (6,1 log kob/cm²) olmuş, onları elajik asit (6 log kob/cm²) ve A ekstraktı (5,9 log kob/cm²) izlemiştir. Bu dört örnek arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı bulunmuştur (p<0,05). Gül absölütü cam yüzeylerde *L. monocytogenes* biyofilmleri içerisindeki canlı hücre sayısı inaktivasyonunda en az etkiye sahip (4,8 log kob/cm²) örnek olmuştur. Buna rağmen biyofilm tabakasında bulunan canlı bakteri sayısının

yarısından fazlasını inaktive etmiştir. Gül yağı ve gül absolütü örnekleri arasında istatistiksel olarak farklılık tespit edilmemiştir ($p<0,05$).



Şekil 3.6. Paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde *C. sakazakii* ATCC 29544 biyofilmlerinde bulunan canlı bakteri sayıları

^{a,b,c} ve ^{A,B,C} Aynı renk sütünlarda yer alan değerler kendi aralarında karşılaştırılmış olup, farklı küçük ve büyük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Şekil 3.6.'da görüldüğü üzere örnek uygulanmayan paslanmaz çelik yüzeylerde 8,92 log kob/cm² canlı *C. sakazakii* hücreleri bulunurken, cam yüzeylerde bu değer 8,3 log kob/cm² olmuştur. Paslanmaz çelik yüzeyde *C. sakazakii* ATCC 29544 biyofilmlerinde bulunan canlı bakteri sayısında en fazla azalma sırasıyla 5,6, 5,4 ve 5,4 log kob/cm² ile gül absolütü ($p<0,05$), A ekstraktı ve gül yağı kullanılan levhalarda olmuştur. A ekstraktı ve gül yağı uygulanan levhalarda kalan canlı bakteri sayılarındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur ($p<0,05$). En az azalma ise 4,1 log kob/cm² değeri ile elajik asit kullanılan levhada olmuştur ($p<0,05$). Nar atığı ekstraktlarının canlı hücreleri inaktivasyon etkisi elajik asit ve punikalajinden yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

Cam yüzeyde *C. sakazakii* ATCC 29544 biyofilmlerindeki canlı bakteri sayılarında en fazla azalma sırasıyla 5,2 ve 5,1 log kob/cm² ile gül absolütü ve gül yağı ile sağlanmıştır. İki örneğin canlı bakterilerin sayısı üzerine etkisinin istatistiksel açıdan önemli olmadığı bulunmuştur ($p<0,05$). B ekstraktı ve elajik asit örnekleri canlı bakteri sayıları üzerinde diğer örneklerden daha etki göstermiş, istatistiksel aolarak benzer etkiye sahip oldukları bulunmuştur ($p<0,05$).

Tüm örneklerin inaktivasyon aralığı 3,4-5,2 aralığında tespit edilmiştir. Hem *L. monocytogenes* hem de *C. sakazakii* biyofilmlemlerinde cam yüzeylerde bulunan canlı bakteri sayısında paslanmaz çelik yüzeye göre daha az azalma olduğu bulunmuştur. Her iki bakteri de örnek içermeyen paslanmaz çelik yüzeye cam yüzeyden daha iyi tutunmuştur.

3.3.7 Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunun

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Araştırılması

Polistren tabanlı mikropalakalarda ve cam tüplerde oluşan biyofilmler materyaller uygun olmadığından SEM’de görüntülenememiştir. Ancak paslanmaz çelik yüzeylerde örneklerin bakteri üremesi ve biyofilm oluşumu üzerine etkileri farklı oranlarda (x100, x500, x1000 x2500 x5000) büyütülerek SEM’de incelenmiş ve x2500’de elde edilen görüntülere ait fotoğraflar EK-1’de sunulmuştur. Yüzeylerin görüntüleri iki boyutlu olarak alınmış olup, bakterilerin kümелendiği siyah alanlar biyofilm oluşan bölgelerdir.

3.4 *P. aeruginosa* ATCC 27583 Suşunda Bazı Virülens Faktörler Üzerindeki Etkisini Gösteren Analiz Sonuçları

3.4.1 Kayma ve Yüzme Testleri Sonuçları

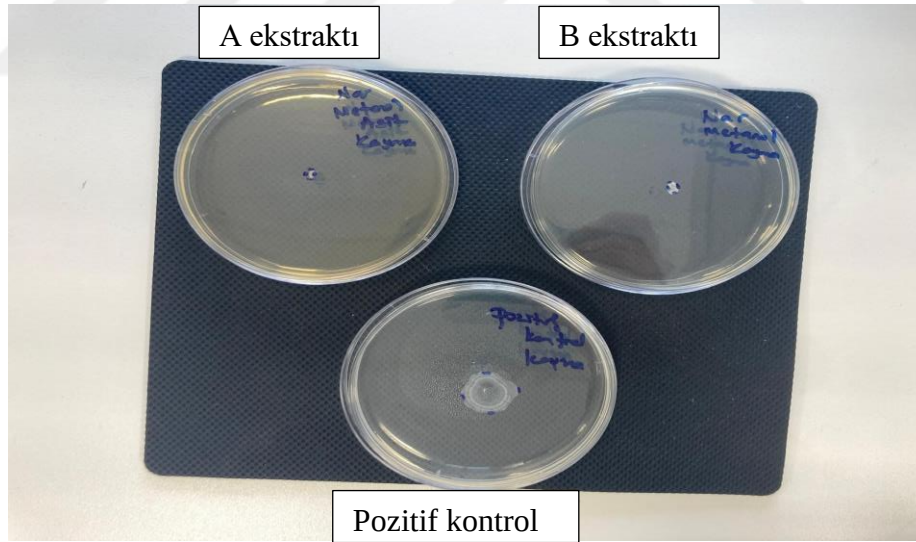
Kayma ve yüzme testlerinde *P. aeruginosa* ATCC 27583 suşunun hareket yeteneğinden faydanılmıştır. Bakterinin örnek içeren ortamda inokülasyon yapılan noktadan uzaklaşma miktarı (mm) ölçülmüş ve örnek içermeyen ortamdaki uzaklaşma miktarına (mm) göre hesaplama yapılarak aradaki fark % inhibisyon değeri cinsinden verilmiştir. Örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27583 suşu üzerindeki kayma ve yüzme testi sonuçları Çizelge 3.15’te verilmiştir. Kayma testi sonuçlarına göre tüm örneklerin kayma hareketi üzerine inhibisyon etkisi %60’ın üstünde olmuştur. En yüksek inhibisyon etkisini %77,10 ile metanol-asit-su ekstraktı, en düşük etkiyi ise %61,01 ile gül yağı göstermiştir. Gül yağı ve elajik asitin kayma hareketi üzerine etkisi arasında istatistiksel açıdan fark olmadığı, benzer şekilde diğer 4 örnek arasındaki farklılığında önemsiz olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Yüzme testi sonuçlarına göre tüm örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27583 suşunun yüzme hareketi üzerine inhibisyon etkisi %37,66-86,11 arasında olmuştur. Kayma testi sonuçlarına benzer şekilde en yüksek inhibisyon etkisini nar metanol-asit-su ekstraktı ($p < 0,05$), en düşük etkiyi ise gül yağı göstermiştir. A ekstraktı,

elajik asit ve punikalajin arasında istatistiksel olarak benzerlik bulunduğu, aynı şekilde gül yağı ve gül absolütü örneklerinin de benzer olduğu bulunmuştur ($p<0,05$).

Tablo 3.15. Örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun kayma ve yüzme hareketi üzerindeki inhibisyon sonuçları

Örnek adı	Kayma hareketi inhibisyonu (%)	Yüzme hareketi inhibisyonu (%)
A ekstraktı	72,89±2,59 ^a	62,50±3,53 ^a
B ekstraktı	77,10±2,59 ^a	86,11±3,47 ^b
Gül yağı	61,05±1,81 ^b	37,66±2,51 ^c
Gül absolütü	69,21±1,11 ^{a,d}	44,16±5,20 ^c
Elajik asit	63,17±3,18 ^{b,d}	61,66±2,88 ^a
Punikalajin	71,84±2,60 ^a	62,95±3,20 ^a

^{a,b,c} Aynı sütünlarda yer alan değerler kendi aralarında karşılaştırılmış olup, farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).



Fotoğraf 3.5. A ve B ekstraktının *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda kayma hareketini engelleme etkisi

3.4.2 Proteaz Testi Sonuçları

Örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu üzerindeki proteaz aktivitesi inhibisyonunu gösteren sonuçlar Tablo 3.16’da verilmiştir. Proteaz testi sonuçlarına göre tüm örneklerin proteaz aktivitesi inhibisyonu %50’in üstünde olmuştur. En

yüksek inhibisyon etkisini %85,60 ile gül yağı ($p<0,05$), en düşük etkiyi ise %52,67 ile elajik asit göstermiştir. Nar metanol-asit-su ekstraktı %57,37 ile proteaz aktivitesini elajik asitten sonra en az azaltan örnek olmuştur. Nar atığı ekstraktları ve punikalajinin proteaz üretimi üzerine etkisi arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmadığı belirlenmiştir ($p<0,05$).

Tablo 3.16. Örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda proteaz inhibisyonu sonuçları

Örnek adı	Proteaz inhibisyonu (%)
A ekstraktı	62,35±2,43 ^a
B ekstraktı	57,61±1,51 ^{a,d}
Gül yağı	85,60±4,56 ^b
Gül absolütü	70,52±2,58 ^c
Elajik asit	52,67±3,42 ^d
Punikalajin	62,22±2,03 ^a

^{a,b,c} Aynı sütünde yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir. ($p<0,05$)

3.4.3 Piyosiyenin Testi Sonuçları

Örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun piyosiyenin pigmenti üretimi üzerine inhibisyon etkisi diğer virülans özelliklere benzer şekilde %inhibisyon olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.17’de sunulmuştur.

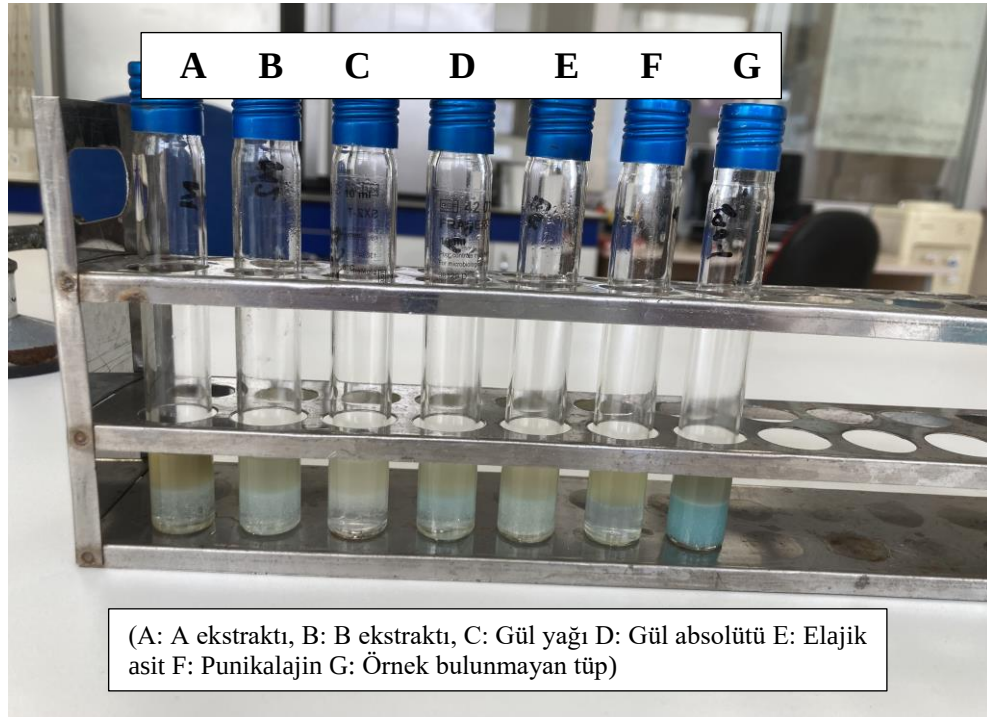
Sonuçlara göre piyosiyenin üretimini en fazla engelleyen örnek %54,68 ile gül yağı olurken, onu %50,54 azalma ile punikalajin izlemiştir. Diğer tüm örneklerin piyosiyenin üretimi inhibisyonu ise %50’in altında kalmıştır. En düşük etkiyi ise %38,39 ile gül absolütü göstermiştir. Nar atığı ekstraktları ve nar kabuğu saf bileşenleri olan elajik asit ve punikalajinin piyosiyenin inhibisyonu üzerine etkileri birbirine oldukça yakın bulunmuştur. Gül absolütü dışındaki diğer örneklerin piyosiyenin üretimi üzerine etkisi arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmadığı ortaya konulmuştur ($p<0,05$).

Tablo 3.17. Örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun piyosiyanin pigmenti üretimi inhibisyonu

Örnek adı	Piyosiyanin inhibisyonu (%)
A ekstraktı	49,08±3,19 ^a
B ekstraktı	46,03±2,90 ^{a,c}
Gül yağı	54,68±1,48 ^{a,d}
Gül absölütü	38,39±2,28 ^b
Elajik asit	48,08±3,50 ^{a,c,d}
Punikalajin	50,54±2,82 ^{a,c,d}

^{a,b,c} Aynı sütünde yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).

Fotoğraf 3.6.'da analiz sonucunda *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun örnek bulunan ve bulunmayan tüplerdeki görüntüsü sunulmuştur. Asit ilavesinden sonra piyosiyanince zengin kısım tüplerin alt kısmında toplanmıştır. Ölçümler yeşil renkteki bu kısımdan alınarak yapılmıştır.



Fotoğraf 3.6. Piyosiyanin analizinde örnek bulunan ve bulunmayan tüplerin asit ilavesi sonrasındaki görüntüsü

3.5 *C. violaceum* ATCC 12472 Suşunda Viyolasin İnhibisyonu

Sonuçları

Viyolasin inhibisyonu disk difüzyon yöntemi ve spektrofotometrik ölçüm yöntemleri kullanılarak iki şekilde belirlenmiştir. İlk olarak örneklerin suşu üzerindeki MİK değerleri belirlenmiş ve MİK değerlerinde hazırlanan örnekler ile analizler gerçekleştirilmiştir. Tüm örneklerin viyolasin üretimini inhibe ettiği disk difüzyon testinde nitel olarak, spektrofotometrik yöntemle ise nicel olarak gösterilmiştir.

3.5.1 Tüm Örneklerin *C. violaceum* ATCC 12472 Suşu Üzerindeki MİK Tayini Sonuçları

Örneklerin *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerindeki MİK değerleri Tablo 3.18.'de verilmiştir. Örneklerin MİK değerleri 2-62,5 mg/mL arasında değişmiş olup, en düşük MİK değeri elajik asit örneğinde, en yüksek MİK değeri ise A ekstraktında bulunmuştur. Gül yağı ve gül absolütü örneklerinin MİK değerleri ise aynı (31,25 mg/mL) olduğu görülmüştür.

Tablo 3.18. Örneklerin *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerindeki MİK değerleri

Örnek adı	MİK değeri (mg/mL)
A ekstraktı	62,5
B ekstraktı	7,8
Gül yağı	31,25
Gül absolütü	31,25
Elajik asit	2
Punikalajin	32

3.5.2 Disk Difüzyon Testi Sonuçları

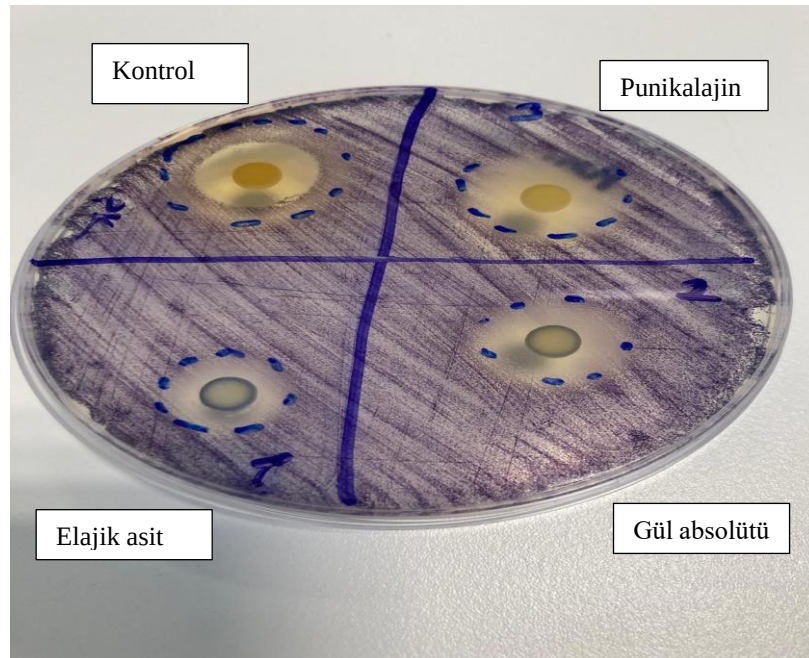
Disk difüzyon yöntemi ile *C. violaceum* ATCC 12472 suşu kullanılarak yapılan analizde oluşan inhibisyon zonu çapları Tablo 3.19'da verilmiştir. Örneklerin tümü MİK değerlerinde viyolasin üretimini baskılamış ve inhibisyon zonu oluşturmuştur. Sonuçlara göre *C. violaceum* ATCC 12472 üzerinde en yüksek ÇAI etkisini B ekstraktı, en düşük ÇAI etkisini ise elajik asit göstermiştir. B ekstraktından sonra en yüksek etkiyi punikalajin göstermiştir. *C. violaceum* ATCC 12472 suşu ile yapılan disk difüzyon testinde disk etrafında oluşan parlak zonlar antimikrobiyal aktiviteyi, opak zonlar ÇAI aktivitesini göstermektedir. Bakteriler

üremeye devam ettikleri halde sayıları yeterli çoğunluğa erişemediğinden viyolasin pigmenti sentezi gerçekleşmemiştir.

Tablo 3.19. *C. violaceum* ATCC 12472 suşu ile yapılan disk difüzyon testi sonuçları

Sıra No	Örnek adı	Zon çapı (mm)
1	A ekstraktı	19,7
2	B ekstraktı	23,4
3	Gül yağı	17
4	Gül absolütü	18,4
5	Elajik asit	16,2
6	Punikalajin	21,1
7	Kontrol	26,2

Fotoğraf 3.7’de sunulan disk difüzyon testi sonucuna ait görüntüde elajik asit, gül absolütü ve punikalajin örneklerinin etrafında oluşan opak zonlar ÇAI etkisini göstermektedir. Kontrol örneğinin etrafında oluşan parlak zon antimikrobiyal aktiviteyi, bu zonunun devamında oluşan opaklık ise ÇAI etkisini göstermektedir.



Fotoğraf 3.7. Elajik asit, gül absolütü ve punikalajin örneklerinin viyolasin inhibisyonu üzerine etkisine ait görüntü

3.5.3 Viyolasin İnhibisyonunun Spektrofotometre ile Analizine

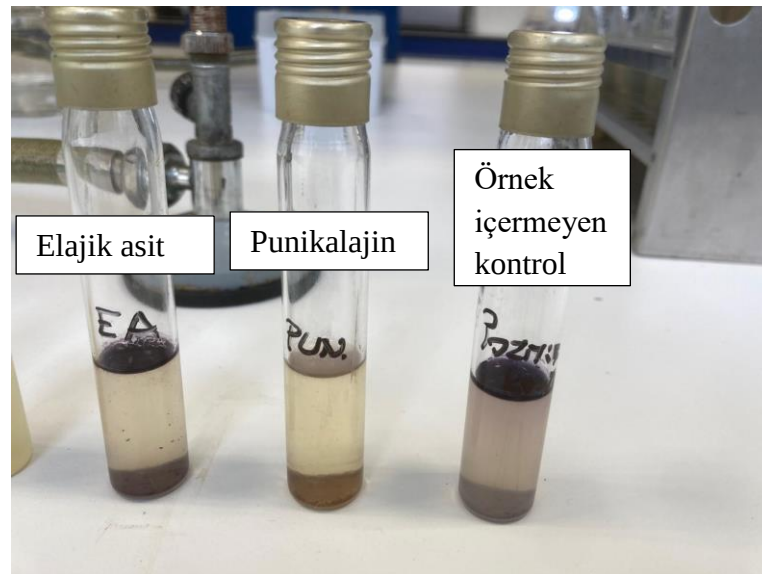
Ait Sonuçlar

Viyolasin pigmentinin üretimindeki azalmanın nicel olarak belirlenebilmesi için spektrofotometrik ölçüm yöntemiyle yapılan analiz sonuçları (%) olarak Tablo 3.20’de verilmiştir. Sonuçlara göre viyolasin pigmenti üretimini en çok azaltan örnek B ekstraktı olmuş ($p<0,05$) ve viyolasin üretimini %68,32 baskılamıştır. Onu %66,82 inhibisyon miktarı ile punikalajin izlemiştir ($p<0,05$). *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerindeki en düşük ÇAI aktivitesini gösteren örnek elajik asit (%35,39) olmuştur. Gül yağı ve gül absolütü örneklerinin ÇAI etkileri arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmadığı ortaya konmuştur ($p<0,05$).

Tablo 3.20. Spektrofotometrik yöntem ile örneklerin viyolasin üretimi üzerine inhibisyon miktarı

Sıra No	Örnek adı	Viyolasin inhibisyonu (%)
1	A ekstraktı	55,25±1,09 ^a
2	B ekstraktı	68,32±1,84 ^b
3	Gül yağı	49,88±1,30 ^c
4	Gül absolütü	49,08±0,84 ^c
5	Elajik asit	35,39±0,80 ^d
6	Punikalajin	66,82±1,83 ^b

^{a,b,c} Aynı sütunda yer alan farklı küçük harfle gösterilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0,05$).



Fotoğraf 3.8. Elajik asit ve punikalajin örneklerinin *C. violaceum* ATCC 12472 suşunda viyolasin üretimini baskıladığını gösteren görüntü.

Şekil 3.8.'de elajik asit ve punikalajin ilave edilen tüplerdeki viyolasin üretimi ile örnek ilavesi olmayan yalnızca *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun ilave edildiği tüpteki viyolasin üretimi gözükmemektedir. Tüpün üst cidarında toplanan mor renkli viyolasin pigmenti üretimi örnek ilavesi olan tüplerde kontrole göre daha az olmuştur.



4. TARTIŞMA

4.1 Örneklerin Bileşen Analizleri Sonuçları

4.1.1 Nar Atığı Ekstraktlarının Bileşen Analizleri Sonuçları

Antibiyofilm ve ÇAI aktivite analizlerinde kullanılan A ve B ekstraktlarından B ekstraktında elajik asit ve punikalajin miktarlarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Ekstraksiyon ortamının asitliği arttıkça hidrolize edilebilir taninlerin çözünürlüğünün de arttığı bildirilmektedir (Ben-Ali vd., 2018). Ayrıca örneklerde bulunan biyolojik aktivite gösteren bileşen miktarı arttıkça antimikrobiyal aktivite de artış gözlemlenmektedir. Çalışmamızda antimikrobiyal aktivite analizlerinde metanol-asit-su ekstraktının tüm patojenler üzerindeki inhibisyon etkisinin daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda metanol-su ekstraktında %3 punikalajin, %4,6 elajik asit, metanol-asit-su ekstraktında %6,5 punikalajin ve %6,2 elajik asit bulunduğu bildirilmiştir (Albayrak, 2018; Kalpar, 2019). Bizim çalışmamızda metanol ekstraktında 39,7 mg/g elajik asit, 6,7 mg/g punikalajin bulunduğu, metanol-asit su ekstraktında ise 42,8 mg/g elajik asit, 24,6 mg/g punikalajin bulunduğu tespit edilmiştir. Nar kabuğu ile yapılan başka bir çalışmada ise ekstraktın 64,98 mg/g punikalajin ve 2,83 mg/g elajik asit içerdiği belirlenmiştir (Singh vd., 2002).

Demir vd., (2019), etanol kullanılarak 78 °C’de 113 dakika ekstrakte edilen nar kabuklarının 168,01 mg/g punikalajin ve 23,53 mg/g elajik asit içerdiğini bulmuştur. Bizim çalışmamızda elde edilen değerlerden yüksek bir sonuç elde edilmiştir. Söz konusu çalışmada narın yalnızca kabuk kısımları kullanılmış, narlar satın alındıktan sonra kabuklar analiz sırasında ayıklanarak kurutulmuştur. Narın kabuk, çekirdek ve meyve tanesi gibi kısımlarının elajik asit ve punikalajin içeriklerinin farklı olduğu, kabukta posadan 10 kat fazla fenolik madde bulunduğu belirtilmektedir (Okumuş vd., 2015). Araştırmamızda nar atığı ekstraktları meyvenin sanayide işlendikten sonra geride kalan posasından hazırlanmıştır. Posada bulunan çekirdek, zar vb. kısımlardan dolayı sonuçlar literatürde belirtilen değerlerden daha düşük çıkmıştır. Ayrıca meyve suyu üretimi sırasında uygulanan işlemlerde de fenolik maddeler de birtakım kayıplar meydana gelebilmektedir.

Literatürde nar ekstraktlarının elajik asit ve punikalajin değerlerine ilişkin farklı veriler bulunmaktadır. Çözücülerin türü, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi,

kullanılan örneğin konsantrasyonu ve çeşidi gibi faktörler bu miktarları etkilemektedir (Singh vd., 2014; Kalpar, 2019). Yapılan çalışmalarda elajik asit ve punikalajin gibi değerli bileşenlerin daha fazla miktarda elde edilebilmesi için ekstraksiyon süresinin arttırılabileceği düşünülmüştür. Çalışmamızda ekstraksiyonda asit kullanımı elde edilen elajik asit ve punikalajin miktarını arttırmıştır. Bunun nedeni çözünürlüğü arttırması, bitki çeperini parçalayarak biyoaktif maddelerin daha yüksek oranda çözücüye geçmesini sağlamasıdır. Ancak son yıllarda yapılan araştırmalarda asit kullanılarak hazırlanan örneklerde çözücüye eklenen asit oranlarının azaltılarak %1, %0,1 ve %0,01 gibi oranlarda kullanımı önerilmektedir. Böylece hem asit kaynaklı olabilecek antimikrobiyal ve antibiyofilm etkiler azaltılmış, hem de asitlerin ekstraksiyonda verim arttırıcı özelliğinden yararlanılmış olacaktır.

Son yıllarda ekstraksiyon yöntemlerinin iyileştirilmesi ve çevre dostu metotların yaygınlaşması için enzim ve ultrason destekli ekstraksiyonlar popülerlik kazanmıştır. Böylelikle asit, alkol gibi kimyasal çözücülerin miktarı azaltılabilmektedir. Ayrıca bu yöntemlerle verim artırılarak ekstraktların fenolik madde miktarının arttırılması amaçlanmaktadır. Bir çalışmada endüstriyel nar suyu üretiminden arta kalan nar kabuğundan enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon ile fenolik madde ve pektin ekstraksiyonu elde edilmesi amaçlanmış ve optimum koşullar belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, enzim ve ultrason ile ön işlem uygulamasının fenolik madde ve pektin verimini artırabileceği tespit edilmiştir. (Kahveci vd., 2022). Tez çalışmamızda ekstraksiyon yapılırken ultrasonikasyon yönteminden faydalanılmış, örnekler ultrasonik su banyosunda tutularak işlem gerçekleştirilmiştir. Doğal temizlik ve dezenfeksiyon formüllerinde kullanılacak örnekler için benzer yenilikçi uygulamalarla ekstraksiyon metotları denenmesinin, ön işlemlerde selüloz, pektinaz gibi enzimlerin kullanımının ve elde edilen ekstraktların antimikrobiyal, antibiyofilm ve ÇAI etkilerinin ölçülmesinin yararlı olacağı, kimyasal kullanımını azaltacağı narın su ekstraktlarının antimikrobiyal etkinliğini arttırabileceği düşünülmektedir.

4.1.2 Gül Yağı ve Gül Absolutünün Bileşen Analizleri Sonuçları

Yapılan analiz sonuçlarında gül yağında 42 farklı uçucu bileşen tespit edildiği, en fazla bulunan bileşenlerin nonadekan, geraniol, sitrionellol, metil öjenol ve nerol olduğu görülmektedir. Gül absolutünde ise 20 farklı uçucu bileşen tespit edilmiş ve

en fazla bulunan bileşenlerin fenil etanol, sitronellol ve geraniol olduğu görülmüştür. Sonuçlar bileşen profili açısından literatürle uyumludur. Yapılan bir çalışmada gül yağında en fazla miktarda bulunan bileşenlerin sitronellol, geraniol, nonadekan ve nerol gibi uçucu bileşenler olduğu bildirilmektedir. Aynı çalışmada gül absolütünde en fazla miktarda bulunan bileşenlerin ise fenil etil alkol, sitronellol, geraniol olduğu bulunmuştur (Eriş vd., 2011).

Bir çalışmada gül yağında %35 sitronellol, %22 nerol, %13 geraniol ve %13 nanodekan olduğu bulunmuştur (Çevikbaş ve Ulusoy, 2023). Çalışmamızda ise gül yağında %10 nanodekan, %8 geraniol, %7 sitronellol, %7 nerol ve %7 metil öjenol bulunduğu tespit edilmiştir. Gül absolütünün bileşen profilinin araştırıldığı bir çalışmada ise örneğin %78 fenil etil alkol, %10 sitronellol, %4 nonadekan ve %4 geraniol içerdiği bulunmuştur (Ulusoy vd., 2009). Çalışmamızda gül absolütünde %48 fenil etil alkol, %18 sitronellol, %4 nonadekan ve %4 geraniol bulunduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon koşulları, analiz metotları ve örneklerin saflık derecesi gibi nedenler örneklerin bileşen miktarlarını etkilemektedir. Ancak yukarıda belirtildiği üzere örneklerimizin bileşen profilleri literatürde belirtilen değerlere uygun bulunmuştur.

Çalışmamızda kullanılan gül yağı örneğinin uçucu bileşen profili gül absolütüne göre daha zengindir. Ayrıca uçucu bileşenlerinin alıkonma süreleri gül absolütünden daha kısa olmuştur. Gül yağı, gül çiçeklerinden ilk olarak damıtma ile elde edilen daha doğal bir maddedir. Bileşen profili bu sebeple gül absolütüne göre daha zengindir. Bu nedenle araştırılan özelliklerinin yüksek olması beklenmektedir. Ancak gül absolütünde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinen bileşen (fenil etil alkol, sitronellol, geraniol) yüzdesinin yaklaşık %70 olması, gül yağının gül absolütüne daha pahalı bir ürün oluşu ve gül absolütünün uçuculuğunun daha az olması gibi sebepler gül absolütüne doğal temizlik formüllerinde kullanım açısından avantaj sağlamaktadır.

4.2 Örneklerin Seçilen Gıda Patojenleri Üzerindeki Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

4.2.1 Nar Atığı Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Nar atığı ekstraktlarının eldesinde öncelikle optimizasyon amacıyla farklı çözücü kombinasyonları kullanılarak 4 farklı ekstrakt (A, B, C, D) hazırlanmıştır.

Elde edilen ekstraktların disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. A, B ve C ekstraktlarının araştırılan tüm patojenler üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği ve en yüksek aktiviteye sahip örneğin metanol-asit-su ile hazırlanan B ekstraktı olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda narın metanol ekstraktlarının Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki antibakteriyel aktivitesinin diğer çözücülere göre daha güçlü olduğu belirtilmiştir (Fawole vd., 2012; Djomeh vd., 2015; Kalpar, 2019). Bunun nedeni olarak metanol ekstraktlarının hidrolize tannin, elajik asit ve gallik asit içeriklerinin yüksek olması gösterilmiştir (Howell ve D'Souza, 2013).

Etanol-asit-su ile hazırlanan C ekstraktı da seçilen patojen bakteriler üzerinde yüksek etki göstermiştir. Bazı çalışmalarda nar kabuklarının etanol ekstraktlarının diğer çözücülere kıyasla gıda patojenleri üzerinde daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Khan ve Hane, 2011; Akarca ve Başpınar, 2019). Asit kullanılarak elde edilen B ve C ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite sonuçlarının asit kullanılmayan A ve D ekstraktlarına göre yüksek olması, bu durumun çözücülerde bulunan asit etkisinden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle daha sonraki yapılan analizlerde patojen bakteriler üzerinde en yüksek antimikrobiyal etkinliği gösteren B ekstraktı ile asit kullanılmadan yalnızca metanol-su ile elde edilen A ekstraktı kullanılmıştır. Böylece asitle yapılan ekstraksiyonlar ile asit kullanılmadan yapılan ekstraksiyonlar arasındaki farkın da gözlemlenmesi amaçlanmıştır.

Yapılan bir çalışmada nar kabukları ve çekirdeklerinden ayrı ayrı elde edilen etanol, metanol ve distile su ekstraktlarının gıda kaynaklı 7 farklı patojen bakteri türüne (*B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *S. Typhmuri*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) karşı antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. Araştırma sonucunda; nar çekirdeğinden elde edilen en yüksek antimikrobiyal etki 29,02 mm zon çapı ile *P. aeruginosa*'a karşı metanol ekstraktında gözlenirken, nar kabuğundan elde edilen ekstraktlarda en yüksek antimikrobiyal etki 26,84 mm zon çapı ile *B. cereus*'a karşı etanol ekstraktında gözlenmiştir (Akarca ve Başpınar, 2019). Bizim çalışmamızda ise metanol-su ekstraktının (A) en yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği bakteri 23 cm ile *E. coli* O157:H7 olurken, ekstraktın *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivite zonu 10,5 mm olarak ölçülmüştür. Akarca ve Başpınar (2019), araştırmada kabuk

ve çekirdeklerden ayrı ayrı ekstraksiyon gerçekleştirmiş, bizim çalışmamızda nar posasından (kabuk, çekirdek ve iç zar) bütün halde ekstraksiyon yapılmıştır. Narın farklı kısımlarının bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkinliği farklılık göstermektedir (Dahham vd., 2010; Karimi vd., 2017). İki çalışmanın farklılık göstermesinin nedeninin de bu olabileceği düşünülmüştür. Ancak genel olarak bakıldığında söz konusu çalışmada metanol ekstraktının hem kabuk hem de çekirdeklerinin seçilen patojenlerin tümüne antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur. Söz konusu çalışmaya benzer şekilde araştırmamızda da metanol kullanılan A ve B ekstraktlarının seçilen tüm patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite gözlemlenmiştir.

Dahham vd., (2010), yaptıkları çalışmada nar kabuğunun metanol ekstraktının *S. aureus*'a karşı inhibisyon zonunun 25 mm olduğunu bulmuştur. Araştırmamızda benzer şekilde A ekstraktının *S. aureus*'a karşı inhibisyon zonu 21,1 mm olarak bulunmuştur.

Hallaç vd., (2022), nar kabuklarından su ile ekstraksiyon yaparak elde ettikleri örneklerin *S. aureus*, *E. coli* ve *B. cereus* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkilerini araştırmıştır. %5 konsantrasyonda hazırlanan su ekstraktının *S. aureus*'a karşı 18 mm, *E. coli*'ye karşı 14, *B. cereus*'a karşı ise 15 mm civarında inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda %5 konsantrasyonda hazırlanan D ekstraktı tüm ekstraktlar içerisinde en düşük antimikrobiyal etkiye sahip olan ekstrakt olarak belirlenmiştir. Ayrıca araştırmamızda su ekstraktının yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde *S. aureus*, *E. coli* ve *B. cereus* suşlarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuş, ekstraktın diğer patojen bakteriler üzerinde ise herhangi bir antimikrobiyal etki göstermediği tespit edilmiştir.

Al-Zoreky (2009), yaptığı çalışmada nar kabuğunun su ve eter ekstraktlarının *L. monocytogenes*, *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmadığını, ancak metanol ekstraktının metisiline dirençli *S. aureus* ve *E. coli* üzerine 16'şar, *L. monocytogenes* üzerine ise 20 mm çapında inhibisyon zonu oluşturduğunu bulmuştur. Ancak çalışmamızda su ile hazırlanan ekstraktın *L. monocytogenes* hariç diğer bakteriler (*S. aureus* ve *E. coli*) üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda metanol ile hazırlanan ekstrakta ait sonuçlar ise söz konusu çalışmada elde edilenlerden yüksek bulunmuştur.

Çalışmamızda metanol-su ekstraktı *S. aureus* ATCC 25923 üzerinde 21,1 mm, *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 üzerinde 21,2 mm ve *E. coli* O157:H7 ATCC 43889 üzerinde ise 23 mm çapında inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Balaban (2018), nar atığı ekstraktlarının *E. coli* ve *E. feacealis* üzerine antimikrobiyal ve antibiyofilm özelliklerini araştırmış ve metanol ekstraktının seyreltilmemiş halinin *E. coli* üzerinde 13 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu bulmuştur. Aynı çalışmada metanol-asit-su ekstraktının seyreltilmemiş halinin 25 mm, 1/5 oranında seyreltilmiş halinin 12 mm ve 1/10 oranında seyreltilmiş halinin ise 10 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu ortaya konulmuştur. Çalışmamızda ise *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 ve 43889 suşları üzerinde metanol-su ekstraktı sırasıyla 21,2 ve 23 mm inhisiyon zonu oluşturmuştur. Metanol-asit-su ekstraktının kendisinin ve seyreltilmiş hallerinin *E. coli* O157:H7 ATCC 43888 ve 43889 suşları üzerinde antimikrobiyal etkisi söz konusu çalışmadaki değerlere oldukça yakın bulunmuştur.

Kalpar (2019), nar atığı ekstraktlarının *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyal ve antibiyofilm özelliklerini araştırmış ve metanol-asit-su ekstraktının *S. aureus* üzerinde en yüksek antimikrobiyal etkiyi gösterdiğini (31 mm) ve metanol-su (21 mm) ve etanol-asit (25 mm) ekstraktlarının da benzer şekilde *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu bulmuştur. Çalışmamızda ise metanol, metanol-asit-su ve ve etanol ekstraktlarının *S. aureus*'a karşı oluşturdukları inhibisyon zonları sırasıyla 21,1, 37,1 ve 30 mm olmuştur.

Nar kabuğu ekstraktının patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal özelliklerinin araştırıldığı güncel bir çalışmada ekstraktın Gram pozitif bakteriler, (*S. aureus* ve *L. monocytogenes*) üzerindeki antimikrobiyal etkisinin Gram negatif bakterilere (*Salmonella bongori*, *E. coli*) oranla yüksek olduğu belirtilmiştir (Salim vd., 2023). Bizim çalışmamızda da söz konusu çalışmaya benzer şekilde Gram pozitif bakterilerin, Gram negatif bakterilere göre ekstraktlara karşı daha duyarlı olduğu olduğu görülmüştür. Bu durumun bakterilerin hücre duvarı yapısından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Gram pozitif bakterilerde tek membranlı glikoprotein-taykoik asit bulunurken, Gram negatiflerde dayanıklılığı arttıran çift membranlı lipopolisakkarit yapı mevcuttur (Djomeh vd., 2015).

4.2.2 Gül Yağı ve Gül Absolütünün Antimikrobiyal Aktivite

Sonuçları

Tez çalışmasında araştırılan gül yağı ve gül absolütü örneklerinin kendileri ve 1/5'lik konsantrasyonları seçilen tüm patojenler üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Gül yağının patojen bakteriler üzerinde oluşturduğu zon çaplarının 15-35,6 mm arasında olduğu görülmüştür. Gül absolütü için ise bu aralık 19,6-33,2 mm olmuştur.

Bir çalışmada Çevikbaş ve Ulusoy (2023), hacimce 1/40 ve 1/5 aralığındaki konsantrasyonlarda hazırladıkları gül yağı örneklerinin hiçbirinin *P. aeruginosa* PA01 suşu üzerinde antimikrobiyal etki göstermediğini belirtmiştir. Çalışmamızda ise gül yağının hacimce 1/10'luk konsantrasyonu *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu üzerinde antimikrobiyal etki göstermezken, 1/5'lik konsantrasyonunun 7,1 mm'lik bir inhibisyon zonu oluşturduğu bulunmuştur.

Başka bir çalışmada gül yağının *E. coli*'ye karşı 5 mm inhibisyon zonu oluştururken *S. aureus*'a karşı ise 3 mm zon oluşturduğu bulunmuştur (Balkan vd., 2016). Bizim çalışmamızda ise gül yağının *E. coli* 0157:H7 suşlarına karşı 18,8-20,1 mm inhibisyon zonu bulunurken, *S. aureus*'a karşı ise bu değer 28,7 mm olmuştur. Çalışmamızda söz konusu çalışmaya kıyasla daha yüksek değerler elde edilmiş; bunun gül yağının damıtma koşulları veya bileşen profilinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Ulusoy vd. (2009), gül yağı ve absolütünün antimikrobiyal etkilerini araştırmış ve örneklerin *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. violaceum*, *E. carotovaro* suşları üstünde güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterdiklerini bulmuştur. Araştırmada gül yağının *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu üzerinde antimikrobiyal etkisi tespit edilememiş; ancak gül absolütünün kendisi 18 mm, 1/5'lik konsantrasyonu ise 14 mm zon oluşturmuştur. Çalışmamızda ise gül yağının kendisi ve 1/5'lik konsantrasyonları *P. aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde sırasıyla 15 mm ve 7,1 mm zon oluştururken, gül absolütünün kendisi ve 1/5'lik konsantrasyonu 33 mm ve 12,8 mm zon oluşturmuştur. Ulusoy vd., (2009), gül yağının kendisi, 1/5 ve 1/10'luk konsantrasyonlarının *S. aureus* üzerinde ise 25 mm'den fazla zon oluşturduğunu belirtmiştir. Ayrıca gül absolütünün kendisi ve 1/5 konsantrasyonlarının *S. aureus* üzerinde 15 mm ve 14 mm'lik zon oluşturduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda gül yağı için bu değerler 28,7 mm, 19,1 mm ve 15 mm iken gül absolütü için 24,1 mm ve 12 mm olmuştur.

Jaferi-Sales vd. (2020), *R. damascena* Mill. çiçek yapraklarını toplayıp kurutarak metanolle ekstraksiyona tabi tutmuştur. Ekstraktların *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* üzerindeki antibakteriyel etkileri agar difüzyon tekniği ile ortaya konulmuştur. Ekstraktın Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkisinin daha fazla olduğu bulunmuştur. En yüksek inhibisyon zonu çapları *S. aureus* (26 mm) ve *B. cereus* (24 mm) üzerinde bulunmuştur.

Tez çalışmasında *B. cereus*, *L. monocytogenes* ve *S. aureus* 'un gül yağına karşı Gram negatif bakterilerden daha duyarlı olduğu bulunurken, gül absolütünde ise tam tersi şekilde *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii* bakterileri örneğe daha fazla duyarlılık göstermiştir. Yapılan bir çalışmada çalışmamıza benzer şekilde gül yağına *B. cereus* ve *S. aureus* 'un duyarlılık gösterirken *E. coli* ve *P. aeruginosa* 'nın daha dirençli olduğu belirtilmiştir (Ramdan vd., 2021). Sonuçlar gül yağı ve gül absolütünden belirli oranlarda yapılacak karışımların Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin antimikrobiyal etkinliğini sağlamada daha yararlı olabileceğini göstermiştir.

Tez çalışması ile gül absolütünün *C. sakazakii* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi ilk kez ortaya konulmuştur.

4.2.3 Elajik Asit ve Punikalajinin Antimikrobiyal Aktivite

Sonuçları

Çalışmamızda elajik asit örneğinin patojen bakteriler üzerindeki en yüksek antimikrobiyal etkiyi *S. aureus* üzerinde gösterdiği bulunmuş ve 10 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan örnekte 23,2 mm inhibisyon zonu elde edilmiştir. *S. aureus* 'u *P. aeruginosa* ve *L. monocytogenes* izlemiş ve örneklerin aynı konsantrasyonda iki bakteri üzerinde oluşturdıkları inhibisyon zonu sırasıyla 21,6 mm ve 14,5 mm olmuştur. Örneğin antimikrobiyal aktivite için hazırlanan 2,5, 5 ve 10 mg/mL 'lik konsantrasyonlarının hiçbirisi *C. sakazakii* üzerinde etkili olmamıştır.

Bir çalışmada Aljassim vd. (2022), elajik asidin metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA), *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkisini araştırmıştır. Araştırma sonucunda elajik asidin 10, 5 ve 2,5 mg/mL 'lik konsantrasyonlarının MRSA üzerindeki antimikrobiyal inhibisyon zonu sırasıyla 24,2, 20,4 ve 17,1 mm olmuştur. Araştırmamızda ise aynı konsantrasyonlarda örneğin *S. aureus* üzerindeki inhibisyon zon çapları bu değerlere çok yakın olan 23,2, 20,4 ve 18 mm olarak ölçülmüştür. Aynı çalışmada elajik asidin 10, 5 ve 2,5 mg/mL 'lik

konsantrasyonları *P. aeruginosa* üzerinde sırasıyla 23,4 mm, 19,3 mm ve 16,4 mm inhibisyon zonu oluşturmuş, çalışmamızda aynı konsantrasyonlarda bu sonuçlar 21,6 mm, 18,6 mm ve 14,8 mm olmuştur. Sonuçlarımız literatürle uyumlu bulunmuştur.

Elajik asit nar dışında pek çok bitkide bulunan Gram negatif ve Gram pozitif bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösteren fenolik bir bileşiktir (Genskowsky vd., 2016). Ancak çözünürlüğünün düşük olması onun antimikrobiyal aktivite analizlerinde kullanımını zorlaştırmakta ve etkinliğini düşürmektedir. Çalışmamızda hazırlanan konsantrasyonlarda *C. sakazakii* üzerinde antimikrobiyal etki tespit edilememiştir. Son yıllarda elajik asidin çözünürlük özelliğinin iyileştirilmesi ve biyoyararlılığının artırılması amacıyla farklı formülasyonlar ve çeşitli sistemler üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin; jel bazlı nanopartikül uygulamaları, çeşitli polimer bazlı nanopartiküllerin kullanımı, metal bazlı nanopartiküllerin kullanılması, elajik asit-fosfolipit kompleksleri gibi emülsiyonların oluşturulması ve medikal uygulamalarda ısıya duyarlı lipozomların kullanımı gibi uygulamalar üzerine son yıllarda pek çok çalışma yapılmıştır (Ríos vd., 2018; de Souza Tavares vd., 2021; Ekrikaya vd., 2021; Corrêa vd., 2024) Söz konusu nanosistem uygulamalarının elajik asidin antimikrobiyal aktivitesini arttırmak amacıyla kullanımının yararlı olacağı önerilmektedir. Araştırmada elajik asidin *L. sakazakii* üzerindeki antimikrobiyal etkisi ilk kez araştırılmıştır.

Punikalajin nar kabuğu ekstresinin antimikrobiyal özelliği bilinen önemli bileşenlerinden biridir. Araştırmamızda punikalajinin 2 mg/mL konsantrasyonunun *C. sakazakii* dışındaki tüm bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösterdiği, en yüksek etkinin *P. aeruginosa* (13,9 mm) üzerinde olduğu belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada punikalajinin *S. aureus*'a karşı MİK değerinin 0,25 mg/mL olduğu bulunmuştur (Xu vd., 2017). Çalışmamızda ise söz konusu çalışmaya paralel şekilde 0,5-2 mg/mL aralığındaki değerlerde punikalajinin *S. aureus*'a karşı antimikrobiyal etki gösterdiği ve 0,5, 1 ve 2 mg/mL'lik konsantrasyonlarda inhibisyon zonunun sırasıyla 13,5 mm, 11,4 mm ve 8,5 mm olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda punikalajinin *L. monocytogenes* üzerindeki etkisi 2 mg/mL'lik konsantrasyonda 11,2 mm olarak ölçülmüştür. *P. aeruginosa* ve *L. monocytogenes* suşları 0,5 mg/mL'lik punikalajin konsantrasyonunda aktivitelerini korumuştur.

Bugüne dek yapılan çalışmalarda punikalajinin *E. coli* (Taguri vd., 2004), *Salmonella Typhimurium* (Li vd., 2020), *S. aureus* (Taguri vd., 2004; Xu vd., 2017)

ve *V. parahaemolyticus* (Liu vd., 2024) gibi gıda kaynaklı patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkileri daha önce ortaya konmuştur. Bu çalışmalarda punikalajinin hücreler üzerindeki antimikrobiyal etkisini hücre membranlarının yapısını bozarak sağladığı belirtilmiştir. Çalışmamızda ise punikalajinin *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* patojenleri üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri ilk kez araştırılmış ve *L. monocytogenes* üzerindeki antimikrobiyal etkisi belirlenerek literatüre katkı sağlanmıştır.

Çalışmada *C. sakazakii*'nin MİK-MBK analizlerinde hem elajik asidin hem de punikalajinin araştırılan konsantrasyonlarından yüksek değerlerde çalışılmıştır.

4.2.4 Nar Atığı Ekstraktlarının MİK ve MBK Analizi Sonuçları

A ve B ekstraktlarının seçilen patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerleri hacimce seyreltme yapıldığından seyreltme oranı olarak hesaplanmıştır. Çalışmada en düşük MİK değeri B ekstraktı ile *L. monocytogenes* (MİK:1/1024) üzerinde olurken, en düşük MBK değerleri gene B ekstraktı ile *S. aureus* ve *B. cereus* suşları (MBK:1/256) üzerinde olmuştur. En yüksek MİK değerini ise 1/4 ile A ekstraktı *P. aeruginosa* üzerinde göstermiştir. En yüksek MBK değerleri B ekstraktında 1 olarak bulunmuş; *P. aeruginosa*, *C. sakazakii* ve *E. coli* O157:H7 bakterileri üzerindeki bakterisidal etki yalnızca örneğin kendisiyle gerçekleşmiştir. Çalışmamızda her iki örnek de araştırılan 8 patojen bakteri üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermiş, B ekstraktının oldukça iyi bir antibakteriyel ajan olduğu görülmüştür.

Bir çalışmada farklı nar türlerinin kabuk ekstraksiyonlarının patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar 40°C'de yapılan ekstraksiyonda çeşitli nar türlerinin kabuk ekstraktlarının farklı *S. aureus* suşları üzerindeki MİK değerlerinin 0,38-3 mg/mL, farklı *L. monocytogenes* suşları üzerindeki MİK değerlerinin 0,09-3 mg/mL ve farklı *E. coli* suşları üzerindeki MİK değerlerinin ise 0,75-3 mg/mL arasında değiştiğini göstermiştir. Çalışmada nar kabuğu ekstraktlarının en düşük MİK değeri *L. monocytogenes* üzerinde elde edilirken onu sırasıyla *S. aureus* ve *E. coli* izlemiştir (Salim vd., 2023) Çalışmamızda da B ekstraktında benzer şekilde en düşük MİK değeri *L. monocytogenes* üzerinde elde edilirken, sırasıyla *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7'nin MİK değerleri daha yüksek olmuştur.

Nostro vd. (2016), 5 farklı bitkisel ekstraktın patojen bakteriler üzerindeki antibiyofilm özelliğini araştırmıştır. Söz konusu çalışmada nar ekstraktının da dahil olduğu metanol ekstraktlarının MİK değerleri *L. monocytogenes* suşları için 78-625 µg/mL *S. aureus* suşları için 312-1250 µg/mL, *P. aeruginosa* suşları içinse 625-120 µg/mL olarak belirlenmiştir. Başka bir çalışmada farklı tür nar kabuklarına ait metanol ekstraktlarının *S. aureus* üzerindeki MİK değerleri 0,26-0,75 mg/mL arasında, *E. coli* üzerindeki MİK değerleri ise 0,39-0,75 mg/mL arasında değişmiştir (Fawole vd., 2012).

Akarca ve Başpınar (2019), nar kabuğu metanol ekstraktının *S. aureus* üzerindeki MİK değerini 62,5 µg/mL, MBK değerini 31,25 µg/mL; *L. monocytogenes* üzerindeki MİK değerini 62,5 µg/mL, MBK değerini 62,5 µg/mL; *P. aeruginosa* üzerindeki MİK değerini 62,5 µg/mL, MBK değerini 62,5 µg/mL; *B. cereus* üzerindeki MİK değerini 62,5 µg/mL, MBK değerini 15,63 µg/mL; *E. coli* üzerindeki MİK değerini 31,25 µg/mL, MBK değerini ise 15,63 µg/mL bulmuştur.

Çalışmamızda seyreltmeler hacimsel olarak yapılmış olup sonuçlar bu şekilde düzenlendiğinde çalışmamızdaki A ekstraktının patojen bakteriler üzerindeki MİK değerlerinin 3,9-250 µL/mL arasında, MBK değerlerinin 31,25-1000 µL/mL arasında değiştiği söylenebilir. Aynı şekilde düzenlendiğinde B ekstraktının patojen bakteriler üzerindeki MİK değerlerinin 1-7,81 µL/mL arasında, MBK değerlerinin ise 3,9-15,63 µL/mL arasında değiştiği gözükmemektedir. Bulduğumuz değerler ve aralıklar yukarıda belirtilen çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

4.2.5 Gül Yağı ve Gül Absolütünün MİK ve MBK Analizi

Sonuçları

Yapılan çalışmalarda gül yağının patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerleri belirlenmiştir. Çalışmamızda gül yağı ve gül absolütü için elde edilen MİK ve MBK değerlerinin literatürle uyumlu olduğu görülmüştür.

Bir çalışmada gül yağının *L. monocytogenes* üzerindeki MİK değeri 2,5 mg/L, MBK değeri 20 mg/L olarak bulunurken, *C. sakazakii* üzerindeki MİK değeri 20 mg/L, MBK değeri 40 mg/L olarak bulunmuştur (Badawy vd., 2022). Çalışmamızda MİK ve MBK değerleri hacimce seyreltme yapıldığından seyreltme oranları olarak belirtilmiştir. Söz konusu çalışmaya benzer şekilde çalışmamızda

göl yağının *C. sakazakii* üzerindeki MBK (1/16) değeri MİK değerinin (1/32) iki katı olarak bulunmuştur. Söz konusu araştırmada gül yağının *L. monocytogenes* üzerindeki MİK değeri MBK değerinden 8 kat fazla bulunurken çalışmamızda ise 4 kat fazla olduğu (MİK:1/16, MBK:1/4) görülmüştür. Söz konusu çalışmada MİK ve MBK değerleri çalışmamıza göre düşük bulunmuştur. Bunun nedeninin söz konusu örneklerin hazırlanmasında kullanılan Tween 80 maddesinin besiyeri ortamında gül yağının çözünürlüğünü arttırması olduğu düşünülmüştür.

Göl yağı ve gül absölütünün bazı patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerlerinin tespit edildiği bir araştırmada (Çevikbaş, 2021), gül yağının *B. cereus* üzerindeki MİK değeri çalışmamızda kullanılan 2 farklı *B. cereus* suşu üzerindeki elde edilen MİK değerleri ile aynı (%0,03125) bulunmuştur. MBK değerleri de aynı şekilde her iki çalışmada da %0,0625 olarak tespit edilmiştir. Gül yağının *L. monocytogenes* üzerindeki MİK değerleri de çalışmamızla aynı (%0,0625) bulunmuş; fakat söz konusu çalışmadaki MBK değeri (%0,125) çalışmamızda elde edilen değerden (%0,25) yüksek bulunmuştur. *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu üzerindeki MİK değeri her iki çalışmada aynı (%0,125) bulunurken, çalışmada MBK değeri %0,25 olarak belirtilmiştir. Bizim araştırmamızda ise örneğin kendisi bakteriler üzerinde öldürücü etki göstermiştir. *S. aureus* ve *E. coli* için elde edilen MİK ve MBK değerleri de çalışmamızdaki değerlere yakındır.

Çevikbaş (2021), gül absölütünün patojen bakteriler üzerindeki MİK ve MBK değerlerini genel olarak çalışmamızdaki değerlere yakın ya da aynı bulmuştur. Söz konusu çalışmada *S. aureus* ve *B. cereus* üzerindeki MİK değerleri %0,0625, MBK değerleri ise %0,125 olmuştur. Bizim araştırmamızda ise *S. aureus*'un MİK ve MBK değerleri çalışmayla aynı bulunurken, *B. cereus* suşlarının MİK değerleri %0,03125, MBK değerleri ise %0,0625 olarak bulunmuştur. Çevikbaş (2021), gül absölütünün *L. monocytogenes* üzerindeki MİK (%0,125) ve MBK (%0,25) değerleri çalışmamızda bulunan değerlerin iki katı olduğunu ortaya koymuştur. En büyük farklılık ise *E. coli* ve *P. aeruginosa* suşları üzerinde tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda gül absölütünün her iki bakteri üzerindeki MİK değerleri %0,03125, MBK değerleri %0,0625 olurken; belirtilen çalışmada bu değerler her iki bakteri için de %0,5 (MİK) ve %1 (MBK) şeklinde bulunmuştur.

Bali vd. (2021), yaptıkları çalışmada gül yağının *P. aeruginosa* ATCC 27853 üzerindeki MİK değerini 1/8, *S. aureus* ve *B. cereus* üzerindeki MİK değerini

ise 1/10 olarak bulmuştur. Araştırmamızda ise bu değerler *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ve *B. cereus* için sırasıyla 1/10, 1/32 ve 1/32 olarak bulunmuştur.

Bir çalışmada gül çiçeklerinin kurutulup metanol ile ekstrakte edilmesiyle elde edilen örneğin *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerindeki MİK ve MBK değerleri sırasıyla 6,25-12,5, 12,5-25, 50-100, 100-200 mg/mL olarak bulunmuştur. MBK değerlerinin MİK değerlerinin 2 katı olduğu, gram pozitif bakterilerin gram negatif olanlara göre ekstrakta daha duyarlı olduğu görülmüştür (Jaferi-Sales vd., 2020).

4.2.6 Elajik Asit ve Punikalajinin MİK ve MBK Sonuçları

Çalışmamızda her 2 örnek için de en yüksek MİK ve MBK değerleri *C. sakazakii* bakterisi üzerinde elde edilmiştir. En düşük değerler ise *S. aureus* bakterisi üzerinde bulunmuştur. Sonuçlara göre elajik asidin MİK değerleri 2-20 mg/mL arasında değişirken; punikalajinin MİK değerleri 0,5-8 mg/mL arasında olmuştur.

Yapılan bir çalışmada punikalajinin *S. aureus* 'a karşı MİK değerinin 0,25 mg/mL olduğu bulmuştur (Xu vd., 2017). Bizim çalışmamızda punikalajinin *S. aureus* üzerindeki MİK değeri 0,5 mg/mL olarak bulunmuştur. Aljassim vd., (2022), tarafından yapılan başka bir çalışmada elajik asidin metisilin dirençli *S. aureus* 'a karşı MBK değeri 2 mg/mL olarak bulunurken, çalışmamızda bu değer 4 mg/mL'dir. Aynı çalışmada elajik asidin *P. aeruginosa* üzerindeki MBK değeri 1,5 mg/mL olurken, çalışmamızda 20 mg/mL olarak bulunmuştur. Aradaki bu farklılığın elajik asidin çözündürme koşullarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Bir çalışmada punikalajinin farklı *Salmonella* sp., suşları üzerindeki MİK değerinin 0,25-1 mg/mL aralığında olduğu bulunmuştur (Li vd., 2014a). Başka bir çalışmada ise nar kabuğundan elde edilen ve elajik asit ve punikalajin açısından zengin olduğu belirtilen ekstraktın *L. monocytogenes*'in farklı suşları üzerindeki MİK değerlerinin 1,25-5 mg/mL arasında olduğu bulunmuştur (Li vd., 2014b). Bizim çalışmamızda *L. monocytogenes* üzerindeki MİK değeri elajik asit için 10 mg/mL iken punikalajin için bu değer 1 mg/mL olarak bulunmuştur. Araştırmamızda elde edilen MİK ve MBK değerleri genel olarak literatürle uyumludur. Ayrıca punikalajinin *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* üzerindeki MİK ve MBK değerleri ilk kez bu çalışma ile ortaya konarak literatür eksikliğine katkı

sağlanmıştır. Aynı şekilde elajik asidin de *C. sakazakii* üzerindeki antimikrobiyal etkisi ilk kez bu çalışma ile tespit edilerek, MİK ve MBK değerleri belirlenmiş ve literatüre katkı sağlanmıştır.

4.3 Antibiyofilm Aktivite Analizi Sonuçları

4.3.1 Örneklerin Polistren Tabanlı Mikroplakada Biyofilm Oluşumunu Önleme Sonuçları

Doğal maddelerde bulunan fenolik bileşikler biyofilm oluşumunu önleme etkilerini bakteri hareketliliğini azaltarak, patojenite ile ilgili olan virülans faktörleri baskılayarak, bakterilerin yüzey yüklerini değiştirip hücrenin alt katman yüzeylerine bağlanma özelliklerini etkileyerek, hücre membranına zarar verip hücrenin temel bileşenlerinin kaybına yol açarak ortaya çıkarabilmektedir (Salim vd., 2023).

Sonuçlar tüm örneklerin polistren yüzeyde araştırılan 4 patojen bakterinin biyofilm üretimini kontrole göre önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur ($p < 0,05$). A (%74,23) ve B (%76) ekstraktlarının en etkili olduğu bakteri *S. aureus* olmuştur. Ekstraktlar, Gram pozitif bakterilerde biyofilm oluşumunu Gram negatif bakterilere göre daha fazla inhibe etmiştir. Gül yağı en yüksek inhibisyon etkisini *P. aeruginosa* (%80,52) üzerinde gösterirken, gül absolütü *C. sakazakii* (%88,33) üzerinde biyofilm oluşumunu önlemede daha başarılı olmuştur. Elajik asit ve punikalajinin genel olarak Gram pozitiflerde daha yüksek inhibisyona neden olduğu ortaya konulmuş olup; elajik asidin *L. monocytogenes* (%76,38) üzerinde, punikalajinin ise *S. aureus* (%77,76) üzerinde diğer bakterilere göre daha etkili olduğu görülmüştür.

Kalpar (2019), nar atığı ekstraktlarının farklı yüzeylerde *S. aureus*'un antibiyofilm etkisini araştırmıştır. Araştırma sonuçlarına göre narın 1/5 oranında sulandırılan metanol-su ekstraktının polistren yüzeyde *S. aureus*'un biyofilm oluşumunu %58 önlediği, bu değer 1/10 sulandırma oranında ise %41 olarak gerçekleştiği belirlenmiştir. Çalışmamızda ise benzer metotla hazırlanan A ekstraktının MİK/2 (1/128 oranında sulandırılan) değerinin biyofilm oluşumunu önleme etkisi %74,23 olmuştur. Çalışmamızda daha iyi sonuç elde edilme

nedeninin bakterinin öncelikle MİK değerinin tespit edilerek MİK altında değerlerde çalışılması olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bir çalışmada Bakkiyaraj vd. (2013), nar kabuğunda %13 oranında bulunan elajik asidin yüksek konsantrasyonlarda (75 µg/mL) bakterilerin (*S. aureus*, *E. coli*) büyümesini inhibe ettiğini, düşük konsantrasyonlarda ise (40 µg/mL) ise biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Aynı çalışmada narın metanol ekstraktının *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde biyofilm oluşumunu önleme özelliğinin %70 civarında olduğu belirlenmiştir. Araştırmamızda bu değer A ekstraktı için %74,23, B ekstraktı için %76 olmuştur.

Nostro vd. (2016), narın metanol ekstraktının biyofilm üreten gıda kaynaklı patojen bakteriler (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*) üzerindeki antibiyofilm etkisini araştırmış ve ekstraktın MİK/16 değerinin *L. monocytogenes* suşlarında %60-80, *S. aureus* suşlarında %80-90 ve *P. aeruginosa* suşlarında ise %20-30 aralığında biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Çalışmamızda ise A ve B ekstraktlarının MİK/2 değerleri *L. monocytogenes* suşunda sırasıyla %65,83 ve %72,77 *S. aureus* suşunda %74,23 ve %76, *P. aeruginosa* suşunda ise %21,17 ve %22,50 biyofilm oluşumunu inhibe etmiştir. Araştırmadaki MİK değerleri ve biyofilm oluşumunu önleme oranları çalışmamızla paralellik göstermektedir. Tez çalışmamız ile polistren tabanlı mikropalakada nar ekstraktlarının *C. sakazakii* biyofilmlerinin oluşumunu inhibe etme özelliği de ilk kez ortaya konulmuştur.

Son yıllarda yapılan araştırmalarda nar kabuklarının ve nar atıklarının su ile ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktların gıda kaynaklı patojen bakterilerin biyofilm oluşumunu önleme yüzdelерinin yüksek olduğu belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada nar kabuklarının su ekstraktının düşük dozlarda *L. monocytogenes* suşlarının (MİK: 0,75-3 mg/mL) ve *S. aureus*'un (MİK: 0,75 mg/mL) biyofilm oluşumunu %70'den fazla inhibe ettiği ortaya konmuştur (Salim vd., 2023). Başka bir çalışmada ise farklı çözücülerle hazırlanan nar kabuğu ekstraktlarından su ekstraktının gıda patojenlerinin oluşturduğu biyofilmleri ortadan kaldırma (*B. cereus*, *B. subtilis* ve *E. faecalis*) oranının %79-83 arasında değiştiği gösterilmiştir (Balaban vd., 2021).

Çalışmamızda nar atıklarının su ekstraktının antimikrobiyal özellikleri diğer ekstraktlara göre düşük çıktığı için, diğer özelliklerinin de düşük olabileceği varsayılarak antibiyofilm ve ÇAI etkileri araştırılmamıştır. Ancak son çalışmalar su

ekstraktlarının antimikrobiyal etkilerinden bağımsız olarak antibiyofilm etkilerinin yüksek olabileceğini ortaya koymuştur. Doğal ve çevre dostu olması, çözücü maliyetlerinin düşük olması gibi avantajlarından dolayı nar atıklarının su ekstraktlarının da farklı bakteriler üzerindeki antibiyofilm ve ÇAI etkilerinin araştırılmasının literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Nar kabuğunda bulunan elajik asit (Bakkiyaraj vd., 2013, Aksu ve Çakırlar, 2023; Ratti vd., 2023) ve punikalajinin (Xu vd., 2017; Liu vd., 2022) antibiyofilm özelliği üzerine yapılan bazı çalışmalar vardır. Bu çalışmalardan birinde elajik asidin *P. aeruginosa* biyofilmlerini önleme ve giderme etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar elajik asidin 512 µg/mL konsantrasyonunda %41,6 biyofilm inhibisyonu sağladığını ve inhibisyonun doza bağımlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur (Aksu ve Çakırlar, 2023). Çalışmamızda ise elajik asidin (1 mg/mL) *P. aeruginosa* biyofilmlerini %62,42 oranında inhibe ettiği bulunmuştur.

Bir çalışmada punikalajinin *S. aureus* üzerindeki biyofilm oluşumunu önleme etkisi araştırılmış; sonuçlar punikalajinin MİK değerinin 0.25 mg/mL olduğunu, MİK/64 konsantrasyonunda %42, MİK/16 konsantrasyonunda ise %50,2 biyofilm oluşumunu önlediğini ortaya koymuştur. Çalışmamızda ise punikalajinin 0.25 mg/mL'lik konsantrasyonu %77,76 oranında biyofilm oluşumunu önlemiştir.

Güncel bir çalışmada punikalajinin *V. parahaemolyticus*'a karşı anti-biyofilm ve ÇAI etkileri araştırılmıştır. MİK altı konsantrasyonlarda (3,125-12,5 µg/mL) punikalajin, biyofilm oluşumunu önemli ölçüde (%20,9-74,4) azaltmıştır. Bu etkiyi bakteri hareketliliğini azaltarak ve biyofilm içindeki hücrelerin metabolik faaliyetlerini zayıflatarak göstermiştir. Ayrıca punikalajinin EPS üretimini inhibe ederek biyofilmlerdeki ekzopolisakkaritlerin azalmasına neden olduğu belirtilmiştir (Liu vd., 2022).

Bu tez çalışmasında punikalajin ve elajik asidin polistren tabanlı mikropalakalarda seçilen patojen bakterilerin oluşturduğu biyofilmleri önleme potansiyelleri kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Punikalajinin *L. monocytogenes*, *C. sakazakii* ve *P. aeruginosa* üzerindeki biyofilm oluşumunu önleme etkileri polistren mikropalakada araştırılarak ilk kez ortaya konulmuştur. Aynı şekilde elajik asidin *C. sakazakii* üzerindeki antibiyofilm etkisi de ilk kez belirlenmiştir. Sonuçlar her iki örneğin de patojen biyofilmlerini önlemede başarılı olduğunu göstermiştir.

Nar atığı ekstraktları ve saf bileşenlerin (elajik asit ve punikalajin) etkileri karşılaştırıldığında B ekstraktı ile edilen biyofilm oluşum yüzdeleri ile saf bileşenlerin yüzdelерinin birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Hem B ekstraktı hem de elajik asit ve punikalajin %60-80 aralığında değişen oranlarda biyofilm oluşumunu inhibe etmişlerdir. A ekstraktının Gram pozitif bakteriler üzerindeki önleme etkisi yüksek olsada (%65-75), Gram negatif bakteriler üzerindeki etkisi %40'larda kalmıştır.

Gül yağı ve gül absöütü tez çalışmasında antibiyofilm özellikleri araştırılan diğer maddelerdir. Bir çalışmada gül yağı ve gül absöütünün elde edildiğı *Rosa damascena* M. çiçeklerinin metanol ekstraktının *S. aureus* bakterisi üzerindeki antibiyofilm özellikleri araştırılmıştır. Çalışmada 25 mg/mL (MİK/2) konsantrasyondaki ekstraktın bakterinin biyofilm oluşumunu %43,24 oranında önlediğı belirtilmiştir (Amin vd., 2019). Çalışmamızda gül yağı ve absöütü örneklerinin (MİK/2 konsantrasyonlarında) *S. aureus* biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri sırasıyla %63,33 ve %50,71 olmuştur.

Başka bir çalışmada Bali vd., (2021), gül yağının *B. cereus*, *S. aureus* ve *Enterococcus faecalis* gibi patojenlerin bulunduğu Gram pozitif bakterilerin (%32,15±0,20-%52,40±1,30) biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini bulmuştur. *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *P. aeruginosa* gibi patojenlerin bulunduğu Gram negatif (%32,01±1,65-%61,00±0,84) bakteriler üzerinde de benzer şekilde biyofilm oluşumunun inhibe edildiğı gözlemlenmiştir. En yüksek inhibisyon değeri ise 93,07±1,90 değeri ile *P. aeruginosa* PA01 suşunda bulunmuştur. Söz konusu çalışmada gül yağının MİK altı (MİK/2:1/20) konsantrasyonunun araştırmamızda da kullanılan *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda %60,89 biyofilm oluşumunu önlediğı bulunmuştur. Çalışmamızda ise bu oran MİK altı konsantrasyonlarda gül yağı (MİK/2:1/16) ve gül absöütü (MİK/2:1/64) için sırasıyla %80,52 ve %67,12 olmuştur. Bali vd., (2021), gül yağının (1/20) *S. aureus* bakterisi üzerindeki inhibisyon oranını %32,15 olarak bulmuştur. Çalışmamızda ise gül yağı (MİK/2:1/64) %63,33, gül absöütü de (MİK/2:1/32) %50,71 oranında biyofilm oluşumunu önlemiştir.

Bir başka çalışmada gül yağının *P. aeruginosa* PA01 suşunun biyofilm oluşumunu (%0,25-1 v/v seyreltme aralığında) %54-68, sitronellol, geraniol, nerol

bu üç maddenin karışımından oluşan CGN örneklerinin ise %10-15 oranında önlediği belirtilmiştir (Çevikbaş ve Ulusoy vd., 2023). Çevikbaş (2021), gül yağının %0,5 (MİK/2) seyreltme oranında *P. aeruginosa* PA01 suşunda biyofilm oluşumunu %87 oranında azalttığını, gül absolütünün aynı konsantrasyonda biyofilm oluşumunu %99 oranında önlediğini bulmuştur. Güncel bir çalışmada ise gül absolütünün %0,063-0,5 arasında değişen konsantrasyonlarda *P. aeruginosa* PA01 suşunda biyofilm oluşumunu %55,5-98,53 arasında değişen değerlerde inhibe ettiği ve inhibisyonun konsantrasyon arttıkça arttığı belirlenmiştir. (Çevikbaş vd., 2024). Çalışmamızda ise gül absolütünün 1/64 oranında seyreltilmiş örneği *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda biyofilm oluşumunu %67,12 önlemiştir

R. damascena M. türünden üretilen gül yağı ve gül absolütünün *C. sakazakii* ve *L. monocytogenes* gibi gıda endüstrisi için önemli olan iki patojen üzerindeki antibiyofilm özelliği *in vitro* olarak ilk kez ortaya konmuştur. İki örnek de *C. sakazakii* ve *L. monocytogenes* üzerindeki biyofilm oluşumunu önemli ölçüde (%70 ve daha fazla) inhibe etmiştir. Özellikle gül absolütünün *C. sakazakii* (%88,33) ve *L. monocytogenes* (%82,18) üzerindeki biyofilm oluşumunu önleme etkisinin oldukça yüksek olduğu bulunmuştur. Sonuçlar gül yağı ve gül absolütü örneklerinin hem Gram pozitif hem de Gram negatif gıda patojenlerinin biyofilm oluşturmalarını önlemek amacıyla etkili birer ajan olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

4.3.2 Örneklerin Polistren Tabanlı Mikroplakada Oluşan Biyofilmleri Giderme Sonuçları

Örneklerin polistren tabanlı mikroplakada oluşan biyofilmleri giderme etkisi biyofilm oluşumunu önleme etkisine göre daha düşük bulunmuştur. En yüksek biyofilm oluşumunu giderme etkisini gül absolütü %64,14 ile *C. sakazakii* üzerinde göstermiştir. Gül yağının en yüksek eradikasyon etkisi %53,45 ile gül absolütüne benzer şekilde *C. sakazakii* üzerinde olmuştur. Punikalajin örneği ise *P. aeruginosa* biyofilmlerini %62,38 oranında gidermiştir. A ve B ekstraktlarının *P. aeruginosa* biyofilmlerini eradikasyon yüzdeleri olan %21,17 ve %22,50 en düşük değerler olarak kaydedilmiştir.

Kalpar (2019), nar atıklarının 1/5 oranında sulandırılan metanol-su ekstraktının polistren yüzeyde *S. aureus*'un oluşturduğu biyofilmleri %50 giderdiği, bu değer 1/10 sulandırma oranında ise %54 olarak gerçekleştiğini rapor etmiştir. Çalışmamızda ise A ekstraktının MİK/2 (1/128 oranında sulandırılan)

oluşan *S. aureus* biyofilmlerini %34,12 ortadan kaldırdığı bulunmuştur. Aynı değer B ekstraktı için %47,90 olmuştur. Çalışmamızda elde edilen değerler araştırmaya göre bir miktar düşük çıkmıştır. Çalışmamızda polistren yüzeylerde yapılan analizlerde ekstraktta kullanılan çözücülerden kaynaklı bir inhibisyon olup olmadığının belirlenebilmesi için ekstraksiyon yapılırken aynı işlemlere tabi tutulan ve örneklerle aynı oranlarda seyreltilen çözücü karışımları da analiz edilmiştir. Metanol-su çözücüsünün (%3,02) ve metanol-asit-su çözücüsünün (%4,31) *S. aureus* üzerindeki inhibisyon yüzdeleri bulunan değerlerden çıkarılarak sonuç verilmiştir. Aradaki farka neden olan faktörlerden birinin bu olabileceği düşünülmektedir.

Polistren yüzeylerde nar atığı ekstraktlarının hazırlanmasında kullanılan çözücülerin patojenler üzerindeki biyofilm oluşumunu önleme ve biyofilmleri ortadan kaldırma yüzdeleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçların örneklerden elde edilen sonuçlara göre oldukça düşük olduğu belirlendiğinden paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde analizler tekrarlanmamıştır. B ekstraktı elde edilirken %5 oranında kullanılan hidroklorik asidin ekstraktın antimikrobiyal aktivitesini üzerinde etkili olabileceği; ancak antibiyofilm özelliği üzerine etkisinin düşük olduğu ortaya konmuştur. Bunun nedeni antimikrobiyal aktivitelerde örneğin yüksek konsantrasyonları kullanılırken, antibiyofilm aktivite analizlerinde örneğin çok düşük konsantrasyonlarının kullanılması olabilir.

Tez çalışmasında araştırılan elajik asit ve punikalajin örneklerinin patojen bakterilerin biyofilmlerini eradikasyon yüzdeleri %37,98-62,38 arasında değişmiştir. Elajik asit için bu aralık %37,98- 55,65 olurken, punikalajin örneği %39,36-62,38 aralığında patojen biyofilmlerini ortadan kaldırmıştır. Nar atığı ekstraktlarının patojen biyofilmlerini ortadan kaldırma yüzdeleri %21,17- 47,90 arasında bulunmuştur. *P. aeruginosa* dışındaki bakteriler üzerinde A ekstraktının antibiyofilm etkisi B ekstraktına göre istatistiksel olarak önemli ölçüde düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuçlar saf bileşenler olan elajik asit ve punikalajinin biyofilmleri eradikasyon oranının genel olarak ekstraktlardan yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır. B ekstraktının *L. monocytogenes* üzerindeki eradikasyon etkisi elajik asit ve punikalajinden fazla bulunmuş; ancak B ekstraktı ile elajik asit arasındaki farklılığın önemsiz olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). B ekstraktı *S. aureus* biyofilmlerini elajik asitten yüksek oranda inhibe etmiştir. Ancak *S. aureus*

üzerindeki antibiyofilm etki açısından B ekstraktı ile punikalajin arasında farklılık olmadığı bulunmuştur ($p<0,05$).

Bir çalışmada elajik asidin *P. aeruginosa* biyofilmlerini giderme etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar elajik asidin 512 µg/ml konsantrasyonunda %33,1 biyofilm eradikasyonu sağladığını ve inhibisyonun doza bağımlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur (Aksu ve Çakırlar, 2023). Çalışmamızda elajik asidin (1 mg/mL) *P. aeruginosa* biyofilmlerini %54,77 oranında inhibe ettiği bulunmuştur.

Bu tezde punikalajinin ve elajik asidin polistren tabanlı mikropalaklarda seçilen patojen bakterilerin oluşturduğu biyofilmleri giderme potansiyelleri kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Punikalajinin *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *C. sakazakii* ve *P. aeruginosa* üzerindeki biyofilm eradikasyonu etkileri polistren mikropalakada araştırılarak ilk kez ortaya konulmuştur. Aynı şekilde elajik asidin *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* üzerindeki biyofilm eradikasyonu etkisi de ilk kez belirlenmiştir.

Bir çalışmada *Rosa damascena* M. çiçeklerinin metanol ekstraktının *S. aureus* bakterisi üzerindeki antibiyofilm özellikleri araştırılmıştır. Çalışmada 25 mg/mL (MİK/2) konsantrasyondaki ekstraktın 5 dakikalık muamele süresinde bakterinin oluşturduğu biyofilmleri eradikasyon yüzdesi %60,90 olmuştur (Amin vd., 2019). Çalışmamızda ise gül yağı ve absolütü örneklerinin (MİK/2 konsantrasyonlarında) 30 dakikalık muamele sonucunda *S. aures* biyofilmlerini ortadan kaldırma oranları sırasıyla %25,61 ve %42,46 olmuştur.

R. damascena M. türü gülden elde edilen gül yağı ve gül absolütü örneklerinin *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii* patojen bakterilerinin oluşturduğu biyofilmleri giderme etkileri çalışmamız ile ilk kez ortaya konarak literatüre katkı sağlanmıştır. İki örnek de özellikle *C. sakazakii* bakterisi üzerinde etkili olmuş ve bakterinin oluşturduğu biyofilmlerin yarısından çoğunu gidermiştir. Gül yağının eradikasyon oranı %53,45, gül absolütünün ise %64,15 olmuştur.

Oluşan biyofilm tabakasının dağılması ekzopolisakkarit yapının dağılmaya başlamasıyla olmaktadır. Bir kez oluştuğunda, bir biyofilm tabakasından kurtulmak zordur. Bu nedenle örneklerin tümünün patojen bakteriler üzerindeki biyofilm eradikasyonu etkileri biyofilm oluşumunu önleme etkilerine göre düşük kalmaktadır. Oluşan biyofilmler EPS'yi parçalayan çeşitli doğal ajanlar, sentetik maddeler, fajlar, bakteriyosinler, enzimler (proteaz, nükleaz vb.) veya mekanik

uygulamalar vasıtasıyla biyofilmler ortadan kaldırılabilir (Giaouris, 2014; Sharma vd., 2023).

Tez çalışmasında örneklerin tümünün patojen biyofilmlerini ortadan kaldırma etkisine sahip olduğu; ancak oluşan eradikasyon etkisinin biyofilmlerin tamamen ortadan kaldırılması için yeterli olmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle örneklerin Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerindeki etkileri göz önüne alınarak kombine şekilde hazırlanan doğal formüllerin *in vitro* ve *in vivo* olarak antibiyofilm ve ÇAI etkilerinin araştırılması faydalı olacaktır. Ayrıca örneklerin antibiyofilm ajanı olan doğal maddelerle bir arada kullanımı ya da faj terapisi, enzim uygulaması veya fiziksel muameleler (ultrason, termal şok) gibi tamamlayıcı stratejilerle olan kombine kullanımları üzerine de yeni araştırmalar yapılabileceği öngörülmüştür.

4.3.3 Örneklerin Paslanmaz Çelik ve Cam Yüzeylerde Biyofilm Oluşumunu Özelliklerinin Araştırılması

Son yıllarda bitkilerden elde edilen doğal formüllerin yüzeylerde dezenfeksiyon amacıyla kullanılabilirliğinin araştırılması popüler bir konu haline gelmiştir. Tez çalışmasında örneklerin gıda endüstrisinde kullanılan paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde antibiyofilm etkisi biyofilm oluşumunu önleme şeklinde araştırılmıştır. Tüm örneklerin hem paslanmaz hem de cam yüzeylerde *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* bakterilerinin biyofilm üretimini kontrole göre önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur ($p<0,05$).

Narın tümünden, atıklarından veya yalnızca kabuklarından elde edilen ekstraktların farklı yüzeylerde farklı patojen bakteriler tarafından biyofilm oluşumunu önleme ve biyofilm eradikasyonu özellikleri üzerine yapılan bazı çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde Kalpar (2019), nar atıklarının metanol-su ekstraktının 1/5 konsantrasyonunun *S. aureus*'un paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşturmalarını %93 önlediğini, %62 ortadan kaldırdığını, etanol ekstraktının 1/10'luk konsantrasyonunun ise %89 oranında önlediği, %55, ortadan kaldırdığını ortaya koymuştur.

Çalışmamızda A ekstraktının *L. monocytogenes* üzerindeki biyofilm oluşumunu önleme etkisi %73,74, *C. sakazakii* üzerinde ise %54,59 olmuştur. Cam yüzeylerde A ekstraktı %71,41 oranında *L. monocytogenes* biyofilm oluşumunu inhibe ederken, *C. sakazakii* bakterisinde %80,17 inhibe etmiştir. B ekstraktının

paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde antibiyofilm etkisinin A ekstraktına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak her iki ekstraktında antibiyofilm etkileri göz önüne alınarak doğal dezenfeksiyon formüllerinde kullanılabilme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür.

Elajik asit ve punikalajinin paslanmaz çelik yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme yüzdeleri %54,59-67,24 arasında değişmiş, punikalajinin *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii*'nin biyofilm oluşumunu önleme etkisinin elajik asitten daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Cam yüzeylerde ise iki örneğin patojen biyofilmlerinin oluşumunu %65,53-69,46 oranında inhibe ettiği bulunmuştur. İki örnek de hem paslanmaz çelik hem de cam yüzeylerde biyofilm oluşumunu %55'in üzerinde inhibe etmiştir. Ancak sonuçlar nar atıklarından elde edilen ekstraktların elajik asit ve punikalajin bileşenlerine oranla yüzeylerdeki antibiyofilm etkisinin daha yüksek olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Nar meyvesinin ve kabuğunun elajik asit ve punikalajin dışında antosiyaninler, gallotanenler, hidroksisinamik asit, hidroksibenzoik asitler ile diğer elajitanenler ve gallagil esterler gibi pek çok hidrolize edilebilir tanenler içerdiği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Demir vd., 2019). Tüm bu bileşenlerin birlikte oluşturduğu sinerjistik etki nedeniyle nar atığı ekstraktlarının antibiyofilm etkisinin elajik asit ve punikalajinin ayrı ayrı oluşturduğu etkiye göre yüksek olduğu düşünülmektedir.

Literatürde pek çok çalışmada elajik asit ve punikalajin bileşenleri nar atıklarından elde edilen antimikrobiyal etkinin yüksek olmasındaki en önemli etkenler olarak belirtilmektedir. Ancak bitkisel materyallerden saf biyoaktif bileşenlerin eldesi pek çok aşamadan oluşan bir proses sonucunda gerçekleştirilmekte ve bu proseste ekstraksiyon işleminden sonra ayırma ve saflaştırma işlemlerinin de yapılması gerekmektedir. Ekstraktların doğal formüllerde direkt kullanımı ile hem maliyetlerde hem de sürede tasarruf edilebileceği ortaya konulmuştur.

Paslanmaz çelik yüzeylerde *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* üzerinde gül yağının antibiyofilm etkisi %80'in üzerinde bulunmuştur. Gül absolütü %70'in üzerinde patojen biyofilmlerinin oluşumunu önlemiştir. Cam yüzeylerde ise bu değerler gül yağı ve gül absolütü için %65-75 arasında gerçekleşmiştir. Tez çalışması ile gül yağı ve absolütünün paslanmaz çelik ve cam gibi yüzeylerde biyofilm oluşumunu önleme kapasiteleri ilk kez ortaya konulmuştur. Sonuçlar gül

yağı ve gül absolütü örneklerinin gıda endüstrisinde *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* biyofilmlerini kontrol etmek ve bu patojenin neden olduğu hastalıkları önlemek için alternatif bir strateji olarak kullanılabileceğini, örneklerden doğal dezenfeksiyon formülleri geliştirilebileceğini göstermektedir.

Gül yağı ve gül absolütünün antibiyofilm etkileri içerdikleri sitronellol, geraniol, nerol ve fenil etil alkol gibi uçucu bileşiklerden kaynaklanmaktadır. Güncel bir çalışmada gül yağının bileşenlerinden olan geraniolün paslanmaz çelik yüzeyde çift tür (*E. carotovora* ve *P. fluorescens*) biyofilm oluşumunu engelleme kapasitesinin (%61,27) yüksek olduğu bulunmuştur (Zhang vd., 2021).

Tez çalışmasında kullanılan tüm örneklerin gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan polietilen, polipropilen, polivinil klorür, granit ve mermer gibi diğer yüzeylerde ve önemli gıda patojenleri üzerindeki antibiyofilm etkilerinin belirlenmesinin faydalı olacağı değerlendirilmektedir. Örneklerin yüzeylerde patojen bakterilerin oluşturduğu biyofilmleri eradikasyon etkilerinin araştırılması da önem arz etmektedir.

4.3.4 Örneklerin Paslanmaz Çelik ve Cam Yüzeylerde Biyofilmde Bulunan Canlı Hücre Sayımı Sonuçları

Tez çalışmasında araştırılan tüm örneklerin paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde oluşan *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* biyofilmlerinde bulunan canlı hücre sayıları üzerinde önemli bir azalma sağladığı tespit edilmiştir ($p<0.05$). Örnek uygulanmayan yalnızca *L. monocytogenes* ile inkübe edilen paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde bulunan bakteri sayıları sırasıyla 9,74 ve 8,45 log kob/cm² olarak bulunmuştur. Aynı değerler *C. sakazakii* için paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde sırasıyla 8,92 ve 8,3 log kob/cm² olarak belirlenmiştir.

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar B ekstraktının hem paslanmaz çelik hem de cam yüzeylerde biyofilmlerde bulunan *L. monocytogenes* canlı hücrelerinin sayısının azaltılmasında etkili olduğunu göstermiştir. Gül yağı ve gül absolütü örnekleri ise yüzeylerdeki *C. sakazakii* canlı hücre sayılarını azaltmada daha etkili olmuştur. Elajik asit ve punikalajin paslanmaz çelik yüzeylerde nar atığı ekstraktlarına göre daha az etki göstermiştir ($p<0,05$). Örneklerle muamele edilen paslanmaz çelik yüzeylerde oluşan biyofilmlerde bulunan canlı hücrelerin inaktivasyon aralığı (4,1-7,1 log kob/ cm²), cam yüzeye (3,4-6,2 log kob/ cm²)

oranla daha yüksek olmuştur. *L. monocytogenes* hücreleri her iki yüzeyde de *C. sakazakii* hücrelerine göre örneklerle daha fazla duyarlılık göstermiştir. Bu durumun Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler arasındaki hücre duvarı yapısından kaynaklandığı, tek membran ile çevrili *L. monocytogenes* hücrelerinin örneklerden daha kolay etkilenecek daha fazla inaktive olduğu değerlendirilmiştir.

Kıran vd. (2021), *Lactobacillus plantarum* hücre dışı ekstraktlarının paslanmaz çelik yüzeyler üzerinde *L. monocytogenes* tarafından oluşturulan biyofilmlerde bulunan canlı hücre sayılarında azalma sağladığını bulmuştur. Bir başka çalışmada *Cymbopogon* sp. türlerinden elde edilen bitkisel esansiyel yağlardan oluşan bir dezenfeksiyon formülü paslanmaz çelik yüzeylere tutunan *L. monocytogenes* sayılarında azalmaya neden olmuştur (Oliveira vd., 2010).

Bir çalışmada nar kabuğu ekstraktlarının tüketime hazır etlerde koruyucu özelliği araştırılmış ve örneklerdeki *L. monocytogenes* sayıları üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Ekstrakt (%7,5 v/v) ile muamele edilen örneklerde 4 °C’de 46 günlük muhafaza sonucunda 4,1 log kob/g hücre bulunurken kontrol örneğinde bu sayı 9,2 log kob/g olarak tespit edilmiştir (Hayrapetyan vd., 2012).

Güncel başka bir çalışmada meyan kökünden elde edilen doğal bir izoflovanoid madde olan glabridinin yüzey dezenfektanı olabilme potansiyeli araştırılmıştır. Düşük dozlarda yağsız süt, kavun ve füme somon gibi gıdaların organik bileşikleriyle muamele edilerek kurutulmuş paslanmaz çelik yüzeylerde 200 µg/mL dozundaki glabridinin *L. monocytogenes* biyofilm hücrelerinin sayısında 3 log kob/mL’den daha fazla azalmaya neden olduğunu bulunmuştur (Bombelli vd., 2024).

Chang vd., (2023), bukalemun veya gökkuşağı bitkisi olarak da bilinen *Houttuynia cordata* Thunb bitkisine ait ekstraktın *C. sakazakii* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini ve doğal bir dezenfektan olarak kullanım potansiyelini araştırmıştır. Araştırma sonuçlarına göre ekstraktla muamele edilen hücrelerde hücre zarının bozulduğu, geçirgenliğin arttığı, hücre sıvısının dışarı sızmasıyla hücrelerin kısmi olarak parçalandığı belirtilmiştir. 5 dakika boyunca MİK (7,5 mg/mL) ve 2x (15 mg/mL) konsantrasyonda ekstrakt ile muamele edilen 8 farklı yüzeyde (paslanmaz çelik, teneke levha, cam, polistiren, bambu, tahta, seramik ve alüminyum folyo kağıdı) *C. sakazakii* suşlarının önemli ölçüde inhibe edildiği ve

azalma miktarları MİK ve 2xMİK değerleri için sırasıyla 3,00 ila 3,68 log kob/100 cm² ve 3,97 ila 4,53 log kob/100 cm² arasında değiştiği belirtilmiştir. Bu bulgular, yüzey temasından kaynaklanan *C. sakazakii* kontaminasyonunu azaltmak için söz konusu formülün doğal bir dezenfektan olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Bir başka çalışmada turuncgil terpenlerinin etlerde ve gıda ile temas eden yüzeylerde *E. coli* biyofilmlerinin oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Çalışmada paslanmaz çelik, polietilen tereftalat, düşük yoğunluklu polietilen ve kauçuk yüzeylerde oluşan biyofilm hücrelerinde sırasıyla 2,09 log kob/mL 1,95 log kob/mL, 1,94 log kob/mL ve 1,4 log kob/mL azalma sağladığı bulunmuştur. Araştırmada terpenlerin hücre yüzeyinin hidrofobitesini değiştirerek, hücre ATP seviyelerini azaltarak ve planktonik hücrelerin birleşmesini azaltarak biyofilm oluşumunun önleniği belirtilmiştir (Chowdhury vd., 2024).

Tez çalışması ile gül yağı, gül absölütü, elajik asit ve punikalajin örneklerinin gıda endüstrisinde önemli iki patojen olan *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* bakterilerinin paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde biyofilm oluşumu ve biyofilmlerde bulunan canlı hücre sayıları üzerine olumlu etkileri ilk kez ortaya çıkarılmıştır. Örneklerden hazırlanacak doğal formüller ile farklı patojen bakteriler ve farklı yüzeyler üzerinde araştırmalar yapılması gerekmektedir. Örneklerden hazırlanacak doğal dezenfektan formüllerin özellikle endüstride faaliyette olan et, süt, hazır yemek ve bebek maması fabrikaları gibi işletmelerde kullanılabilişliğini ölçmek amacıyla, çeşitli organik kalıntılar içeren yüzeylerde veya direkt işletmelerde kullanılan yüzeylerde çeşitli konsantrasyon, süre ve sıcaklıklardaki etkilerinin araştırılması gerekmektedir. Yüzeylerde yapılacak araştırmalarda örneklerin farklı kombinasyonları kullanılarak (Örneğin; nar ekstraktı-gül absölütü, punikalajin-gül yağı veya gül yağı-gül absölütü-nar ekstraktı vb.) patojenler üzerindeki antibiyofilm ve canlı hücre inaktivasyonu etkinlişinin artırılabilceğı öngörülmektedir.

4.3.5 Örneklerin Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Patojen Bakterilerin Yapısı Üzerine Etkilerinin SEM Görüntüsü Sonuçları

Örneklerin paslanmaz çelik levhalarda patojen bakteriler üzerindeki etkilerini gösteren SEM görüntüleri EK-1’de sunulmuştur. Verilen ilk 14 görüntü örneklerin x2500 oranında büyütülmüş görüntüleridir. Son 5 görüntüde farklı

büyütme oranlarında hücrelerin yapısı ve oluşturduğu biyofilm yapıları sunulmuştur. Görüntüler iki boyutlu olarak incelendiğinden biyofilm matriksi ve yapısı tam olarak görüntülenemese de bir araya gelen hücrelerin biyofilm oluşturmuş halleri ortaya konmuştur. Örnek uygulanmayan kontrol örneklerine ait 7, 14, 15, 17 ve 19 numaralı görüntülerde hücrelerin toplu halde bulunduğu, özellikle *L. monocytogenes*'e ait kontrol örneğinin güçlü bir biyofilm yapısı oluşturduğu farklı büyütme oranlarında (7, 15, 17) ortaya konulmuştur.

Örnek uygulanan yüzeylerde biyofilm oluşumu daha az gerçekleşmiş, hücreler büyük oranda planktonik halde görüntülenmiştir B ekstraktının *L. monocytogenes* biyofilm oluşumu üzerindeki etkisi 16 numaralı görüntüde; *C. sakazakii* üzerindeki etkisi ise 18 numaralı görüntüde gösterilmiştir. Örnekler yalnızca biyofilm yapısında değil canlı hücre sayısında da önemli bir azalmaya neden olmuştur. Bakterilerin örnek uygulanan yüzeylerde birbirine daha az tutunduğu, çoğunlukla serbest halde bulunduğu gözlemlenmiştir.

4.4 *P. aeruginosa* ATCC 27583 Suşunda Bazı Virülens Faktörler Üzerindeki Etkisini Gösteren Analiz Sonuçları

4.4.1 Kayma ve Yüzme Testleri Sonuçları

Tez çalışmasında örneklerin tümünün *P. aeruginosa* ATCC 27583 suşunda kayma ve yüzme hareketini önemli ölçüde azalttığı ortaya konmuştur ($p < 0.05$). Örneklerin kayma hareketini %60-78 arasında inhibe ettiği belirlenmiştir. Örnekler yüzme hareketini ise %37-86 arasında inhibe etmiştir. Her iki hareket üzerinde de en yüksek inhibisyon etkisini B ekstraktı gösterirken, en düşük etkiyi gül yağı örneği göstermiştir.

Kayma hareketi, *P. aeruginosa* ve diğer bakterilerde tanımlanan kamçıya bağlı yüzey hareketlilik biçimidir. Bu hareket sayesinde bakteriler yüzeylere tutunarak koloniler halinde bir araya gelmektedir. Hareket yeteneğine sahip patojenler, hızla değişen ortamlarda karşılaştıkları çeşitli zorluklara daha kolay uyum sağlamaktadır. Kayma ve yüzme hareketinin, bakterinin biyofilm oluşumu ve virülansında önemli rol oynadığı iyi bilinmektedir (Çevikbaş ve Ulusoy, 2023). Kayma ve yüzme hareketini kontrol etmek, yeni stratejilerin geliştirilmesi için önem arz etmektedir.

Yapılan bir çalışmada narın metanol ekstraktının MİK değerinin (9,37 mg/mL) yaklaşık yarısı (5 mg/mL) konsantrasyonda kayma hareketini %66,6 engellediği bulunmuştur (Hamrita vd., 2022). Bizim çalışmamızda MİK/2 değerinde bu oran %62,50 olmuştur.

Başka bir çalışmada gül yağının MİK/2 (1/20) değerinde kayma hareketini %50, yüzme hareketini ise %59 azalttığı bulunmuştur (Bali vd., 2021). Bizim çalışmamızda ise MİK/2 (1/16) değerinde gül yağı kayma hareketini %61, yüzme hareketini %37 engellemiştir. Güncel bir çalışmada ise gül yağının %1 değerinde *P. aeruginosa* PA01 suşunda kayma hareketini %83 oranında engellediği bulunmuştur (Çevikbaş ve Ulusoy, 2023).

Başka bir çalışmada Çin tıbbında önemli bir bitki olan ve kamelya adıyla bilinen *Camellia nitidissima* Chi. çiçeklerinden elde edilen ekstraktta bulunan elajik asidin *P. aeruginosa* PA01 suşunda kayma hareketi, yüzme hareketi ve piyosiyanın üretimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Elajik asidin MİK değeri 0,15 mg/mL olarak bulunmuş ve 0,1 mg/mL değerlerinde kayma hareketini %,60 yüzme hareketini ise %70 civarında engellediği bulunmuştur (Yang vd., 2018). Çalışmamızda elajik asidin 1 mg/mL MİK/2 değerinde kayma hareketini %63, yüzme hareketlerini %61 engellemiştir.

Başka bir çalışmada fenolik bazı bileşenlerin (kafeik asit, vanilik asit, ferulik asit ve sinamik asit) *P. aeruginosa* PA01 kayma hareketi, piyosiyanın üretimi ve biyofilm oluşumunu inhibe ettiği ortaya konulmuştur (Uğurlu vd., 2016). Bir diğer çalışmada fenolik bileşiklerden olan epigallokateşingallatin *P. aeruginosa* üzerinde kayma ve yüzme hareketi, elastaz ve proteaz aktivitesi ile biyofilm oluşumunu inhibe ettiği ve ÇAI ajanı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Hao vd., 2021).

O'May ve Tufenkji (2011), bakteri üremesini engellemeyen miktarlarda punikalajin ve kızılıcık proantosiyanidinlerinin *P. aeruginosa*'da kayma hareketini tamamen yüzme ve titreme hareketlerini kısmen inhibe ettiğini bulmuştur. Çalışmamızda da punikalajinin kayma ve yüzme hareketini sırasıyla %71,84 ve %62,95 oranlarında inhibe ettiği bulunmuştur.

4.4.2 Proteaz Testi Sonuçları

Örneklerin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşu üzerindeki proteolitik aktivitesinin ölçüldüğü proteaz testi sonuçlarına göre tüm örneklerin proteaz enziminin üretimini %50'den fazla azalttığı ve proteaz üretimini önemli ölçüde inhibe ettiği belirlenmiştir ($p<0,05$). En yüksek inhibisyon etkisini %85,60 ile gül yağı, en düşük etkiyi ise %52,67 ile elajik asit göstermiştir. Bir çalışmada narın etanol ekstraktının MİK altı değerlerde proteaz üretimini %58,3 azalttığı bulunmuştur (Elmanama vd., 2017). Bizim araştırmamızda da yakın değerler elde edilmiş, A ekstraktının proteaz üretimi inhibisyonu %62,52 B ekstraktının ise %57,61 olmuştur.

Bir çalışmada narın metanol ekstraktının *P. aeruginosa* PA01 suşunda proteaz üretimini büyük ölçüde engellediği ortaya konulmuştur. İnhibisyon etkisini ölçmek için ekstraktın 0,5-10 mg/mL arasındaki konsantrasyonları hazırlanmış ve 5 farklı konsantrasyonda analizi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar inhibisyon yüzdesinin konsantrasyon arttıkça arttığını, 10 mg/mL'lik örnek kullanıldığında inhibisyonunun yaklaşık %60 olduğunu göstermiştir (Hamrita vd., 2022).

Bir diğer çalışmada gül yağının MİK değerleri altında bir bitki patojeni olan *E. carotovora* bakterisi üzerinde ÇAI etkileri araştırılmış ve proteaz enziminin üretimini inhibe ettiği rapor edilmiştir (Sivri ve Ulusoy, 2018). Ancak bildiğimiz kadarıyla bu çalışma, gül yağı ve gül absolütünün *P. aeruginosa* PA01 suşu üzerinde proteaz üretimini inhibisyon potansiyeli hakkındaki ilk rapordur. Sonuçlar, gül yağı ve gül absolütünün proteaz üretimini oldukça iyi inhibe eden bir ÇA inhibitörü olduğunu göstermiştir.

Karahalile olarak bilinen *Terminalia chebula* Retz. bitkisinden elde edilen elajik asit türevlerinin ÇAI özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada 0.5 mg/mL'lik konsantrasyonunda elajik asidin *P. aeruginosa* PA01 suşunda proteaz üretimini yaklaşık %80 inhibe ettiği rapor edilmiştir (Sarabhai vd., 2013). Çalışmamızda elajik asidin 1 mg/mL'lik konsantrasyonda *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda proteaz üretimini %52 oranında inhibe ettiği bulunmuştur.

Nar kabuğunun en önemli bileşenlerinden olan punikalajinin antimikrobiyal ve antibiyofilm özellikleri ile ilgili çok fazla çalışma olsa da antivirülans ve ÇAI özellikleri ile ilgili olarak çalışmalar sınırlıdır. Literatürde punikalajinin *P.*

aeruginosa suşlarının proteaz aktivitesi veya üretimi üzerine inhibisyon etkisini gösteren çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız ile punikalajinin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun proteaz üretimini %62 oranında inhibe ettiği ve etkili bir ÇAI maddesi olma potansiyeli taşıdığı ortaya konmuştur.

4.4.3 Piyosiyanin Testi Sonuçları

Piyosiyanin üretimi, *P. aeruginosa* suşlarında ÇA sistemi ile düzenlenen önemli virülans özelliklerden biridir. Çalışma bulguları tüm örneklerin piyosiyanin üretimini %38,39-50,54 aralığında ve kontrole kıyasla önemli ölçüde inhibe ettiğini göstermiştir ($p<0.05$). En düşük inhibisyon gül absolütü, en yüksek inhibisyon ise punikalajin örneği ile elde edilmiştir.

eDNA, *P. aeruginosa*'daki biyofilmlerin temel bir bileşenidir ve biyofilm üretimi ve olgunlaşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Piyosiyanin--eDNA kompleksinin hücrenin hidrofobisitesine müdahale ettiği ve olgun biyofilmlerin gelişimini desteklediği belirtilmektedir. Bu nedenle piyosiyanin biyofilm oluşumu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Das vd., 2013; Abdelaziz vd., 2023). Ayrıca Das ve Manefield (2012), piyosiyaninin, karışık biyofilmlerde *P. aeruginosa* ile birlikte bulunan diğer bakteri türlerinde de eDNA'nın salınmasını teşvik edebileceğini ortaya koymuştur.

Narın metanol ekstraktının bileşiminin, antimikrobiyal, antibiyofilm ve anti-QS özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada ekstraktın 5 mg/mL'lik konsantrasyonunun *P. aeruginosa* PA01 suşunda piyosiyanin üretimini tamamen inhibe ettiği bulunmuştur (Hamrita vd., 2022). Çalışmamızda ise *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda piyosiyanin inhibisyonu A ekstraktı (1/8) için %49, B ekstraktı (1/256) için ise %46 olmuştur. Bir diğer çalışmada Elmanama vd. (2017), nar ekstraktının *P. aeruginosa*'nın piyosiyanin üretimini inhibe ettiğini bildirmiştir.

Terminalia chebula Retz. bitkisinden elde edilen elajik asit türevlerinin ÇAI özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada 0,5 mg/mL'lik konsantrasyonunda elajik asidin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda piyosiyanin üretimini yaklaşık %85 oranında inhibe ettiği rapor edilmiştir (Sarabhai vd., 2013).

P. aeruginosa'da IasIR ve RhlIR sistemleri tarafından ortaklaşa düzenlenen bir takım ekspresyonlar sonucunda biyofilm oluşumu meydana gelmektedir. Biyofilm yapısı bakteriyi çeşitli antimikrobiyallere karşı dirençli hale getirmektedir. *P. aeruginosa*'da piyosiyanin ve ramnolipid üretimi RhlIR sistemi

tarafından kontrol edilirken, elastaz ve proteolitik aktiviteler IasIR sistemi tarafından kontrol edilmektedir. (Sarabhai vd., 2013). Tez çalışmasında gül yağı, gül absolütü ve punikalajın örneklerinin *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunda piyosiyanın üretimi inhibisyonu ilk kez araştırılmıştır. Ayrıca ÇAI etkileri araştırılan tüm örneklerin hem proteaz enzimi üretimi hem de piyosiyanın üretimini inhibe ettiği ve IasIR ve RhlIR sistemlerinin her ikisi üzerine de ÇAI etkisine sahip olduğu ortaya konulmuştur.

4.5 Örneklerin *C. violaceum* ATCC 12472 Suşunda Viyolasin İnhibisyonunun Araştırılması

Çalışmamızda örneklerin ÇAI üzerine etkileri *C. violaceum* ATCC 12472 bakterisinin viyolasin üretimi özelliğinden faydalanılarak ölçülmüştür. Örneklerin *C. violaceum* üzerindeki MİK değerleri 2-62,5 mg/mL arasında değişmiştir. Örneklerin MİK/2 konsantrasyonlarda *C. violaceum* ATCC 12472 suşunda viyolasin pigmenti üretimini inhibisyon oranları %35,39-68,32 arasında bulunmuş ve tüm örneklerin viyolasin üretimini önemli ölçüde baskıladığı ortaya konmuştur ($p<0.05$). En yüksek inhibisyon etkisini B ekstraktı gösterirken, en düşük etki elajik asit örneğinde gözlemlenmiştir.

Bir çalışmada gül yağının *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerindeki MİK değeri %0,025 (v/v) olarak bulunmuştur. %0,01 (v/v) konsantrasyondaki gül yağı *C. violaceum* ATCC 12472 suşunun viyolasin üretimini güçlü bir şekilde (%98.04±1.40) inhibe etmiştir (Bali vd., 2021). Başka bir çalışmada ise %0,0025 (v/v) konsantrasyondaki gül yağının *C. violaceum* 026, *C. violaceum* VIR07 ve *C. violaceum* 12472 suşlarında viyolasin üretimini sırasıyla %80, %70 ve %43 oranlarında baskıladığı bulunmuştur (Eriş vd., 2013). Bir diğer çalışmada ise farklı bitkilerden elde edilen esansiyel yağlardan *C. violaceum* CV026 ve *E. coli* ATCC 31298 bakterilerinin ÇA sistemi üzerine inhibitör etkisi yüksek olanların gül, sardunya, lavanta ve biberiye yağları olduğunu belirtmiştir (Szabo vd., 2010).

Gül absolütünün ve en önemli bileşeni olan fenil etil alkolün ÇAI etkilerinin araştırıldığı güncel bir çalışmada (Çevikbaş vd., 2024), gül absolütünün *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerindeki MİK değeri %1 olarak bulunmuştur. %0,5 konsantrasyonda hazırlanan gül absolütü örneğinin viyolasin pigmentini %98,53 oranında oldukça etkili bir şekilde inhibe ettiği belirtilmiştir.

Zhang vd., (2014), *Rosa rugosa* çayından elde ettikleri polifenol içeriği yüksek ekstraktın ÇAI ve antibiyofilm özelliklerini araştırmış ve *C. violaceum* 026 suşunda örneğin viyolasin pigment üretimini %87,56 oranında inhibe ettiğini bulmuştur. Örneğin konsantrasyonu arttıkça viyolasin inhibisyonu da artmıştır.

Çalışmamızda örneklerin *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerindeki MİK değerleri hacim olarak seyreltme şeklinde değil mg/mL olarak belirlenmiştir. Hem gül yağı hem de gül absolütünün MİK değerleri 31,25 mg/mL olarak bulunmuştur. Sonuçlara göre 15,6 mg/mL konsantrasyondaki gül yağının *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerinde viyolasin üretimini %49,08 inhibe ettiği tespit edilmiştir. Gül absolütü için ise bu oran %49,88 olmuştur. Literatürde gül yağı ve gül absolütü örneklerine ait çalışmamızda elde edilen değerlere yakın ya da daha yüksek değerler mevcuttur. Yüksek değerlerin elde edildiği bazı çalışmalarda örneklerin yüksek konsantrasyonlarında (%0,5 gibi) çalışıldığı görülmüştür. Örneklerin elde edilme metotları ve bileşimindeki farklılıkların ÇAI aktiviteleri üzerinde de farklılıklar meydana getirdiği vurgulanmaktadır (Bali vd., 2021). Sonuçlar gül yağı ve gül absolütü örneklerinin *C. violaceum* ATCC 12472 suşu yaklaşık %50 oranında viyolasin pigmenti üretimini inhibe ettiğini ortaya koymuştur.

Bir çalışmada Çin tıbbında önemli olan içerisinde *Punica granatum* (nar) bitkisinin de olduğu bitkilerin ÇAI aktiviteleri araştırılmış ve narın aseton ekstraktının *C. violaceum* CV026 suşunda ÇA sinyallerini inhibe ettiği bulunmuştur (Koh ve Tham, 2011). Başka çalışmalarda da nar kabuğunda bulunan tanninlerin ÇA inhibitörü olarak kullanılabileceği ve gıda patojenlerinde biyofilm oluşumu, kayma hareketi, enzim üretimi gibi virülans faktörlerini düzenleyen genlerin ekspresyonunu zayıflatabileceği bildirilmiştir (Yang vd., 2016; Farha vd., 2020).

Truchado vd. (2012), bazı gıda fitokimyasallarının *C. violaceum*, *Y. enterocolitica* ve *E. carotovora* bakterilerinde ÇAI aktivitesini araştırmıştır. Sonuçlar sinnamealdehit, resveretrol, nar ekstraktı ve elajik asidin *Y. enterocolitica* ve *E. carotovora* bakterilerinde AHL üretimini azalttığını ortaya çıkarmıştır. LC-MS/MS spektrometresi ile yapılan ölçümlerde örneklerin MİK altı konsantrasyonlarının AHL sinyallerinin miktarında azalmaya neden olduğu ortaya konmuştur. Çalışmada bu azalmanın hem sinyal moleküllerinin sentezinin inhibe edilmesi hem de sentezlenen AHL moleküllerinin yıkımıyla gerçekleştiği belirtilmiştir.

Nar kabuğunun bir diğer önemli bileşeni olan punikalajinin ÇAI aktivitesi üzerine yapılan bir çalışmada, söz konusu bileşenin *Salmonella* spp. virülans faktörleri üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği ve MİK değerlerinde ÇAI aktivitesine sahip olduğu belirtilmiştir (Li vd., 2014). Yapılan bazı çalışmalarda nar kabuğunda bulunan bir diğer önemli tanninlerden gallik asidin ÇAI aktivitesine sahip olduğu gösterilmiştir (Borges vd., 2014; Yang vd., 2016).

Qais vd. (2022), güncel bir çalışmada 18 farklı bitkinin ÇAI ve antibiyofilm özelliklerini araştırmış, nar kabuğu metanol ekstraktının *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerinde antimikrobiyal aktivite ve ÇAI etkisi gösterdiğini; antimikrobiyal aktivite zonunun 16 mm, ÇAI zonunun ise 4 mm olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda örneklerin kendisi ile değil MİK/2 konsantrasyonları ile çalışılmıştır. MİK/2 konsantrasyonda A ekstraktının ÇAI zonu 19,7 mm, B ekstraktının ise 23,4 mm olmuştur.

Bir başka çalışmada narın metanol ekstraktının *C. violaceum* ATCC 12472 suşu üzerindeki MİK değeri 4 mg/mL olarak bulunmuş ve MİK altı konsantrasyonlarda ekstraktın *C. violaceum* ATCC 12472 suşunda viyolasin pigmenti üretimini azalttığı bulunmuştur. Örneğin konsantrasyonu azaldıkça viyolasin pigmenti üretiminin daha fazla inhibe edildiği bulunmuştur. MİK/2 değerinde %20,08 olan inhibisyon oranı MİK/32 değerinde %72,05 olarak bulunmuştur (Shukla ve Bhathena, 2016).

Tez çalışmasında nar atığı ekstraktları ve saf bileşenler olan elajik asit ve punikalajinin ÇAI etkileri karşılaştırıldığında B ekstraktı ve punikalajinin ÇAI etkilerinin yüksek olduğu görülmüştür. Elajik asit örneğinin ÇAI aktivitesi diğer örneklerle göre oldukça düşük bulunmuştur. Sonuçlar punikalajinin etkili bir ÇAI olduğunu ve punikalajin açısından zengin nar atığı ekstraktlarının ÇA sistemlerinin inhibisyonunda saf bileşenler yerine kullanılabileceğini göstermiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında endüstriyel meyve suyu ve konsantresi üretiminde ortaya çıkan biyolojik olarak değerli bir atık olan nar posasından elde edilen ekstraktların, nar kabuğunda yüksek oranda bulunduğu bilinen elajik asit ve punikalajin maddelerinin ve ülkemizde yetiştiriciliği yapılan kültürel ve ekonomik açıdan oldukça değerli bir bitki olan *Rosa damascena* M. bitkisinden elde edilen gül yağı ve gül absolütü örneklerinin antimikrobiyal, antibiyofilm ve ÇAI özellikleri incelenmiş ve doğal dezenfektan formüllerinde kullanıma uygun olup olmadıkları araştırılmıştır. Tez çalışmasından elde edilen çıktılara dayanarak aşağıda sıralanan sonuçlara ulaşılmıştır.

1-Nar atıklarından çeşitli çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlardan asit içerenlerin (B ve C) patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin diğerlerine göre daha yüksek olduğu bulunmuş, en yüksek antimikrobiyal etkiyi metanol-asit-su çözücüsü ile elde edilen B ekstraktı göstermiştir. Nar atıklarından elde edilen A, B ve C ekstraktlarının araştırılan tüm patojen bakteriler (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii*) için iyi bir antimikrobiyal ajan olduğu bulunmuştur. Ekstraktlara karşı Gram pozitif bakteriler Gram negatif bakterilerden daha fazla duyarlılık göstermiştir. Çözücü olarak su kullanılan ekstraktın antimikrobiyal etkinliğinin diğerlerine göre düşük olduğu belirlendiğinden antibiyofilm ve ÇAI analizlerinde su ekstraktı kullanılmamıştır. Ancak son çalışmalar, ultrason, enzim uygulaması gibi yenilikçi teknolojilerin kullanıldığı ekstraksiyon yöntemlerinin ekstraktların fenolik madde içeriğini arttırdığını ortaya koymuştur. Yenilikçi teknolojilerden yararlanılarak elde edilen su ekstraktlarının ya da daha az oranda asit ve çözücü kullanılarak hazırlanan ekstraktların patojen bakteriler üzerindeki antibiyofilm ve ÇAI etkilerinin araştırılmasının ekstraksiyon işleminde kimyasal kullanımının ortadan kaldırılması veya en aza indirilmesi bakımından faydalı olacağı önerilmektedir.

2-Gül yağı ve gül absolütü örnekleri araştırılan tüm patojen bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki gösterirken; gül yağının Gram pozitif bakteriler (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*), gül absolütünün ise Gram negatif bakteriler (*E. coli* O157:H7, *P. aeruginosa* ve *C. sakazakii*) üzerinde daha etkili olduğu

bulunmuştur. Gül yağı gül absolütüne göre daha saf ve pahalı bir ekstraktır. Doğal dezenfektan formüllerinde iki ekstraktan belirli oranlarda yapılan karışımların kullanılması ile hem maliyetin azaltılabileceği hem de her iki bakteri grubu üzerindeki antimikrobiyal etkinliğin arttırılabileceği öngörülmüştür. Ayrıca elajik asit ve punikalajin örneklerinin en az 16 mg/mL'lik konsantrasyonlarının araştırılan tüm bakteriler için ölümcül etkiye sahip olduğu bulunmuş olup, bu konsantrasyonlarda veya üzerinde hazırlanan formüllerin 4 bakterinin tümünde antimikrobiyal etki göstereceği bulunmuştur.

3-Tüm örneklerin 96 kuyucuklu mikropalakada araştırılan 4 farklı bakteri üzerinde (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. sakazakii*) biyofilm oluşumunu önleme ve oluşan biyofilmleri giderme kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur. Nar ekstraktları hazırlanırken kullanılan çözücü kombinasyonlarının ekstraktların antibiyofilm etkisinde önemli bir rolü olmadığı belirlenmiştir. B ekstraktının biyofilm oluşumunu önleme ve oluşan biyofilmleri giderme yüzdeleri A ekstraktından yüksek bulunmuştur. Sonuçlar polistren yüzeylerde B ekstraktı ve punikalajin örneklerinin antibiyofilm etkilerinin yüksek olduğunu göstermiştir. Gül yağı ve gül absolütü örneklerinin antibiyofilm etkilerinin yüksek olduğu bulunmuş, özellikle gül absolütünün *C. sakazakii* biyofilmlerini kontrol etmek için etkili bir antibiyofilm ajanı olabileceği değerlendirilmiştir. İki maddenin karışımından oluşan bir formülün tüm bakteriler üzerindeki antibiyofilm etkinliğinin antimikrobiyal etkinliğine benzer şekilde yüksek olabileceği öngörülmektedir.

4-Örneklerin tümünün paslanmaz çelik ve cam yüzeylerde antibiyofilm etkisine sahip olduğu, endüstride en çok kullanılan yüzeylerden olan paslanmaz çelik yüzeylerde gül yağı ve B ekstraktının *L. monocytogenes* ve *C. sakazakii* biyofilmlerini kontrol etme konusunda başarılı olduğu bulunmuştur. Yüzeylerde biyofilm kontrolü amacıyla saf bileşenler olan elajik asit ve punikalajin yerine nar atığı ekstraktlarının kullanımının uygun olabileceği değerlendirilmiştir.

5-Son yıllarda yapılan çalışmalara dayanılarak jel bazlı nanopartikül uygulamaları, çeşitli polimer bazlı nanopartiküllerin kullanımı veya nanoemülsiyon gibi uygulamalarla örneklerin hem çözünürlüğünün hem de patojenler üzerindeki antibiyofilm etkilerinin arttırılabileceği öngörülmektedir. Günümüzde nanoteknolojik dezenfektanların üretimi ve endüstride kullanımı yaygınlık

kazanmıştır. Çeşitli metal (gümüş, çinko vb.) veya organik (karbon, selüloz vb.) nanopartiküllere tutundurulan fenolik maddelerin, esansiyel yağların, diğer antimikrobiyal ajanların kullanıldığı gıdaların, ambalajların ve endüstride kullanılan yüzeylerin üzerinde biyofilm oluşturan bakterilere karşı etkinliğinin yüksek olduğu bildirilmektedir. Çalışmamızda kullanılan tüm örneklerin özellikle uçucu olan gül yağı ve gül absolütü örneklerinin nanoteknolojik yöntemlerle birleştirilerek (nanoemülsiyon vb.) hazırlanacak formüllerinin daha uzun süreler yüzeylerde kalacağı, yüksek çözünürlükte olacağı ve patojen bakteriler üzerinde yüksek bir antibiyofilm etkisi gösterebileceği düşünülmektedir.

5-Kullanılan örneklerin tümü *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *C. violaceum* ATCC 12472 suşları üzerinde ÇAI etkisi göstermiştir. Örneklerin ÇAI etkileri pek çok analizde birbirine yakın değerler olarak bulunmuş; ancak genel olarak bakıldığında B ekstraktı, punikalajin veya gül yağı-gül absolütü karışımı ile hazırlanacak doğal formüllerin ÇAI etkinliğinin yüksek olacağı belirlenmiştir. Çoğu analizde punikalajin içeriği daha yüksek olan B ekstraktı A ekstraktına göre daha yüksek inhibisyon etkisi göstermiştir. Punikalajininde benzer şekilde ÇAI etkisi diğer örneklerle göre yüksek bulunmuştur. Bu sebeple doğal formüllerin hazırlanmasında punikalajin içerikleri yüksek olan ekstraktlarının kullanımının araştırılan bakteriler ve diğer patojenler üzerindeki ÇAI etkisini arttıracak değerlendirilmektedir. Tez çalışmasında nar atıkları kabukların ayrılması zor olduğu için posa halinde kurutulmuştur. Nar kabuklarının ekstraksiyon öncesi mümkünse bazı fiziksel yöntemlerle posadan ayrılması ve yalnızca kabuklarının kullanılmasının ekstraktların punikalajin içeriğini ve ÇAI etkisini arttırılacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında APA atıf sistemi kullanılmıştır.)

- Abdelaziz, A. A., Kamer, A. M. A., Al-Monofy, K. B., & Al-Madboly, L. A. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*'s greenish-blue pigment pyocyanin: its production and biological activities. *Microbial Cell Factories*, 22, 1, 110.
- Abdul Hamid, N. W., & Nadarajah, K. (2022). Microbe Related Chemical Signalling and Its Application in Agriculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 23,16, 8998.
- Abee, T., Kovacs, A.T., Kuipers, O.P., & van der Veen, S. (2011). Biofilm formation and dispersal in Gram-positive bacteria. *Curr Opin Biotechnol*, 22, 172–79.
- Abisado, R. G., Benomar, S., Klaus, J. R., Dandekar, A. A., & Chandler, J. R. (2018). Bacterial Quorum Sensing and Microbial Community Interactions. *mBio*, 9, 3.
- Abraha, A., Bikila, T., Alemu, S., & Muktar, Y. (2017). *Bacillus cereus* Isolation and Load from Raw Cow Milk Sold in Markets of Haramaya District, Eastern Ethiopia. *International Journal of Food Contamination*, 4, 15.
- Arsalan, A., Anwar, Z., Ahmad, I., Shad, Z., & Ahmed, Z. (2013). *Cronobacter sakazakii*: An Emerging Contaminant in Pediatric Infant Formula. *Int. Res. J. Pharm.* 4, 4, 17-22.
- Akarca, G., & Başpınar, E. (2019). Determination of pomegranate peel and seed extracted in different solvents for antimicrobial effect. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 70, 1, 46-53.
- Akoğlu, A. (2023). Gıda Endüstrisinde Mikrobiyal Biyofilmle Mücadele Yöntemleri. 13. Bölüm. Editörler: Karahan Çakmakçı, A.G., Akoğlu, A. Gıda Mikrobiyolojisinde Güncel Konular Prof. Dr. M. Lütfü ÇAKMAKÇI'ya Armağan. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., 1. Basım, XII+376 s., ISBN: 978-625-393-424-8. E-ISBN: 978-625-393-424-5.
- Akram, M., Riaz, M., Munir, N., Akhter, N., Zafar, S., Jabeen, F., ... & Said Khan, F. (2020). Chemical constituents, experimental and clinical pharmacology of *Rosa damascena*: a literature review. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 72, 2, 161-174.
- Aksu, Ö. (2020.) Furanın C30 ve Elajik Asit C11'in *Pseudomonas aeruginosa* Biyofilminin Üzerine İnhibitör Etkisinin Tobramisin'in Etkisiyle Karşılaştırılması. İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Fen Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji A. B. D., Yüksek Lisans Tezi.
- Albayrak C. (2018). Meyve İşleme Sanayi Atığı Ekstraktındaki Doğal Antibiyofilm Ajanların Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi.
- Alina, S.O., Constantinscu, F., & Petruta, C.C. (2015). Biodiversity of *Bacillus subtilis* group and beneficial traits of *Bacillus* species useful in plant protection. *Romanian Biotechnological Letters*, 20, 5, 10737-10750.
- Aljassim, Z. G., Kadhim, H. M., & Al-Mizraqchi, A. S. (2022). Evaluation of antimicrobial activity of ellagic acid on Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*. *International Journal of Health Sciences*, 6 3, 11891–11899.
- Al-Shabib, N. A., Husain, F. M., Ahmed, F., Khan, R. A., Ahmad, I., Alsharaeh, E., ... & Aliev, G. (2016). Biogenic synthesis of Zinc oxide nanostructures from *Nigella sativa* seed: Prospective role as food packaging material inhibiting broad-spectrum quorum sensing and biofilm. *Scientific Reports*, 61, 1, 36761.

- Altuntaş, S., & Korukluoğlu, M. (2018). Gıda işleme tesislerinde *Listeria monocytogenes* ve mücadelede yeni yaklaşımlar. *Gıda*, 43, 1, 101-113.
- Al-Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134:244-248.
- Amin, M., Zain, I-M., Vivi, N-A., Daud, N. M., Najwan, D., & Nabilah, A. S. (2019). Antimicrobial and antibiofilm activities of the methanol extracts of *Rosa damascena* against *S. aureus*, In: Proceedings of 9th Dental Student's Scientific Symposium, Malaysia (Malaysia, 2019), 9th – 10th April 2019, Faculty Dentistry, Universiti Teknologi MARA.
- Andrade, M. A., Lima, V., Silva, A. S., Vilarinho, F., Castilho, M. C., Khwaldia, K., & Ramos, F., (2019). Pomegranate and grape by-products and their active compounds: Are they a valuable source for food applications?, *Trends in Food Science and Technology*, 86, 68-84.
- Arıdoğan, B.C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Özbaşar, D., & Mumcu, E. (2002). Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Archives of Pharmacal Research*, 25,6, 860-864.
- Asad, S., & Opal, S. M. (2008). Bench-to-bedside review: Quorum sensing and the role of cell-to-cell communication during invasive bacterial infection. *Critical Care*, 12, 6, 236.
- Aviram, M., Volkova, N., Coleman, R., Dreher, M., Reddy, M. K., Ferreira, D., Rosenblat, M. 2008. Pomegranate phenolics from the peels, arils, and flowers are antiatherogenic: studies *in vivo* in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient (E-o) mice and *in vitro* in cultured macrophages and upoproteins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1148–1157.
- Aydın, M. (2024). Nar Suyu Üretimi Yan Ürünlerinden Yenilikçi Yöntemler ile Elde Edilen Ekstraktların Nar Suyunun Besinsel Olarak Zenginleştirilmesinde Kullanımı. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Gıda Mühendisliği A. B. D., Doktora Tezi, 167 sf. ,
- Badawy, B., Gwida, M., Sadat, A., El-Toukhy, M., Sayed-Ahmed, M., Alam, N., ... & Elafify, M. (2022). Prevalence and antimicrobial resistance of virulent *Listeria monocytogenes* and *Cronobacter sakazakii* in dairy cattle, the environment, and dried milk with the *in vitro* application of natural alternative control. *Antibiotics*, 11, 8, 1087.
- Bai, A.J., & Rai, V.R. (2011). Bacterial quorum sensing and food industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10: 184-194.
- Bakkiyaraj D., Nandhini J. R., Malathy B., & Pandian S. K. (2013). The anti-biofilm potential of pomegranate (*Punica granatum* L.) extract against human bacterial and fungal pathogens”, *Biofouling*, 29, 8, 929-937.
- Balaban, M. (2018). Meyve Atığı Ekstraktlarının Antibiyofilm Etkilerinin Araştırılması. Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik A.B.D., Yüksek Lisans Tezi, 106 sayfa, Kocaeli.
- Bali E. B., Erdönmez, D., Yavuz, M., Koca, U. (2021). Aromaterapötik gül uçucu yağının bakteriyel quorum sensing ve biyofilm üretimine karşı inhibisyon etkileri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi.*, 51, 3, 245-53.
- Balkan, C. E., Karamese, M., Celebi, D., Aydogdu, S., Dicle, Y., & Calik, Z. (2016). The Determination of the Antibacterial Activities of Rose, Thyme, Centaury and Ozone Oils Against Some Pathogenic Microorganisms. *Kafkas Journal of Medical Sciences*, 6,1, 18-22.
- Ballén, V., Cepas, V., Ratia, C., Gabasa, Y., & Soto, S. M. (2022). Clinical *Escherichia coli*: From Biofilm Formation to New Antibiofilm Strategies. *Microorganisms*, 10, 1103.
- Barriuso, J., Hogan, D. A., Keshavarz, T., & Martinez, M. J. (2018). Role of quorum sensing and chemical communication in fungal biotechnology and pathogenesis. *FEMS Microbiology Reviews*, 42, 5, 627-638.

- Bazargani, M. M., & Rohloff, J. (2016). Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilms. *Food Control*, 61, 156-164.
- Bassler, B. L., & Miller, M. B. (2006). Quorum Sensing, *The Prokaryotes*, Springer, 2, 336-353.
- Başıyigit, B., Hayaloğlu, İ., & Atasoy, F. (2017). Kekik Esansiyel Yağı ve Mikroenkapsülasyon Uygulamaları. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 7-1/2.
- Bhatt, P., Bhatt, K., Huang, Y., Li, J., Wu, S., & Chen, S. (2022). Biofilm formation in xenobiotic-degrading microorganisms. *Critical Reviews in Biotechnology*, 0(0), 1-21.
- Ben-Ali S., Akermi A., Mabrouk M., & Ouederni A., (2018). Optimization of extraction process and chemical characterization of pomegranate peel extract. *Chemical Papers*, 1-14.
- Beuchat, L. R., Kim, H., Gurther, J. B., Lin, L. C., Ryu, J. H., & Richards, G. M. (2009). *Cronobacter sakazakii* in foods and factors affecting its survival, growth, and inactivation. *International Journal of Food Microbiology*, 136, 204–213.
- Bombelli, A., Araya-Cloutier, C., Abee, T., & den Besten, H. M. (2024). Disinfectant efficacy of glabridin against dried and biofilm cells of *Listeria monocytogenes* and the impact of residual organic matter. *Food Research International*, 114613.
- Borges, A., Serra, S., Abreu, A. C., Saavedra, M. J., Salgado, A., & Simoes, M. (2014). Evaluation of the effects of selected phytochemicals on quorum sensing inhibition and in vitro cytotoxicity, *Biofouling*, 30, 2, 183-195.
- Cáceres, M., Hidalgo, W., Stashenko, E., Torres, R., & Ortiz, C. (2020). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Anti-Biofilm and Anti-Quorum Sensing Activities against Pathogenic Bacteria. *Antibiotics*, 9(4), 147.
- Carrascosa, C., Raheem, D., Ramos, F., Saraiva, A., & Raposo, A. (2021). Microbial Biofilms in the Food Industry—A Comprehensive Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 2014.
- Castillo, S., Heredia, N., & García, S. (2015). 2(5H)-Furanone, epigallocatechingallate, and a citric366 based disinfectant disturb quorum-sensing activity and reduce motility and biofilm formation of 367 *Campylobacter jejuni*. *Folia Microbiologica*, 60, 89-95.
- Chang, Y., Xia, S., Fei, P., Feng, H., Fan, F., Liu, Y., ... & Liu, Y. (2023). Houltuynia cordata Thunb. crude extract inactivates *Cronobacter sakazakii*: Antibacterial components, antibacterial mechanism, and application as a natural disinfectant. *Food Control*, 145, 109467.
- Characklis, W. G. (1973). Attached microbial growths – I. Attachment and growth. *Water Res.* 7, 1113–1127.
- Chari, B. (2019). Novel Insights on the Functional Aspects of Quorum Sensing Systems and Its Applications in Medicine, Food Industry, and Agriculture. *Implication of Quorum Sensing and Biofilm Formation in Medicine, Agriculture and Food Industry*, sf. 3-10, Springer Singapore.
- Cheng, C., Xiatong, Y., Liu, B., Jiang, T., Zhou, Z., Guo, F., Zhang, Q., Li, C., & Fang, T. (2022). SdiA Enhanced the Drug Resistance of *Cronobacter sakazakii* and Suppressed Its Motility, Adhesion and Biofilm Formation. *Frontiers in Microbiology*, 6, 13, 901-912.
- Chernin, L.S., Winson, M.K., Thompson, J.M., Haran S., Bycroft B.W., Chet, L., & Williams P., (1998). Chitinolytic activity in *Chromobacterium violaceum*. *Journal of Bacteriology*, 180, 4435-4441.
- Chmielewski, R.A.N., & Frank, J. F. (2003). Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2, 22-32

- Choo, J.H., Rukayadi, Y., & Hwang, J.K. (2006). Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract. *Letters in Applied Microbiology*, 42, 637-41.
- Chowdhury, M. A. H., Ashrafudoulla, M., Mevo, S. I. U., Mahamud, A. S. U., Reem, C. S. A., Ha, A. J. W., & Ha, S. D. (2024). Efficacy of orange terpene against *Escherichia coli* biofilm on beef and food contact surfaces. *Food Research International*, 115204.
- Ćirić, A. D., Petrović, J. D., Glamočlija, J. M., Smiljković, M. S., Nikolić, M. M., Stojković, D. S., & Soković, M. D. (2018). Natural products as biofilm formation antagonists and regulators of quorum sensing functions: A comprehensive review update and future trends. *South African Journal of Botany*, 120, 65-80.
- Clark, D. P., Pazdernik, N. J., & McGehee, M. R. (2019). Chapter 16–regulation of transcription in Prokaryotes. *Molecular Biology (Third Edition)*, *Academic Cell*, 522-59.
- Clarke, M. B., & Sperandio, V. (2005). Transcriptional autoregulation by quorum sensing *Escherichia coli* regulators B and C (QseBC) in enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC): QseBC autoregulation in EHEC. *Molecular Microbiology*, 58, 2, 441-455.
- Corrêa, T., Sousa, F. F. O. D., & Tavares, W. S. Ellagic Acid-Loaded Poly-Methyl Vinyl Ether-Co-Maleic Anhydride (Gantrez®)-Gelatin Sponges for Wound Bandaging: Preparation, Characterization and Ex-Vivo Antibiofilm Activity. Characterization and Ex-Vivo Antibiofilm Activity. https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=4923740 (Erişim Tarihi:11.11.2024).
- Çepni, E., & Gürel, F. (2011). Bitkilerden Elde Edilen Anti-Quorum Sensing Bileşikleri ve Yeni İlaç Geliştirmedeki Potansiyelleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 41, 4, 131-138.
- Çepni, F. E. (2014). Bakteriyel quorum-sensing inhibitörlerinin araştırılması ve biyokimyasal olarak tanımlanması. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 110 sayfa, İstanbul.
- Çevikbaş, H., Ulusoy, S., & Kaya Kinaytürk, N. (2024). Exploring rose absolute and phenylethyl alcohol as novel quorum sensing inhibitors in *Pseudomonas aeruginosa* and *Chromobacterium violaceum*. *Scientific Reports*, 14, 1, 15666.
- Çevikbaş, H., & Ulusoy, S. (2023). Gül (*Rosa damascena* Mill.) Uçucu Yağının *Pseudomonas aeruginosa*'da Biyofilm Oluşumu ve Kayma Hareketi Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda*, 21,4, 367-374.
- Çevikbaş, H. (2021). Gül yağı ve gül absolütün biyolojik özelliklerinin incelenmesi, gül absölüt içeren nanoliflerin üretimi ve karakterizasyonu, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 178 sayfa, Isparta.
- Çevikbaş, H. (2014). Gül yağı bileşiminde bulunan sitrenellol, geraniol ve nerolün çevreyi algılama sisteminin etkisi üzerine araştırılması, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 123 sayfa, Isparta.
- Dahham, S. S., Ali, N., Tabassum, H., & Khan, M. (2010). Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.). *African Journal of Agricultural Science and Technology*, 9, 3, 273-281.
- Dancer, G.I., Mah, J. H., Rhee, M. S., Hwang, I. S., & Kang, D. H. (2009). Resistance of *Enterobacter sakazakii* (*Cronobacter* spp.) to environmental stresses. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1606–1614.
- Danhorn, T., & Fukua, C. (2007). Biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 61:401-422.

- Das, T., Kutty, S. K., Kumar, N., & Manefield, M. (2013). Pyocyanin facilitates extracellular DNA binding to *Pseudomonas aeruginosa* influencing cell surface properties and aggregation. *PloS One*, 8, 3, e58299.
- Das, T., & Manefeld, M. (2012). Pyocyanin promotes extracellular DNA release in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046718>.
- Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., & Güngör, H. (2019). Nar (*Punica granatum* L.) kabuğunun in vitro antidiyabetik, antiinflamatuvar, sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi. *Akademik Gıda*, 17, 1, 61-71. doi: 10.24323/akademik-gida.544647.
- de Souza Tavares, W., Pena, G. R., Martin-Pastor, M., & de Sousa, F. F. O. (2021). Design and characterization of ellagic acid-loaded zein nanoparticles and their effect on the antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Molecular Liquids*, 341, 116915.
- Djomeh, E. Z., Moghaddam, A., Ardakani, & Y.A.S. (2015). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel extract, physical, mechanical, barrier and antimicrobial properties of peel extract-incorporated sodium caseinate film and application in packaging for ground beef. *Packaging Technology and Science*, 28: 869–881.
- Doğangün, E., & Uylaşer, V. (2014). *Cronobacter sakazakii*'nin Gıda Güvenliği Açısından Önemi. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 30, 2, 91-100.
- Doğru, E. (2013). Çeşitli uçucu yağ örneklerinin *Pseudomonas aeruginosa* suşunda çevreyi algılama sistemine etkisinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 82 sayfa, Isparta.
- Dong, Y.-H., Wang, L.-H., Xu, J.-L., Zhang, H.-B., Zhang, X.-F., & Zhang, L.-H. (2001). Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an N-acyl homoserine lactonase. *Nature*, 411, 6389, 813-817.
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8, 9, 881-890.
- Donnelly, C.W. (2001). *Listeria monocytogenes*. In *Guide to Foodborne Pathogens*, pp. 99-132. Edited by R.G. Labb'e and S. Garcia. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Doyle, T. B., Hawkins, A. C., & McCarter, L. L. (2004). The complex flagellar torque generator of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 186, 19, 6341-6350.
- Dördü, T. (2018). Elajik Asitin İnsan Periferik Lenfositlerinde İn Vitro Genotoksik ve Antigenotoksik Etkileri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji A.B.D., Doktora Tezi, Adana, 139 sf.
- Duran, T. (2021) Midye Kabuğu Tozunun Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Oluşan Biyofilm Etkisinin Araştırılması. Sakarya Üniversitesi, Gıda Mühendisliği A. B. D., Yüksek Lisans Tezi, 90 sf.
- Eberhard, A., Burlingame, A. L., Eberhard, C., Kenyon, G. L., Nealson, K. H., & Oppenheimer, N. J. (1981). Structural identification of autoinducer of *Photobacterium fischeri* luciferase. *Biochemistry*, 20, 2444–2449.
- Ehling-Schulz, M., Fricker, M., & Scherer, S. (2004). *Bacillus cereus*, the causative agent of an emetic type of food-borne illness. *Molecular Nutrition and Food Research*, 48, 7, 479-487.
- Ekrikaya, S., Yilmaz, E., Celik, C., Demirbuga, S., Ildiz, N., Demirbas, A., & Ocsoy, I. (2021). Investigation of ellagic acid rich-berry extracts directed silver nanoparticles synthesis and their antimicrobial properties with potential mechanisms towards *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Journal of Biotechnology*, 341, 155-162.
- Elafify, M., Liao, X., Feng, J., Ahn, J., & Ding, T. (2024). Biofilm formation in food industries: Challenges and control strategies for food safety. *Food Research International*, 190, 114650.

- Elhariry, H., Abuzaid, A. A., Khiralla, G. M., & Gherbawy, Y. (2014). Antibiofilm formation and anti-adhesive (to HEP-2 cells) effects of rosemary water extract against some food-related pathogens. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(4), 1132-1141.
- Elmanama, A. A., & Al-Reefi, M. R. (2017). Antimicrobial, anti-biofilm, anti-quorum sensing, antifungal and synergistic effects of some medicinal plants extracts. *IUG Journal of Natural Studies*. 25-198-207.
- Endersen L, Buttimer, C., Nevin, E., Coffey, A., Neve, H., Oliveira, H., Lavigne, R., & O'Mahony, J. (2017). Investigating the biocontrol and anti-biofilm potential of a three phage cocktail against *Cronobacter sakazakii* in different brands of infant formula. *International Journal of Food Microbiology* 253, 1-11.
- Engelbrecht, J., Neilson, K., & Silverman, M. (1983). Bacterial bioluminescence: isolation and genetic analysis of functions from *Vibrio fischeri*. *Cell*, 32, 773–781.
- Engelbrecht, J., & Silverman, M. (1984). Identification of genes and gene products necessary for bacterial bioluminescence. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 81, 4154–4158.
- Erdem, B. (1999). Pseudomonaslar. In: Temel ve klinik mikrobiyoloji. (Editör: Ustaçelebi, Ş.), Gündeş Kitapevi, 551-557, Ankara.
- Erez, Z., Steinberger-Levy, I., Shamir, M., Doron, S., Stokar-Avihail, A., Peleg, Y., Melamed, S., Leavitt, A., Savidor, A., & Albeck, S. (2017). Communication between viruses guides lysis-lysogeny decisions. *Nature*, 541, 488–493.
- Eriş, R., & Ulusoy, S. (2013). Rose, clove, chamomile essential oils and pine turpentine inhibit quorum sensing in *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16:126-35.
- Eriş, R. (2011). Gül yağı (*Rosa damascena* Mill.), absöütü ve gül suyunun *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472, CV026 ve CVIR 07 suşlarının çevreyi algılama sistemleri (quorum sensing) üzerine etkisinin araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 101 sayfa, Isparta.
- Eryaşar Örer, K. (2022). Gıda Kaynaklı Mayalar ile Biyosurfektanların Üretimi ve Fonksiyonel Özelliklerinin Araştırılması. Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A. B. D., Doktora Tezi, 166 sf, Bolu.
- Escobar-Muciño, E., Arenas-Hernández, M. M. P., & Luna-Guevara, M. L. (2022). Mechanisms of Inhibition of Quorum Sensing as an Alternative for the Control of *E. coli* and *Salmonella*. *Microorganisms*, 10,5, 884.
- Essar, D. W., Eberly, L., Hadero, A., & Crawford, I. (1990). Identification and characterization of genes for a second anthranilate synthase in *P. aeruginosa*: interchangeability of the two anthranilate synthases and evolutionary implications. *Journal of Bacteriology*, 172, 884–900.
- Fagerlund, A., Heir, E., Møretø, T., & Langsrud, S. (2020). *Listeria monocytogenes* Biofilm Removal Using Different Commercial Cleaning Agents. *Molecules*, 25, 792.
- Fakruddin, M., Rahaman, M. M., Ahmed, M. M., & Hoque, M. M. (2014). Stress tolerant virulent strains of *Cronobacter sakazakii* from food. *Biological Research*, 47, 63.
- Farber, J. M. & Peterkin, P. I. (2000). *Listeria monocytogenes*. In *The Microbiological Safety of Food*, pp. 1178–1232. Edited by B. M. Lund, T. C. Baird-Parker & G.W. Gould. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers, Inc.
- Farha, A.K., Yang, Q-Q., Kim, G., Li, H-B., Zhu, F., Liu, H-Y., Gan, R-Y., & Corke, H. (2020). Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751.

- Fawole, O.A., Makunga, N.P., & Opara, U.L. (2012). Antibacterial, antioxidant and tyrosinase inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12, 200.
- Federle, M. J., & Bassler, B. L. (2003). Interspecies communication in bacteria. *Journal of Clinical Investigation*, 112, 9, 1291-1299.
- Filik, N. ve Filik, F. (2022). Bacterial Social Engagements: Production and Management of Virulence in Pathogenic Bacteria of Quorum Sensing System (Interbacterial Communication) which was First Noticed in Oceans with Bioluminescence. *International Journal of Environmental Pollution and Environmental Modelling*. 5, 2, 109-116.
- Flemming, H.C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14, 563–575.
- Flemming, H. C., & Wuertz, S. (2019). Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 17, 247–260.
- Fletcher, M. M., & Floodgate, G. D. (1973). An electron microscopic demonstration of an acidic polysaccharide involved in the adhesion of a marine bacterium to solid surfaces. *Journal of General Microbiology*, 74, 325–334.
- Fратиanni, F., Coppola, R., & Nazzaro, F. (2011). Phenolic composition and antimicrobial and antiquorum sensing activity of an ethanolic extract of peels from the apple cultivar Annurca. *Journal of Medicinal Food*, 14, 9, 957-963.
- Freeman, J. A., Lilley, B. N., ve Bassler, B. L. (2000). A genetic analysis of the functions of LuxN: a two-component hybrid sensor kinase that regulates quorum sensing in *Vibrio harveyi*. *Molecular Microbiology*, 35, 139–149.
- Galie, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E.M., Villar, C.J., & Lombó, F. 2018. Biofilms in the food industry: health aspects and control methods. *Frontiers in Microbiology*, 9, 898.
- García-Heredia, A., Orue, N., Heredia, N., & García, S. (2013). Efficacy of citrus-based disinfectants to inhibit growth, swarming, and biofilm formation of *Salmonella* and decontaminate parsley, *Food, Agriculture and Environment*, 11, 1295-1299.
- Geesey, G. G., Mutch, R., & Costerton, J. W. (1978). Sessile bacteria: an important component of the microbial population in small mountain streams. *Limnol. Oceanogr.* 23, 1214–1224.
- Genevaux, P., Muller, S., & Bauda, P. (1996). A rapid screening procedure to identify mini-Tn10 insertion mutants of *Escherichia coli* K-12 with altered adhesion properties. *FEMS Microbiology Letters*, 142, 27–30.
- Genskowsky, E., Puente, L. A., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J., Muñoz, L. A., & Viuda-Martos, M. (2016). Determination of polyphenolic profile, antioxidant activity and antibacterial properties of maqui [*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz] a Chilean blackberry. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96, 12, 4235-4242.
- Giaouris, E., Heir, E., Desvaux, M., Hebraud, M., Moretro, T., Langsrud, S., Doulgeraki, A., Nychas, G. J., Kacaniova, M., Czaczyk, K., Olmez, H., & Simoes, M. 2015. Intra and inter-species interactions within biofilms of important foodborne bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 6, 841.
- Giaouris, E., Heir, E., Hébraud, M., Chorianopoulos, N., Langsrud, S., Møretro, T., ... & Nychas, G. J. (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.

- Gomila, A., Carratala, J., Badia, J.M., Camprubí, D., Piriz, M., Shaw, E., Diaz-Brito, V., Espejo, E., Nicolas, C., & Brugués, M. (2018). Preoperative oral antibiotic prophylaxis reduces *Pseudomonas aeruginosa* surgical site infections after elective colorectal surgery: a multicenter prospective cohort study. *BMC Infect. Dis.* 18, 1–9.
- Gopu, V., Meena, C. K., & Sheety P. H. (2015). Quercetin influences quorum sensing in food borne bacteria: in vitro and in-silico evidence. *Plos One*, 10(8):1-17.
- Gopu, V., Chandran, S., & Shetty, P.H. (2018). Significance and application of Quorum Sensing in Food Microbiology. In: *Quorum Sensing and its Biotechnological Applications*, Kalia, V.C. (ed.), Springer, Singapore, pp. 193-219.
- Gözetici, E. (2017). Esansiyel yağ bileşenlerinin *E. coli* ve *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyel aktivitesi. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Yüksek Lisans Tezi, 84 sf, Bolu.
- Grande, K. K., Gustin, J. K., Kesler, E., & Ohman, D. E. (2007). Identification of critical residues in the propeptide of LasA protease of *Pseudomonas aeruginosa* involved in the formation of a stable mature protease. *Journal of Bacteriology*, 189, 11, 3960-3968.
- Grimm, M., R. Stephan, C. Iversen, G.G.G. Manzardo, T. Rattei, K. Riedel, A. Ruepp, & D. Frishman. (2008). Cellulose as an extracellular matrix component present in *Enterobacter sakazakii* biofilms. *Journal of Food Protection*, 71: 13–18.
- Gupta, P., Sarkar, S., Das, B., Bhattacharjee, S., & Tribedi, P. (2016). Biofilm, pathogenesis and prevention—a journey to break the wall: A review. *Archives of Microbiology*, 198, 1, 1-15.
- Guzzo, J., Pages, J.M., Duong, F., Lazdunski, A., & Murgier, M. (1991). *Pseudomonas aeruginosa* Alkaline Protease, Evidence for Secretion Genes And Study Of Secretion Mechanism. *Journal Bacteriology*, 173, 5290-5297.
- Gülgör G., & Korukluoğlu, M. (2014). Mikroorganizmalar arasında çoğunluk algılanması (quorum sensing). *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2):83-92.
- Gülhan, G. (2021). Tetra bitkisinin (*Cotinus coggygria*) antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi ve gıda işletmelerinde kullanılan yüzeylerde oluşan biyofilm üzerine etkisinin incelenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 90 s.
- Gün, İ., & Ekinci, F.Y. (2009). Biyofilmler: Yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *Gıda*, 34, 3, 165-173.
- Gündüz, G.T., & Vurmaz, A.K. (2021). Çoğunluk algılama mekanizmasının inhibisyonunda bitkisel materyallerin kullanımı. *Gıda*, 46, 2, 256-268.
- Gürbüz, E. (2019). Çeşitli Bitkisel Bileşiklerin Biyofilm Oluşumunu Önleme Özelliklerinin Araştırılması. Eskişehir Teknik Üniversitesi. Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Genel Biyoloji A. B. D., Yüksek Lisans Tezi, 85 sf, Eskişehir.
- Halkman, K. (2019). Gıda Mikrobiyolojisi Ders Notları. http://food.eng.ankara.edu.tr/wp-content/uploads/sites/256/2019/02/G%C4%B1da_mik_2_GDM310.pdf (Erişim Tarihi:28.10.2024).
- Halla., B., Kılınççeker, O., & Acar, Z. (2010). Siirt'te Yetişen Zivzik Narlarından Elde Edilen Kabukların Bazı Gıda Patojenlerine Karşı Antimikrobiyal Etkilerinin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 27, 3, 695-703.
- Hamrita B., Noumi, E., Hafi, F., Nazzaro, F., & Snoussi, M. (2022). Phytochemical composition and antimicrobial, and anti-quorum sensing activities of *Punica granatum* L. methanolic extract. *Iranian Journal of Micobiology*, 14, 3, 373-382.

- Hao, S., Yang, D., Zhao, L., Shi, F., Ye, G., Fu, H., ... & Tang, H. (2021). EGCG-mediated potential inhibition of biofilm development and quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4946.
- Hayrapetyan, H., Hazeleger, W. C., & Beumer, R. R. (2012). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. *Food Control*, 23(1), 66-72.
- Houdt, R. V., & Michiels, C. W. (2010). Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *Journal of Applied Microbiology*, 109:1117-1131.
- Howell, A. B., & D'Souza, D. H. (2013). The pomegranate: Effects on bacteria and viruses that influence human health. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 616212, 1-11.
- Husain, F. M., Ahmad, I., Al-Thubiani, A. S., Abulreesh, H. H., AlHazza, I. M., & Aqil, F. (2017). Leaf extracts of *Mangifera indica* L. inhibit quorum sensing-regulated production of virulence factors and biofilm in test bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8, 727.
- Ivanova, A., Ivanova, K., & Tzanov, T. (2018). Chapter 1: Inhibition of Quorum-Sensing: A New Paradigm in Controlling Bacterial Virulence and Biofilm Formation. *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*. Edited by: Vipin Chandra Kalia, Springer Nature Singapore Pte Ltd., 473 sf.
- Iversen, C., Lane, C. M., & Forsythe, S. (2004). The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Letters in Applied Microbiology*, 38, 378-382.
- İnat, G., Sırken, B., Başkan, C., Erol, R., Yıldırım, T., & Çiftci, A. (2021). Quorum sensing systems and related virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from chicken meat and ground beef. *Scientific Reports*, 11, 1.
- İpek, D. (2017). Ezine Peyniri Üretim Hattında Dezenfeksiyonun Yeni Dezenfektan Formüller ile Yapılabilirliği, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 166 sayfa, Çanakkale.
- Jafari-Sales, A., Jafari, B., Khaneshpour, H., & Pashazadeh, M. (2020). Antibacterial Effect of Methanolic Extract of *Rosa damascena* on Standard Bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in Vitro. *International Journal of Nature and Life Sciences*, 4,1, 40-46.
- Jaradat, Z.W., Al Mousa, W., Elbetieha, A., Al Nabulsi A., & Tall, B. D. (2014). *Cronobacter* spp. – opportunistic food-borne pathogens. A review of their virulence and environmental-adaptive traits. *Journal of Medical Microbiology*, 63, 1023–1037.
- Justo, Z. G., & Duran, N. (2017). Action and function of *Chromobacterium violaceum* health and disease: Violacein as a promising metabolite to counteract gastroenterological diseases. *Best Practise & Research Clinical Gastroenterology*, 31, 6, 649-656.
- Kadam, S. R., den Besten, H. M., van der Veen, S., Zwietering, M. H., Moezelaar, R., & Abee, T. (2013). Diversity assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation: Impact of growth condition, serotype and strain origin. *International Journal of Food Microbiology*, 165, 3, 259-264.
- Kahveci, Z. M. (2022). Nar Kabuğundan Enzim ve Ultrason Destekli Ekstraksiyon Yöntemi ile Fenolik Madde ve Pektin Elde Edilmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A. B. D., Yüksek Lisans Tezi, 53 sf.
- Kalia, V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors: An overview. *Biotechnology Advances*, 31, 2, 224-245.

- Kalkan, S., & Halkman, K. (2006). *Bacillus cereus* ve İçme Sütünde Oluşturduğu Sorunlar. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 4, 1, 1-11.
- Kalpar, E. (2019). Meyve Kabuğu Ekstraktlarının Antimikrobiyel ve Antibiyofilm Etkilerinin Araştırılması. Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik A.B.D., Yüksek Lisans Tezi, 84 sayfa, Kocaeli.
- Kameswaran, S., Gujjala, S., Zhang, S., Kondeti, S., Mahalingam, S., Bangeppagari, M., & Bellamkonda, R. (2024). Quenching and quorum sensing in bacterial bio-films. *Research in Microbiology*, 175 (3):104085.
- Kaplan, H.B., & Greenberg, E.P. (1985). Diffusion of autoinducer is involved in regulation of the *Vibrio fischeri* luminescence system. *Journal of Bacteriology*, 163, 1210-1214.
- Karaboz, İ., & Sukatar, A. (2004). Bakterilerde Sosyal Davranışlar. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 2, 5: 23-32.
- Karimi, M., Sadeghi, R., & Kokini, J. (2017). Pomegranate as a promising opportunity in medicine and nanotechnology. *Trends in Food Science and Technology*, 69, 59–73.
- Karlsson, T., Turkina, M. V., Yakymenko, O., Magnusson, K.-E., & Vikström, E. (2012). The *Pseudomonas aeruginosa* N-Acylhomoserine Lactone Quorum Sensing Molecules Target IQGAP1 and Modulate Epithelial Cell Migration. *PLoS Pathogens*, 8, 10, e1002953.
- Kaya, F. (2016). Süt İşletmelerinden İzole Edilen *Staphylococcus aureus* Suşlarında *icaA* ve *icaD* Genleri ve Biyofilm Üretiminin Tespiti. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik A.B.D., Yüksek Lisans Tezi, Konya, 51 sf.
- Kaya, İ. B., & Yardımcı, H. (2014). Quorum Sensing. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 2014, 25, 1, 25-31.
- Kessler, E., Safrin, M., Gustin, J. K., & Ohman, D. E. (1997). Elastase and the LasA protease of *Pseudomonas aeruginosa* are secreted with their propeptides. *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 46, 30225-30233.
- Khan, M. S. A., Zahin, M., Hasan, S., Husain, F. M., & Ahmad, I. (2009). Inhibition of quorum sensing regulated bacterial functions by plant essential oils with special reference to clove oil. *Letters in Applied Microbiology*, 49, 3, 354-360.
- Khan J.A., & Hane, S. (2011). Antibacterial properties of *Punica granatum* peels. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 23, 2, 23-27.
- Khan, D.M., Manzoor, M.A., Rao, I.V., & Moosabba, M.S. (2019). Evaluation of biofilm formation, cell surface hydrophobicity and gelatinase activity in *Acinetobacter baumannii* strains isolated from patients of diabetic and non-diabetic foot ulcer infection. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18, 101007.
- Kıran, F., Akoğlu, A., & Çakır, İ. (2021). Control of *Listeria monocytogenes* biofilm on industrial surfaces by cell-free extracts of *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45, 1, e15042.
- Kim, S.-R., & Yeon, K.-M. (2018). Quorum Sensing as Language of Chemical Signals. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 81, 57-94. Elsevier.
- Kim, U., & Oh, S.-W. (2024). Antimicrobial resistance induction potential of grapefruit seed extract on multi-species biofilm of *E. coli* in food industry. *International Journal of Food Microbiology*, 424, 110849.
- Kleerebezem, M., Quadri, L.E.N., Kuipers, O.P., & de Vos, W.M. (1997). Quorum sensing by peptide pheromones and two component signal transduction systems in Gram positive bacteria. *Molecular Microbiology*, 24, 5, 895-904.

- Koh, K. H., & Tham, F. Y. (2011). Screening of traditional Chinese medicinal plants for quorum-sensing inhibitors activity. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*, 44, 2, 144–148.
- Kumar, N. V., Murthy, P. S., Manjunatha, J. R., & Bettadaiah, B. K. (2014). Synthesis and quorum sensing inhibitory activity of key phenolic compounds of ginger and their derivatives. *Food Chemistry*, 159, 451-457.
- Küçükata, Y. Ş., Yetim, H., Metin, B. (2024). Et ve et ürünlerinde *Pseudomonas* biyoçeşitliliği, bozucu özellikleri, biyofilm üretimi ve çoğunluk algılama (quorum sensing) sistemi. *GIDA*, 49, 4, 607-623.
- Küçükiğci, C. B. (2013). Çevreyi Algılama Sistemi İnhibitörü Olarak Tasarlanan De Novo Moleküllerin *Pseudomonas aeruginosa*'nın Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisinin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 69 sf.
- Lee, J.H., Kim, Y.G., Ryu, S.Y., Cho, M.H., & Lee, J. (2014). Ginkgolic Acids and Ginkgo Biloba Extract Inhibit *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation. *International Journal of Food Microbiology*, 174, 47–55.
- Lee, J.H., Regmi, S.C., Kim, J.A., Cho, M.H., Yun, H., Lee, C.S., & Lee, J. (2011). Apple Flavonoid Phloretin Inhibits *Escherichia coli* O157:H7 Biofilm Formation and Ameliorates Colon Inflammation in Rats. *Infection and Immunity*. 2011, 79, 4819–4827.
- Lejeune, P. (2003). Contamination of abiotic surfaces: What a colonizing bacterium sees and how to blur it. *Trends in Microbiology*, 11, 4, 179-184.
- Lencova, S., Zdenkova, K., Demnerova, K., & Stiborov, H. (2022). Short communication: Antibacterial and antibiofilm effect of natural substances and their mixtures over *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *LWT- Food Science and Technology*, 154, 112777.
- Leoni, L., & Rampioni, G. (2018). Preface. Quorum Sensing: Methods and Protocols. Humana Press, USA, 391 sf.
- Li, G., Xu, Y., Pan, L., & Xia, X. (2020). Punicalagin Damages the Membrane of *Salmonella Typhimurium*. *Journal of Food Protection*, 83, 12, 2102–2106.
- Li, T., Wang, D., Liu, N., Ma, Y., Ding, T., Mei, Y., & Li, J. (2018). Inhibition of quorum sensing-controlled virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* by cinnamaldehyde. *International Journal of Food Microbiology*, 269, 98-106.
- Li, G., Yan, C., Xu, Y., Feng, Y., Wu, Q., Lv, X., ... & Xia, X. (2014a). Punicalagin Inhibits *Salmonella* Virulence Factors and Has Anti-Quorum-Sensing Potential. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 19, 6204–6211.
- Li, G., Xu, Y., Wang, X., Zhang, B., Shi, C., Zhang, W., & Xia, X. (2014b). Tannin-rich fraction from pomegranate rind damages membrane of *Listeria monocytogenes*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11, 4, 313-319.
- Liao, C. H. (2006). *Pseudomonas* and related genera. *Food Spoilage Microorganisms*, 507–540.
- Ling, N., Forsythe, S., Qinpeng, W., Ding, Y., Zhang, J., & Zheng, H. (2020). Insights into *Cronobacter sakazakii* Biofilm Formation and Control Strategies in the Food Industry. *Engineering*, 6, 393-405.
- Liu, H., Zhu, W., Zou, Y., & Xia, X. (2024). Antimicrobial Activity and Mechanisms of Punicalagin against *Vibrio parahaemolyticus*. *Foods*, 13, 9, 1366.

- Liu, X., Yao, H., Zhao, X., & Ge, C. (2023). Biofilm Formation and Control of Foodborne Pathogenic Bacteria. *Molecules*, 28, 6, 2432.
- Liu, Y., Yan, Y., Dong, P., Ni, L., Luo, X., Zhang, Y., & Zhu, L. (2022). Inhibitory effects of clove and oregano essential oils on biofilm formation of *Salmonella* Derby isolated from beef processing plant. *LWT- Food Science and Technology*, 162, 113486.
- Liu, H., Zhu, W., Cao, Y., Gao, J., Jin, T., Qin, N., & Xia, X. (2022). Punicalagin inhibits biofilm formation and virulence gene expression of *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control*, 139, 109045.
- Luciardi, M. C., Blázquez, M. A., Alberto, M. R., Cartagena, E., & Arena, M. E. (2020). Grapefruit essential oils inhibit quorum sensing of *Pseudomonas aeruginosa*. *Food Science and Technology International = Ciencia Y Tecnologia De Los Alimentos Internacional*, 26, 3, 231-241.
- Lyon, G. J., & Novick, R. P. (2004). Peptide signaling in *Staphylococcus aureus* and other Gram-positive bacteria. *Peptides*, 25, 9, 1389-1403.
- Machado, I., Silva, L. R., Giaouris, E. D., Melo, L. F., & Simões, M. (2020). Quorum sensing in food spoilage and natural-based strategies for its inhibition. *Food Research International*, 127, 108754.
- Mahros, M. A, Abd-Elghany, S. M., Sallam, K. I., (2021). Multidrug-methicillin- and vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from ready to eat meat sandwiches: An on going food and public health concern. *International Journal of Food Microbiology*, 346, 109165.
- Maier, R. M., & Soberon-Chavez, G. (2000). *P. aeruginosa* rhamnolipids: Biosynthesis and potential applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 54, 625-633.
- Majdura, J., Jankiewicz, U., Gałazka, A., & Orzechowski, S. (2023). The Role of Quorum Sensing Molecules in Bacterial–Plant Interactions. *Metabolites*, 13, 1, 1.
- Majik, M. S., Gawas, U. B., & Mandrekar, V. K. (2020). Next generation quorum sensing inhibitors: Accounts on structure activity relationship studies and biological activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 28, 21, 115728.
- Melander, R. J., Basak, A. K., & Melander, C. (2020). Natural products as inspiration for the development of bacterial antibiofilm agents. *Natural Product Reports*, 37, 11, 1454-1477.
- Malloy, J. L., Veldhuizen, R. A. W., Thibodeaux, B. A., O'Callaghan, R. J., & Wright, J. R. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* protease IV degrades surfactant proteins and inhibits surfactant host defense and biophysical functions. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 288, 409-418.
- Man, G., Yang, D., Xu, L., Rao, L., & Liao, X. (2024). The bactericidal effect of punicalagin concentrations, high pressure conditions and their combination on *Escherichia coli* O157:H7. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 96, 103777.
- Marouani-Gadri, N., Chassaing, D., & Carpentier, B. (2009). Comparative evaluation of biofilm formation and tolerance to a chemical shock of pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* O157:H7 strains. *Journal of Food Protection*, 72, 157–164.
- Marshall K. C., Stout, R., & Mitchell R. (1971). Mechanisms of the initial events in the sorption of marine bacteria to surfaces. *Journal of General Microbiology*, 68, 337-348.
- Matsumoto, K. (2004). Role of bacterial proteases in pseudomonal and serratial keratitis. *Biological Chemistry*, 385,11, 1007–1016.

- McClellan, K.H., Winson, M.K., Fish, L., Taylor, A., Chhabra, S.R., Camara, M., Daykin, M., Lamb, J.H., Swift, S., Bycroft, B.W., Stewart, G.S.A.B., & Williams, P. (1997). Quorum sensing and *Chromobacterium violaceum*: exploitation of violacein production for the detection of N-acylhomoserine lactones. *Microbiology*, 143, 3703-3711.
- Medina-Rodríguez, A. C., Ávila-Sierra, A., Ariza, J. J., Guillamón, E., Baños-Arjona, A., Vicaria, J. M., & Jurado, E. (2020). Clean-in-place disinfection of dual-species biofilm (*Listeria* and *Pseudomonas*) by a green antibacterial product made from citrus extract. *Food Control*, 107422. doi:10.1016/j.foodcont.2020.107422.
- Miller, B.M., & Bassler, L.B. (2001). Quorum Sensing in Bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 55, 165–99.
- Mohapatra, S., Yutao, L., Goh, S. G., Ng, C., Luhua, Y., Tran, N. H., & Gin, K. Y. H. (2023). Quaternary ammonium compounds of emerging concern: Classification, occurrence, fate, toxicity and antimicrobial resistance. *Journal of Hazardous Materials*, 445, 130393.
- Monnet, V., Juillard, V., & Gardan, R. (2016). Peptide conversations in Gram-positive bacteria. *Critical Reviews in Microbiology* 42:339–351.
- Møretrø, T., & Langsrud, S. (2004). *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. *Biofilms*, 1, 107-121.
- 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.
- Nahar, S., Mizan, Md. F. R., Ha, A. J., & Ha, S.-D. (2018). Advances and Future Prospects of Enzyme-Based Biofilm Prevention Approaches in the Food Industry. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 6, 1484-1502.
- Naik, M. M., Bhangui, P., & Bhat, C. (2017). The first report on *Listeria monocytogenes* producing siderophores and responds positively to N-acyl homoserine lactone (AHL) molecules by enhanced biofilm formation. *Archives of Microbiology*, 199, 10, 1409-1415.
- Nayak, S. P. R. R., Boopathi, S., Priya, P. S., Pasupuleti, M., Pachaiappan, R., Almutairi, B. O., Arockiaraj, S., & Arockiaraj, J. (2023). Luteolin, a promising quorum quencher mitigates virulence factors production in *Pseudomonas aeruginosa*-in vitro and in vivo approach. *Microbial Pathogenesis*, 180, 106123.
- Narendrakumar, L., Das, B., Paramasivan, B., Rasu, J., & Thomas, S. (2018). Quorum Quenching and Biofilm Inhibition: Alternative Imminent Strategies to Control the Disease Cholera. İçinde: V. C. Kalia (Ed.), *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors* (ss. 63-85). Springer Singapore.
- Nazir, I., Rabbani, M., Sheikh, A. A., Firyal, S., Raza, S., & Riaz, M. I. (2021). Antibacterial activity of medicinal flowers against multi drug resistant *E. coli*. *Pakistan Veterinary Journal*, 41,1, 166-168.
- Nealson, K. H., Platt, T., & Hastings, J. W. (1970). Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *Journal of Bacteriology*, 104, 313–322.
- Nealson, K. H., & Hastings, J. W. (1979). Bacterial bioluminescence: Its control and ecological significance. *Microbiological Reviews*, 43, 4, 496-518.
- Ng, W. L., & Bassler, B.L. (2009). Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annual Review of Genetics*, 43, 197-222.
- Nostro, A., Guerrini, A., Marino, A., Tacchini, M., Di Giulio, M., Grandini, A., ... & Saraçoğlu, H. T. (2016). In vitro activity of plant extracts against biofilm-producing food-related bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 238, 33-39.

- Novick, R. P. (2003). Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence: Regulation of staphylococcus virulence. *Molecular Microbiology*, 48, 6, 1429-1449.
- Okumuş, G., Yıldız, E., & Akpınar-Bayizit, A. (2015). Doğal Antioksidan Bileşikler: Nar Yan Ürünlerinin Antioksidan Olarak Değerlendirilmesi. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29, 2, 203-214.
- Okumuş, G. (2016). Nar (*Punica granatum* L.) Kabuk ve Çekirdeklerinin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi, Gıda Mühendisliği A.B.D., Yüksek Lisans Tezi, Bursa, 121 sf.
- Oliveira, M. M. M., Brugnera, D. F., das Graças Cardoso, M., Alves, E., & Piccoli, R. H. (2010). Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. *Food Control*, 21, 549-553.
- Omar, A., Wright, J. B., Schultz, G., Burrell, R., & Nadworny, P. (2017). Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms*, 5, 1, 9.
- Önbaş, T., Öztürk Oruç, S., & Çakır, İ. (2023). Gıda Mikrobiyolojisinde Quorum Sensing: Güncel Uygulamalar ve Yeni Yaklaşımlar. 6. Bölüm. Editörler: Karahan Çakmakçı, A.G., Akoğlu, A. Gıda Mikrobiyolojisinde Güncel Konular Prof. Dr. M. Lütfü ÇAKMAKÇI'ya Armağan. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., 1. Basım, XII+376 s., ISBN: 978-625-393-424-8. E-ISBN: 978-625-393-424-5.
- Önbaş, T. (2017). Trüf Mantarı Bileşiminin, Trüf Mantarı ve Rizosfer Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antikanserojen Etkilerinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A. B. D., Yüksek Lisans Tezi, 165 sf, Ankara.
- Öztürk Oruç, S., Kavas, Ö., & Çakır, İ. (2023). Gıda Mikrobiyolojisinde Quorum Quenching: Güncel Uygulamalar ve Yeni Yaklaşımlar. 5. Bölüm. Editörler: Karahan Çakmakçı, A.G., Akoğlu, A. Gıda Mikrobiyolojisinde Güncel Konular Prof. Dr. M. Lütfü ÇAKMAKÇI'ya Armağan. Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., 1. Basım, XII+376 s., ISBN: 978-625-393-424-8. E-ISBN: 978-625-393-424-5.
- Padder, S. A., Prasad, R., & Shah, A. H. (2018). Quorum sensing: a less known mode of communication among fungi. *Microbiology Research*, 210, 51-58.
- Papenfort, K., & Bassler, B. L. (2016). Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. *Nature*, 14, 576-588.
- Prathyusha, A., Annavarapu, H., & Chari, B. (2019). Methods for the Detection and Quantification of Quorum-Sensing Signals in Food Spoilage. İçinde P. V. Bramhachari (Ed.), *Implication of Quorum Sensing and Biofilm Formation in Medicine, Agriculture and Food Industry*, sp 251-267, Springer Singapore.
- Passador, L., Cook, J.M., Gambello, M.J., Rust, L., & Iglewski, B.H. (1993). Expression of *Pseudomonas aeruginosa* Virulence Genes Requires Cell-To-Cell Communication. *Science*, 260, 1127-1130.
- Pavithra, D., & Doble, M. (2008). Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants—Issues and prevention. *Biomedical Materials*, 3, 3, 034003.
- Prabhu, M. S., Walawalkar, Y. D., & Furtado, I. (2014). Purification and molecular and biological characterisation of the 1-hydroxyphenazine, produced by an environmental strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 12, 3091-3099.
- Quave, C.L., Plano, L.W.R., & Bennett, B.C. (2010). Quorum sensing inhibitors for MRSA from Italian medicinal plants. *Planta Medica*, 76, 1–8.

- Quecán, B. X. V., Rivera, M. L. C., & Pinto, U. M. (2018). Bioactive Phytochemicals Targeting Microbial Activities Mediated by Quorum Sensing. İçinde V. C. Kalia (Ed.), *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors* (ss. 397-416)
- Rahman, M. R. T., Lou, Z., Zhang, J., Yu, F., Timilsena, Y. P., Zhang, C., Zhang, Y., & Bakry, A. M. (2017). Star Anise (*Illicium verum* Hook. f.) as Quorum Sensing and Biofilm Formation Inhibitor on Foodborne Bacteria: Study in Milk. *Journal of Food Protection*, 80(4), 645-653.
- Ramawat K. G., &Merillon J. M., (2019). Pomegranate Bioactive Molecules and Health Benefits. Bioactive Molecules in Food. Switzerland. *Springer*. 1253-1270. Switzerland. ISBN 978-3-319-78029-0.
- Ramdan, B., Mrid, R. B., Ramdan, R., El Karbane, M., & Nhiri, M. (2021). Promising effects of *Rosa damacena* petal extracts as antioxidants and antibacterial agents, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 34, 1, 1-8.
- Ra'oof W. M., & Latif I. A. R. (2010). *In vitro* study of the swarming phenomena and antimicrobial activity of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different human infections. *European Journal of Scientific Research*, 47, 3, 405-421.
- Rashid, M. H., & Kornberg, A. (2000). Inorganic polyphosphate is needed for swimming, swarming and twitching motilities of *P. aeruginosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 97, 4885-4890.
- Rasmussen, T. B., & Givskov, M. (2006). Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *International Journal of Medical Microbiology*, 296(2-3), 149-161
- Rather, M. A., Gupta, K., Bardhan, P., Borah, M., Sarkar, A., Eldiehy, K. S. H., ... & Mandal, M. (2021). Microbial biofilm: A matter of grave concern for human health and food industry. *Journal of Basic Microbiology*, 61, 380-395.
- Reddy, L. V., Wee, Y. J., Reddy, L. P. A., & Bramhachari, P. V. (2019). *Bacterial Quorum Sensing: Challenges and Prospects in Food Microbiology*. 221-249.
- Reich, F., König, R., Von Wiese, W., & Klein, G. (2010). Prevalence of *Cronobacter* spp. in a powdered infant formula processing environment. *International Journal of Food Microbiology*, 140, 2, 214-217.
- Ríos, J. L., Giner, R. M., Marín, M., & Recio, M. C. (2018). A pharmacological update of ellagic acid. *Planta Medica*, 84, 15, 1068-1093.
- Rochelle, S. L. de A., Sardi, J. de C. O., Freires, I. A., Galvão, L. C. de C., Lazarini, J. G., de Alencar, S. M., & Rosalen, P. L. (2016). The anti-biofilm potential of commonly discarded agro-industrial residues against opportunistic pathogens. *Industrial Crops and Products*, 87, 150-160.
- Roy, R., Tiwari, M., Donelli, G., & Tiwari, V. (2017). Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*, 9, 1, 522-554.
- Roux, A., Todd, D. A., Velázquez, J. V., Cech, N. B., & Sonenshein, A. L. (2014). CodY-Mediated Regulation of the *Staphylococcus aureus* Agr System Integrates Nutritional and Population Density Signals. *Journal of Bacteriology*, 196, 6, 1184-1196.
- Ruhal, R., & Kataria, R. (2021). Biofilm patterns in gram-positive and gram-negative bacteria. *Microbiological Research*, 251, 126829.
- Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial Quorum Sensing: Its Role in Virulence and Possibilities for Its Control. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2, 11, a012427-a012427.

- Sadeghzadeh, R., Rafieion, F., Keshani, M., Salehi, Z., & Jafari, S. M. (2024). Novel Strategies to Control the Biofilm Formation by *Pseudomonas aeruginosa* in the Food Industry. *Future Foods*, 10, 100481.
- Qais, F. A., & Ahmad, I. (2022). Anti-quorum sensing and biofilm inhibitory effect of some medicinal plants against gram-negative bacterial pathogens: In vitro and in silico investigations. *Heliyon*, 8(10).
- Sarabhai, S., Sharma, P., & Capalash, N. (2013). Ellagic acid derivatives from *Terminalia chebula* Retz. downregulate the expression of quorum sensing genes to attenuate *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 virulence. *PLoS One*, 8, 1, e53441.
- Sala, C., Morar, A., Colibar, O., & Morvay, A. (2012). Antibiotic resistance of gram negative bacteria isolated from meat surface biofilm. *Romanian Biotechnology Letters*, 17, 4, 7483-7492.
- Salim, A., Deiana, P., Fancello, F., Molinu, M. G., Santona, M., & Zara, S. (2023). Antimicrobial and antibiofilm activities of pomegranate peel phenolic compounds: Varietal screening through a multivariate approach. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 8, 2, 146-161.
- Santos, C. A., Lima, E. M. F., Franco, B. D. G. de M., & Pinto, U. M. (2021). Exploring Phenolic Compounds as Quorum Sensing Inhibitors in Foodborne Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 12, 735931.
- Schlech, W.F. (2000). Foodborne Listeriosis. *Clinical Infectious Diseases*, 31: 770-5.
- Schuster, M., Sextan, D. J., Diggle, S. P., & Greenberg, E.P. (2013). Acyl-homoserine lactone quorum sensing: from evolution to application. *Annual Review of Microbiology*, 67, 43-63.
- Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S. D., Schwartz, S. A., Bruggemann, L., & Aalinkel, R. (2023). Microbial biofilm: a review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment. *Microorganisms*, 11, 6, 1614.
- Seçer, S. (2012). In vitro screening for natural quorum sensing inhibitor molecules. Yeditepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 81 syf.
- Seed, P. C., Passador, L., & Iglewski, B. H. (1995). Activation of the *Pseudomonas aeruginosa* lasI gene by LasR and the *Pseudomonas* autoinducer PAI: An autoinduction regulatory hierarchy. *Journal of Bacteriology*, 177, 654-659.
- Shi, X., & Zhu, X. (2009). Biofilm formation and food safety in food industries. *Trends in Food Science and Technology*, 20:407-413.
- Shi, C., Yan, C., Sui, Y., Sun, Y., Guo, D., Chen, Y., Jin, T., Peng, X., Ma, L., & Xia, X. (2017). Thymoquinone Inhibits Virulence Related Traits of *Cronobacter sakazakii* ATCC 29544 and Has Anti-biofilm Formation Potential. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2220.
- Shohayeb, M., Abdel-Hameed, E-S., Bazaid, S. A., & Maghrabi, İ. (2014). Antibacterial and Antifungal Activity of *Rosa damascena* MILL. Essential Oil, Different Extracts of Rose Petals. *Global Journal of Pharmacology*, 8, 1, 01-07.
- Shrout, J. D., Chopp, D. L., Just, C. L., Hentzer, M., Givskov, M., & Parsek, M. R. (2006). The impact of quorum sensing and swarming motility on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation is nutritionally conditional. *Molecular Microbiology*, 62, 5, 1264-1277.
- Shukla, V., & Bhathena, Z. (2016). Broad Spectrum Anti-Quorum Sensing Activity of Tannin-Rich Crude Extracts of Indian Medicinal Plants. *Scientifica*, 2016(1), 5823013.
- Sırken, B., & Öz, V. (2017). *Pseudomonas aeruginosa*: Özellikleri ve Quorum Sensing Mekanizması. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknoloji Dergisi*, 18, 4-52.

- Sifri, C. D. (2008). Healthcare epidemiology: quorum sensing: bacteria talk sense. *Clinical Infectious Diseases*, 47, 1070-1076.
- Sikdar R, & Elias M. (2020). Quorum quenching enzymes and their effects on virulence, biofilm, and microbiomes: A review of recent advances. *Expert Review of Respiratory Medicine*, 18 (12):1221-1233.
- Singh, R.P., Chidambara-Murthy, K.N., & Jayaprakasha, G.K. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1, 81-86
- Singh, M., Jha, A., Kumar, A., Hettiarachchy, N., Rai, A.K., & Sherma, D. (2002). Influence of the solvents on the extraction of major phenolic compounds (punicalgin, ellagic acid and gallic acid) and their antioxidant activities in pomegranate aril. *Journal of Food Science and Technology* 51, 2070–2077.
- Sivri, E. D., & Ulusoy, S. (2018). Reduction of tissue maceration in potatoes by rose essential oil. *Akademik Gıda*, 16, 2, 127-134.
- Skandamis, P.N., & Nychas, G-J. E. (2012). Quorum Sensing in the Context of Food Microbiology. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 16, 5473–5482.
- Slamti, L & Lereclus, D. (2002). A cell-cell signaling peptide activates the PlcR virulence regulon in bacteria of the *Bacillus cereus* group. *The EMBO Journal*, 21, 17. 4550-4559.
- Song, X.-N., Cheng, Y.-Y., Li, W.-W., Li, B.-B., Sheng, G.-P., Fang, C.-Y., Wang, Y.-K., Li, X.-Y., & Yu, H.-Q. (2014). Quorum quenching is responsible for the underestimated quorum sensing effects in biological wastewater treatment reactors. *Bioresource Technology*, 171, 472-476.
- Soni, A., Oey, I., Silcock, P., & Bremer P. (2016). *Bacillus* Spores in the Food Industry: A Review on Resistance and Response to Novel Inactivation Technologies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 1139-1148.
- Sperandio, V., Torres, A. G., & Kaper, J. B. (2002). Quorum sensing *Escherichia coli* regulators B and C (QseBC): A novel two-component regulatory system involved in the regulation of flagella and motility by quorum sensing in *E. coli*: QseBC regulates flagella and motility in *E. coli*. *Molecular Microbiology*, 43, 3, 809-821.
- Sperandio, V., Torres, A. G., Jarvis, B., Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (2003). Bacteria–host communication: The language of hormones. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100, 15, 8951-8956.
- Sreekumar, S., Sithul, H., Muraleedharan, P., Azeez, J.M., & Sreeharshan, S. (2014). Pomegranate fruit as a rich source of biologically active compounds. *BioMed Research International*, pp: 1-12.
- Srey, S., Jahid, I. K., Ha, Sang-Do. (2013). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*, 31, 2, 572-585.
- Streeter, K., & Katouli, M. (2016). *Pseudomonas aeruginosa*: A review of their pathogenesis and prevalence in clinical settings and the environment. *Infection, Epidemiology and Medicine*, 2, 25–32.
- Szabo, M.A., Varga, G.Z., Hohmann, J., Schelz, Z., Szegedi, E., Amaral, L., & Molnár, J. (2010). Inhibition of quorum-sensing signals by essential oils, *Phytotherapy Research*, 24, 782–786.
- Şar, T., Yeşilçimen Akbaş, M. (2018). *B. cereus* biyofilmlerinin sitrik asit uygulamaları ile kontrolü. *GIDA*, 43, 4, 605-616.

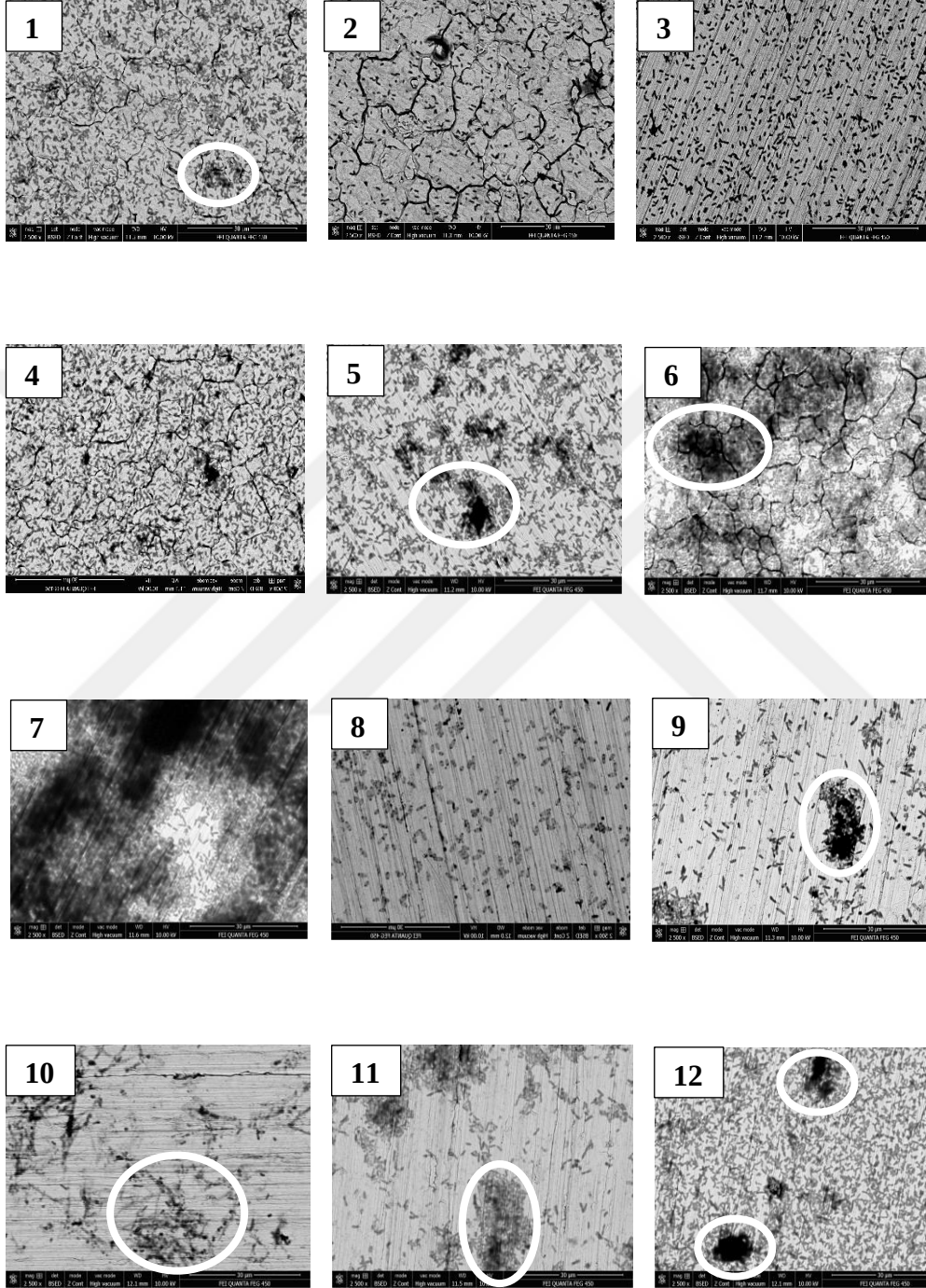
- Taguri, T., Tanaka, T., & Kouno, I. (2004). Antimicrobial Activity of 10 Different Plant Polyphenols against Bacteria Causing Food-Borne Disease. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27, 1965–1969.
- Tajani, A. S., Soheili, V., Moosavi, F., Ghedso, R., Alinadeh, T., & Bazzaz, B. S. F. (2022). Ultra selective and high-capacity dummy template molecular imprinted polymer to control quorum sensing and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Analytica Chimica Acta*, 1199, 339574.
- Tamfu, A. N., Ceylan, O., Kucukaydin, S., & Duru, M. E. (2020). HPLC-DAD phenolic profiles, antibiofilm, anti-quorum sensing and enzyme inhibitory potentials of *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze and *Curcuma longa* L. *LWT- Food Science and Technology*, 133, 110150.
- Tanveer, A., Farooq, U., Akram, K., Hayat, Z., Shafi, A., Nazar, H., & Ahmad, J. (2015). Pomegranate extracts: A natural preventive measure against spoilage and pathogenic microorganisms. *Food Reviews International*, 31(1):29-51.
- Temel, A., & Eraç, B. (2018). Bacterial Biofilms: Detection Methods and Role in Antibiotic Resistance. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*. <https://doi.org/10.5222/TMCD.2018.001>
- Toğay, S.Ö., Bağcı, U., & Şener, A. (2008). *Enterobacter sakazakii* ve Gıda Endüstrisindeki Önemi. Türkiye 10. Gıda Kongresi; 21-23 Mayıs 2008, Erzurum.
- Tomasz, A. (1965). Control of the competent state in *Pneumococcus* by a hormone-like cell product: an example for a new type of regulatory mechanism in bacteria. *Nature*, 208, 155–159.
- Truchado, P., Larrosa, M., Castro-Ibáñez, I., & Allende, A. (2015). Plant food extracts and phytochemicals: Their role as Quorum Sensing Inhibitors. *Trends in Food Science & Technology*, 43, 2, 189-204.
- Truchado, P., Tomás-Barberán, F. A., Larrosa, M., & Allende, A. (2012). Food phytochemicals act as Quorum Sensing inhibitors reducing production and/or degrading autoinducers of *Yersinia enterocolitica* and *Erwinia carotovora*. *Food Control*, 24, 1-2, 78-85.
- Turgut, N. (2021). Gıdalarda *Escherichia coli* O157:H7 Yaygınlığının Riskleri ve Kontrolü. *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 5, 1, 101-114.
- Turhan, E. Ü., & Erginkaya, Z. (2019). Bakteriyel biyofilmlerdeki antimikrobiyal direnç mekanizması. *Akademik Gıda*, 17, 1, 131-139.
- Tükel Ç., & Doğan H. B., (2000), “*Staphylococcus aureus*”, *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, 2, 357-66.
- Tülüce, G., Temelli, S., & Eyigör, A. (2021). Gıda ortamında hayata tutunma: Bakteriyel çoğunluk algılama. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 92, 1, 83-94.
- Tümmler, B., 2006. Clonal Variations In *Pseudomonas aeruginosa*. 35-68, Springer, Netherlands.
- Ugurlu, A., Yagci, A. K., Ulusoy, S., Aksu, B., & Boşgelmez-Tinaz, G. (2016). Phenolic compounds affect production of pyocyanin, swarming motility and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(8), 698-701.
- Ulusoy, S., Boşgelmez-Tinaz, G., & Seçilmiş Canbay, H., (2009). Tocopherol, carotene, phenolic contents and antibacterial properties rose essential oil, hydrosol and absolute. *Current Microbiology*, 59, 554-558.
- Ulusoy, S. (2007). Yoğun Bakım Ünitelerinden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında N-Açıl Homoserin Lakton Üretiminin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Gen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A. B. D., Yüksek Lisans Tezi, 100 sayfa, Isparta.
- Umeda, K., Ono, H. K., Wada, T., Motooka, D., Nakamura, S., Nakamura, H., & Hu, D. L., (2021). High production of egc2-related staphylococcal enterotoxins caused a food poisoning outbreak. *International Journal of Food Microbiology*, 357, 109366.

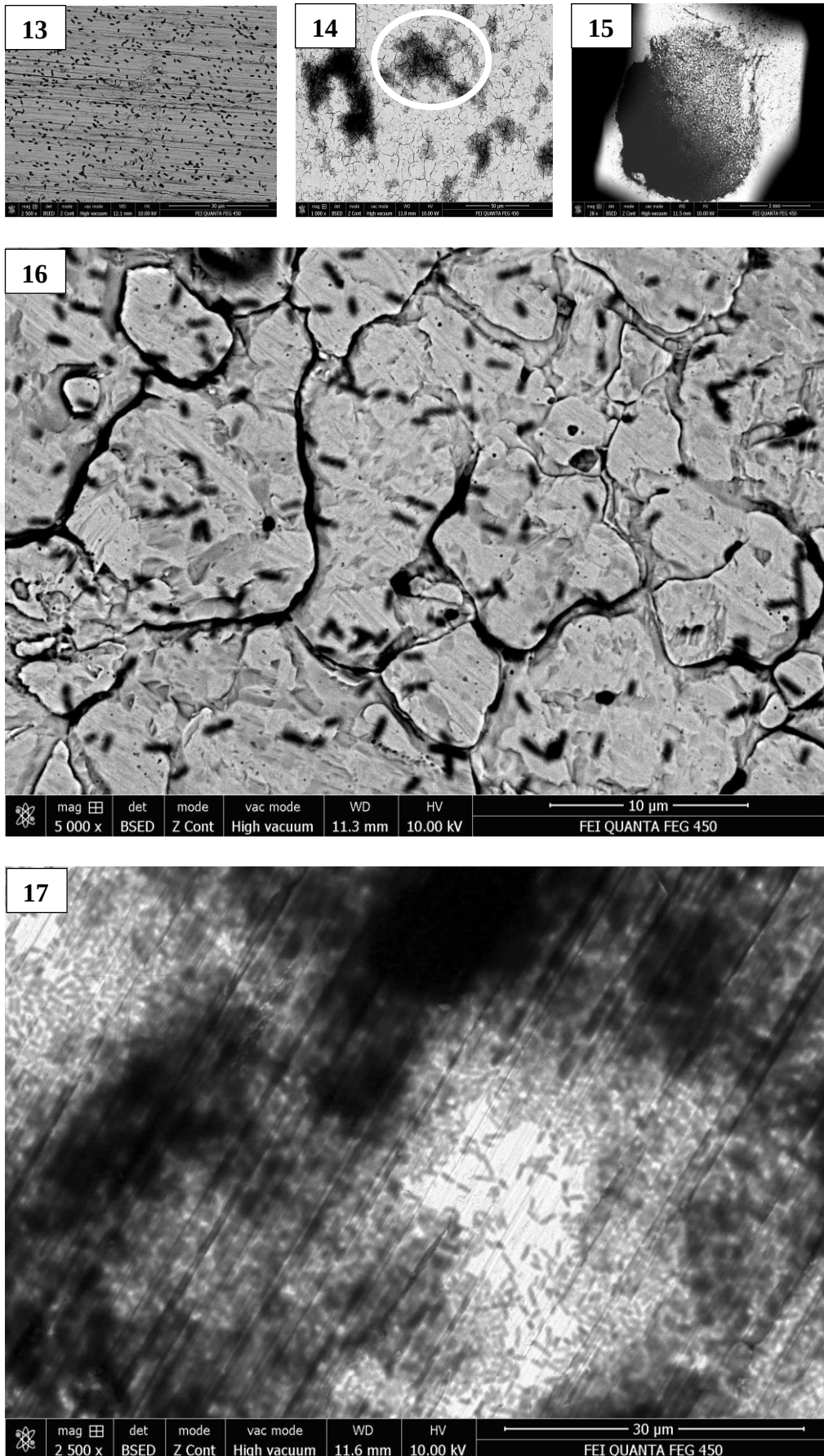
- Ünal, D., & Tayfur, M. (2017). Biyofilm. *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, 21, 2, 108-114.
- Vadakkan, K., Choudhury, A. A., Gunasekaran, R., Hemapriya, J., & Vijayanand, S. (2018): Quorum sensing intervened bacterial signaling: Pursuit of its cognizance and repression. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16, 239-252.
- Var, I., Çelik, Ç. (2019). Mikroorganizmalarda çoğunluğu algılama ve çoğunluğu algılama mekanizmasının engellenmesi. *Gıda*, 44, 6, 943-953.
- Vasquez, J. K., Tal-Gan, Y., Cornilescu, G., Tyler, K. A., & Blackwell, H. E. (2017). Simplified AIP-II Peptidomimetics Are Potent Inhibitors of *Staphylococcus aureus* AgrC Quorum Sensing Receptors. *ChemBioChem*, 18, 4, 413-423.
- Vasudevan, R. (2014). Biofilms: microbial cities of scientific significance. *Journal of Microbiology and Experimentation*, 1, 3, 00014.
- Vatansever, A. (2018). Nar ve Ürünlerinin Fizikokimyasal ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi'', Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A.B.D. Yüksek Lisans Tezi, 81 sf, Bursa.
- Veerubhotla, R., Varanasi, J. L., & Das, D. (2018). Biofilm Formation With in Microbial Fuel Cells. *Progress and Recent Trends in Microbial Fuel Cells* (ss. 231-242). Elsevier.
- Vera, A., González, G., Domínguez, M., & Bello, H. (2013). Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* su regulación. *Revista Chilena de Infectología*, 30, 4, 407-416.
- Vidács, A., Kerekes, E., Rajkó, R., Petkovits, T., Alharbi, N. S., Khaled, J. M., ... & Krisch, J. (2018). Optimization of essential oil-based natural disinfectants against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* biofilms formed on polypropylene surfaces. *Journal of Molecular Liquids*, 255, 257-262.
- Wang, D., Kyere, E., & Sadiq, F. A. (2021). New trends in photodynamic inactivation (PDI) combating biofilms in the food industry—A review. *Foods*, 10, 2587.
- Wang, C., Stanciu, C., Ehrhardt, C., & Yadavalli V. K. (2015). Morphological and mechanical imaging of *Bacillus cereus* spore formation at the nanoscale, *Journal of Microscopy*, 258, 1, 49-58.
- Waters, C. M., & Bassler, L. B. (2005). Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21, 319-46.
- Whiteley, M., Diggle, S. P., & Greenberg, E. P. (2017). Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature*, 551, 7680, 313-320.
- Wijnands, L. M., Dufrenne, J. B., & van Leusden, F. M. (2002). Characterization of *Bacillus cereus*. Erişim: <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/250912002.pdf>. Erişim tarihi: 12.10.2024.
- Wilson, E. O. (1975). Sociobiology: The New Synthesis. Belknap Press of Harvard Univ. Press, Cambridge, x+697 sf.
- Wolz C., Goerke C., Landman, R., Zimmerli, W., & Fluckiger, U., (2002), "Transcription of clumping factor A in attached and unattached *Staphylococcus aureus* in vitro and during device-related infection", *Infection and Immunity*, 70, 6, 2758-2762.
- Wu, S., Liu, J., Liu, C., Yang, A., & Qiao, J. (2019). Quorum sensing for population-level control of bacteria and potential therapeutic applications. *Cellular and Molecular Life Sciences*.
- Wu, J., Goodrich, K. M., Eifert, J. D., Jahncke, M. L., O'Keefe, S. F., Welbaum, G. E., & Neilson, A. P. (2018). Inhibiting foodborne pathogens *Vibrio parahaemolyticus* and *Listeria monocytogenes* using extracts from traditional medicine: Chinese gallnut, pomegranate peel, Baikal skullcap root and forsythia fruit, *Open Agriculture*, 3, 1, 163-170.

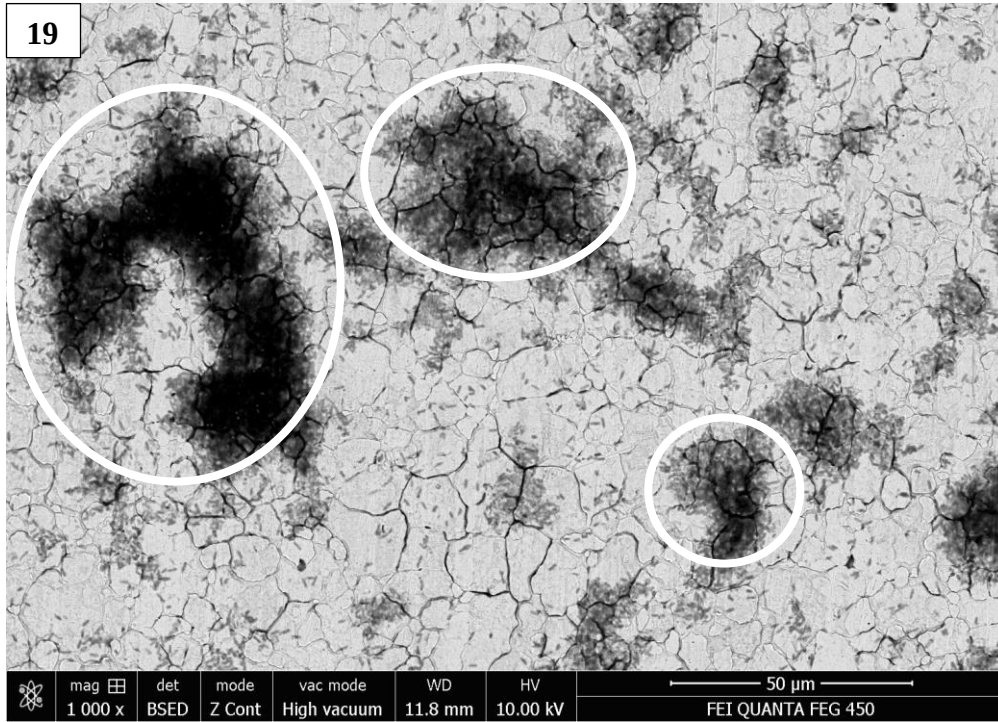
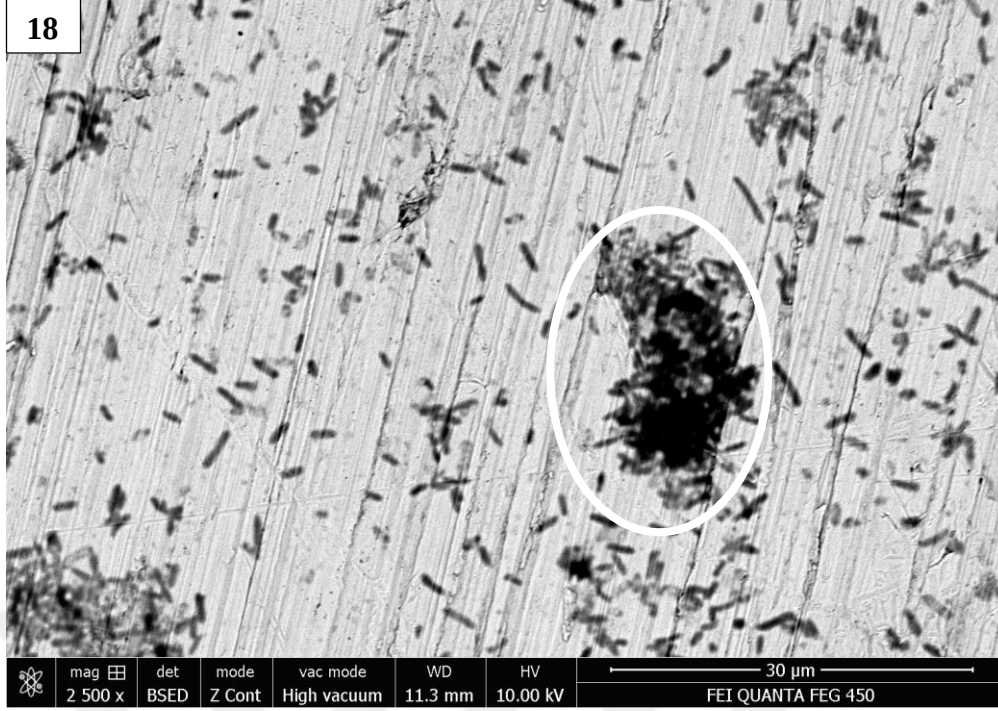
- Xavier, K.B., & Bassler, B.L. (2003). LuxS quorum sensing: more than just a numbers game. *Current Opinion in Microbiology*, 6, 191–97.
- Xu, Y., Shi, C., Wu, Q., Zheng, Z., Liu, P., Li, G., Peng, X., & Xia, X. (2017). Antimicrobial activity of punicalagin against *S. aureus* and its effect on biofilm formation. *Foodborne Pathogens and Disease*, 20, 20, 1-6.
- Yang, R., Guan, Y., Zhou, J., Sun, B., Wang, Z., Chen, H., ... & Jia, A. (2018). Phytochemicals from *Camellia nitidissima* Chi flowers reduce the pyocyanin production and motility of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2640.
- Yang, Q., Wang, L., Gao, J., Liu, X., Feng, Y., Wu, Q., Baloch, A. B., Cui, L., Xia, X. 2016. "Tannin-Rich fraction from pomegranate rind inhibits quorum sensing in *Chromobacterium violaceum* and Biofilm Formation in *Escherichia coli*." , *Foodborne Pathogens and Disease*, 13, 1, 28-35.
- Yılmaz-Yaldıran, H., Karahan, A. G., & Başığit-Kılıç, G. (2015). Laktik asit bakterilerinde çoğunluğu algılama mekanizması. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72, 1, 79-90.
- Ying, Z., Jie, K., YunFei, X., YaHui, G., YuLiang, C., He, Q., & WeiRong, Y. (2018). Essential oil components inhibit biofilm formation in *Erwinia carotovora* and *Pseudomonas fluorescens* via anti-quorum sensing activity. *LWT - Food Science and Technology*, 92, 133-139.
- Yonsul Tuncer, Y., & Ayaz, N. D. (2023). Gıda Kaynaklı *Staphylococcus aureus* İntoksikasyonlarının Kontrolünde Bakteriyofaj Uygulamaları. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 34, 1, 114-120.
- Yousuf, B., Adachi, K., & Nakayama, J. (2018). Developing Anti-virulence Chemotherapies by Exploiting the Diversity of Microbial Quorum Sensing Systems. İçinde: V. C. Kalia (Ed.), *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*, sp. 151-208. Springer Singapore.
- Yuan, L., Sadiq, F. A., Liu, T., Li, Y., Gu, J., Yang, H., & He, G. (2018). Spoilage potential of psychrotrophic bacteria isolated from raw milk and the thermo-stability of their enzymes. *J Zhejiang Univ. Sci. B*, 19, 8, 630-642.
- Yurt Göze, E. (2009). Çeşitli Bitki Ekstratlarının *Pseudomonas aeruginosa*’da Çevreyi Algılama Sistemi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 70 sayfa, Isparta.
- Zetzmann, M., Sánchez-Kopper, A., Waidmann, M. S., Blombach, B., & Riedel, C. U. (2016). Identification of the agr Peptide of *Listeria monocytogenes*. *Frontiers in Microbiology*, 7
- Zhang, C., Li, C., Aziz, T., Alharbi, M., Cui, H., & Lin, L. (2024). Screening of *E. coli* O157:H7 AI-2 QS inhibitors and their inhibitory effect on biofilm formation in combination with disinfectants. *Food Bioscience*, 58, 103821.
- Zhang, Y., Yu, H., Xie, Y., Guo, Y., Cheng, Y., & Yao, W. (2021). Geraniol as a Quorum Sensing inhibitor of *Erwinia carotovora* and *Pseudomonas fluorescens* isolated from vegetable and their dual-species biofilm production on stainless steel. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45, 12, e16042.
- Zhang, J., Rui, X., Wang, L., Guan, Y., Sun, X., & Dong, M. (2014). Polyphenolic extract from *Rosa rugosa* tea inhibits bacterial quorum sensing and biofilm formation. *Food Control*. 42:125-31.
- Zhou, J.-W., Chen, T.-T., Tan, X.-J., Sheng, J.-Y., & Jia, A.-Q. (2018). Can the quorum sensing inhibitor resveratrol function as an aminoglycoside antibiotic accelerant against *Pseudomonas aeruginosa*? *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52,1, 35-41.

EKLER

EK 1 Örneklerin Paslanmaz Çelik Yüzeylerde Patojen Bakteriler Üzerindeki Etkilerinin SEM Görüntüleri

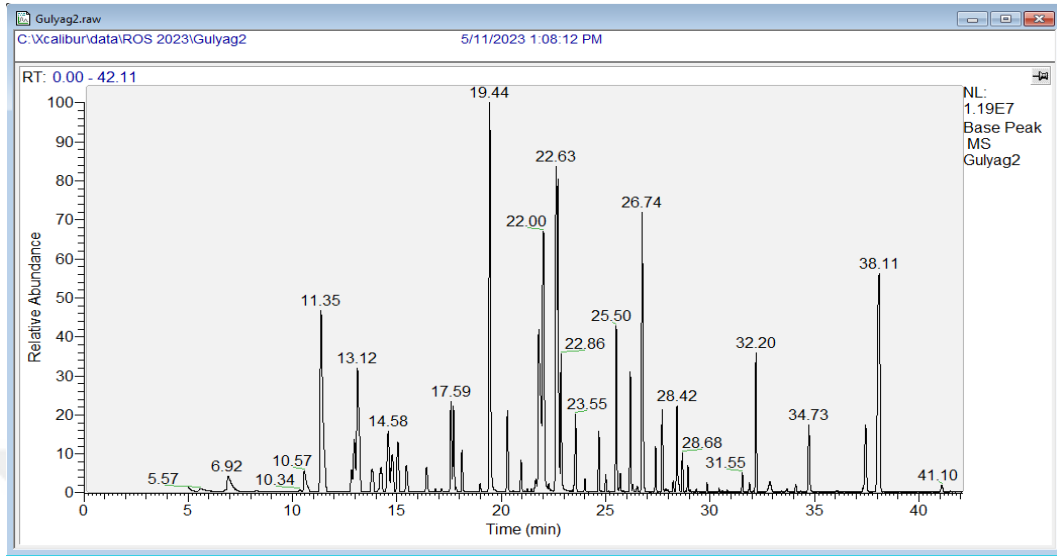






1-A ekstraktı uygulanan yüzeyde *L. monocytogenes* hücrelerinin yapısı, 2-B ekstraktı uygulanan yüzeyde *L. monocytogenes* hücrelerinin yapısı, 3-Gül yağı uygulanan yüzeyde *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı hücrelerinin yapısı, 4-Gül absölütü uygulanan yüzeyde *L. monocytogenes* hücrelerinin yapısı, 5-Punikalajin uygulanan yüzeyde *L. monocytogenes* hücrelerinin yapısı, 6-Elajik asit uygulanan yüzeyde *L. monocytogenes* hücrelerinin yapısı, 7-Örnek uygulanmayan yüzeyde *L. monocytogenes* hücrelerinin yapısı, 8-Gül absölütü uygulanan yüzeyde *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı, 9-B ekstraktının *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı, 10-Punikalajin uygulanan yüzeyde *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı, 11-Elajik asit uygulanan yüzeyde *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı, 12-A ekstraktı uygulanan *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı, 13-Gül yağı uygulanan yüzeyde *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı, 14-Örnek uygulanmayan yüzeyde *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı, 15-Örnek uygulanmayan yüzeyde bulunan biyofilm yapısı (x28), 16-B ekstraktı uygulanan yüzeyde *L. monocytogenes* hücrelerinin yapısı (x5000), 17-Örnek uygulanmayan yüzeyde *L. monocytogenes* hücrelerinin yapısı, 18-B ekstraktı uygulanan yüzeyde *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı, 19-Örnek uygulamayan yüzeyde *C. sakazakii* hücrelerinin yapısı (x1000). Büyütme oranı yazılmayan görüntülerin tümü x2500 büyütülmüş görüntülerdir.

EK 2 Gül Yağının GC-MS’de Yapılan Bileşen Analizleri Sonucunda Elde Edilen Spektruma Ait Görüntü



EK 3 Gül Absolutünün GC-MS’de Yapılan Bileşen Analizleri Sonucunda Elde Edilen Spektruma Ait Görüntü

