



**BİYOFİLM ÜRETEN *Saccharomyces cerevisiae*  
SUŞLARININ BİYOFİLM ÜRETME KAPASİTELERİNİN  
FARKLI pH, SICAKLIK ve TUZ  
KONSANTRASYONUNDA İNCELENMESİ**

**Selen KOÇAKOĞLU**



T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİYOFİLM ÜRETEN *Saccharomyces cerevisiae* SUŞLARININ BİYOFİLM  
ÜRETME KAPASİTELERİNİN FARKLI pH, SICAKLIK ve TUZ  
KONSANTRASYONUNDA İNCELENMESİ**

**Selen KOÇAKOĞLU**

Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA-2018

## TEZ ONAYI

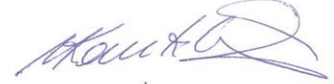
Selen KOÇAKOĞLU tarafından hazırlanan “BİYOFİLM ÜRETEN *Saccharomyces cerevisiae* SUŞLARININ BİYOFİLM ÜRETME KAPASİTELERİNİN FARKLI pH, SICAKLIK ve TUZ KONSANTRASYONUNDA İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

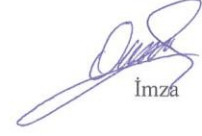
**Başkan** : Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU  
U.Ü. Ziraat Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Üye** : Doç. Dr. Arzu AKPINAR BAYİZİT  
U.Ü. Ziraat Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Üye** : Dr. Öğr. Üyesi Nur DEDE  
K.Ü. Gıda ve Tarım Meslek Yüksekokulu,  
Gıda İşleme Bölümü  
Gıda Teknolojisi Programı



İmza



İmza



İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım



Prof. Dr. Ali BAYRAM  
Enstitü Müdürü

4.11.2018

**U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;**

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

**beyan ederim.**

**04/12/2018**

**Selen KOÇAKOĞLU**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BİYOFİLM ÜRETEN *Saccharomyces cerevisiae* SUŞLARININ BİYOFİLM ÜRETME KAPASİTELERİNİN FARKLI pH, SICAKLIK ve TUZ KONSANTRASYONUNDA İNCELENMESİ

**Selen KOÇAKOĞLU**

Uludağ Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

Bu çalışmada, 5 adet *Saccharomyces cerevisiae* suşunun farklı pH, sıcaklık, tuz, potasyum sorbat ve gliserin konsantrasyonlarında biyofilm üretme kapasitesindeki değişikliklerin tüp yöntemi ve 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH değeri 5,0 ve 6,5'a ayarlanmıştır. Bu işlemin ardından sıvı besiyerine, ayrı olarak farklı oranlarda NaCl (%0, %1,5, %3,5, %5 ve %10), potasyum sorbat (100, 500, 1000mg/L) ve gliserin (%1 ve %5) ilave edilmiştir. Takiben 5 farklı *Saccharomyces cerevisiae* suşu her bir besiyerine inokule edildikten sonra sırasıyla 30 ve 40°C'de değişimlerini gözlemek üzere 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonuç olarak, 30°C'de biyofilm üretiminin en yüksek seviyede olduğu ancak sıcaklığın 40°C'ye ulaşmasıyla birlikte biyofilm oluşum miktarında bir azalış olduğu tespit edilmiştir. Tuz, potasyum sorbat ve gliserin miktarındaki artış *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının biyofilm üretme kapasitesini olumsuz yönde etkilemiştir. Suşların en yüksek biyofilm oluşturduğu ortam koşullarının pH 5,0 ve 30°C sıcaklıkta olduğu gözlemlenmiştir. pH değerlerinin farklı olması suşlara göre biyofilm oluşumunda değişim göstermesine karşın genel olarak önemli değişime yol açmadığı görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** *Saccharomyces cerevisiae*, biyofilm, tuz, pH, sıcaklık  
**2018, ix + 67 sayfa.**

## ABSTRACT

MSc Thesis

### INVESTIGATION OF BIOFILM PRODUCTION CAPACITIES OF BIOFILM PRODUCTION OF *Saccharomyces cerevisiae* BY DIFFERENT pH, TEMPERATURE AND SALT CONCENTRATION

**Selen KOÇAKOĞLU**

Uludağ University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

**Supervisor:** Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU

In this study, it was aimed to investigate the changes in the biofilm production capacity of five *Saccharomyces cerevisiae* strains at different pH, temperature, salt, potassium sorbate and glycerine concentrations by tube method and 96 well plate method. For this purpose, the pH value of Malt Extract liquid medium was adjusted to 5,0 and 6,5. Following this process, NaCl (0%, 1,5%, 3,5%, 5% and 10%), potassium sorbate (100, 500, 1000 mg/L) and glycerine (1% and 5%) of varying concentration separately were added. Subsequently, five *Saccharomyces cerevisiae* strains were inoculated into each medium and incubated for 24 hours to observe changes at 30 and 40°C. As a result, biofilm production was highest at 30°C, but a decrease in the amount of biofilm formation was found when the temperature reached 40°C. The increase in the amount of salt, potassium sorbate and glycerine has adversely affected the biofilm production capacity of *Saccharomyces cerevisiae* strains. It has been observed that the environmental conditions at which strains produce the highest biofilm are pH 5,0 and temperature 30°C. Although the pH values differed according to the strains in the biofilm formation, it did not cause significant changes in general.

**Key words:** *Saccharomyces cerevisiae*, biofilm, salt, pH, temperature  
**2018, ix + 67 pages.**

## ÖNSÖZ VE/VEYA TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin hazırlanmasının tüm aşamalarında değerli yardımlarını esirgemeyen başta Sayın Hocam Prof. Dr. Mihriban KORUKLUOĞLU'na, Dr. Gökşen ARIK'a, istatistiksel analizde yardımcı olan Sayın Hocam Prof. Dr. A. Tanju GÖKSOY'a, tezimin yükünü benimle paylaşan Yasemin KÜÇÜKATA ve Ezgi EROĞLU'na, bugünlere gelmemde ellerinden gelen her türlü çabayı sarfeden aileme, teşekkürlerimi sunarım.

Selen KOÇAKOĞLU  
04/12/2018



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1.GİRİŞ.....	1
2.KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	10
3.1. Materyal.....	10
3.2.Yöntem.....	10
3.2.1. Farklı pH ortamlarının ayarlanması.....	10
3.2.2. K-sorbat, NaCl ve gliserin ilaveli ortamların hazırlanması.....	10
3.2.3. Su aktivitesi tayini.....	11
3.2.4. Mayaların inokülasyonu.....	11
3.2.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin değerlendirilmesi.....	11
3.2.6. Sonuçların değerlendirilmesi.....	15
3.3. İstatistiksel Analiz.....	16
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	17
4.1. Biyofilm Üretiminde Tüp Yöntemi.....	17
4.1.1. Tüp yöntemiyle <i>S. cerevisiae</i> suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesi üzerine NaCl'nın etkisi.....	17
4.1.2. Tüp yöntemiyle <i>S. cerevisiae</i> suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesi üzerine potasyum sorbat konsantrasyonlarının etkisi.....	25
4.1.3. Tüp yöntemiyle <i>S. cerevisiae</i> suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesi üzerine gliserin konsantrasyonlarının etkisi.....	32
4.2. Biyofilm Üretiminde 96 Kuyucuklu Plaka Yöntemi.....	37
4.2.1. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin farklı NaCl konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle değerlendirilmesi.....	38
4.2.2. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin farklı K-sorbat konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle değerlendirilmesi.....	46
4.2.3. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin farklı gliserin konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle değerlendirilmesi.....	54
5. SONUÇ.....	62
KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	67



## SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
dk	Dakika
°	Derece
g	Gram
kob	Koloni oluşturan birim
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mmol	Milimol
nm	Nanometre
N	Normal
a <sub>w</sub>	Su aktivitesi
%	Yüzde

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
EPS	Ekzopolimer
LSD	En Küçük Anlamlı Fark
ER	Endoplazmik retikulum
F	F önemlilik testi
HCl	Hidroklorik asit
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
KO	Kareleri Ortalaması
KT	Kareleri Toplamı
SS	Paslanmaz çelik yüzey
PFA	Perfluoroalkoxy
PAA	Peroksiasetik asit
K-sorbat	Potasyum sorbat
SD	Serbestlik Derecesi
NaOH	Sodyum Hidroksit
NaCl	Sodyum Klorür

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Endüstriyel bir su sisteminde 8 haftalık bir dönemde yumuşak bir çelik yüzey üzerinde geliştirilen doğal bir biyofilmin taramalı elektron mikrografı.....	4
Şekil 2.2. Çeşitli sıcaklıklarda paslanmaz çelik (A), karides (B) ve yengeç (C) yüzeylerinde planktonik hücreler ve biyofilm oluşumu.....	7
Şekil 4.1. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0).....	19
Şekil 4.2. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının %1,5 NaCl oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7).....	19
Şekil 4.3. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5).....	21
Şekil 4.4. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının NaCl içermeyen besiyerinde biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7).....	21
Şekil 4.5. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının %5 NaCl oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7).....	22
Şekil 4.6. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0).....	23
Şekil 4.7. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının NaCl içermeyen ortamda biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7).....	23
Şekil 4.8. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C;pH 6,5).....	25
Şekil 4.9. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0).....	26
Şekil 4.10. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının 100 mg/L potasyum sorbat oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7).....	27
Şekil 4.11. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5).....	28
Şekil 4.12. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının 100 mg/L potasyum sorbat oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5) (1: kontrol 2:FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7).....	29
Şekil 4.13. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının 500 mg/L potasyum sorbat oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7).....	29
Şekil 4.14. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0).....	30
Şekil 4.15. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5).....	31
Şekil 4.16. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0).....	33

Şekil 4.17. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının %1 gliserin oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7).....	34
Şekil 4.18. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5).....	35
Şekil 4.19. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0).....	36
Şekil 4.20. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5).....	37
Şekil 4.21. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0).....	41
Şekil 4.22. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı tuz oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5).....	42
Şekil 4.23. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0).....	45
Şekil 4.24. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5).....	45
Şekil 4.25. NaCl ilave edilmediği durumda 24 saatlik inkübasyon sonrası <i>S. cerevisiae</i> ' nin (FEY3) 96 kuyucuklu plaka yönteminde biyofilm oluşumu (30°C; pH 5,0).....	46
Şekil 4.26. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0).....	49
Şekil 4.27. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5).....	50
Şekil 4.28. <i>S. cerevisiae</i> suşunun farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0).....	52
Şekil 4.29. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5).....	53
Şekil 4.30. potasyum sorbat oranı 100 mg/L olduğunda 24 saatlik inkübasyon sonrası <i>S. cerevisiae</i> ' nin (FEY2) 96 kuyucuklu plaka yönteminde biyofilm oluşumu (30°C; pH 6,5).....	53
Şekil 4.31. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0).....	57
Şekil 4.32. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5).....	57
Şekil 4.33. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0).....	60
Şekil 4.34. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5).....	60
Şekil 4.35. Gliserin oranı %1 olduğunda 24 saatlik inkübasyon sonrası <i>S. cerevisiae</i> ' nin (FEY2) 96 kuyucuklu plaka yönteminde biyofilm oluşumu (30°C; pH 5,0).....	61

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. NaCl'nın <i>Burkholderia pseudomallei</i> 'nin biyofilm formasyonu üzerine etkisi.....	8
Çizelge 3.1. Malt Ekstrakt sıvı besiyerine ilave edilen madde miktarları.....	10
Çizelge 3.2. Tüp yönteminde oluşan biyofilm değeri.....	15
Çizelge 3.3. 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle biyofilm oluşum değerleri.....	16
Çizelge 4.1. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 5,0).....	18
Çizelge 4.2. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 6,5).....	20
Çizelge 4.3. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 5,0).....	22
Çizelge 4.4. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 6,5).....	24
Çizelge 4.5. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı K-sorbit oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 5,0).....	26
Çizelge 4.6. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı K-sorbit oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 6,5).....	27
Çizelge 4.7. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı K-sorbit oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 5,0).....	30
Çizelge 4.8. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı K-sorbit oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 6,5).....	31
Çizelge 4.9. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 5,0).....	32
Çizelge 4.10. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 6,5).....	34
Çizelge 4.11. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 5,0).....	35
Çizelge 4.12. <i>S. cerevisiae</i> suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 6,5).....	36
Çizelge 4.13. 30°C'de <i>S. cerevisiae</i> suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu.....	38
Çizelge 4.14. 30°C'de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonları.....	39
Çizelge 4.15. 30°C'de mayaxNaCl ortalamaları ve interaksyonları.....	39
Çizelge 4.16. 30°C'de mayaxNaClx pH interaksyonları.....	40
Çizelge 4.17. 40°C'de <i>S. cerevisiae</i> suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu.....	42
Çizelge 4.18. İnkübasyon sıcaklığı 40°C'de mayaxpH ortalamaları ve İnteraksyonları.....	43
Çizelge 4.19. 40°C'de mayaxNaCl ortalamaları ve interaksyonları.....	43
Çizelge 4.20. 40°C'de mayaxNaClx pH interaksyonları.....	44
Çizelge 4.21. 30°C'de <i>S. cerevisiae</i> suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu.....	47
Çizelge 4.22. 30°C'de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonları.....	47

Çizelge 4.23. 30°C’de mayaxK-sorbat ortalamaları ve interaksyonları.....	48
Çizelge 4.24. 30°C’de mayaxK-sorbatpH interaksyonları.....	48
Çizelge 4.25. 40°C’de <i>S. cerevisiae</i> suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu.....	50
Çizelge 4.26. 40°C’de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonları.....	51
Çizelge 4.27. 40°C’de mayaxK-sorbat ortalamaları ve interaksyonları.....	51
Çizelge 4.28. 40°C’de mayaxK-sorbatpH interaksyonları.....	52
Çizelge 4.29. 30°C’de <i>S. cerevisiae</i> suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu.....	55
Çizelge 4.30. 30°C’de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonu.....	55
Çizelge 4.31. İnkübasyon sıcaklığı 30°C’de mayaxgliserin ortalamaları ve interaksyonu.....	56
Çizelge 4.32. 30°C’de mayaxgliserinpxH interaksyonları.....	56
Çizelge 4.33. 40°C’de <i>S. cerevisiae</i> suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu.....	58
Çizelge 4.34. 40°C’de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonu.....	58
Çizelge 4.35. 40°C’de mayaxgliserin ortalamaları ve interaksyonu.....	59
Çizelge 4.36. 40°C’de mayaxgliserinpxH interaksyonu.....	59

## 1.GİRİŞ

Mayalar ökaryotik hücreler olup, hücre duvarı, çekirdek, mitokondri, endoplazmik retikulum (ER), golgi aygıtı, vakuol, mikrocisimler ve kompleks hücre içi ve hücre dışı membran ağı içeren salgılama vezikülleri bulunan ultrastrüktür özelliklere sahip tek hücreli mikroorganizmalardır (Walker ve ark. 2016). *Saccharomyces cerevisiae*' nin, ökaryotik canlıların hücre özelliklerinin temel yönlerini incelemek için güçlü bir model organizma olduğu belirtilmektedir (Duina 2014). Bununla birlikte *Saccharomyces cerevisiae*' nin genetik ve biyokimyasal sistemleri kolay tanımlanabildiğinden, biyofilm için ideal bir model organizma olduğu açıklanmıştır. *S. cerevisiae* ile yapılan biyofilm çalışmaları, genetiği değiştirilmesi daha zor olan patojenik mayaların (*Candida albicans*) neden olduğu biyofilm gelişimi ve ilişkili enfeksiyonların mekanizmalarına ipucu sağlamaktadır. *S. cerevisiae* ile gerçekleştirilen biyofilm çalışmaları, günümüzde bira üretim endüstrisinde kullanılan immobilize maya hücresi teknolojisinin ilerlemesine katkıda bulunmaktadır (Purevdorj-Gage ve ark. 2007).

Biyofilm, bir yüzeye yapışarak üretmiş olduğu jelsi bir tabaka içinde yaşayan mikroorganizmalar tarafından oluşturulan topluluk olarak ifade edilmektedir (Leone ve ark. 2006). Biyofilmin en önemli etkisinin, mikroorganizmanın mikrobiyel davranışlarının değişmesi ve bu nedenle yetersiz veya olumsuz koşullara karşı daha dirençli olmasının sağlanması olarak açıklanmıştır (Arık ve Korukluoğlu 2017).

Biyofilm direncine, içindeki antimikrobiyel maddelerin yavaş nüfuz etmesi, biyofilm içindeki kimyasal mikro ortamdaki değişiklikler, adaptif stres tepkileri ve son derece toleranslı "persistan" hücrelerin küçük bir nüfusu gibi çeşitli mekanizmaların dahil olduğu düşünülmektedir (Van Acker ve ark. 2014).

Biyofilm *in vivo* olarak canlı hücrelerde veya *in vitro* olarak cansız yüzeylerde meydana gelebilmektedir (Akan ve Kınık 2014). Biyofilm oluşumunu etkileyen faktörler arasında ise nem miktarının fazlalığı, besin maddelerinin ortamda bulunması, antimikrobiyel madde içeriği, pH değeri ve oksijen ihtiyacı gösterilmektedir (Douglas 2003, Akan ve Kınık 2014).

Biyofilm, tek bir mikroorganizma türünden oluşabileceği gibi birden fazla türden de oluşabilmektedir. Farklı türler tarafından oluşturulan biyofilmlerde, her tür kendi mikrokolonisini oluşturmuştur ve mikrokoloniler su kanalları aracılığıyla birbirlerinden ayrılmışlardır (Ölmez 2009).

Biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ile enfeksiyon hastalıklar arasında kuvvetli bir ilişki olduğu açıklanmıştır. Kalp iç zarı iltihabı, periodontit, kistik fibrioz gibi hastalıklar bu mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar arasındadır (Donlan ve Costerton 2002).

Biyofilm enfeksiyonlarının kalıcı olduğu, bu nedenle önlenmesinin ve tedavisinin zor olduğu belirtilmektedir. Biyofilm matrisi, antimikrobiyel maddelerin penetrasyonunu azaltmaktadır (Szafranski ve ark. 2017).

Gıda kaynaklı enfeksiyonların en önemli sebeplerinden birisini de biyofilmlerin oluşturduğu bilinmektedir (Akan ve Kınık 2014). Biyofilmler ısının yüzeyden akışını geciktirme, yüzeydeki sıvının sürtünme direncinin artırma, yüzeydeki kimyasal sürtünme oranının artırma ve metal yüzeylerde korozyon gibi ciddi sorunlara neden olmaktadır (Chmielewski ve Frank 2003, Akan ve Kınık 2014). Bu nedenle biyofilm gıda endüstrisinde maya, deniz ürünü, süt ürünü, kümes hayvanı ve et prosesi gibi geniş bir yelpazede gıda güvenliği açısından sorun teşkil etmektedir (Srey ve ark. 2013). Biyofilm içindeki bakteri hücreleri, planktonik olarak gelişen hücrelere göre farklılık göstermektedir ve bu hücreler UV ışığı radyasyonu, metal toksisitesi, pH ve ozmotik değişiklikler, dehidrasyon, antimikrobiyel ajanlar ve dezenfektanlar gibi çeşitli olumsuz çevresel koşullara karşı korunmaktadırlar (Dimakopoulou-Papazoglou ve ark. 2016).

Bu çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının farklı pH, sıcaklık, tuz, potasyum sorbat ve gliserin konsantrasyonlarında biyofilm üretme kapasitesindeki değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

*S. cerevisiae*'nin, genellikle 5-10 µm çapında elipsoid şekilli olduğu ve en az 0,65 su aktivitesine ihtiyaç duyduğu bilinmektedir. *S. cerevisiae* suşlarının, alkol fermentasyonunu optimum gerçekleştirdiği sıcaklık aralığı 20-30°C ve ayrıca gelişimi için optimum pH aralığının ise sıcaklık, oksijen, kültür ve maya suşuna göre 4,0-6,0 değerleri arasında değiştiği belirtilmiştir (Liu ve ark. 2015, Walker ve ark. 2016).

Şarap, ekmek ve bira üretimi gibi modern fermentasyon süreçlerinde kullanılan temel maya *Saccharomyces cerevisiae*'dir (Cavalieri ve ark. 2003). Ayrıca endüstriyel etanol üretiminde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Çok yüksek graviteli koşullarda %20'ye kadar (v/v) etanol üretebilme yeteneğine sahip bir mikroorganizma olarak kabul edilmektedir. Bununla birlikte, yüksek etanol konsantrasyonu maya hücreleri için toksik özellik göstermektedir (Cot ve ark. 2007, Deesuth ve ark. 2016). Hücrede etanol konsantrasyonunun artması, lipit zarının yapısını değiştirmekte ve glikoz ve amonyum alımını azaltarak metabolik aktivitenin azalmasına yol açmaktadır (Cot ve ark. 2007).

Alkol fermentasyonu için yeni mikroorganizmaların araştırılmasına yönelik çabalara rağmen *Saccharomyces cerevisiae*, Brezilya'da etanol üretimi için en çok kullanılan maya olduğu bilinmektedir. Endüstriyel olarak yararlılığın temelini oluşturan, asitli ortamlarda yüksek fermentasyon verimliliği, hızlı büyüme, etkili şeker kullanımı, etanol üretme ve kullanma kabiliyeti, yüksek etanol konsantrasyonlarına tolerans ve düşük oksijen, ozmotolerans, termotolerans hücre aktivitesine sahip ve stres koşullarına dayanıklı güçlü bir maya olduğu kanıtlanmıştır (Reis ve ark. 2013).

*Saccharomyces cerevisiae*'nin bazı türleri, etanol ve karbondioksit üretiminin yanı sıra düşük molekül ağırlığına sahip aroma verici bileşikler üretmektedirler. Bu mayanın ürettiği alkol, organik asit, ester, karbonil bileşik, organik sülfür ve aldehitlerin ürünün kalitesi açısından önemli bir etkisi olduğu bilinmektedir (Solakoğlu 2013).

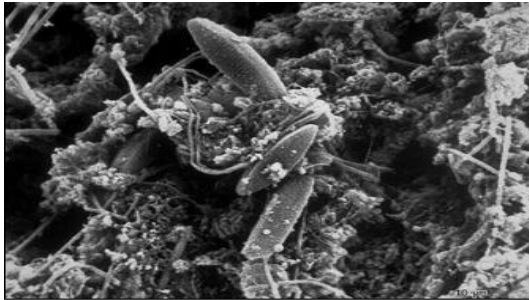
Fermentasyonun etkili bir şekilde gerçekleşmesi için şekerin yanı sıra su ile birlikte makro, mikro ve eser besin maddelerinin uygun şekilde ortamda bulunması



gerekmektedir. Çoğu *S. cerevisiae* suşunun gelişimi için glikoz, amonyum tuzları, inorganik iyonlar ve birkaç büyüme faktörü yeterli olmaktadır. Karbon kaynakları (şekerler), serbest amino azotu (amino asitler, küçük peptitler ve amonyum tuzları), oksijen, kükürt, fosfor, potasyum ve magnezyum gibi makro besin maddelerinin, milimolar konsantrasyonlarda sağlanması gerekmektedir. Kalsiyum, bakır, demir, manganez ve çinko gibi mikrobeynere maya tarafından mikro molar düzeyde ihtiyaç duyulmaktadır (Walker ve ark. 2016).

Biyofilm, biyotik veya abiyotik yüzeylere yapışmış bir mikroorganizma topluluğu olarak tanımlanmaktadır (Arık ve Korukluoğlu 2017). Biyofilm kütleinin %97'lik kısmının sudan oluştuğu belirlenmiştir. Matriks içerisindeki diğer bileşenler ise %1-2 ekzopolimer (EPS), %1-2 globuler glikoproteinler ve diğer proteinler, %1-2 nükleik asit, lipit ve fosfolipitlerdir. Fakat mevcut organizmaların çeşidine, fizyolojik özelliklerine, gelişme ortamının doğasına, akışkanın tipine, genel fiziksel özelliklere göre bu oranlar değişim göstermektedir (Allison 2003). Biyofilmin içeriğinde bulunan EPS'in besin maddelerini yoğunlaştırma, biyositlerin girmesini engelleme, metal ve toksin bağlama ve kurumayı önleme gibi görevlerinin olduğu bildirilmektedir (Carpentier ve Cerf 1993).

Biyofilmlerin değişken doğası, endüstriyel su sistemi ve tıbbi cihazdan biyofilmlerin taramalı elektron mikrograflarından Şekil 2.1.'de incelendiği gibi gösterilebilmektedir (Donlan 2002).



**Şekil 2.1.** Endüstriyel bir su sisteminde 8 haftalık bir dönemde yumuşak bir çelik yüzey üzerinde geliştirilen doğal bir biyofilmin taramalı elektron mikrografı (Donlan 2002)

Biyofilmin içerisindeki hücreler, ürettikleri ve dış çevreye karşı mekanik ve kimyasal koruma sağlayan matriks içinde gömülü olarak bulunmaktadır. Ayrıca bu hücreler üzerlerinde çeşitli bileşiklerin birikmesine neden olduğundan dolayı tıp ve endüstriyel alanda sorun teşkil etmektedir (Møretrø ve ark. 2009).

Biyofilm oluşumunun kontrol edilmesi ve engellenmesiyle ilgili en önemli ve ilk aşamanın gerekli tedbirlerin alınması aşaması olduğu bilinmektedir. İşletme içinde belirli aralıklarla, etkili bir temizlik ve etkili bir dezenfeksiyon işlemiyle, mikroorganizmaların tutunabileceği organik maddeler uzaklaştırılmalıdır. Gıda işletmelerinin çoğunda, biyofilmin uzaklaştırılması için temizlik sırasında yüzeye mekanik kuvvet uygulanmaktadır. Uygulanan mekanik işlemler arasında otomatik fırça ve yüksek basınçla temizlik işleminin, jel temizleyicilerden veya düşük basınçla temizlik yapılmasından daha etkili olduğu bilinmektedir. Elektriksel alanlar, katalize modifiye yüzeyler, ultrason, enzimler, amonyak ve formaldehit, deterjan maddeleri, yüksek basınçlı temizleme sistemleri gibi yöntemler son yıllarda biyofilm oluşumunu engelleme yöntemleri arasında yer almaktadır. Fakat her birinin etkinliği uygulanan yüzeye, biyofilm oluşturan bakteri türüne ve uygulama şekillerine göre farklılık gösterebileceği açıklanmaktadır (Gün ve Ekinci 2009, Meyer 2013).

Biyofilm oluşumu, Gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* gibi prokaryot mikroorganizmalarda ve *S. cerevisiae*, *Candida albicans* ve *Candida glabrata* gibi ökaryot mikroorganizmalarda tanımlanmıştır. Bakterilerde biyofilm gelişimi ve hücre çeşitliliğinin moleküler temelleri ile ilgili çok yaygın çalışmalar olmasına rağmen, maya gibi ökaryotik mikroorganizmaların biyofilm formasyonu ve hücre çeşitliliği ile ilgili daha az bilgi olduğu belirtilmiştir (Liu ve ark. 1996, Andersen ve ark. 2014).

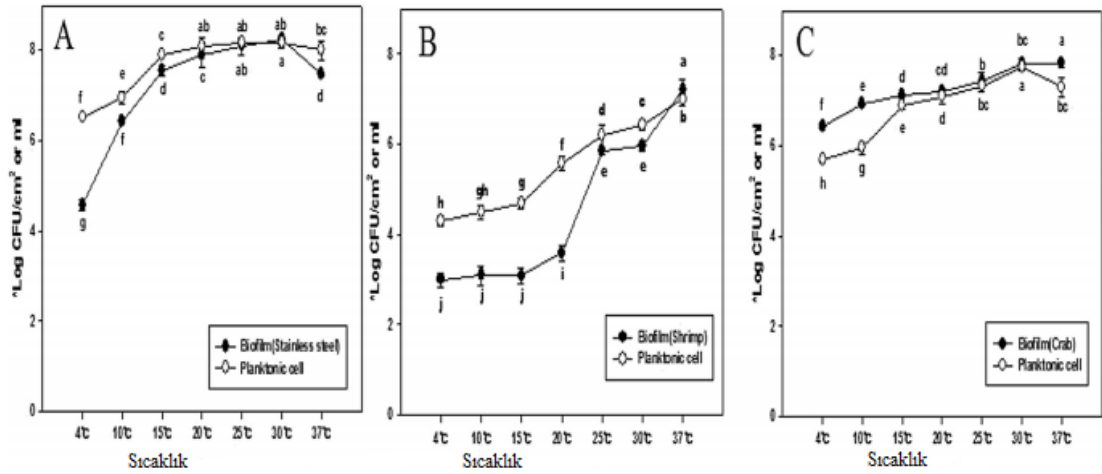
Biyofilmin yapısının saf kültürlerde türe, çoklu kültürlerde ise substrata özgü olduğu belirlenmiştir. Heterojenik biyofilmlerin yapısının çoğunlukla düzensiz olduğu bilinmektedir (Poulsen 1999). Biyofilm içerisindeki mikroorganizmaların; pH, sıcaklık, kirleticiler, hidrolik şok, antibiyotik ve toksik maddeler gibi çevre koşullarına dirençli olduğu kanıtlanmıştır (Cheng ve ark. 2010).

Çeşitli enfeksiyonların sebebi olan ve endüstride sorun yaratan biyofilm birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Mikroorganizmaların ve oluşturdukları biyofilmin, çevre koşullarının değişiminden farklı şekillerde etkilendiği bilinmektedir ve bu konu ile ilgili yapılan bazı çalışmalar özetlenmiştir.

İdeal biyofilm üretimi koşullarının belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklık, su aktivitesi ve pH değerlerinde yapılan bir çalışma sonucunda, biyofilm oluşumu için en uygun sıcaklığın 20°C, NaCl içermeyen ve pH'nın farklı morfoloji içeren *Salmonella* suşlarının biyofilm oluşturma özellikleri üzerindeki etkisinin değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (Karaca 2011).

Song ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada *Vibrio parahaemolyticus*'un biyofilm oluşturmaya üzerine farklı sıcaklıkların etkisi incelenmiştir. Araştırmadan alınan sonuca göre, 15 ve 25°C'de biyofilm gelişim sürecinin farklı olduğu, biyofilm oluşumunun 15°C'de sürekli arttığı, buna karşın 25°C'de biyofilm oluşumunun kademeli olarak arttığı ve 12 saatte zirveye ulaştığı belirtilmiştir. Ayrıca, biyofilm oluşumunun, 25°C'de, 15°C ve 37°C'deki sıcaklıklara kıyasla önemli ölçüde yükseldiği ifade edilmiştir.

Biyofilm oluşumu, mikroorganizmanın gelişme ortamı ve stres koşullarından da etkilenebilmektedir. Aynı zamanda biyofilm oluşumunun gelişme yüzeyi türüne ve sıcaklığına göre farklılık gösterebildiği gözlemlenmiştir. *Vibrio parahaemolyticus*'un biyofilm oluşumunun sıcaklık artışı ile birlikte (15-37°C) daha güçlü biyofilm oluşturduğu buna karşın 4°C ve 10°C'de bakteri hücrelerinin tek tabaka halinde tutunabildiği belirtilmiştir. Sıcaklığın artmasıyla birlikte biyofilm oluşumunun arttığı ancak 37°C'ye yaklaştığında biyofilm oluşum kapasitesinde azalma meydana gelmiştir (Han ve ark. 2016).



**Şekil 2.2.** Çeşitli sıcaklıklarda paslanmaz çelik (A), karides (B) ve yengeç (C) yüzeylerinde planktonik hücreler ve biyofilm oluşumu (Han ve ark. 2016)

Şekil 2.2.'de görüldüğü gibi, paslanmaz çelik, yengeç ve karides yüzeylerinde aynı yönde biyofilm oluşumu meydana gelmiştir. Yengeç ve karides yüzeylerinde 25-37°C'de önemli ölçüde güçlü biyofilm oluşumu gözlemlenmiştir. Bu nedenden dolayı *V. parahaemolyticus* tarafından biyofilm oluşumu için optimum koşullar olarak önerilebileceği belirtilmiştir. *V. parahaemolyticus*'un, yengeç yüzeylerinde, karides yüzeylerindeki önemli ölçüde daha yüksek seviyelerde biyofilm ürettiği ifade edilmiştir. Yengeç yüzeyinin, karides yüzeyinden daha sert olduğu belirtilmiştir. Paslanmaz çelik yüzeylerde ise 30°C'de biyofilm oluşumunun optimum düzeyde olduğu, 37°C'de ise biyofilm oluşumunun azaldığı gözlemlenmiştir (Han ve ark. 2016). Chavant ve ark. (2002) tarafından yapılan bir çalışmada, yeni bir kolonizasyon aşamasından önce hücrelerin ayrılmasının bir sonucu olarak, paslanmaz çelik üzerinde biyofilm oluşumunda bir azalmanın meydana gelebileceğini bildirmişlerdir.

*Burkholderia pseudomallei*, antibiyotik tedavisi, tuzluluk ve bağışıklık tepkileri gibi stres koşullarına karşı koruma sağlayabilen biyofilm üretebilmektedir. Bu nedenle *B. pseudomallei* biyofilm oluşumunun NaCl stresi tarafından etkilenip etkilenmediğini Pumirat ve ark. (2017) tarafından test edilmiştir. Bakteri 0, 150 ve 300 mmol L<sup>-1</sup> NaCl varlığında inkübasyona bırakıldığında, Çizelge 2.1.'de görüldüğü gibi konsantrasyonun artmasıyla birlikte biyofilm kapasitesinin arttığı gözlemlenmiştir. Ancak NaCl'süz

ortamda gelişen bakteriler ve 150, 300 mmol L-1 NaCl varlığında gelişen bakteriler karşılaştırılınca biyofilm oluşumunda belirgin bir fark bulunamadığı belirtilmektedir.

**Çizelge 2.1.** NaCl'nin *Burkholderia pseudomallei*'nin biyofilm formasyonu üzerine etkisi (Pumirat ve ark. 2017)

<i>B. pseudomollei</i> izolatları	OD 630 nm		
	0 mmol L-1 NaCl	150 mmol L-1 NaCl	300 mmol L-1 NaCl
K96243	0,16±0,03	0,21±0,07	0,23±0,07
153	0,24±0,12	0,33±0,18	0,35±0,18
576	0,14±0,01	0,16±0,02	0,22±0,04
1026b	0,20±0,07	0,35±0,22	0,45±0,27
1530	0,17±0,04	0,18±0,04	0,23±0,03
1634	0,21±0,03	0,23±0,03	0,25±0,01

*Salmonella* Enteritidis'in biyofilm oluşturma kapasitesi üzerine sıcaklık, pH ve su aktivitesinin etkisini aydınlatmak amacıyla Giaouris ve ark. (2005) tarafından bir çalışma gerçekleştirilmiştir. 20°C'de 7 günlük inkübasyondan sonra biyofilm oluşumunun pH değerinden bağımsız olduğu gözlemlenmiştir. Buna ek olarak, yüksek konsantrasyonda sodyum klorür (%10,5 NaCl,  $a_w=0,94$ ) varlığının, hücrelerin yapışmasını açıkça engellediği belirlenmiştir.

Di Bonaventura ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada çevre faktörlerinin 51 adet *Stenotrophomonas maltophilia* klinik izolatının biyofilm oluşumu üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda suşların 32°C'deki sıcaklıkta 37 veya 18°C'den daha fazla biyofilm ürettiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte pH 8,5 ve 7,5'te biyofilm miktarı anlamlı derecede farklılık göstermemiştir. Ancak pH 5,5'teki biyofilm miktarı önemli derecede yüksek bulunmuştur. pH 5,5'te yüksek üreticilerin yüzdesi (% 83), pH 7,5'e ve 8,5'e göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Yüksek üretim grubundaki bir suşun, yalnızca pH 8,5'te biyofilm ürettiği ifade edilmiştir.

Çeşitli sterilizatörlere ve dezenfeksiyon prosedürlerine karşı gıda işleme koşullarında oluşan *Listeria monocytogenes* biyofilmlerin direnci, Belessi ve ark. (2011) tarafından değerlendirilmiştir. İlk sanitasyon prosedürü, farklı sıcaklıklarda (5 ve 20°C'de) ve

çeşitli konsantrasyonlarda NaCl (%0,5, 7,5 ve 9,5)'ün paslanmaz çelik yüzeylerdeki (SS) biyofilm oluşumunu içermektedir.

Oluşan biyofilmler, 20 dakika boyunca 60°C sıcaklığındaki suda, 1, 2, 3 ve 6 dakika peroksiasetik asit (%2 PAA)'e maruz bırakılmıştır. Sıcak su ile yapılan muamelede, biyofilm miktarında önemli derecede azalmaya neden olmadığı gözlemlenmiştir. 20°C'de oluşan biyofilmlerin PAA'ya 5°C'de oluşanlara göre daha dirençli olduğu belirlenmiştir. Gelişme ortamındaki tuz konsantrasyonunun PAA direnci üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı ifade edilmektedir.

Xu ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada, tuzun *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella boydii* ve *Salmonella typhimurium* bakterilerinin biyofilm oluşumu üzerine etkisini değerlendirilmiştir. Biyofilm hücreleri, 24 kuyucuklu polistiren mikrotiter plaka kullanılarak farklı NaCl konsantrasyonlarında (%0-10) 37°C'de 10 gün inkübasyona bırakılmıştır. Hücre yüzeyi hidrofobisitesi ve otomatik agregasyon, farklı NaCl konsantrasyonlarında gözlemlenmiştir. Mikrotiter plakaya yapışan hücrelerin sayısı inkübasyon süresi boyunca %4-10 NaCl konsantrasyonlarında kademeli olarak arttığı ifade edilmiştir. NaCl içermeyen ortamda, plakaya yapışan *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *S. boydii* ve *S. typhimurium* hücrelerinin sayısı, 4 gün içindeki inkübasyonda artış göstermiştir. Plakaya yapışan patojen hücrelerin maksimum gelişme hızı ve spesifik gelişme oranı, artan NaCl konsantrasyonu ile birlikte azalmıştır. Yapışan hücrelerin sayısındaki belirgin düşüş, düşük konsantrasyonda NaCl (<%2) içeren hücrelerde gözlenmiştir. Gıda kaynaklı patojenlerin yüzeye yapışma kabiliyetleri, fizikokimyasal yüzey özelliklerinden etkilendiği belirtilmiştir. Hidrofobisite ve otomatik agregasyon, inkübasyon dönemi boyunca biyofilm oluşumunu arttırmıştır. Bu çalışmanın, gıda ile temas eden yüzeyler üzerinde gıda kaynaklı patojenlere ait yapışma ve ayrılma özelliklerini daha iyi anlamak için yararlı bilgiler sağlayabileceği belirtilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde pazardan satın alınan kefir örneklerinden izole edilen ve tanılanan 5 adet *S. cerevisiae* suşu (FEY1, FEY2, FEY3, FEY4 ve FEY7) kullanılmıştır.

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Farklı pH ortamlarının hazırlanması

*S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunu gözlemlemek için besiyeri pH'sı 5,0 ve 6,5'a ayarlanmıştır. Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH değerini ayarlamak için 0,1 N NaOH ve 0,1N HCl çözeltisi kullanılmıştır (Lund ve ark 1990, Yavuz 2009).

##### 3.2.2. K-sorbat, NaCl ve gliserin ilaveli ortamların hazırlanması

Denemede besiyeri olarak Malt Ekstrakt sıvı besiyeri (Merck, Almanya) kullanılmıştır (Anonim 1995). Farklı stres koşullarının biyofilm oluşumuna etkisini görmek için besiyerlerinin pH değeri ayarlandıktan sonra farklı oranlarda gliserin, potasyum sorbat ve NaCl ilave edilmiştir. Besiyerlerine katılan oranlar Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Malt Ekstrakt sıvı besiyerine ilave edilen madde miktarları

Besiyerine ilave edilen maddeler	Miktar
NaCl (%)	0-1,5- 3,5- 5- 10
K-sorbat (mg/L)	100 – 500 – 1000
Gliserin (%)	1- 5

%20'lik potasyum sorbat çözeltisi ve 0,1N NaOH çözeltisinin sterilizasyonunda membran filtrasyon yöntemi kullanılmıştır (Yavuz 2009). Hazırlanan çözeltiler CO<sub>2</sub> gazı basıncı altında steril membran filtreden geçirilmiştir. Membran filtre olarak asit ve alkaliye dayanıklı teflon PFA olarak adlandırılan 45 mm çaplı filtre kullanılmıştır.

Filtre kağıdı olarak gözenek çapı 0,45 µm olan, filtre çapına uygun selüloz asetat filtre kağıdı (Sartorius) kullanılmıştır. Farklı oranlarda NaCl ve gliserin ilave edilerek hazırlanan Malt Ekstrakt sıvı besiyeri ise 121°C'de 15 dk otoklavlanarak steril edilmiştir (Yiğit ve Korukluoğlu 2007).

### **3.2.3. Su aktivitesi tayini**

Gliserin içermeyen, %1 ve 5 oranında gliserin içeren Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin su aktivitesi ( $a_w$ ), Novasina markalı Labmaster  $a_w$  cihazında ölçülmüştür.

### **3.2.4. Mayaların inokülasyonu**

Mayalar araştırma süresince Malt Ekstrakt sıvı besiyerinde aktifleştirilip, aynı besiyerinin agarlı olanında yatık olarak muhafaza edilmiştir. Deneme aşamasında -80°C'de stoklanan maya kültüründen 1 öze dolusu alınarak 10 mL steril Malt Ekstrakt sıvı besiyeri içeren tüplere aşılanmıştır. Tüpler 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakılarak ekimde kullanılacak kültürler hazırlanmıştır (Çabuk ve ark. 2007).

Maya inoküle edilen Malt Ekstrakt sıvı besiyerinden 24 saatlik inkübasyon süresinin sonunda gerekli seyreltmeler yapılarak yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim için daha önceden petrilere dökülen Malt Ekstrakt Agar kullanılmış ve 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Yavuz 2009).

### **3.2.5. *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin değerlendirilmesi**

Çalışmada seçilen 5 suşun biyofilm oluşumunun izlenmesi iki farklı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Uygulanan yöntemler "tüp yöntemi" ve "96 kuyucuklu plaka yöntemi" olarak tanımlanmıştır (Hassan ve ark. 2011, Zhang ve ark. 2013). Mayaların biyofilm oluşturma derecesi, farklı pH, NaCl, potasyum sorbat ve gliserin konsantrasyonları ve inkübasyon sıcaklığında araştırılmıştır.



## **Tüp yöntemi**

İlk olarak yapılan çalışmada, gözle görülen lekeli biyofilm tabakasının tüpün duvarı ve üzerinde gözlenmesini esas alan tüp yönteminden yararlanılmıştır (Hassan ve ark. 2011).

pH değeri 5,0 ve 6,5'e ayarlanmış olan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine ayrı olarak farklı oranlarda NaCl, potasyum sorbat ve gliserin ilave edilerek biyofilm oluşumu incelenmiştir. Bu besiyerinde gelişen 5 ayrı maya suşu 24 saat inkübasyondan sonra, tüplerden boşaltılmıştır. Boşaltılan tüpler steril fosfat tamponu salin (pH 7,3) ile yıkayıp kurutulmuştur. Ardından tüplere %0,1 kristal viyole içerecek şekilde damıtık suyla hazırlanan çözeltiden 10 mL eklenmiş ve 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra tüplerdeki kristal viyole çözeltisi boşaltılıp fazla boya da iyonize su ile yıkamıştır. Bu işlemin ardından tüpler kurumaya bırakılmıştır. Tüpler kuruduktan sonra tüpe yapışan kristal viyole çözeltisinin yoğunluğuna göre yok (0), zayıf (1), orta (2) ve yüksek (3) değerleri verilmiştir (Hassan ve ark. 2011).

## **Farklı NaCl konsantrasyonu ile biyofilm kapasitesindeki değişimin incelenmesi**

pH'sı 5,0 ve 6,5'a ayarlanan besiyerine sırasıyla %0, 1,5, 3,5, 5 ve 10 NaCl içerecek şekilde ilave edilmiştir. Hazırlanan besiyerlerine taze kültürler 500 µL olacak şekilde aşılanmıştır. Kontrol grubunun pH değeri ve NaCl oranı yukarıda belirtilen şekilde ayarlanmıştır. Ancak kontrol grubuna kültür aşılanmamıştır. Hazırlanan örnekler 30 ve 40°C sıcaklıklarda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu aşamadan sonra Tüp yönteminde ifade edilen adımlar takip edilmiştir.

## **Farklı potasyum sorbat konsantrasyonu ile biyofilm kapasitesindeki değişimin incelenmesi**

Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH'sı 5,0 ve 6,5'a ayarlanmış ve sırasıyla 100, 500 ve 1000 mg/L potasyum sorbat ilave edilmiştir. Ardından besiyerlerine 500 µL taze kültür aşılanmıştır. pH değeri ve potasyum sorbat oranı yukarıda belirtilen şekilde ayarlanan kontrol grubu kültür içermemektedir. 30 ve 40°C sıcaklıklarda 24 saat inkübe edilmiştir.

Bu aşamadan sonra tüp yönteminde ifade edilen adımlar takip edilmiştir.

### **Farklı gliserin konsantrasyonu ile biyofilm kapasitesindeki değişimin incelenmesi**

5,0 ve 6,5 pH'ya ayarlanan besiyerine sırasıyla %1 ve 5 içerecek şekilde gliserin ilave edilmiştir. Taze kültürler bu besiyerlerine 500 µL olacak şekilde aşılanmıştır. Kontrol grubu için hazırlanan besiyerinin pH değeri ve gliserin oranı yukarıda belirtilen şekilde ayarlanmış, ancak kontrol grubuna kültür ilave edilmemiştir. Ardından 30 ve 40°C sıcaklıklarda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu aşamadan sonra tüp yönteminde ifade edilen adımlar takip edilmiştir.

### **96 kuyucuklu plaka yöntemi**

96 kuyucuklu plaka yöntemi, biyofilm matrisine eklenmiş kristal viyole çözeltisinin optik yoğunluğuna dayanan ve spektrofotometrik olarak ölçülerek sayısal sonuçları veren nicel bir yöntemdir (Zhang ve ark. 2013).

5 adet *Saccharomyces cerevisiae* suşunun taze kültürleri farklı özelliklerde hazırlanan 10 mL Malt Ekstrakt sıvı besiyeri içerisinde 1: 100 oranında seyreltilmiştir. Seyreltilmiş kültürler, her göze 100 µL olacak şekilde 96 kuyucuklu plakaya eklenmiştir. Farklı sıcaklıklardaki biyofilm oluşumunu incelemek için 30 ve 40°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Negatif kontrol kuyucukları, sadece ayrı olarak farklı oranlarda tuz, K-sorbit ve gliserin ilave edilerek hazırlanmış sıvı besiyeri ortamı içermektedir. İnkübasyondan sonra toplam hücre kütlesi, bir spektrofotometre (BioTek, PowerWave HT Microplate Spectrophotometer) içinde 630 nm'de absorbans olarak ölçülmüştür.

Yapılan ölçümün ardından plakalar boşaltılıp kuyucuklar steril suya daldırılarak yıkanmıştır. Takiben kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutma işlemi takiben her kuyucuğa 125 µL %0,1 kristal viyole solüsyonu (deiyonize su) eklenmiş ve oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilmiştir. Kuyulardaki yapışmış hücrelere bağlı olan boyanın yeniden çözünür hale getirilebildiği ve spektrofotometre ile optik yoğunlukta

ölçülebildiği bilinmektedir. Bu yöntemle, bağlanmamış kristal viyole solüsyonu, plakaları damıtılmış su ile çalkalamak suretiyle kuyucuklardan tamamen çıkarılarak kurutulmuştur. Bağlanan boya çözümü için 100 µL %95 etanol her kuyucuğa aktarılmıştır. Her kuyucukta bulunan etanolde çözülmüş boya solüsyonu sırasıyla temiz bir plakaya aktarılıp 492 nm'de absorbans spektrofotometre ile ölçülmüştür. Bu işlemin ardından spektrofotometrede bulunan değerler,  $B=A_{492}/A_{630}$  formülüne yerleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, biyofilm oluşturmeyen mikroorganizma ( $B<0,1$ ), zayıf ( $0,1<B<0,5$ ), orta ( $0,5<B<1$ ) ve güçlü biyofilm oluşturan mikroorganizma ( $B\geq 1$ ) olarak değerlendirilmiştir (Zhang ve ark. 2013).

### **Farklı NaCl konsantrasyonu ile biyofilm kapasitesindeki değişimin incelenmesi**

Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH değeri 5,0 ve 6,5'a ayarlandıktan sonra %0, 1,5, 3,5, 5 ve 10 oranında NaCl içerecek şekilde ilave edilmiştir. Hazırlanan besiyerlerine taze kültürler 500 µL olacak şekilde aşılanmıştır. Kontrol grubunun pH değeri ve NaCl oranı yukarıda belirtilen şekilde ayarlanmıştır.

Ancak kontrol grubuna kültür aşılanmamıştır. Daha sonra 30 ve 40°C sıcaklıklarda 24 saat inkübe edilmiştir. 96 kuyucuklu plaka yönteminde tanımlanan adımlar sırasıyla uygulanmıştır.

### **Farklı K-sorbat konsantrasyonu ile biyofilm kapasitesindeki değişimin incelenmesi**

pH değeri 5,0 ve 6,5'a ayarlanan Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin potasyum sorbat oranı 100, 500 ve 1000 mg/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu besiyerlerine 500 µL taze kültür aşılanmıştır. pH değeri ve K-sorbat oranı yukarıda belirtilen şekilde ayarlanan kontrol grubuna kültür aşılanmamıştır. Hazırlanan örnekler 30 ve 40°C sıcaklıklarda 24 saat inkübe edilmiştir. 96 kuyucuklu plaka yönteminde tanımlanan adımlar sırasıyla uygulanmıştır.

### **Farklı gliserin konsantrasyonu ile biyofilm kapasitesindeki değişimin incelenmesi**

Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH değeri 5,0 ve 6,5'a ayarlanmıştır. Bu işlemi takiben besiyerine %1 ve 5 oranında içerecek şekilde gliserin ilave edilmiştir. Gliserin içeren besiyerlerine 500 µL taze kültür aşılanmıştır. Kültür aşılanmayan kontrol grubunun pH değeri ve gliserin oranı yukarıda belirtildiği gibi ayarlanmıştır. Takiben 30 ve 40°C sıcaklıklarda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 96 kuyucuklu plaka yönteminde tanımlanan adımlar sırasıyla uygulanmıştır.

### **3.2.6. Sonuçların değerlendirilmesi**

#### ***S. cerevisiae* suşunun biyofilm oluşum kapasitesinin tp yöntemi ile belirlenmesi**

Tp yöntemi için hesaplama, yalnızca pH değeri değiştirilmiş ve ayrı olarak tuz, K-sorbit ve gliserin içeren sıvı besiyeri kontrol tüplerinin sonuçlarına göre gerçekleştirilmiştir. Biyofilm oluşum yeteneği tüplerin dibinde ve/veya duvarlarında gözle görülebilen bir film oluştuğunda tespit edilmiştir. Bu tabaka oluşumu, biyofilm pozitif olarak kabul edilmiştir (Hassan ve ark. 2011). Tp yönteminde sonuçların değerlendirilmesinde izelge 3.2'den yararlanılmıştır.

**Çizelge 3.2.** Tp yönteminde oluşan biyofilm değeri (Hassan ve ark. 2011)

<b>Oluşturulan biyofilm değeri</b>	<b>Anlamı</b>
0	Yok
1	Zayıf
2	Orta
3	Yüksek

#### ***S. cerevisiae* suşunun biyofilm oluşum kapasitesinin 96 kuyucuklu plaka yöntemi ile belirlenmesi**

96 kuyucuklu plaka yöntemiyle 5 ayrı maya suşunun biyofilm oluşum derecesi incelenmiş ve spektrofotometreyle (BioTek, PowerWave HT Microplate Spectrophotometer) 630 nm'de hücre yoğunluğu absorbans değerinin, 492 nm'de ise

etanolde çözülmüş boya miktarı absorbans değerinin ölçümü yapılmıştır. 492 nm ve 630 nm'de absorbans oranı 'B', biyofilm oluşumu seviyesini temsil etmektedir (Zhang ve ark. 2013). Biyofilmlerin oluşum değerlerinin belirlenmesinde Çizelge 3.3'ten yararlanılmıştır.

Oran, aşağıdaki formülle ölçülmüştür:

$$B = A_{492}/A_{630}$$

**Çizelge 3.3.** 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle biyofilm oluşum değerleri (Zhang ve ark. 2013)

<b>Biyofilm değerleri</b>	<b>Anlamı</b>
$B < 0,1$	Biyofilm oluşturmayan mikroorganizma
$0,1 \leq B \leq 0,5$	Zayıf biyofilm oluşturan mikroorganizma
$0,5 \leq B \leq 1$	Orta biyofilm oluşturan mikroorganizma
$B \geq 1$	Güçlü biyofilm oluşturan mikroorganizma

### 3.3. İstatistiksel Analiz

Deneme, tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Bütün hesaplamalar JUMP (Versiyon 7) istatistik paket programından yapılmıştır. F-önemlilik testlerinde %1 ve %5 olasılık düzeyleri kullanılmıştır. İstatistiksel farklı grupların belirlenmesinde LSD testi kullanılmıştır. İstatistiksel analiz tablolarında ana etkenler büyük harfle, ikili ve üçlü interaksiyonlar küçük harfle ifade edilmiştir.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Test mikroorganizması olan 5 adet *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma düzeylerinin araştırılması amacıyla planlanan çalışma sonuçları aşağıda verilmiştir.

### 4.1. Biyofilm Üretiminde Tüp Yöntemi

Bu yöntemde biyofilm oluşumu, tüplerin dibinde ve/veya duvarlarında gözle görülebilen bir film oluştuğunda tespit edilmiştir (Hassan ve ark. 2011). Gözle görülen lekeli biyofilm tabakasının tüp duvarı üzerinde gözlenmesi kalitatif bir yöntemdir. Farklı araştırmacılar tarafından tespit edilen sonuçlardaki değişebilirlik nedeniyle mikroorganizmaların biyofilm oluşturma derecesini belirlemek zorlaşmaktadır. Bu sebeple tüp yöntemi ve 96 kuyucuklu plaka yönteminin birlikte değerlendirilmesi mikroorganizmanın biyofilm oluşturma derecesini belirlemek açısından daha yararlı olacağı gözlemlenmiştir (Hassan ve ark. 2011).

Tüp yönteminde oluşan lekenin fazlalığına göre 0 (yok), 1 (zayıf), 2 (orta), 3 (yüksek) şeklinde puanlama yapılmıştır.

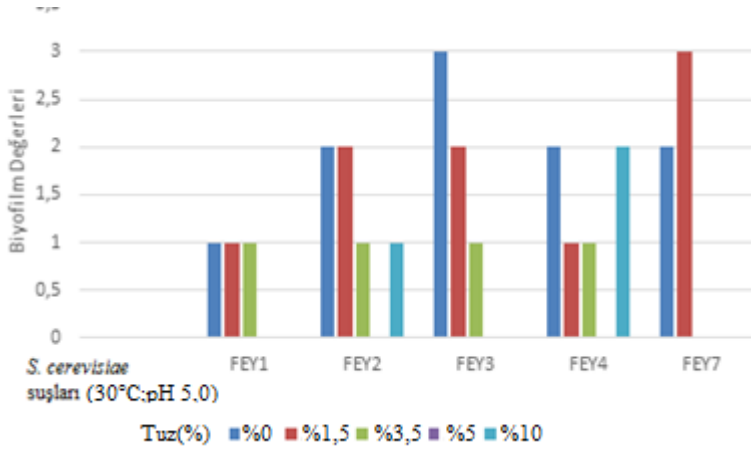
#### 4.1.1. Tüp yöntemiyle *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesi üzerine NaCl'nin etkisi

Besiyerinin pH değeri 5,0 ve 6,5'a ayarlanan ve ardından sırasıyla %0, 1,5, 3,5, 5 ve 10 oranında NaCl ilave edilen kontrol grubu hazırlanmıştır. Takiben aynı şekilde ayarlanan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine FEY1, FEY2, FEY3, FEY4 ve FEY7 maya suşlarından 500 µL'de sırasıyla  $7,5 \times 10^5$ ,  $8,5 \times 10^6$ ,  $1,9 \times 10^7$ ,  $1,6 \times 10^7$  ve  $1,4 \times 10^7$  kob/mL içerecek şekilde ilave edilmiş, ardından 30 ve 40°C'de 24 saat inkübasyona bırakılan örnekler karşılaştırılmıştır.

**Çizelge 4.1.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 5,0)

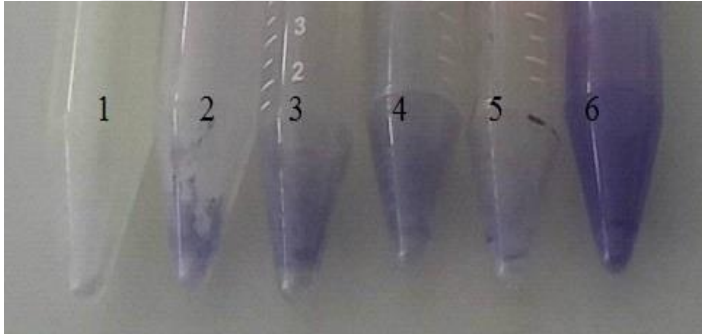
<i>S. cerevisiae</i> suşları	NaCl konsantrasyonu (%)				
	0	1,5	3,5	5	10
<b>FEY1</b>	1	1	1	0	0
<b>FEY2</b>	2	2	1	0	1
<b>FEY3</b>	3	2	1	0	0
<b>FEY4</b>	2	1	1	0	2
<b>FEY7</b>	2	3	0	0	0

Çizelge 4.1.'den elde edilen verilere göre en yüksek biyofilm oluşumunu besiyeri ortamı pH 5,0'de ve NaCl ilavesi olmadan FEY3 suşunda belirlenmiştir. Bu durumun NaCl oranının artmasıyla birlikte azaldığı ve oranın %10 değerine ulaşmasıyla birlikte skalanın '0' olarak değerlendirdiği, yani biyofilm oluşturmadığı gözlenmiştir. Betts ve ark. (1999) yaptığı bir çalışmada *S. cerevisiae* suşunun %8 NaCl oranında gelişemediği buna karşın mayanın gelişimine uygun olan NaCl oranının maksimum %4,8 olduğu sonucuna varılmıştır. *Saccharomyces cerevisiae*'nin metabolizma faaliyetlerini gerçekleştirebilmek için yüksek su aktivitesine (0,65) ihtiyaç duyduğu belirtilmektedir. Bu mayanın fermentasyon yapabilmesi için suyun gerekliliğinin tartışılmaz bir gerçek olduğu bilinmektedir. Yüksek şeker içeren ortamların hücre fizyolojisini olumsuz yönde etkilemek için ozmotik stres uygulayabileceği belirtilmiştir (Walker ve ark. 2016). Ortamın su aktivitesinin düşürülmesiyle birlikte mayanın metabolik faaliyetlerinin sınırlandığı için biyofilm oluşum miktarında azalma gözlemlendiği düşünülmektedir.



**Şekil 4.1.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0)

Şekil 4.1.'de görüldüğü gibi, 30°C'de (pH 5,0) genel olarak NaCl miktarının artmasıyla birlikte biyofilm oluşumunda azalma meydana geldiği belirlenmiştir. NaCl miktarının %10'a ulaşmasıyla birlikte FEY1, FEY3 ve FEY7 suşlarında biyofilm oluşumu gözlemlenmemiştir.



**Şekil 4.2.** *S. cerevisiae* suşlarının %1,5 NaCl oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7)

Şekil 4.2.'de incelendiği üzere %1,5 NaCl oranında en yüksek biyofilm oluşumunu 6 numaralı FEY7 suşu gerçekleştirmiştir ve Tüp Yöntemi'nde yararlanılan skalaya göre '3' değerini almıştır. Skalaya göre bu değer yüksek biyofilm oluşum değeri olarak kabul edilmektedir.



**Çizelge 4.2.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 6,5)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	NaCl konsantrasyonu (%)				
	0	1,5	3,5	5	10
<b>FEY1</b>	2	2	0	0	0
<b>FEY2</b>	2	2	0	0	1
<b>FEY3</b>	3	0	0	1	0
<b>FEY4</b>	2	0	0	0	0
<b>FEY7</b>	3	1	1	0	0

Çizelge 4.2.'ye göre en yüksek biyofilm oluşumunun pH 6,5'da besiyerine NaCl ilave edilmediği durumda ve FEY3 ile FEY7 suşları tarafından oluşturulduğu belirlenmiştir.

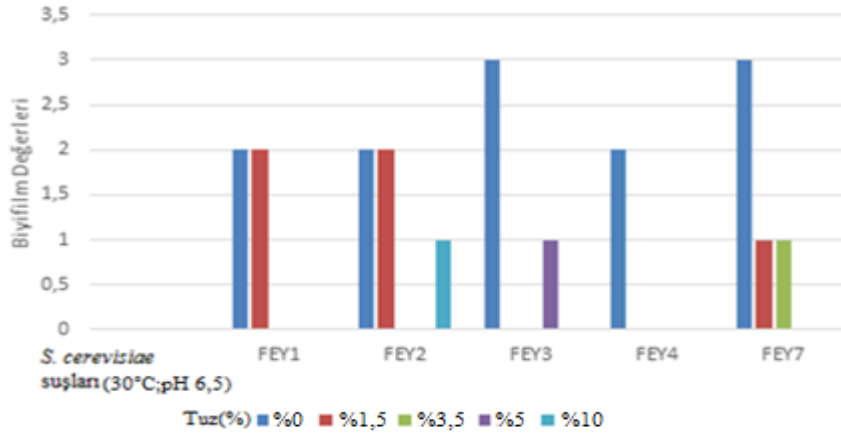
Aynı zamanda NaCl konsantrasyonunun artmasıyla birlikte suşların biyofilm üretiminde azalma meydana gelmiş ve konsantrasyon %10'a çıktığında skalanın '0' olarak değerlendirdiği, yani biyofilm oluşumunun gerçekleşmediği gözlemlenmiştir.

NaCl'nın mayalar üzerindeki etkisinin ortamdaki konsantrasyonu, maya cinsi ve diğer faktörler (pH, koruyucular gibi) sebebiyle değişkenlik göstereceği bildirilmiştir (Kıvanç ve Akgül 1988). Bu bilginin ışığında, *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının aynı pH değerinde tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte 24 saatlik inkübasyon süresince gelişiminin ve oluşturduğu biyofilmin farklı değerlerde olduğu görülmektedir. Ortamda NaCl konsantrasyonunun artmasıyla birlikte hücre hidrofobisitesinde azalma meydana gelmiştir. Böylece NaCl'nın ortamda farklı oranlarda bulunmasıyla birlikte değişen hücre yüzey özellikleri ve biyofilm dağılımları arasında bir ilişki gözlemlenmiştir. Yüksek NaCl oranının hücre adezyonunu engellediği belirtilmiştir (Xu ve ark. 2010). Maya hücresi adezyonunun artan NaCl oranıyla birlikte engellenmesi sonucu hücrelerin birbiriyle bağlantı kurma faaliyetinin azaldığı ve biyofilm oluşumunu gerçekleştirmediği düşünülmektedir. Bu durumdan dolayı NaCl miktarının artmasıyla birlikte mayanın stres koşullarının arttığı ve yeterli biyofilm oluşturamadığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.1. ve 4.2 karşılaştırıldığında inkübasyon sıcaklığı 30°C'de, pH değerinin değişmesi mayanın biyofilm oluşturma yeteneği üzerinde bir miktar değişime yol açmış fakat genel olarak belirgin bir fark yaratmamıştır. Giaouris ve ark. (2005) tarafından

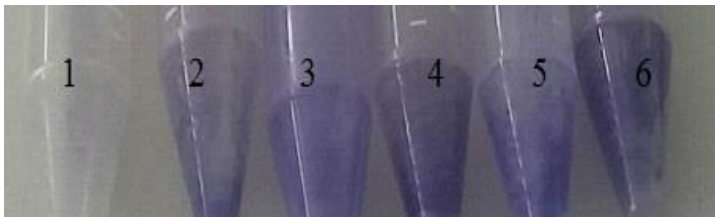
yapılan bir çalışmada 20°C'de 7 günlük inkübasyondan sonra biyofilm oluşumunun pH değerinden bağımsız olduğu sonucuna varılmıştır.

Iliadis ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmada, *S. enterica* suşlarının (ser. Enteritidis ve Typhimurium) ile NaCl miktarındaki artışın biyofilm oluşumunu kısıtladığı belirlenmiştir. Takiben tuzluluğun artmasının, pH değerinden bağımsız olarak bu patojen tarafından daha fazla biyofilm oluşumunu ciddi şekilde sınırladığı anlaşılmaktadır.



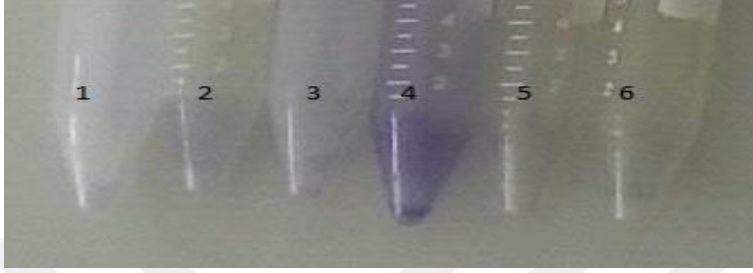
**Şekil 4.3.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5)

Şekil 4.3.'te gözlemlendiği üzere, 30°C'de pH 6,5'da NaCl miktarının %10'a ulaşmasıyla FEY1, FEY3, FEY4 ve FEY7 suşlarının biyofilm oluşturmadığı belirlenmiştir. Ortamda NaCl miktarı %10'a ulaştığında Şekil 4.1. ile karşılaştırıldığı zaman pH değerinin yükselmesiyle suşlardaki biyofilm oluşturma düzeyinde azalma meydana gelmiştir.



**Şekil 4.4.** *S. cerevisiae* suşlarının NaCl içermeyen besiyerinde biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7)

Şekil 4.4. incelendiğinde FEY3 ve FEY7 kodlu mayaların oluşturduğu biyofilm, daha fazla kristal viyole çözeltisi tuttuğu gözlemlenmiştir. Bu sonuca göre FEY3 ve FEY7 suşu biyofilm skalasında '3' değerini almıştır. Takiben yapılan gözlemlerde FEY1, FEY2 ve FEY4 kodlu mayalarının renk yoğunluğu birbirine daha yakın olduğundan skalada '2' değerini almıştır ve bu mayaların orta biyofilm oluşturduğu sonucuna varılmıştır.



**Şekil 4.5.** *S. cerevisiae* suşlarının %5 NaCl oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7)

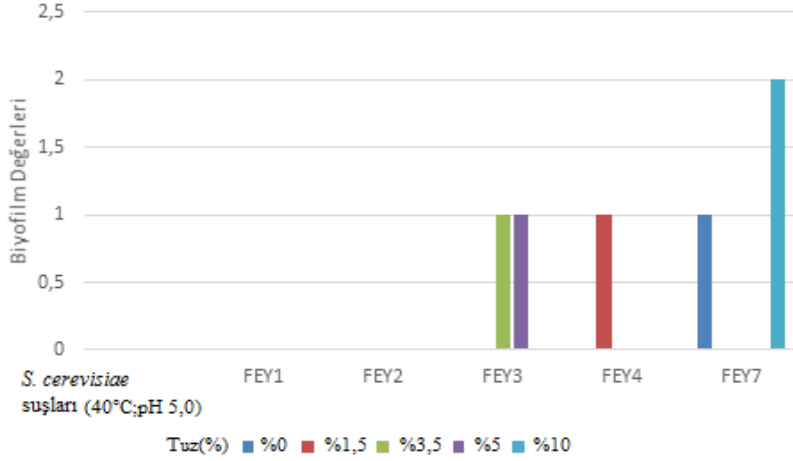
Şekil 4.5. incelendiğinde, ortamın NaCl oranının %5'e yükselmesiyle biyofilm oluşum düzeyinde gözle görülür bir azalış meydana gelmiştir. Bu sonucu takiben FEY3 suşunun zayıf biyofilm (1) oluşturduğu diğer suşların ise biyofilm oluşturmadığı (0) belirlenmiştir.

**Çizelge 4.3.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 5,0)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	NaCl konsantrasyonu (%)				
	0	1,5	3,5	5	10
<b>FEY1</b>	0	0	0	0	0
<b>FEY2</b>	0	0	0	0	0
<b>FEY3</b>	0	0	1	1	0
<b>FEY4</b>	0	1	0	0	0
<b>FEY7</b>	1	0	0	0	2

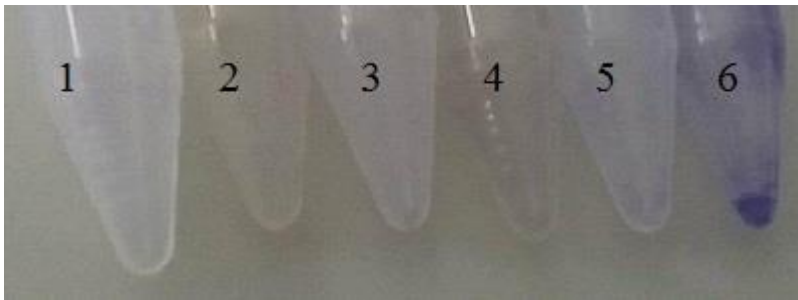
Çizelge 4.3. incelendiğinde artan sıcaklıkla birlikte *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma yeteneğinde belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. *S. cerevisiae*'nin optimum gelişim gösterdiği sıcaklık 20-30°C olarak belirtilmiştir (Walker ve Stewart, 2016). Sıcaklığın 40°C'ye yükselmesiyle birlikte *S. cerevisiae*, maksimum gelişme gösterdiği değerden uzaklaştığı ve bu durumla biyofilm miktarında azalma meydana geldiği düşünülmektedir. Sıcaklığın artmasıyla birlikte mayanın metabolik faaliyetlerinin

yavaşladığı ve biyofilm oluşturmadağı düşünölmektedir. Pan ve ark. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, 22,5 ve 30°C inkübasyon sıcaklığında NaCl oranının %0,5 ile %7,0 arasında artırıldığında biyofilm oluşumunun gözlemlendiğı ancak sıcaklığın 37°C'ye ulaştığında biyofilm oluşumunun durduğı belirtilmektedir.



**şekil 4.6.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0)

şekil 4.6. incelendiğinde, 40°C'de ve pH 5,0'de inkübasyon sıcaklığının yükselmesiyle birlikte FEY1 ve FEY2 suşlarının herhangi bir NaCl konsantrasyonunda biyofilm oluşturmadığı görölmektedir.



**şekil 4.7.** *S. cerevisiae* suşlarının NaCl içermeyen ortamda biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7)

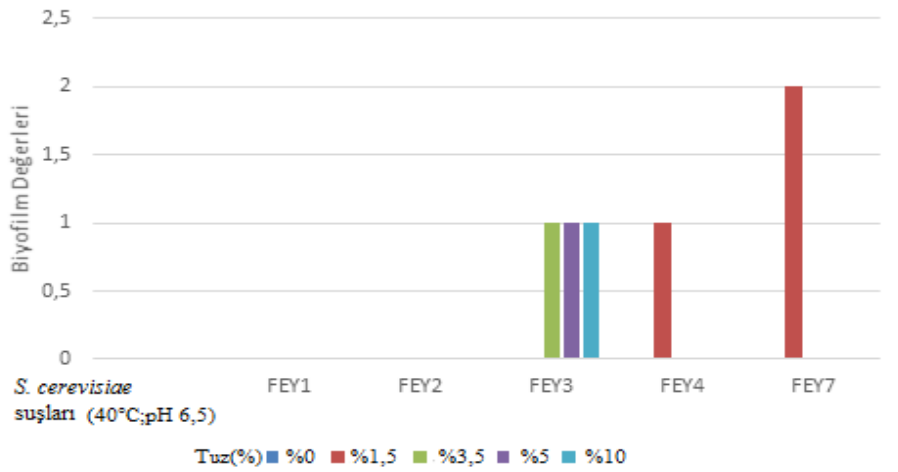
şekil 4.7.'de göröldüğü gibi sıcaklığın artmasıyla birlikte tüpte tutulan kristal viyole boyası miktarında azalma gözlemlenmektedir. şekil incelendiğinde rengin 6 numaralı

FEY7 kodlu mayada oluştuğu ve skalaya göre ‘1’ değerini aldığı, yani zayıf biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 4.4.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 6,5)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	NaCl konsantrasyonu (%)				
	0	1,5	3,5	5	10
<b>FEY1</b>	0	0	0	0	0
<b>FEY2</b>	0	0	0	0	0
<b>FEY3</b>	0	0	1	1	1
<b>FEY4</b>	0	1	0	0	0
<b>FEY7</b>	0	2	0	0	0

Çizelge 4.4. incelendiğinde ise izelge 4.3.’teki verilerle hemen hemen aynı olduğu ve 40°C sıcaklıkta pH değişiminin mayanın biyofilm oluşturma derecesini etkilemediği görülmektedir. *S. cerevisiae* suşlarının ortamda bulunan maltoz, glikoz, sakkaroz ve fruktoz gibi karbon kaynaklarını, fermentasyon yoluyla temel olarak alkol ve karbondioksitde metabolize ettiği bilinmektedir (Walker ve ark. 2016). Mayalarda görülen biyotik ve abiyotik yüzeylere yapışma düzeyi, mayanın kendi üretmiş olduğu metanol, etanol, propanol gibi alkollerden etkilenmektedir. İnkübasyon döneminde ortamdaki alkol miktarının artmasıyla birlikte biyofilm miktarının azaldığı daha önce yapılan çalışmada belirtilmiştir (Arık ve Korukluoğlu 2017). Chauhan ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada *Candida albicans*’ın biyofilm gelişimine alkollerin etkisi incelenmiş ve üretilen tüm alkollerin, konsantrasyona bağlı olarak biyofilm oluşumunu önemli ölçüde inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Mukherjee ve ark. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada üretilen biyofilmlerin metabolik aktivitesinin, %20 etanol varlığında önemli ölçüde azaldığı ve bazal seviyesine ulaştığı, daha yüksek konsantrasyonlarda ise bu bazal seviyesinde kaldığı açıklanmıştır. Ayrıca bu çalışma, %10 etanolün *Candida albicans*’ın biyofilm oluşturma yeteneğini önemli ölçüde azaltabileceğini göstermiştir. Bu verilere göre 24 saatlik inkübasyon sonrası oluşan alkol miktarı ve ortamda var olan NaCl ve pH gibi stres koşullarının biyofilm oluşumunu olumsuz etkileyebileceği dşnlmektedir.



**Şekil 4.8.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5)

Şekil 4.8.'de görüldüğü gibi, 40°C'de ve pH 6,5 değerinde FEY1 ve FEY2 suşunun herhangi bir NaCl konsantrasyonunda biyofilm oluşumu meydana gelmemiştir. FEY3 suşunda %0 ve 1,5 NaCl oranında biyofilm oluşumu gözlemlenmemiştir. FEY4 suşunun NaCl oranı %1,5 olduğunda skalaya göre biyofilm oluşumu zayıf (1) düzeyde gerçekleşmiştir. FEY7 suşunun ise yine NaCl oranı %1,5 olduğunda biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir.

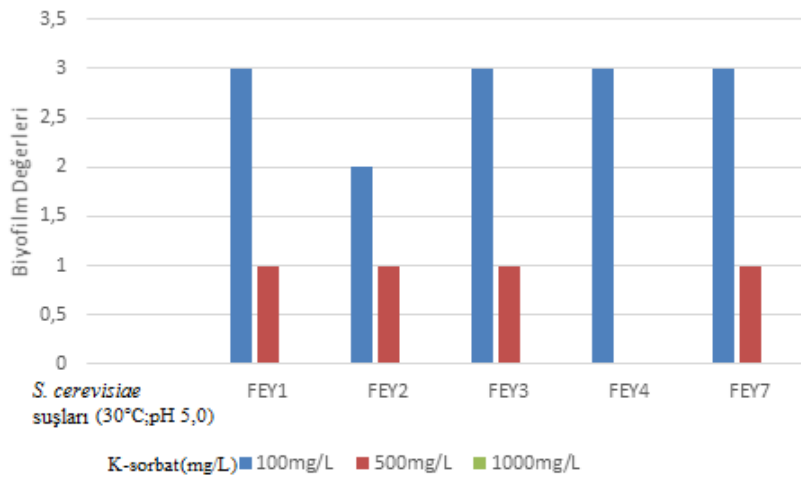
#### 4.1.2. Tüp yöntemiyle *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesi üzerine potasyum sorbat konsantrasyonlarının etkisi

Tüp yöntemiyle *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesi incelenirken, pH değeri 5,0 ve 6,5'a ayarlandıktan sonra sırasıyla 100, 500 ve 1000 mg/L oranında potasyum sorbat içerecek şekilde ayarlanan kontrol grubu ile yine aynı şekilde ayarlanan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine FEY1, FEY2, FEY3, FEY4 ve FEY7 maya suşlarından 500 µL'de sırasıyla  $7,5 \times 10^5$ ,  $8,5 \times 10^6$ ,  $1,9 \times 10^7$ ,  $1,6 \times 10^7$  ve  $1,4 \times 10^7$  kob/mL içerecek şekilde ilave edilen ve 30 ve 40°C'de 24 saat inkübasyona bırakılan örnekler karşılaştırılmıştır.

**Çizelge 4.5.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı K-sorbat oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 5,0)

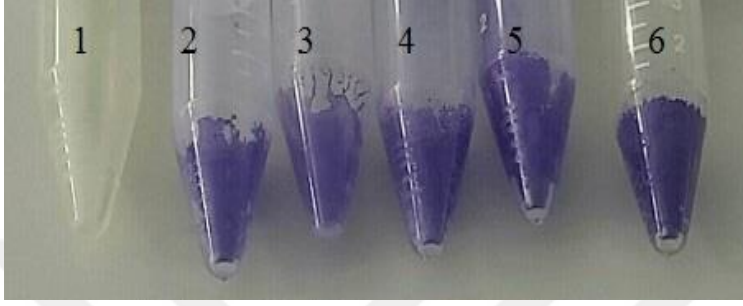
<i>S. cerevisiae</i> suşları	K-sorbat konsantrasyonu(mg/L)		
	100	500	1000
<b>FEY1</b>	3	1	0
<b>FEY2</b>	2	1	0
<b>FEY3</b>	3	1	0
<b>FEY4</b>	3	0	0
<b>FEY7</b>	3	1	0

Çizelge 4.5.'de görüldüğü gibi pH değeri 5,0 olan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine 100 mg/L K-sorbat eklenmesiyle *S. cerevisiae* suşlarının genel olarak skalada belirtildiği gibi yüksek değerlerde biyofilm ürettiği, besiyerindeki K-sorbat miktarının artmasıyla birlikte biyofilm oluşumunun zayıfladığı görülmektedir. Canlı dokular, medikal implantlar, endüstriyel veya içme suyu sistemlerinin boruları, cam ve plastik yüzeyler gibi birçok farklı yüzeyde mikrobiyel biyofilm oluşumuna rastlandığı belirtilmektedir. Güven ve Onurdağ (2014)'in yapmış olduğu çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda; ilaç, kozmetik ve gıda ürünlerinde mikrobiyel kontaminasyonu önlemek amacıyla kullanılan potasyum sorbatın mikroorganizmaların biyofilm formlarına etkili olmadıkları tespit edilmiştir. Ancak yapılan çalışmada potasyum sorbatın miktarının artması, biyofilm oluşumunu azaltmış ve 1000 mg/L'de tamamen engellemiştir.



**Şekil 4.9.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0)

Şekil 4.9’da gözlemlendiği üzere, 30°C’de ve pH 5,0’te 100 mg/L potasyum sorbat düzeyinde 5 adet suşta biyofilm oluşumu görülmektedir. Potasyum sorbat miktarı 500 mg/L’ye yükseldiğinde suşların biyofilm oluşumunda bir azalma tespit edilmiştir. Ayrıca bu değerde FEY4 suşunun biyofilm oluşturmadığı belirlenmiştir. Ortamda potasyum sorbat oranı 1000 mg/L’ye ulaştığında ise suşlar biyofilm oluşturmamıştır.



**Şekil 4.10.** *S. cerevisiae* suşlarının 100 mg/L potasyum sorbat oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7)

Şekil 4.10. incelendiğinde FEY1, FEY3, FEY4 ve FEY7 suşlarının FEY2’ye göre güçlü düzeyde biyofilm oluşturarak kristal viyole çözeltisini daha fazla tuttukları görülmektedir.

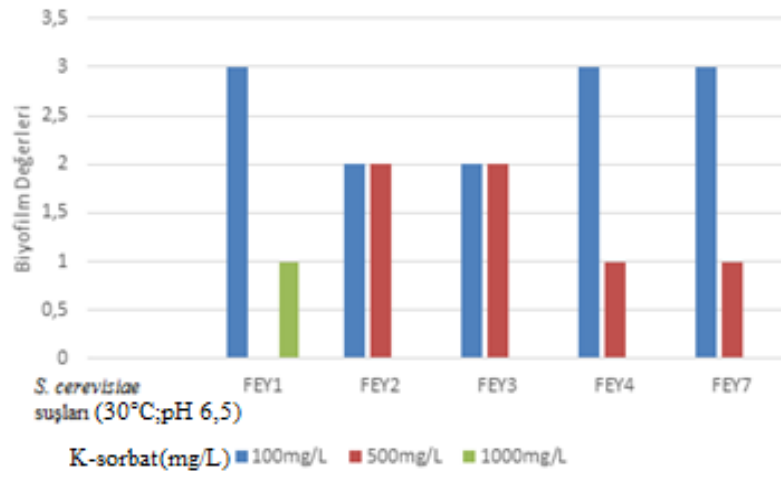
**Çizelge 4.6.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı K-sorbat oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 6,5)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	K-sorbat konsantrasyonu(mg/L)		
	100	500	1000
<b>FEY1</b>	3	0	1
<b>FEY2</b>	2	2	0
<b>FEY3</b>	2	2	0
<b>FEY4</b>	3	1	0
<b>FEY7</b>	3	1	0

Çizelge 4.6’da görüldüğü gibi pH değerinin 6,5’a yükselmesiyle birlikte 100 mg/L K-sorbat eklenen besiyerindeki suşların biyofilm oluşum değerinde büyük bir değişim gözlenmemişken aynı koşullarda miktarın 500 mg/L’ye yükselmesiyle birlikte biyofilm oluşumunda bir miktar artış olduğu değerlendirilmiştir. Biyofilm oluşum değerindeki bu

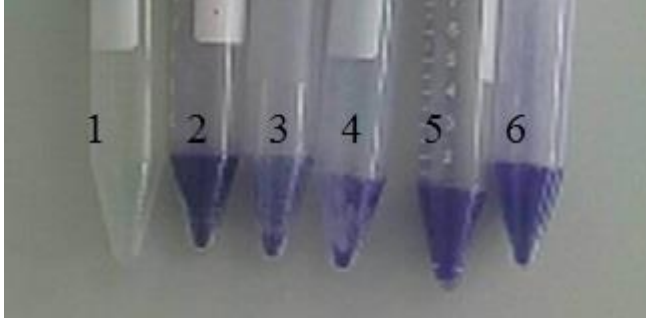


artışın besiyerindeki K-sorbat oranının 1000 mg/L'ye yükselmesiyle birlikte azaldığı gözlemlenmektedir. Sorbik asit gibi organik asitlerin sulu çözeltilerde ayrıştığı ve ortama hidrojen iyonu verdiği bilinmektedir. Sorbik asitin, antimikrobiyel aktiviteyi sağlayan ayrışmamış formdaki moleküller olduğu ve bu formdaki moleküllerin miktarı pH ile tespit edileceği belirtilmiştir. Sorbik asit tuzlarının antimikrobiyel etkisi, ayrışma sabiti 4,75'e yaklaştığında artmaktadır. Takiben sorbatların etkili olduğu en yüksek pH limiti 6,0-6,5 aralığında olduğu açıklanmıştır. Sorbatın düşük pH değerine sahip olan gıdalarda oldukça etkili oldukları bildirilmektedir (Liewen ve Marth 1985, Dinçoğlu 2005).



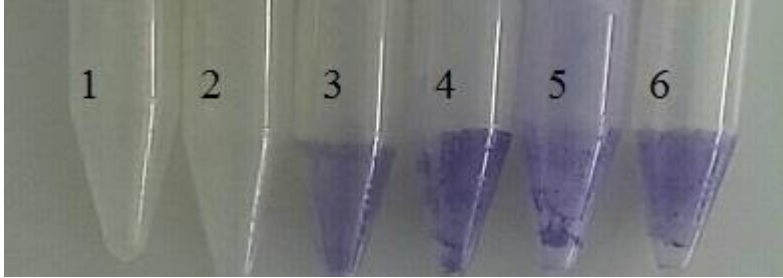
**Şekil 4.11.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5)

30°C'de pH 6,5'da FEY1 suşunun ortamda 100 mg/L potasyum sorbat bulunduğunda biyofilm oluşumunun Şekil 4.11.'de görüldüğü gibi, skalaya göre 3 değerini aldığı, ancak ortamın potasyum sorbat miktarının 1000 mg/L'ye yükselmesiyle birlikte biyofilm oluşturma düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir. FEY2 ve FEY3 suşları 100 ve 500 mg/L potasyum sorbat miktarında aynı düzeyde biyofilm oluşturmuştur. FEY4 ve FEY7 suşları ise 100 mg/L'de 3 düzeyinde biyofilm oluştururken potasyum sorbat miktarının 500 mg/L'ye yükselmesiyle biyofilm oluşum miktarında azalma meydana gelmekte ve 1000 mg/L'ye ulaştığında biyofilm oluşturmadığı gözlemlenmektedir.



**Şekil 4.12.** *S. cerevisiae* suşlarının 100 mg/L potasyum sorbat oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7)

Şekil 4.12.'de görüldüğü gibi besiyerinde 100 mg/L K-sorbat olduğu durumda pH değerinin 6,5'e yükselmesiyle birlikte pH 5,0'de biyofilm oluşum değerine göre belirgin bir farklılık elde edilmemiştir. Schelegueda ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, ortama potasyum sorbat eklenmesiyle *Zygosaccharomyces bailii*'nin gelişiminin yavaşladığı ve inaktivasyonunun azaldığı görülmüştür. Ortama K-sorbat eklenmesiyle birlikte mayanın faaliyeti yavaşlamıştır ve biyofilm üretiminde azalma meydana gelmiştir. Biyofilm üretimindeki azalma, ortamdaki K-sorbat miktarının artmasıyla birlikte daha iyi gözlemlenmiştir.



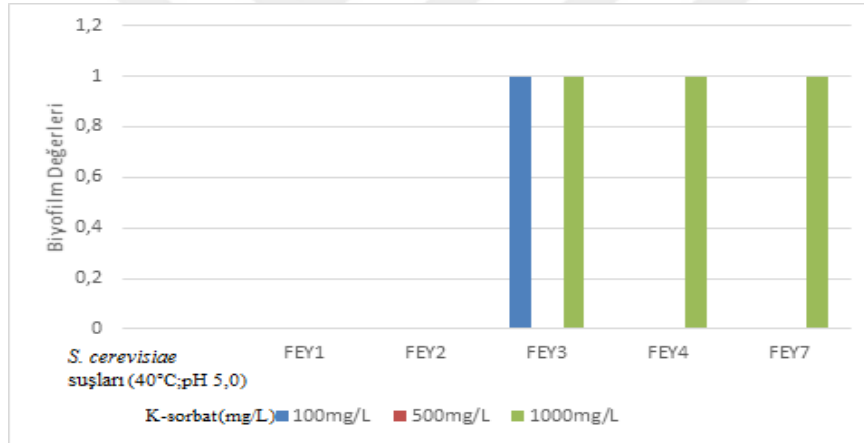
**Şekil 4.13.** *S. cerevisiae* suşlarının 500 mg/L potasyum sorbat oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7)

Ortamın sıcaklığının 30°C ve pH değerinin 6,5 olduğu besiyerine 500 mg/L potasyum sorbat ilave edilmesiyle birlikte 24 saat inkübasyondan sonra suşların biyofilm oluşturma düzeyi Şekil 4.13.'de görülmektedir. Buna göre FEY1 suşu biyofilm oluşturmamış, FEY4 ve FEY7 suşları ise zayıf düzeyde (1) biyofilm oluşturmuştur. FEY2 ve FEY3 suşları orta düzeyde (2) biyofilm üretmiştir.

**Çizelge 4.7.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı K-sorbit oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 5,0)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	K-sorbit konsantrasyonu(mg/L)		
	100	500	1000
<b>FEY1</b>	0	0	0
<b>FEY2</b>	0	0	0
<b>FEY3</b>	1	0	1
<b>FEY4</b>	0	0	1
<b>FEY7</b>	0	0	1

İnkübasyon sıcaklığının 40°C'ye yükselmesiyle Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi K-sorbitin tüm konsantrasyonlarında *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunda belirgin bir azalış meydana gelmiştir.



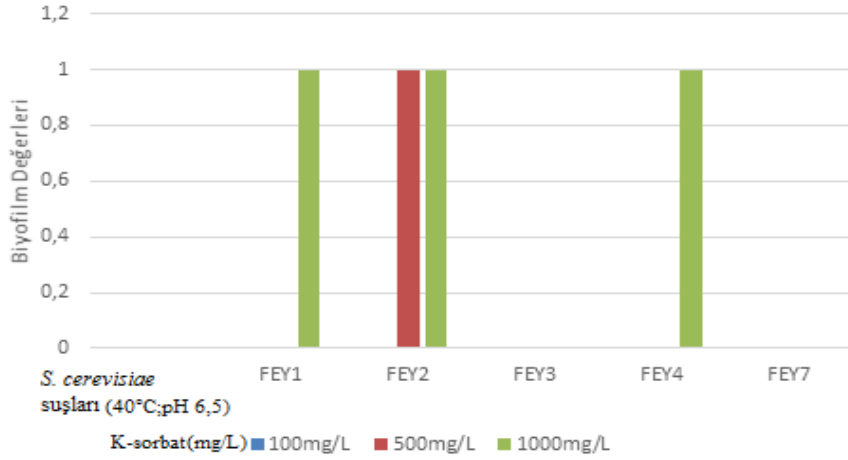
**Şekil 4.14.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0)

Şekil 4.14.'te, inkübasyon sıcaklığı 40°C ve besiyerinin pH'sı 5,0 olduğunda FEY1 ve FEY2 suşlarının herhangi bir potasyum sorbat değerinde biyofilm oluşturmadığı gözlemlenmektedir. FEY3 suşu 100 ve 1000 mg/L potasyum sorbat oranında aynı düzeyde biyofilm oluşturmuştur. FEY4 ve FEY7 suşları ise yalnızca 1000 mg/L potasyum sorbat oranında 1 düzeyinde biyofilm oluşturduğu görülmektedir.

**Çizelge 4.8.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı K-sorbat oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 6,5)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	K-sorbat konsantrasyonu(mg/L)		
	100	500	1000
<b>FEY1</b>	0	0	1
<b>FEY2</b>	0	1	1
<b>FEY3</b>	0	0	0
<b>FEY4</b>	0	0	1
<b>FEY7</b>	0	0	0

Çizelge 4.8.'de inkübasyon sıcaklığı 40°C ve pH değerinin 6,5'a yükselmesi *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunu özellikle 100 mg/L K-sorbat konsantrasyonunda olumsuz yönde etkilemiştir. Çizelge 4.7. ile Çizelge 4.8. karşılaştırıldığında sıcaklık 40°C'de pH değerinin 6,5'a yükselmesi biyofilm üretiminde belirgin bir fark yaratmamıştır.



**Şekil 4.15.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5)

Şekil 4.15.'de görüldüğü gibi, 40°C'de ve pH 6,5 değerinde FEY2 suşu 500 ve 1000 mg/L potasyum sorbat oranında aynı düzeyde biyofilm oluşturmuştur. FEY1, FEY4 suşlarının 1000 mg/L potasyum sorbat oranında 1 düzeyinde biyofilm oluşumu gözlemlenmiştir. FEY3 ve FEY7 suşları ise herhangi bir potasyum sorbat oranında biyofilm oluşturmamıştır.

#### 4.1.3. Tüp yöntemiyle *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesi üzerine gliserin konsantrasyonlarının etkisi

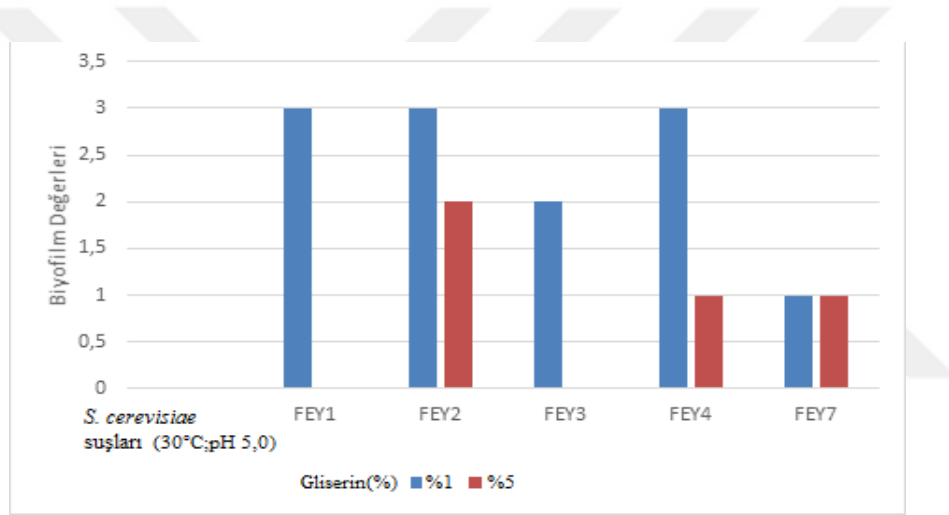
Kontrol grubunun pH değeri 5,0 ve 6,5'a ayarlanmış, sırasıyla %1 ve 5 oranında gliserin ilave edilmiştir. Takiben aynı şekilde elde edilen Malt Ekstrakt sıvı besiyerine FEY1, FEY2, FEY3, FEY4 ve FEY7 maya suşlarından 500 µL'de sırasıyla  $7,5 \times 10^5$ ,  $8,5 \times 10^6$ ,  $1,9 \times 10^7$ ,  $1,6 \times 10^7$  ve  $1,4 \times 10^7$  kob/mL içecek şekilde ilave edilmiş ve ardından 30 ve 40°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra kontrol grubu ve örnekler karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Gliserinsiz, %1 ve %5 oranında gliserin katılan besiyerinin su aktivite değerleri sırasıyla 0,979, 0,972 ve 0,963 olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 4.9.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 5,0)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	Gliserin konsantrasyonu (%)	
	1	5
<b>FEY1</b>	3	0
<b>FEY2</b>	3	2
<b>FEY3</b>	2	0
<b>FEY4</b>	3	1
<b>FEY7</b>	1	1

Çizelge 4.9.'da görüldüğü gibi 30°C'lik inkübasyon sıcaklığı ve pH'nın 5,0 olduğu durumda besiyerine %1 oranında gliserin ilavesiyle birlikte *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunun suşlara göre değişmekle birlikte genel olarak güçlü bir şekilde gerçekleştiği görülmektedir. Bununla birlikte aynı koşullarda Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin gliserin oranının %5'e yükselmesiyle yani su aktivitesinin düşmesiyle birlikte suşların biyofilm oluşumunda belirgin bir azalış gözlemlenmektedir. *Saccharomyces cerevisiae* dahil olmak üzere maya türlerinin çoğunluğu 0,9-1,0 su aktivitesi değeri gibi dar bir aralıkta faaliyet göstermektedir. *Saccharomyces cerevisiae*'nin gelişmesi için optimum su aktivitesi değeri 0,975 ile 0,999 aralığında olduğu ve bu değer 0,94'ün altına indiğinde mayanın gelişemeyeceği belirtilmiştir. Aynı zamanda mayanın ürettiği etanolün, su aktivitesi değerini düşürerek hücrede su stresine neden olduğu bilinmektedir. Bu durumda hidratlanmış hücre

bileşenlerinin içindeki ve arasındaki hidrojen bağları etkileşime girmekte, hücrede enzim ve membran yapısı bozulmaktadır (Hallsworth 1998). Sıvı besiyerine gliserin eklenmesiyle birlikte ortamın su aktivitesinin azaldığı ve mayanın gelişemediği gözlemlenmektedir. Bu bilgiye göre gliserinin konsantrasyonunun %5'e yükselmesiyle mayanın metabolik faaliyetlerinin yavaşladığı ve biyofilm oluşturamadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda mikroorganizmanın gelişimi ve biyofilm üretimi için çevresel faktörlerin oldukça önem taşıdığı bilinmektedir. Önemli çevresel faktörlerden biri olan sıcaklığın biyofilm oluşumuna etkisini araştıran Mei ve ark. (2017), 30°C'deki biyofilm oluşumunun 10 ve 20°C'dekinden daha fazla miktarda olduğu sonucunu elde etmiştir.



**Şekil 4.16.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0)

Şekil 4.16. incelendiğinde, 30°C'de ve pH 5,0'de ortamda %1 gliserin bulunduğu zaman FEY1, FEY2 ve FEY4 suşlarının 3 düzeyinde, FEY3 ve FEY7 suşlarının ise sırasıyla 2 ve 1 düzeyinde biyofilm oluşturduğu belirlenmiştir. Gliserin miktarının %5'e yükselmesiyle birlikte FEY1 ve FEY3 suşlarının biyofilm oluşturmadığı, FEY2 suşunun biyofilm değerinin 2'ye indiği görülmektedir. FEY4 ve FEY7 suşları ise %5 gliserin oranında aynı değerde biyofilm oluşturmamıştır.



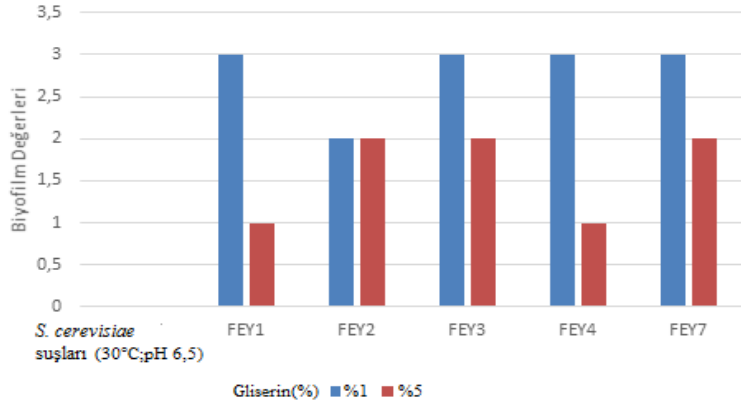
**Şekil 4.17.** *S. cerevisiae* suşlarının %1 gliserin oranında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0) (1: kontrol 2: FEY1 3: FEY2 4: FEY3 5: FEY4 6: FEY7)

Malt ekstrakt sıvı besiyerinin pH değeri 5,0 ve ortamdaki gliserin oranı %1 olduğunda suşların biyofilm oluşumundaki değişim Şekil 4.17.'de görülmektedir. Buna göre, FEY1, FEY2 ve FEY4 suşları yüksek (3), FEY3 suşu orta ve FEY7 suşu ise zayıf (1) düzeyde biyofilm üretmiştir.

**Çizelge 4.10.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (30°C; pH 6,5)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	Gliserin konsantrasyonu (%)	
	1	5
<b>FEY1</b>	3	1
<b>FEY2</b>	2	2
<b>FEY3</b>	3	2
<b>FEY4</b>	3	1
<b>FEY7</b>	3	2

Çizelge 4.10.'da görüldüğü gibi Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH değeri 6,5'da su aktivitesinin az da olsa düşmesi biyofilm oluşumunu olumsuz yönde etkilemiştir.



**Şekil 4.18.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5)

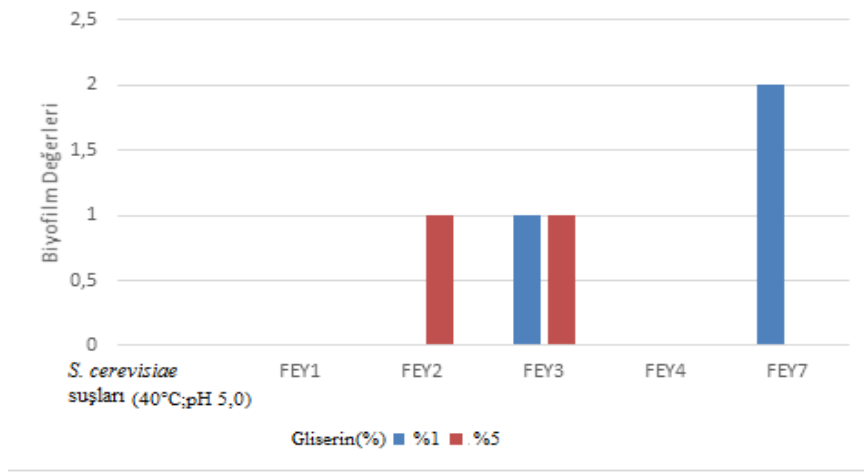
30°C’de pH 6,5’da %1 gliserin oranında Şekil 4.18.’de görüldüğü gibi, FEY1, FEY3, FEY4 ve FEY7 suşları 3 düzeyinde, FEY2 suşu ise 2 düzeyinde biyofilm oluşturmuştur. Gliserin oranı %5’e yükseldiğinde ise FEY2, FEY3 ve FEY7 suşları 2 düzeyinde, FEY1 ve FEY4 suşları 1 düzeyinde biyofilm oluşturmuştur.

**Çizelge 4.11.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 5,0)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	Gliserin konsantrasyonu (%)	
	1	5
<b>FEY1</b>	0	0
<b>FEY2</b>	0	1
<b>FEY3</b>	1	1
<b>FEY4</b>	0	0
<b>FEY7</b>	2	0

Çizelge 4.11. incelendiğinde inkübasyon sıcaklığının 40°C’ye yükselmesiyle birlikte biyofilm oluşum değerlerinde Çizelge 4.9.’a göre azalma meydana gelmiştir.





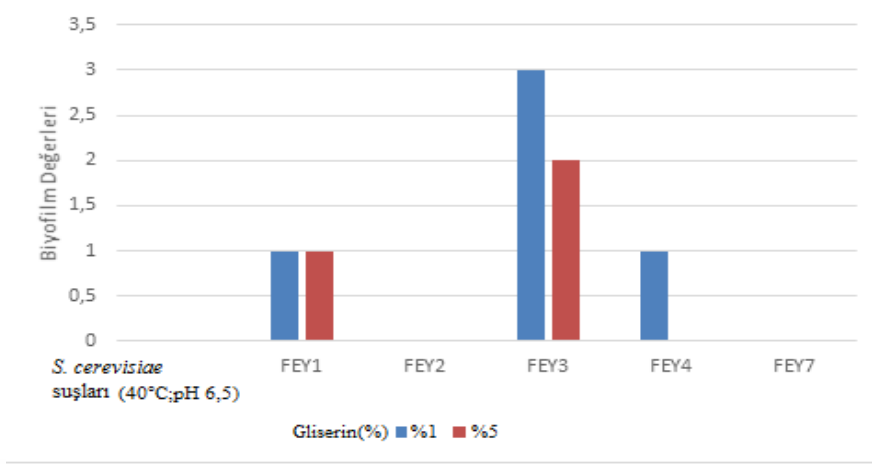
**Şekil 4.19.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0)

Şekil 4.19.'da 40°C'de ve pH 5,0 değerinde ortamda %1 düzeyinde gliserin bulunduğu FEY1, FEY2, FEY4 suşlarının biyofilm oluşturmadığı, FEY3 ve FEY7 suşlarının ise sırasıyla 1 ve 2 düzeyinde biyofilm oluşturduğu gözlemlenmiştir. Ortamda %5 düzeyinde gliserin bulunduğu ise FEY1, FEY4 ve FEY7 suşları biyofilm oluşturmamış, FEY2 ve FEY3 suşları ise aynı düzeyde biyofilm oluşturmuştur.

**Çizelge 4.12.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma kapasitesinin tüp yöntemiyle değerlendirilmesi (40°C; pH 6,5)

<i>S. cerevisiae</i> suşları	Gliserin konsantrasyonu (%)	
	1	5
<b>FEY1</b>	1	1
<b>FEY2</b>	0	0
<b>FEY3</b>	3	2
<b>FEY4</b>	1	0
<b>FEY7</b>	0	0

Çizelge 4.12.'de biyofilm oluşum düzeyinin *S. cerevisiae*'nin suşlara göre değişim gösterdiği ancak genel olarak besiyerindeki gliserin konsantrasyonu arttıkça biyofilm oluşumunun azaldığı belirlenmiştir. Çizelge 4.10. ile Çizelge 4.12. karşılaştırıldığında özellikle besiyeri %1 gliserin içerirken ortam sıcaklığının yükselmesi ve pH değerinin 6,5'a ayarlanmasıyla biyofilm oluşumunda büyük miktarda bir azalma gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.20.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5)

%1 gliserin bulunan ortamda (Şekil 4.20.) FEY1 ve FEY4 suşlarının zayıf (1) biyofilm oluşturduğu, FEY3 suşunun yüksek (3) düzeyde biyofilm oluşturduğu ve FEY2, FEY7 suşlarının ise biyofilm oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Ortamda gliserin oranı %5'e yükseldiğinde FEY2, FEY4 ve FEY7 suşlarının biyofilm oluşturmadığı, FEY1 ve FEY3 suşlarının ise biyofilm oluşumunun sırasıyla zayıf (1) ve orta (2) düzeyde olduğu görülmüştür.

#### 4.2. Biyofilm Üretiminde 96 Kuyucuklu Plaka Yöntemi

Bu yöntem, biyofilm matrisine eklenen kristal viyole çözeltisinin optik yoğunluğunun spektrofotometrik olarak ölçüldüğü ve sayısal sonuçların elde edildiği nicel bir yöntem olarak açıklanmıştır (Zhang ve ark. 2013). Boyama periyodu boyunca kuyucuklardaki test mikroorganizmaları tarafından oluşturulan biyofilm tabakası, bu tabakanın kalınlığına göre farklı miktarlarda kristal viyole solüsyonunu tuttuğu gözlemlenmiştir (Arık ve Korukluoğlu 2017).

#### 4.2.1. *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin farklı NaCl konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle değerlendirilmesi

Kontrol grubunun pH değeri 5,0 ve 6,5'a ayarlandıktan sonra sırasıyla %0, 1,5, 3,5, 5 ve 10 oranında NaCl ilave edilmiş ve yine aynı şekilde hazırlanan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine 5 ayrı maya suşu eklenmiştir. Takiben hazırlanan kontrol grubu ve Malt Ekstrakt sıvı besiyerinde bulunan FEY1, FEY2, FEY3, FEY4 ve FEY7 maya suşları sırasıyla 100 µL'de  $1,5 \times 10^5$ ,  $1,7 \times 10^6$ ,  $3,9 \times 10^6$ ,  $3,2 \times 10^6$  ve  $2,8 \times 10^6$  kob/mL olacak şekilde kuyucuklara aktarılmıştır. Ardından 30 ve 40°C' de inkübasyona bırakılan örnekler karşılaştırılmıştır.

Bu yöntemle elde edilen sonuçlar 'B= A492/A630' formülü yardımıyla hesaplanmıştır. Biyofilm dereceleri; biyofilm oluşturmayan mikroorganizma ( $B < 0,1$ ), zayıf ( $0,1 \leq B \leq 0,5$ ), orta ( $0,5 \leq B \leq 1$ ) ve güçlü biyofilm oluşturan mikroorganizma ( $B \geq 1$ ) olarak belirlenmiştir (Zhang ve ark. 2013).

**Çizelge 4.13.** 30°C'de *S. cerevisiae* suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu

Varyans analiz tablosu				
Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Maya	4	0,125	0,031**	5,112
pH	1	0,165	0,165**	27,06
MayaxpH	4	0,014	0,003**	0,562
NaCl	4	1,981	0,495**	81,046
MayaxNaCl	16	0,392	0,025**	4,013
MayaxNaClxpH	16	0,109	0,007	1,11
NaClxpH	4	0,222	0,056**	9,095
Hata	100	0,611	0,006	

\*: %5 düzeyinde önemli      \*\*: %1 düzeyinde önemli

Çizelge 4.13.'de incelenen varyans analiz tablosuna göre bu istatistiksel değerlendirmede maya, pH ve NaCl farklılıkları ve mayaxNaCl, NaClxpH interaksiyonları %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.14.** 30°C’de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonları

Maya	pH		Maya ort.
	5	6,5	
FEY1	0,137	0,092	0,114 BC
FEY2	0,206	0,114	0,16 A
FEY3	0,166	0,079	0,123 AB
FEY4	0,103	0,049	0,076 C
FEY7	0,173	0,119	0,146 AB
pH ort.	0,157 A	0,0901 B	

96 kuyucuklu plaka yönteminde biyofilm oluşum derecesinin belirlenmesiyle ilgili yapılan istatistiksel analizde pH ortalamalarına göre biyofilm değerleri incelendiğinde inkübasyon sıcaklığı 30°C ve pH değeri 5,0’de biyofilm oluşum derecesinin en yüksek değeri aldığı Çizelge 4.14.’de görülmektedir. Çizelgede *S. cerevisiae* suşları ortalaması incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumunu FEY2, FEY3 ve FEY7 suşları gerçekleştirmiştir.

**Çizelge 4.15.** 30°C’de mayaxNaCl ortalamaları ve interaksyonları

Maya	NaCl konsantrasyonu(%)					Maya ort.
	0	1,5	3,5	5	10	
FEY1	0,317 b	0,073 d-g	0,13 c-e	0,052 d-g	0,00 g	0,114 BC
FEY2	0,458 a	0,14 cd	0,117 c-f	0,085 c-g	0,00 g	0,16 A
FEY3	0,27 b	0,092 c-f	0,112 c-f	0,14 cd	0,00 g	0,123 AB
FEY4	0,17 c	0,072 d-g	0,04 f-g	0,098 c-f	0,00 g	0,076 C
FEY7	0,495 a	0,098 c-f	0,088 c-g	0,047 e-g	0,00 g	0,146 AB
tuz ort.	0,342 A	0,095 B	0,097 B	0,084 B	0,00 C	

Çizelge 4.15.’e göre en yüksek biyofilm oluşum derecesi, Malt Ekstrakt sıvı besiyerine NaCl ilave edilmediği durumda meydana gelmiştir. Maya ortalamaları incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumunu 30°C’de FEY2, FEY3 ve FEY7 suşları gerçekleştirmiştir. MayaxNaCl interaksyonu incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumu yine besiyerine NaCl ilave edilmediğinde FEY2 ve FEY7 suşları tarafından oluşturulmuştur. Biyofilm oluşumu NaCl oranı arttıkça zayıflamış ve %10’a ulaşıldığında biyofilm oluşumu gerçekleşmemiştir.

NaCl'nın ilave edilmediği durumda *S. cerevisiae* suşlarının meydana getirdiği biyofilmin, oran arttıkça oluşmadığı gözlemlenmektedir. Giaouris ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada yüksek sodyum klorür konsantrasyonu (%10,5 NaCl; aw 0,95), hücrelerin plakaya yapışmasını engellediği görülmüştür. Mizan ve ark. (2018)'nin yaptığı bir çalışma sonucunda, *Vibrio parahaemolyticus*'un %2 NaCl'da en iyi biyofilmi ürettiği, %5'e gelindiğinde ise en az ürettiği gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmalar aynı sıcaklıkta artan NaCl oranının hücrenin yapısını bozduğunu ve biyofilm oluşumunu engellediğini göstermektedir.

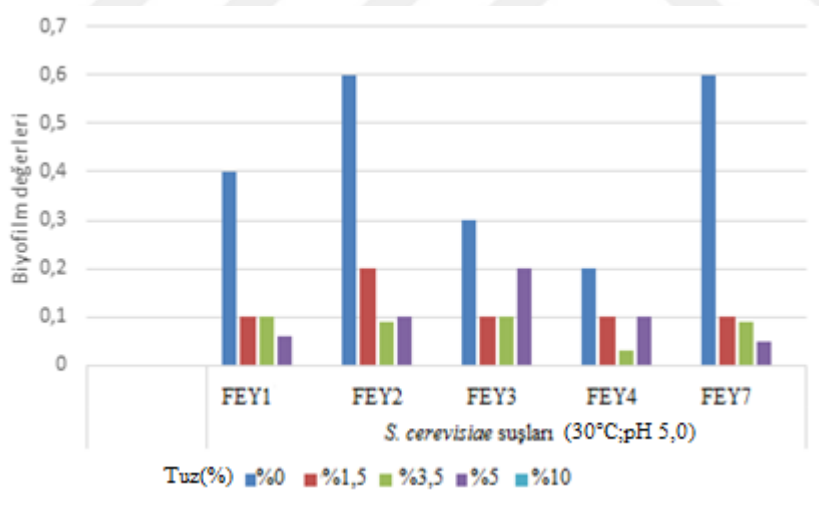
**Çizelge 4.16.** 30°C'de mayaxNaClxpH interaksiyonları

pH	NaCl konsantrasyonu (%)	FEY1	FEY2	FEY3	FEY4	FEY7
5	0	0,413 b	0,617 a	0,343 b-d	0,213 e-h	0,637 a
	1,5	0,08 ı-l	0,197 e-ı	0,1 g-l	0,12 f-l	0,087 ı-l
	3,5	0,127 f-k	0,09 h-l	0,143 f-k	0,03 j-l	0,087 ı-l
	5	0,063 j-l	0,127 f-k	0,243 c-f	0,153 f-j	0,053 j-l
	10	0,00 ı	0,00 ı	0,00 ı	0,00 ı	0,00 ı
6,5	0	0,22 d-g	0,3 b-e	0,197 e-ı	0,127 f-k	0,353 bc
	1,5	0,067 j-l	0,083 ı-l	0,083 ı-l	0,023 k-l	0,11 g-l
	3,5	0,133 f-k	0,143 f-k	0,08 ı-l	0,05 j-l	0,09 h-l
	5	0,04 j-l	0,043 j-l	0,037 j-l	0,043j-l	0,04 j-l
	10	0,00 ı	0,00 ı	0,00 ı	0,00 ı	0,00 ı

Yapılan istatistiksel analizde mayaxNaClxpH interaksiyonlarının biyofilm oluşumuna etkisi incelendiğinde (Çizelge 4.16.), sıvı besiyerinin pH derecesi 5,0 ve NaCl eklenmediği durumda, ortam sıcaklığı 30°C'deyken biyofilm oluşumunun en yüksek değerde olduğu görülmektedir. *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunun, pH değeri 6,5'a yükseldiğinde bütün NaCl konsantrasyonlarında azaldığı gözlemlenmiştir. NaCl konsantrasyonu %10 değerine yükseldiğinde test edilen pH değerlerinde biyofilm oluşumu gerçekleşmemiştir.

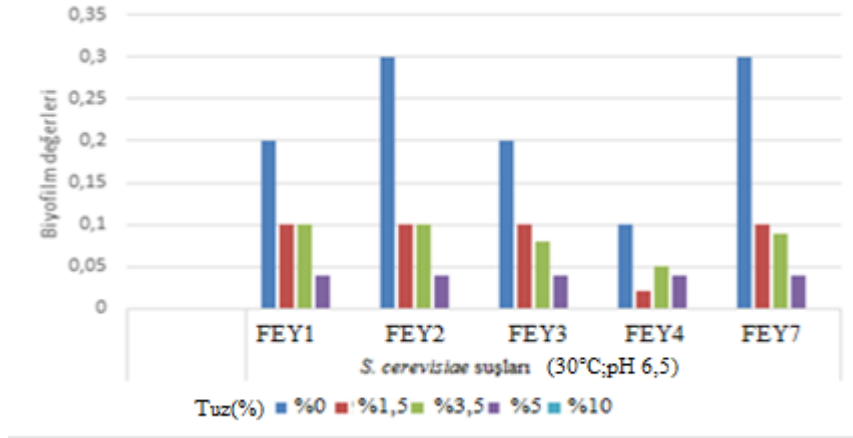
Ortamda NaCl'nın bulunmasının, hücredeki iyon dengesini bozduğu bilinmektedir. Yüksek miktarda NaCl alımı hücrede Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> iyon miktarının artmasına neden olduğu belirtilmiştir (Çulha ve Çakırlar 2011). Daha yüksek ozmotik basınçlarda

mikroorganizmanın NaCl'ya karşı duyarlılığı artmış olmasına rağmen, bu mikroorganizmanın gelişmesi üzerindeki tuzların zararlı etkisi ozmotik etkiden ziyade spesifik iyon etkisine bağlı olduğu belirlenmiştir (Elsheikh ve Wood 1989). Bu bilginin ışığında hücredeki NaCl iyon miktarının artmasıyla maya faaliyetinin etkilendiği ve biyofilm oluşumunda azalma meydana geldiği anlaşılmaktadır. Mayanın gelişme süresinin, ortamda NaCl oranının artmasıyla birlikte arttığı gözlemlenmiştir (Betts ve ark. 1999). Besiyerinde NaCl oranının fazla olması mayanın gelişim süresini uzattığından, 24 saatlik inkübasyon sonunda ortamda mayanın fazla gelişemediği ve biyofilm oluşumu için yeterli hücre yoğunluğuna ulaşamadığı düşünülmektedir. Yapılan bu araştırma, bu çalışma ile kıyaslandığında, ortamda NaCl konsantrasyonunun artmasıyla birlikte mayanın gelişimini tamamlayamadığı ve biyofilm oluşum düzeyinde azalmanın meydana geldiği sonucunu desteklemektedir. Rinaudi ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmaya göre, biyofilm içindeki mikroorganizma hücrelerinin, planktonik hücrelerden daha fazla ozmotik stres altında olduğunu ve ayrıca yüksek ozmotik potansiyelin biyofilm oluşumunu engellediği gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.21.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0)

Şekil 4.21.'de NaCl bulunmayan ortamda suşların oluşturduğu biyofilm miktarı en yüksek düzeye ulaşmıştır ve NaCl konsantrasyonunun artmasıyla birlikte biyofilm oluşumunda genel bir azalma meydana gelmiştir. Ortamda %10 miktarına ulaştığında ise suşların biyofilm oluşturmadığı gözlemlenmektedir.



**Şekil 4.22.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı tuz oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5)

30°C’de ve pH 6,5’da ortamda NaCl bulunmadığında Şekil 4.22.’de gözlemlendiği üzere suşların oluşturduğu biyofilm miktarının yüksek olduğu, %5 NaCl konsantrasyonuna doğru gidildiğinde biyofilm oluşum miktarında genel bir azalma meydana gelmektedir. Ortamdaki NaCl konsantrasyonu %10’a ulaştığında ise suşların biyofilm oluşturmadığı görülmektedir.

**Çizelge 4.17.** 40°C’de *S. cerevisiae* suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu

Varyans analiz tablosu				
Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Maya	4	0,047	0,012**	10,19
pH	1	0,149	0,149**	128,285
NaCl	4	0,502	0,125**	107,935
MayaxpH	4	0,043	0,011**	9,181
MayaxNaCl	16	0,222	0,014**	11,929
NaClxPH	4	0,181	0,045**	38,884
MayaxNaClxPH	16	0,214	0,0134**	11,504
Hata	100	0,116	0,001	

\*: %5 düzeyinde önemli \*\*: %1 düzeyinde önemli

Çizelge 4.17.’de incelenen varyans analiz tablosuna göre bu istatistiksel değerlendirmede maya, pH ve tuz farklılıkları ve mayaxpH, mayaxNaCl, NaClxPH ve mayaxNaClxPH interaksiyonları %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.18.** İnkübasyon sıcaklığı 40°C’de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonları

Maya	pH		Maya ort.
	5	6,5	
FEY1	0,108 bc	0,036 f	0,072 BC
FEY2	0,085 cd	0,057 ef	0,071 C
FEY3	0,13 b	0,048 ef	0,089 AB
FEY4	0,064 de	0,043 ef	0,053 D
FEY7	0,161 a	0,05 ef	0,106 A
pH ort.	0,11 A	0,047 B	

Çizelge 4.18. incelendiğinde inkübasyon sıcaklığı 40°C olduğunda pH 5,0 değerinde en yüksek biyofilm oluşumu gerçekleşmiştir. Maya ortalamaları incelendiğinde *S. cerevisiae* şuşları arasında en yüksek biyofilm oluşumunu FEY3 ve FEY7 şuşları gerçekleştirmiştir. Takiben mayaxpH etkileşimi incelendiğinde ortam sıcaklığı 40°C ve pH 5,0 değerinde FEY7 suşu en yüksek biyofilm oluşumunu gerçekleştirmiştir. pH 6,5 değerine yükseldiğinde biyofilm oluşumunda azalma meydana gelmiştir.

**Çizelge 4.19.** 40°C’de mayaxNaCl ortalamaları ve interaksyonları

Maya	NaCl(%)					Maya ort.
	0	1,5	3,5	5	10	
FEY1	0,067 fg	0,143 cd	0,078 fg	0,072 fg	0,00 ı	0,072 BC
FEY2	0,12 de	0,128 c-e	0,043 gh	0,063 fg	0,00 ı	0,071 C
FEY3	0,185 b	0,143 cd	0,093 ef	0,023 hı	0,00 ı	0,089 AB
FEY4	0,162 bc	0,04 gh	0,018 hı	0,047 gh	0,00 ı	0,053 D
FEY7	0,302 a	0,122 de	0,09 ef	0,015 hı	0,00 ı	0,106 A
tuz ort.	0,167 A	0,115 B	0,065 C	0,044 D	0,00 E	

Yapılan istatistiksel çalışmada (Çizelge 4.19.), Malt Ekstrakt sıvı besiyerine NaCl ilave edilmediğinde *S. cerevisiae* şuşlarının yüksek derecede biyofilm oluşturduğu ve aynı zamanda oran %10 değerine yükseldiğinde şuşların biyofilm oluşturmadığı gözlemlenmiştir. İnkübasyon sıcaklığı 40°C’de mayaxNaCl interaksyonu incelendiğinde, NaCl’süz ortamda FEY3 ve FEY7 şuşları en yüksek biyofilm oluşumunu gerçekleştirmiştir.



Di Bonaventura ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, 51 adet *Stenotrophomonas maltophilia* klinik izolatının biyofilm oluşumuna çevre faktörlerinin etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda suşların 32°C'de ki sıcaklıkta 37 veya 18°C'den daha fazla biyofilm ürettiği gözlemlendiği belirtilmiştir. Han ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada sıcaklığın artmasıyla birlikte biyofilm oluşumunun arttığı ancak 37°C'ye yaklaşıldığında biyofilm oluşum kapasitesinde azalma meydana gelmiştir. Yapılan çalışmada 30°C'deki inkübasyon koşullarında biyofilmin güçlü miktarda olduğu, 40°C'ye ulaşıldığında ise gerçekleşmediği belirtilmiştir.

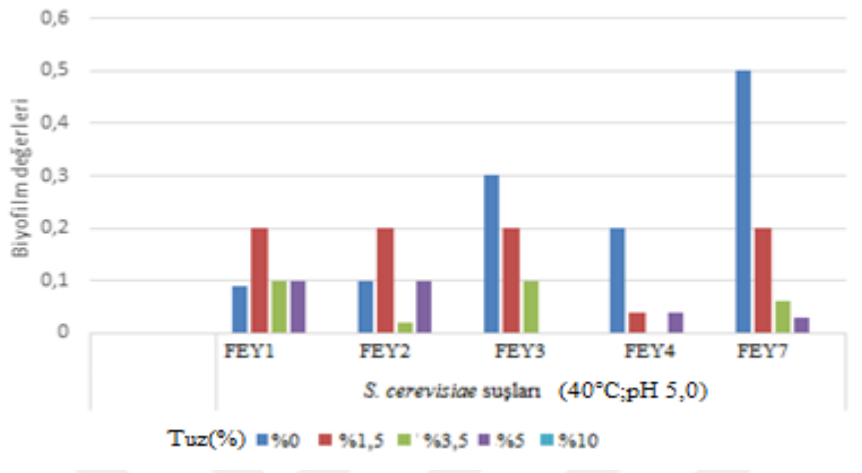
**Çizelge 4.20.** 40°C'de mayaxNaClxpH interaksiyonları

pH	NaCl konsantrasyonu (%)	FEY1	FEY2	FEY3	FEY4	FEY7
5	0	0,093 d-1	0,107 d-g	0,3 b	0,23 c	0,517 a
	1,5	0,233 c	0,193 c	0,223 c	0,04 ı-1	0,2 c
	3,5	0,097 d-h	0,02 kl	0,127 d	0,00 1	0,06 g-k
	5	0,117 d-f	0,107 d-g	0,00 1	0,05 h-1	0,03 kl
	10	0,00 1	0,00 1	0,00 1	0,00 1	0,00 1
6,5	0	0,04 ı-1	0,133 d	0,07 e-k	0,093 d-1	0,087 d-j
	1,5	0,053 g-1	0,063 f-k	0,063 f-k	0,04 ı-1	0,043 h-1
	3,5	0,06 g-k	0,067 e-k	0,06 g-k	0,037 j-1	0,12 de
	5	0,027 kl	0,02 kl	0,047 h-1	0,043 h-1	0 1
	10	0,00 1	0,00 1	0,00 1	0,00 1	0,00 1

Çizelge 4.20. incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumunun sıvı besiyerine NaCl ilave edilmeden pH 5,0 değerinde FEY7 suşu tarafından meydana gelmiştir. NaCl konsantrasyonu %10 değerine yükseldiğinde pH 5,0 ve 6,5 değerlerinde biyofilm oluşumu gerçekleşmemiştir. Yapılan istatistiksel analizde, *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunun, pH değeri 6,5'a yükseldiğinde ve NaCl konsantrasyonları arttığında, azaldığı gözlemlenmiştir.

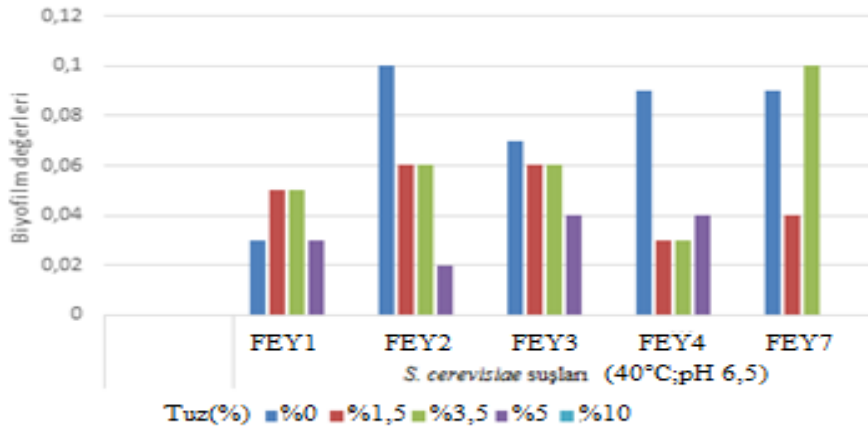
Sıcaklık ve pH değerinin artmasının biyofilm oluşumunu olumsuz yönde etkilediği ifade edilmiştir (Rinaudi ve ark. 2006). Ariafar ve ark. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada, sabit bir pH değerinde sıcaklığın artmasıyla, biyofilm oluşumunun azaldığı açıklanmıştır. İdeal biyofilm üretimi koşullarının belirlenmesi amacıyla farklı sıcaklık, su aktivitesi ve pH değerlerinde yapılan bir çalışma sonucunda, biyofilm oluşumu için

en uygun koşulların NaCl ilavesiz ortam olduğu belirlenmiş ve pH'nın farklı suşların biyofilm oluşturma özellikleri üzerindeki etkisinin değişkenlik gösterdiği saptanmıştır (Karaca 2011).



**Şekil 4.23.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0)

pH 5,0'te sıcaklığın 40°C'ye yükselmesiyle birlikte Şekil 4.23. ile Şekil 4.21. kıyaslandığında tüm NaCl konsantrasyonlarında suşların biyofilm düzeyinde azalma meydana gelmiştir. Oran %10'a ulaştığında ise suşların biyofilm üretmediği görülmektedir.



**Şekil 4.24.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı NaCl oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5)

Şekil 4.24.'te incelendiği gibi, ortam 40°C'ye ve pH 6,5'a ayarlandığında %0, 1,5 ve 3,5 NaCl konsantrasyonlarında suşlarda biyofilm oluşumunun meydana geldiği NaCl miktarı %5'e ulaştığında biyofilm oluşumunda genel bir azalış olduğu ve FEY7 suşunun biyofilm üretmediği belirlenmiştir. Ortamın NaCl miktarı %10'a ulaştığında ise suşlar biyofilm oluşturmamıştır



**Şekil 4.25.** NaCl ilave edilmediği durumda 24 saatlik inkübasyon sonrası *S. cerevisiae'* nin (FEY3) 96 kuyucuklu plaka yönteminde biyofilm oluşumu (30°C; pH 5,0)

Şekil 4.25'te işaretli olarak belirtilen kuyucuğun koyu renkte olduğu ve kristal viyole çözeltilisini fazla miktarda tuttuğu görülmektedir.

Bu kuyucuğun NaCl içermeyen ortamda biyofilm oluşumu spektrofotometrik olarak değerlendirildiğinde yüksek bir değer elde edilmiş ve NaCl içeren diğer örneklerle göre daha fazla biyofilm ürettiği sonucuna varılmıştır.

#### **4.2.2. *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin farklı K-Sorbat konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle değerlendirilmesi**

pH'sı 5,0 ve 6,5'a ayarlanan ve sırasıyla 100, 500 ve 1000 mg/L olacak şekilde K-sorbat ilave edilen kontrol grubu ile yine aynı şekilde ayarlanan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine 5 ayrı maya suşu inoküle edilmiştir. Bu işlemten sonra hazırlanan kontrol grubu ve Malt Ekstrakt sıvı besiyerinde bulunan FEY1, FEY2, FEY3, FEY4 ve FEY7 maya suşları sırasıyla 100 µL'de  $1,5 \times 10^5$ ,  $1,7 \times 10^6$ ,  $3,9 \times 10^6$ ,  $3,2 \times 10^6$  ve  $2,8 \times 10^6$  kob/mL olacak şekilde kuyucuklara aktarılmıştır. 30 ve 40°C'de inkübasyona bırakılan örnekler 24 saatin sonunda spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, 'B= A492/A630' formülü yardımıyla hesaplanmış ve biyofilm oluşturma dereceleri;

biyofilm oluşturmeyan ( $B < 0,1$ ), zayıf ( $0,1 \leq B \leq 0,5$ ), orta ( $0,5 \leq B \leq 1$ ) ve güçlü biyofilm oluşturan mikroorganizma ( $B \geq 1$ ) şeklinde belirlenmiştir (Zhang ve ark. 2013).

**Çizelge 4.21.** 30°C’de *S. cerevisiae* suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu

Varyans analiz tablosu				
Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Maya	4	0,192	0,048**	10,591
pH	1	0,103	0,103**	22,795
K Sorbat	2	3,348	1,674**	369,153
MayaxpH	4	0,289	0,072**	15,942
MayaxK Sorbat	8	0,583	0,073**	16,069
pHxK Sorbat	2	0,135	0,067**	14,838
MayaxK SorbatxpH	8	0,175	0,022**	4,827
Hata	60	0,272	0,006	

\*: %5 düzeyinde önemli      \*\*: %1 düzeyinde önemli

Çizelge 4.21.’de incelenen varyans analiz tablosuna göre bu istatistiksel değerlendirmede maya, pH, tuz farklılıkları, mayaxpH, mayaxk-sorbat, pHxk-sorbat ve mayaxk-sorbatxpH interaksiyonları %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.22.** 30°C’de mayaxpH ortalamaları ve interaksiyonları

Maya	pH		Maya ort.
	5	6,5	
<b>FEY1</b>	0,152 e	0,134 e	0,143 C
<b>FEY2</b>	0,337 a	0,218 cb	0,278 A
<b>FEY3</b>	0,147 e	0,273 bc	0,211 B
<b>FEY4</b>	0,312 ab	0,188 de	0,251 AB
<b>FEY7</b>	0,344 a	0,14 e	0,242 AB
<b>pH ort.</b>	0,258 A	0,119 B	

Çizelge 4.22.’de görüldüğü gibi 96 Kuyucuklu Plaka Yöntemi’nde biyofilm oluşum derecesinin belirlenmesiyle ilgili yapılan istatistiksel analizde inkübasyon sıcaklığı 30°C’de ortalamaları incelendiğinde pH değeri 5,0 olduğunda biyofilm oluşum derecesinin en yüksek değeri aldığı görülmektedir. Çizelgede maya ortalamalarına bakıldığında ise en yüksek biyofilm oluşumunu FEY2, FEY4 ve FEY7 suşları

gerçekleştirmiştir. MayaxtuzxpH interaksyonu incelendiğinde pH 5,0 değerinde FEY2, FEY4 ve FEY7 suşlarının yüksek değerlerde biyofilm oluşumu gerçekleştirdiği belirlenmiştir Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH değeri 6,5 olduğunda ise biyofilm oluşumunda azalma gözlemlenmiştir.

**Çizelge 4.23.** 30°C’de mayaxK-sorbat ortalamaları ve interaksyonları

Maya	K- sorbat(mg/L)			Maya ort.
	100	500	1000	
FEY1	0,316 d	0,113 ef	0,00 g	0,143 C
FEY2	0,667 a	0,168 e	0,00 g	0,278 A
FEY3	0,583 b	0,048 fg	0,00 g	0,211 B
FEY4	0,4 c	0,317 d	0,035 g	0,251 AB
FEY7	0,433 c	0,26 d	0,033 g	0,242 AB
p.s ort.	0,48 A	0,181 B	0,014 C	

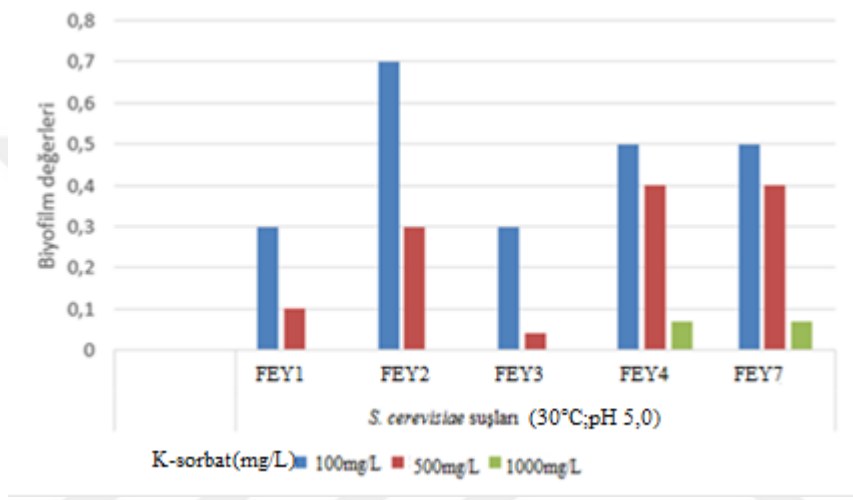
Çizelge 4.23’e göre en yüksek biyofilm oluşum derecesi, Malt Ekstrakt sıvı besiyerine 100 mg/L K-sorbat ilave edildiği durumda meydana gelmiştir. K-sorbat oranı 1000 mg/L’ye yükseldiğinde biyofilm oluşum değerinde azalma olmuştur. En yüksek biyofilm oluşumunu 30°C’de FEY2, FEY4 ve FEY7 suşu gerçekleştirmiştir.

*S. cerevisiae* suşlarına farklı oranlarda K-sorbat ilavesinin etkisi incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumu yine besiyerine 100 mg/L ilave edildiğinde FEY2 suşu tarafından oluşturulmuştur. Biyofilm oluşumu K-sorbat oranı arttıkça zayıfladığı gözlemlenmiştir.

**Çizelge 4.24.** 30°C’de mayaxK-sorbatxpH interaksyonları

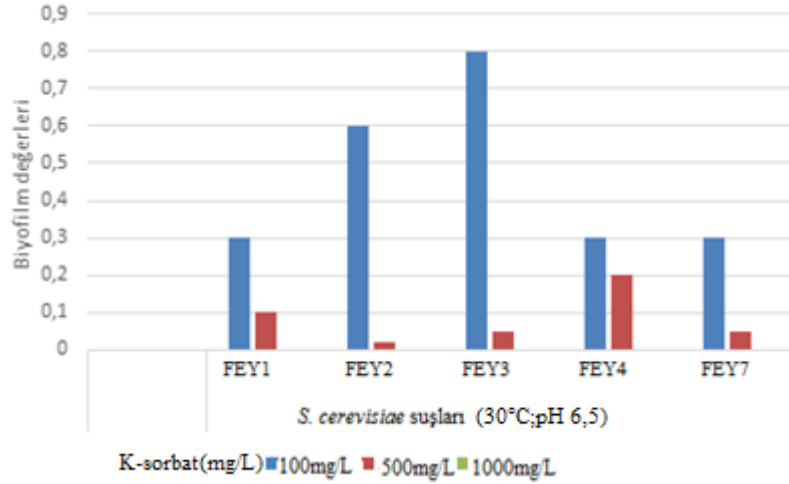
pH	K- sorbat konsantrasyonu (mg/L)	FEY1	FEY2	FEY3	FEY4	FEY7
5	100	0,33 ef	0,7 ab	0,4 c-e	0,466 cd	0,5 c
	500	0,123 g	0,313 ef	0,043 gh	0,4 c-e	0,466 cd
	1000	0,00 h	0,00 h	0,00 h	0,07 gh	0,066 gh
6,5	100	0,3 ef	0,633 b	0,766 a	0,333 ef	0,366 de
	500	0,103 gh	0,023 gh	0,053 gh	0,233 f	0,053 gh
	1000	0,00 h	0,00 h	0,00 h	0,00 h	0,00 h

Yapılan istatistiksel analizde mayaxK-sorbatx pH interaksyonunun biyofilm oluşumuna etkisi izelge 4.24.'te incelendiğinde, sıvı besiyerinin pH derecesi 5,0 ve 100 mg/L K-sorbat ilave edildiği durumda FEY2 suşu tarafından, pH derecesi 6,5 ve 100 mg/L K-sorbat ilave edildiği durumda FEY3 suşu ortam sıcaklığı 30°C'deyken biyofilm oluşumunun en yüksek değerde olduğu görülmektedir. K-sorbat konsantrasyonu 1000 mg/L değerine yükseldiğinde pH 5,0 ve 6,5 değerlerinde biyofilm oluşumunun gerçekleşmediği gözlemlenmiştir.



**şekil 4.26.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0)

Ortam 100 mg/L potasyum sorbat içerdiğinde şekil 4.26.'da gözlemlendiği üzere, suşlar yüksek miktarda biyofilm oluşturmuş, ortamın potasyum sorbat oranının 500 mg/L'ye yükselmesiyle biyofilm oluşumunda azalma meydana gelmiştir. 1000 mg/L potasyum sorbat miktarına gelindiğinde ise FEY1, FEY2 ve FEY3 suşlarının biyofilm oluşturmadığı, FEY4 ve FEY7 suşlarının ise diğer potasyum sorbat oranlarında oluşturdukları miktardan daha az düzeyde biyofilm meydana getirdikleri belirlenmiştir.



**Şekil 4.27.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5)

Şekil 4.27.'de incelendiği üzere, 100 mg/L potasyum sorbat varlığında suşların yüksek düzeyde biyofilm oluşturduğu, oranın 500 mg/L'ye yükselmesiyle birlikte suşların biyofilm oluşumunda azalma meydana geldiği ve 1000 mg/L'ye ulaşıldığında ise suşların biyofilm oluşturmadıkları belirlenmiştir.

**Çizelge 4.25.** 40°C'de *S. cerevisiae* suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu

Varyans analiz tablosu				
Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Maya	4	0,007	0,002	0,435
pH	1	0,008	0,008	2,021
K-sorbat	2	0,092	0,046**	11,567
MayaxpH	4	0,064	0,016**	4,029
MayaxK-sorbat	8	0,067	0,008*	2,124
K-sorbatpH	2	0,062	0,031**	7,841
MayaxK-sorbatpH	8	0,059	0,007	1,866
Hata	60	0,238	0,004	

\*: %5 düzeyinde önemli \*\*: %1 düzeyinde önemli

Çizelge 4.25.'te incelenen varyans analiz tablosuna göre bu istatistiksel değerlendirmede K-sorbat farklılığı, mayaxpH ve k-sorbatpH interaksiyonları %1 düzeyinde, mayaxK-sorbat interaksiyonu ise %5 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.26.** 40°C’de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonları

Maya	pH		Maya ort.
	5	6,5	
FEY1	0,055 ab	0,018 ab	0,037 A
FEY2	0,00 b	0,057 ab	0,028 A
FEY3	0,077 a	0,00 b	0,038 A
FEY4	0,066 a	0,00 b	0,033 A
FEY7	0,00 b	0,028 ab	0,014 A
pH ort.	0,04 A	0,021 A	

Yapılan istatiksels denemede, Çizelge 4.26.’da belirtildiği gibi pH ortalamaları incelendiğinde pH 5,0 ve 6,5 değerinin aynı düzeyde etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu denemede *S. cerevisiae* suşlarının aynı düzeyde biyofilm oluşturduğu görülmektedir.

**Çizelge 4.27.** 40°C’de mayaxK-sorbat ortalamaları ve interaksyonları

Maya	Potasyum sorbat(mg/L)			Maya ort.
	100	500	1000	
FEY1	0,111 ab	0,00 c	0,00 c	0,037 A
FEY2	0,045 a-c	0,041 bc	0,00 c	0,028 A
FEY3	0,116 a	0,00 c	0,00 c	0,038 A
FEY4	0,1 ab	0,00 c	0,00 c	0,033 A
FEY7	0,00 c	0,043 bc	0,00 c	0,014 A
p.s ort.	0,075 A	0,017 B	0,00B	

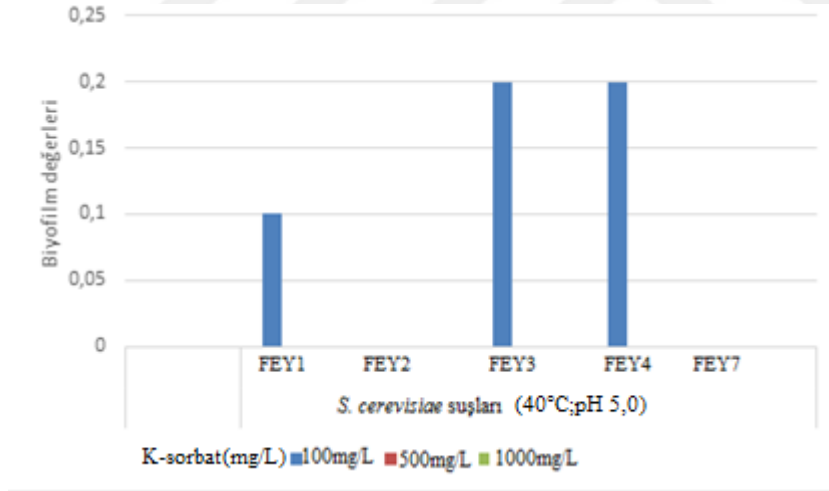
Malt Ekstrakt sıvı besiyerine farklı oranlarda K-sorbat eklenerek hazırlanan örneklerden Çizelge 4.27.’de görüldüğü gibi en yüksek biyofilm oluşumu 100 mg/L K-sorbat değerinde elde edilmiştir. K-sorbat oranı yükseldikçe biyofilm oluşumunda azalma meydana gelmiş ve bu değer 1000 mg/L’a ulaştığında gerçekleşmediği belirlenmiştir. Maya ortalamaları incelendiğinde aynı suşların aynı düzeyde biyofilm oluşturdukları görülmektedir. Mayaxk-sorbat interaksyonu incelendiğinde en yüksek biyofilm değerini 100 mg/L K-sorbat oranında FEY1, FEY2, FEY3 ve FEY4 suşları oluşturmuştur.



**Çizelge 4.28.** 40°C’de mayaxK-sorbatxpH interaksyonları

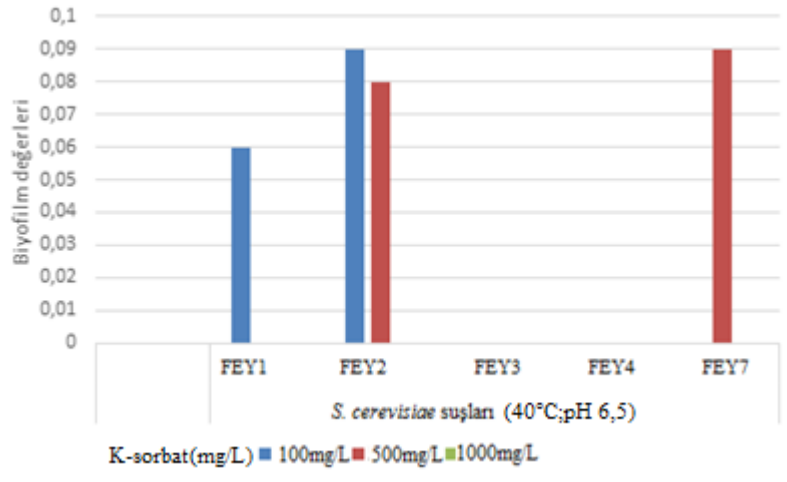
pH	K- sorbat konsantrasyonu (mg/L)	FEY1	FEY2	FEY3	FEY4	FEY7
5	100	0,167 ab	0,00 c	0,233 a	0,2 a	0,00 c
	500	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
	1000	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c
6,5	100	0,057 c	0,09 bc	0,00 c	0,00 c	0,00 c
	500	0,00 c	0,083 bc	0,00 c	0,00 c	0,087 bc
	1000	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c	0,00 c

Çizelge 4.28.’e göre en yüksek biyofilm oluşumunun sıvı besiyerinin pH değeri 5,0’de 100 mg/L K-sorbat ilave edildiğinde FEY1, FEY3 ve FEY4 suşunda gözlemlenmiştir. Buna karşın pH değerinin 6,5’e yükselmesiyle FEY3 ve FEY4 suşlarının biyofilm oluşumunda gerileme meydana gelmiştir. K-sorbat konsantrasyonunun artması *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunu olumsuz yönde etkilemiştir.



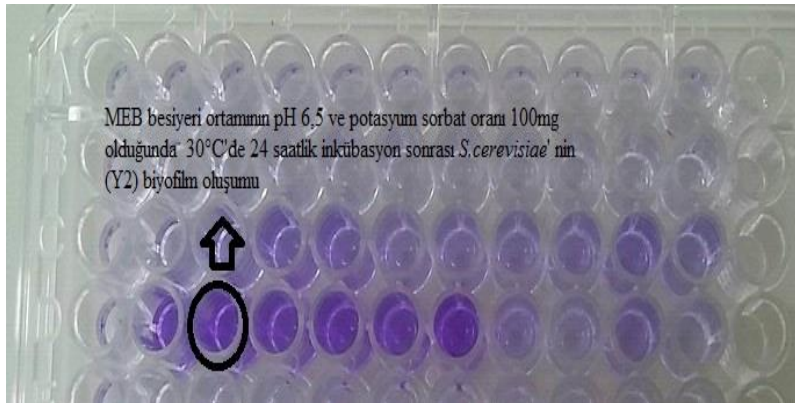
**Şekil 4.28.** *S. cerevisiae* suşunun farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0)

Şekil 4.28.’de görüldüğü gibi, 40°C’de, pH 5,0 olduğunda ve ortam 100 mg/L potasyum sorbat içerirken FEY1, FEY3 ve FEY4 suşlarının biyofilm oluşturdıkları, FEY2 ve FEY7 suşlarının ise biyofilm oluşturmadağı gözlemlenmektedir. Ortamdaki potasyum sorbat oranı 500 ve 1000 mg/L olduğunda ise *S. cerevisiae* suşlarında biyofilm oluşumu gerçekleşmemiştir.



**Şekil 4.29.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı potasyum sorbat oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5)

Besiyerindeki potasyum sorbat oranı 100 mg/L'ye ayarlandığında Şekil 4.29.'da görüldüğü gibi, FEY1 ve FEY2 suşlarının biyofilm oluşturduğu, FEY3, FEY4 ve FEY7 suşlarının biyofilm oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Oran 500 mg/L olduğunda FEY2 ve FEY7 suşlarının biyofilm oluşturduğu, FEY1, FEY3 ve FEY4 suşlarının biyofilm oluşturmadığı görülmektedir. Besiyerine 1000 mg/L potasyum sorbat ilave edildiğinde ise suşların biyofilm oluşturmadığı belirlenmiştir.



**Şekil 4.30.** Potasyum sorbat oranı 100mg/L olduğunda 24 saatlik inkübasyon sonrası *S. cerevisiae*'nin (FEY2) 96 kuyucuklu plaka yönteminde biyofilm oluşumu (30°C; pH 6,5)

Besiyerinin pH değeri 6,5 olduğunda Şekil 4.30.'da görüldüğü gibi 100 mg/L potasyum sorbat ilave edilip maya suşu inoküle edilen örnekler 30°C'de 24 saat inkübasyona

bırakılmıştır. Takiben 96 kuyucuklu plaka yönteminden yararlanılarak hazırlanan örneklerde 100 mg/L’de diğer potasyum sorbat oranlarına göre daha fazla kristal viyole çözeltisini tuttuğu ve bu sonuç spektrofotometrik olarakta desteklenmiştir.

#### **4.2.3. *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşturma kapasitesinin farklı gliserin konsantrasyonlarında 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle değerlendirilmesi**

Kontrol grubu için hazırlanan Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH’sı 5,0 ve 6,5’a ayarlandıktan sonra sırasıyla %1 ve 5 oranında gliserin ilave edilmiş, yine aynı şekilde ayarlanan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine 5 ayrı maya suşu inoküle edilmiştir. Bu işlemi takiben hazırlanan kontrol grubu ve Malt Ekstrakt sıvı besiyerinde bulunan FEY1, FEY2, FEY3, FEY4 ve FEY7 maya suşları sırasıyla 100 µL’de  $1,5 \times 10^5$ ,  $1,7 \times 10^6$ ,  $3,9 \times 10^6$ ,  $3,2 \times 10^6$  ve  $2,8 \times 10^6$  kob/mL olacak şekilde kuyucuklara aktarılmıştır. 30 ve 40°C’de inkübasyona bırakılan örnekler 24 saat sonra karşılaştırılmıştır. Spektrofotometrik olarak elde edilen sonuçlar, ‘B= A492/A630’ formülü aracılığıyla hesaplanmıştır.

Biyofilm dereceleri; biyofilm oluşturmayan mikroorganizma ( $B < 0,1$ ), zayıf biyofilm oluşturan mikroorganizma ( $0,1 \leq B \leq 0,5$ ), orta biyofilm oluşturan mikroorganizma ( $0,5 \leq B \leq 1$ ), güçlü biyofilm oluşturan mikroorganizma ( $B \geq 1$ ) olarak değerlendirilmiştir (Zhang ve ark. 2013). Gliserin içermeyen, %1 ve 5 oranında gliserin içeren besiyerlerinin su aktiviteleri sırasıyla 0,979, 0,972, 0,963 olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 4.29.** 30°C’de *S. cerevisiae* suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu

Varyans analiz tablosu				
Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Maya	4	0,104	0,026**	3,947
pH	1	0,594	0,594**	90,482
Gliserin	1	0,36	0,36**	54,893
MayaxpH	4	0,159	0,04**	6,047
Mayaxgliserin	4	0,195	0,049**	7,413
pHxgliserin	1	0,176	0,176**	26,815
MayaxgliserinpxH	4	0,231	0,058**	8,792
Hata	40	0,263	0,007	

\*: %5 düzeyinde önemli \*\*: %1 düzeyinde önemli

Çizelge 4.29.’da incelenen varyans analiz tablosuna göre bu istatistiksel değerlendirmede maya, pH, gliserin farklılığı, mayaxpH, mayaxgliserin ve pHxgliserin interaksiyonları %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.30.** 30°C’de mayaxpH ortalamaları ve interaksiyonu

Maya	pH		Maya ort.
	5	6,5	
FEY1	0,233 b	0 d	0,116 B
FEY2	0,13 c	0,016 d	0,07 B
FEY3	0,126 c	0,06 cd	0,093 B
FEY4	0,375 a	0,013 d	0,194 A
FEY7	0,246 b	0,026 d	0,137 AB
pH ort.	0,222 A	0,023 B	

Çizelge 4.30.’da görüldüğü gibi 96 Kuyucuklu Plaka Yöntemi’nde biyofilm oluşum derecesinin belirlenmesiyle ilgili yapılan istatistiksel analizde inkübasyon sıcaklığı 30°C ve pH değeri 5,0 olduğunda biyofilm oluşum derecesinin en yüksek değeri aldığı görülmektedir. Çizelgede maya ortalamaları incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumunu FEY4 ve FEY7 suşları gerçekleştirmiştir. pH 5,0 değerinde FEY4 suşu yüksek değerde biyofilm oluşumunu gerçekleştirmiştir. Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH değeri 6,5 olduğunda ise biyofilm oluşumunda azalma gözlemlenmiştir.

**Çizelge 4.31.** İnkübasyon sıcaklığı 30°C’de mayaxgliserin ortalamaları ve interaksyonu

Maya	Gliserin (%)		Maya ort.
	1	5	
FEY1	0,138 b-d	0,095 c-f	0,116 B
FEY2	0,216 c-e	0,03 ef	0,07 B
FEY3	0,143 bc	0,043 ef	0,093 B
FEY4	0,376 a	0,01 f	0,194 A
FEY7	0,226 b	0,046 d-f	0,137 AB
gli. ort.	0,2 A	0,045 B	

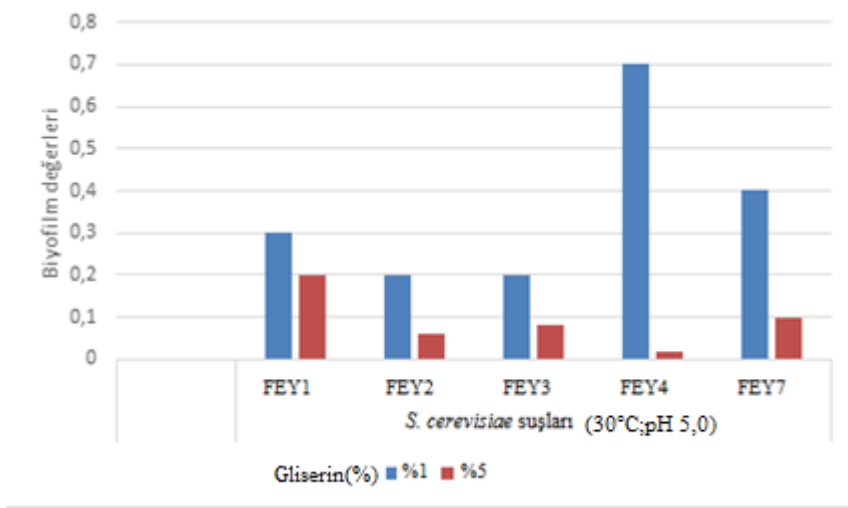
Çizelge 4.31.’e göre en yüksek biyofilm oluşum derecesi, Malt Ekstrakt sıvı besiyerine %1 gliserin ilave edildiği durumda (su aktivitesi 0,972) meydana gelmiştir. Çizelgede *S. cerevisiae* suşları incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumunu FEY4 ve FEY7 suşları gerçekleştirmiştir.

Gliserin oranı %5’e yükseldiğinde (su aktivitesi 0,963) biyofilm oluşum değerinde azalma gözlemlenmiştir. En yüksek biyofilm oluşumunu 30°C’de sıvı besiyerinin gliserin oranı %1 olduğunda FEY4 suşu gerçekleştirmiştir.

**Çizelge 4.32.** 30°C’de mayaxgliserinxpH interaksyonları

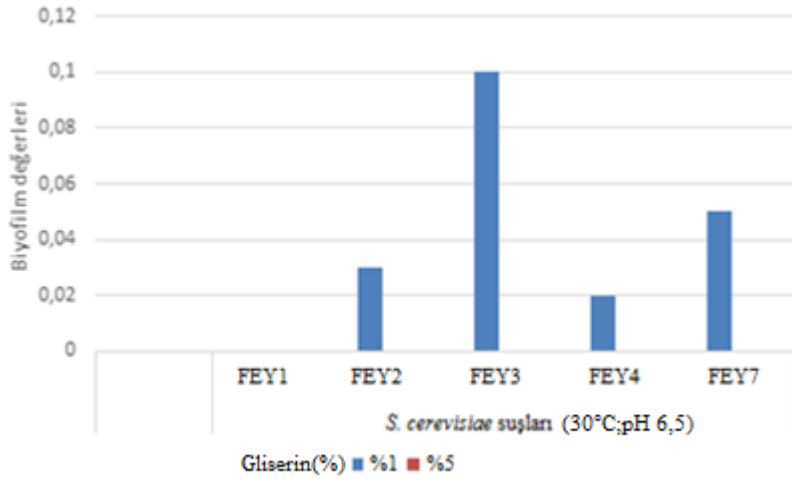
pH	Gliserin konsantrasyonu(%)	FEY1	FEY2	FEY3	FEY4	FEY7
		5	0,276 bc	0,2 cd	0,166 c-f	0,726 a
	5	0,19 c-e	0,06 e-g	0,086 d-g	0,023 g	0,093 d-g
6,5	1	0,00 g	0,033 fg	0,12 d-g	0,026 g	0,053 fg
	5	0,00 g	0,00 g	0,00 g	0,00 g	0,00 g

Çizelge 4.32.’ye göre mayaxgliserinxpH interaksyonu incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumunu pH 5,0’de %1 gliserin ilave edildiğinde FEY4 suşu gerçekleştirmiştir. Gliserin konsantrasyonunun artması *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunu olumsuz yönde etkilemiştir. pH değeri 6,5 olan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine %5 gliserin ilave edilmesiyle *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunu gerçekleştiremediği belirlenmiştir.



**Şekil 4.31.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 5,0)

30°C’de ve pH 5,0’de ortamdaki gliserin oranı %1 olduğunda Şekil 4.31.’de incelendiği gibi, suşların biyofilm oluşumunun %5 gliserin oranına göre fazla olduğu gözlemlenmiştir. Gliserin oranı %5’e ulaştığında ise suşların biyofilm oluşumunda azalma meydana gelmiştir.



**Şekil 4.32.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (30°C; pH 6,5)

Şekil 4.32.'de incelendiği gibi, 30°C'de ve pH 6,5'da ortamdaki gliserin oranı % 1 olduğunda FEY1 suşu hariç biyofilm oluşumu gözlemlenmişken oranın %5 olmasıyla birlikte suşların biyofilm oluşturmadığı belirlenmiştir.

**Çizelge 4.33.** 40°C'de *S. cerevisiae* suşlarının oluşturduğu biyofilme ait varyans analiz tablosu

Varyans analiz tablosu				
Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
Maya	4	0,006	0,002	2,111
pH	1	0,005	0,005*	7,293
Gliserin	1	0,004	0,004*	5,358
MayaxpH	4	0,02	0,005**	6,915
Mayaxgliserin	4	0,005	0,001	1,852
GliserinxpH	1	0,004	0,004*	4,921
MayaxgliserinxpH	4	0,003	0,001	0,927
Hata	40	0,029	0,001	

\*: %5 düzeyinde önemli \*\*: %1 düzeyinde önemli

Çizelge 4.33.'te incelenen varyans analiz tablosuna göre bu istatistiksel değerlendirmede pH, gliserin farklılığı, pHxgliserin interaksyonu %5 düzeyinde, mayaxpH interaksyonu %1 düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Çizelge 4.34.** 40°C'de mayaxpH ortalamaları ve interaksyonu

Maya	pH		Maya ort.
	5	6,5	
FEY1	0,088 a	0 b	0,044 A
FEY2	0,016 b	0,026 b	0,022 B
FEY3	0,025 b	0,008 b	0,016 B
FEY4	0,022 b	0,013 b	0,017 B
FEY7	0,02 b	0,03 b	0,025 AB
pH ort.	0,034 A	0,016 B	

Çizelge 4.34.'te görüldüğü gibi 96 Kuyucuklu Plaka Yöntemi'nde biyofilm oluşum derecesinin belirlenmesiyle ilgili yapılan istatistiksel analizde inkübasyon sıcaklığı 40°C ve pH değeri 5,0'de biyofilm oluşum derecesinin en yüksek değeri aldığı görülmektedir. Çizelgede *S. cerevisiae* suşları incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumunu FEY1 ve FEY7 suşları gerçekleştirmiştir. pH 5,0 değerinde FEY1 suşu yüksek değerde biyofilm

oluşumu gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir. Malt Ekstrakt sıvı besiyerinin pH değeri 6,5 olduğunda ise biyofilm oluşumunda azalma meydana gelmiştir.

**Çizelge 4.35.** 40°C’de mayaxgliserin ortalamaları ve interaksyonu

Maya	Gliserin (%)		Maya ort.
	1	5	
FEY1	0,035 a-c	0,053 a	0,044 A
FEY2	0,036 a-c	0,006 cd	0,022 B
FEY3	0,021 b-d	0,012 b-d	0,016 B
FEY4	0,033 a-c	0,001 d	0,017 B
FEY7	0,038 ab	0,012 b-d	0,025 AB
gli. ort.	0,033 A	0,17 B	

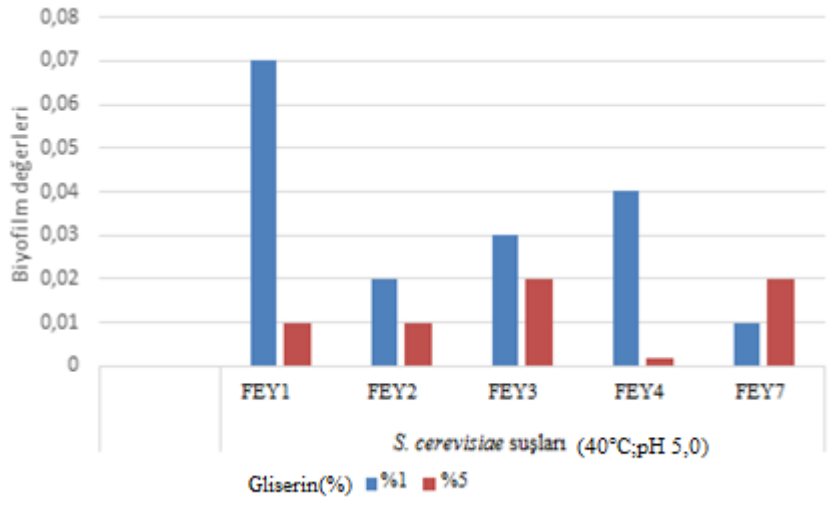
Çizelge 4.35.’e göre en yüksek biyofilm oluşum derecesi, Malt Ekstrakt sıvı besiyerine %1 gliserin ilave edildiği durumda meydana gelmiştir. Çizelgede *S. cerevisiae* suşları incelendiğinde en yüksek biyofilm oluşumunu FEY1 ve FEY7 suşları gerçekleştirmiştir. Gliserin oranı %5’e yükseldiğinde biyofilm oluşum değerinde azalma gözlemlenmiştir.

**Çizelge 4.36.** 40°C’de mayaxgliserinxpH interaksyonu

pH	Gliserin konsantrasyonu(%)	FEY1	FEY2	FEY3	FEY4	FEY7
	5	0,106 a	0,013 de	0,023 c-e	0,003 e	0,023 c-e
6,5	1	0,00 e	0,053 b-d	0,016 c-e	0,026 b-e	0,06 bc
	5	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e	0,00 e

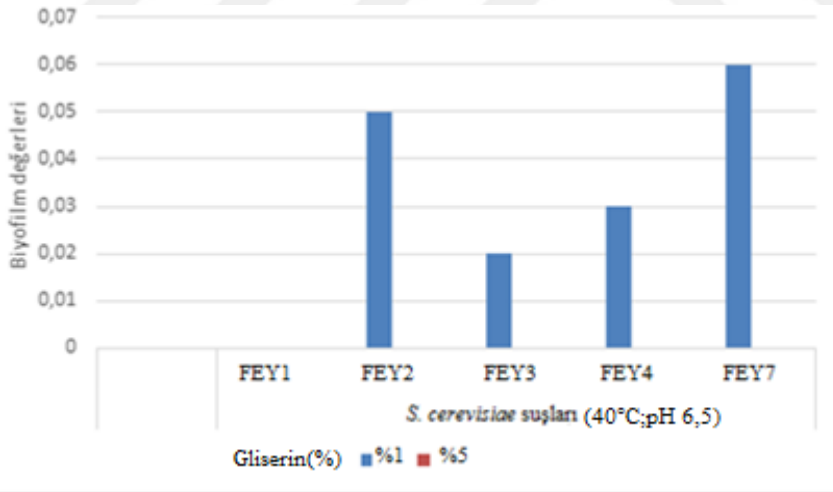
Çizelge 4.36.’ya göre en yüksek biyofilm oluşumunun sıvı besiyerinin pH değeri 5,0’de %1 gliserin ilave edildiğinde FEY1 suşu ve yine pH değeri 5,0’de %5 gliserin ilave edildiğinde FEY1 suşunda gözlemlenmiştir. pH değeri 5,0 olan Malt Ekstrakt sıvı besiyerine %5 gliserin ilave edilmesiyle *S. cerevisiae* suşlarının biyofilm oluşumunu gerçekleştirememiştir. Tango ve ark. (2018)’nın yaptığı bir çalışma sonucunda, *Staphylococcus aureus*'un optimum gelişim gösterdiği pH değerinde daha güçlü biyofilm ürettiği belirtilmiştir. Dimakopoulou-Papazoglou ve ark. (2016), pH ve  $a_w$ 'nin biyofilm üzerindeki etkisini incelemiş ve *Salmonella enterica*'nın biyofilm üretiminin, gelişmesi için gereken pH ve  $a_w$  değerlerine ihtiyaç duyduğu sonucuna varılmıştır.





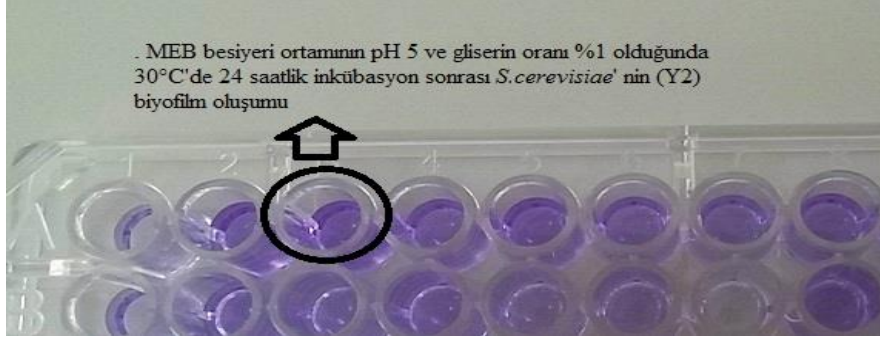
**Şekil 4.33.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 5,0)

İnkübasyon sıcaklığı 40°C ve pH değeri 5,0'e ayarlandığında Şekil 4.33.'de de görüldüğü gibi, %1 gliserin içeren ortamda mayaların oluşturduğu biyofilm miktarı %5'dekinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 4.34.** *S. cerevisiae* suşlarının farklı gliserin oranlarında biyofilm oluşturma derecesi (40°C; pH 6,5)

Şekil 4.34.'te pH 6,5'da inkübasyon sıcaklığı 40°C'deyken %1 gliserin içeren ortamda FEY1 suşu hariç diğer suşlarda biyofilm oluşumu meydana gelmiştir. Gliserin miktarı %5'e ulaştığında ise suşlarda biyofilm oluşumu gözlemlenmemiştir.



**Şekil 4.35.** Gliserin oranı %1 olduğunda 24 saatlik inkübasyon sonrası *S. cerevisiae*' nin (FEY2) 96 kuyucuklu plaka yönteminde biyofilm oluşumu (30°C; pH 5,0)

Besiyerinin pH değeri 5,0 ve gliserin oranı %1 olduğunda 30°C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra 96 kuyucuklu plaka yönteminde tanımlanan işlemler gerçekleştirildiğinde, Şekil 4.35.'te işaretlenen kuyucukta gözlemlendiği gibi, oluşan biyofilm fazla miktarda kristal viyole çözeltisini tuttuğu belirlenmiştir. Yönteme göre biyofilm oluşumu spektrofotometrik olarak değerlendirildiğinde yüksek miktarda oluştuğu sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇ

Çalışma için kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının farklı pH, sıcaklık, NaCl, potasyum sorbat ve gliserin konsantrasyonlarında biyofilm üretme kapasitesindeki değişiklikler incelenmiştir. Yapılan gözlemlerin sonucunda biyofilm üretiminin sıcaklığın 30°C'de en yüksek seviyede olduğu ve sıcaklığın 40°C'ye ulaşmasıyla birlikte biyofilm miktarında gözle görülür bir azalış olduğu tespit edilmiştir. Tuz, potasyum sorbat ve gliserin miktarındaki artış *Saccharomyces cerevisiae* suşlarının biyofilm üretme kapasitesini olumsuz yönde etkilemiştir. Suşların en yüksek biyofilm oluşturduğu ortam koşullarının pH 5 ve sıcaklık 30°C'de olduğu gözlemlenmiştir. pH değerlerinin farklı olması suşlara göre biyofilm oluşumunda değişim göstermesine karşın genel olarak önemli bir değişime yol açmadığı görülmüştür. Tüp yönteminin kalitatif bir yöntem olduğu bilinmektedir. Bu yöntemin 96 kuyucuklu plaka yöntemiyle birlikte değerlendirilmesi araştırmanın doğruluğu açısından önem taşımaktadır.

Mikroorganizma, içinde bulunduğu olumsuz koşullara karşı daha dirençli olabilmek için biyofilm olarak tanımlanan jelsi tabakayı üretmektedir. Gıda fabrikalarında gıdanın korunmasına yönelik yapılan ısı işlem uygulaması, gıda üretiminde kullanılan malzemelerin temizliği için kullanılan kimyasallar mikroorganizma tarafından oluşturulan biyofilme etki etmemektedir. Bu nedenle gıda fabrikalarında biyofilm üretim ve sağlık açısından sorun teşkil etmektedir. Artan NaCl, potasyum sorbat, gliserin oranı ve sıcaklığın biyofilm oluşumuna olumsuz etki ettiği gözlemlenmiştir. Biyofilm oluşumunun bu stres koşullarında kaybolması gıda fabrikaları için oldukça önem taşımaktadır. Yapılan bu çalışmanın biyofilm oluşumunu önlemeye yönelik gerçekleştirilen uygulamalara ışık tutması amaçlanmıştır.

## KAYNAKLAR

- Akan, E., Kınık, Ö. 2014.** Biyofilm Oluşum Mekanizması ve Biyofilmlerin Gıda Güvenliğine Etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi / Journal of Food and Feed Science Technology*, 14:42-51.
- Allison, D.G. 2003.** The biofilm matrix. *Biofouling*, 19 (2): 139-150.
- Andersen, K. S., Bojsen, R., Sorensen, L. G. R., Nielsen, M. W., Lisby, M., Folkesson, A., Regenber, B. 2014.** Genetic basis for *Saccharomyces cerevisiae* biofilm in liquid medium. *G3: Genes/ Genomes/ Genetics*, 4(9): 1671-1680.
- Anonim, 1995.** The Oxoid Marvel 7th Ed uniqoth Ltd. Basingstake.
- Arık, G., Korukluoğlu, M. 2017.** Comparison of Methods for the Detection of Biofilm Formation in Yeast and Lactic Acid Bacteria Species Isolated from Dairy Products. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 11(4): 306-310.
- Ariafar, M. N., Buzrul, S., Akçelik, N. 2016.** Modeling and predicting the biofilm formation of *Salmonella Virchow* with respect to temperature and pH. *Acta Biologica Hungarica*, 67(1): 99-111.
- Belessi, C. E. A., Gounadaki, A. S., Psomas, A. N., Skandamis, P. N. 2011.** Efficiency of different sanitation methods on *Listeria monocytogenes* biofilms formed under various environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 145(1): 46-52.
- Betts, G. D., Linton, P., Betteridge, R. J. 1999.** Food spoilage yeasts: effects of pH, NaCl and temperature on growth. *Food Control*, 10(1): 27-33.
- Carpentier, B., Cerf, O. 1993.** Biofilm and their consequences with particular reference to hygiene in the food industry. *Journal of Applied Bacteriology*, 75: 499-511.
- Cavaliere, D., McGovern, P. E., Hartl, D. L., Mortimer, R., Polsinelli, M. 2003.** Evidence for *S. cerevisiae* fermentation in ancient wine. *Journal of Molecular Evolution*, 57(1): 226-232.
- Chauhan, N. M., Shinde, R. B., Karuppayil, S. M. 2013.** Effect of alcohols on filamentation, growth, viability and biofilm development in *Candida albicans*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4): 1315-1320.
- Chavant, P., Martine, B., Meylheuc, T., Bellon-Fontaine, M. N., Hebrand, M. 2002.** *Listeria monocytogenes* LO28: surface physicochemical properties and ability to form biofilms at different temperatures and growth phases. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2): 728-737.
- Cheng, K.C., Demirci, A., Catchmark J.M. 2010.** Advances in biofilm reactors for production of value-added products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(2): 445-456.
- 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(1): 22-32.
- Cot, M., Loret, M. O., François, J., Benbadis, L. 2007.** Physiological behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* in aerated fed-batch fermentation for high level production of bioethanol. *FEMS Yeast Research*, 7(1): 22-32.

- Çabuk, A., Akar, T., Kotluk, Z., Şaşmaz, 2007.** *Saccharomyces cerevisiae* Hücreleri ile Ağır Metal Giderimi ve Metal Toleransı1. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(3): 1-7.
- Çulha, Ş., Çakırlar, H. 2011.** Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 11(2): 11-34
- Deesuth, O., Laopaiboon, P., Laopaiboon, L. 2016.** High ethanol production under optimal aeration conditions and yeast composition in a very high gravity fermentation from sweet sorghum juice by *Saccharomyces cerevisiae*. *Industrial Crops and Products*, 92: 263-270.
- Di Bonaventura, G., Stepanović, S., Picciani, C., Pompilio, A., Piccolomini, R. 2007.** Effect of environmental factors on biofilm formation by clinical *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. *Folia microbiologica*, 52(1): 86.
- Dimakopoulou-Papazoglou, D., Lianou, A., Koutsoumanis, K. P. 2016.** Modelling biofilm formation of *Salmonella enterica* ser. Newport as a function of pH and water activity. *Food Microbiology*, 53: 76-81.
- Diñçoğlu, A. H. 2005.** Sorbik Asit ve Tuzlarının Süt ve Süt Ürünlerinde Kullanımı. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları*, 4(1): 77-83.
- Donlan, R. M. 2002.** Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9): 881-890.
- Donlan, R. M., Costerton, J. W. 2002.** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2): 167-193.
- Douglas, L. J. 2003.** *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in Microbiology*, 11(1): 30-36.
- Duina, A. A., Miller, M. E., Keeney, J. B. 2014.** Budding yeast for budding geneticists: a primer on the *Saccharomyces cerevisiae* model system. *Genetics*, 197(1): 33-48.
- Elsheikh, E. A. E., Wood, M. 1989.** Response of chickpea and soybean rhizobia to salt: osmotic and specific ion effects of salts. *Soil Biology and Biochemistry*, 21(7): 889-895.
- Giaouris, E., Chorianopoulos, N., Nychas, G. J. 2005.** Effect of temperature, pH, and water activity on biofilm formation by *Salmonella enterica enteritidis* PT4 on stainless steel surfaces as indicated by the bead vortexing method and conductance measurements. *Journal of Food Protection*, 68(10): 2149-2154.
- Gün, İ., Ekinci, F. Y. 2009.** Biyofilmler: yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *Gıda Dergisi*, 34(3): 165-173.
- Güven, N. ve Onurdağ, F. K. 2014.** İ Ü İlaç, kozmetik ve gıda ürünlerinde kullanılan bazı koruyucuların antimikrobiyel ve antibiyofilm etkisinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul*, 48(1): 94-105.
- Hallsworth, J. E. 1998.** Ethanol-induced water stress in yeast. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 85(2): 125-137.
- Han, N., Mizan, M. F. R., Jahid, I. K., Ha, S. D. 2016.** Biofilm formation by *Vibrio parahaemolyticus* on food and food contact surfaces increases with rise in temperature. *Food Control*, 70: 161-166.
- Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A., Iqbal, M. 2011.** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 15(4): 305-311.

- Iliadis, I., Daskalopoulou, A., Simões, M., Giaouris, E. 2018.** Integrated combined effects of temperature, pH and sodium chloride concentration on biofilm formation by *Salmonella enterica* ser. *Enteritidis* and *Typhimurium* under low nutrient food-related conditions. *Food Research International*, 107: 10-18.
- Karaca, B. 2011.** Türkiye’den İzole Edilen *Salmonella* Suşlarının Biyofilm Oluşturma Özelliklerinin Tanımlanması. *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara Üni., Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Kıvanç, M., Akgül, A. 1988.** Mayaların gelişmesi üzerine baharatların etkisi. *Gıda/The Journal Of Food*, 13(2): 145-152.
- Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Donato, A., Parrilli, M. 2006.** The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydrate Research*, 341: 2456 – 2461.
- Liewen, M. B., Marth, E. H. 1985.** Growth and inhibition of microorganisms in the presence of sorbic acid: a review. *Journal of Food Protection*, 48(4): 364-375.
- Liu, H., Styles, C. A., Fink, G. R. 1996.** *Saccharomyces cerevisiae* S288C has a mutation in FL08, a gene required for filamentous growth. *Genetics*, 144(3): 967-978.
- Liu, X., Jia, B., Sun, X., Ai, J., Wang, L., Wang, C., Huang, W. 2015.** Effect of initial pH on growth characteristics and fermentation properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Food Science*, 80(4): 800-808
- Lund, B. M., Graham, A. F., George, S. M., Brown, D. 1990.** The combined effect of incubation temperature, pH and sorbic acid on the probability of growth of non-proteolytic, type B *Clostridium botulinum*. *Journal of Applied Microbiology*, 69(4): 481-492.
- Mei, X., Xing, D., Yang, Y., Liu, Q., Zhou, H., Guo, C., Ren, N. 2017.** Adaptation of microbial community of the anode biofilm in microbial fuel cells to temperature. *Bioelectrochemistry*, 117: 29-33.
- Meyer, B. 2013.** Approaches to prevention, removal and killing of biofilms. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 51(4): 249-253.
- Mizan, M. F. R., Ashrafudoulla, M., Sadekuzzaman, M., Kang, I., Ha, S. D. 2018.** Effects of NaCl, glucose, and their combinations on biofilm formation on black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) surfaces by *Vibrio parahaemolyticus*. *Food Control*, 89: 203-209.
- Møretrø, T., Vestby, L. K., Nesse, L. L., Storheim, S. E., Kotlarz, K., Langsrud, S. 2009.** Evaluation of efficacy of disinfectants against *Salmonella* from the feed industry. *Journal of Applied Microbiology*, 106(3): 1005-1012.
- Mukherjee, P. K., Mohamed, S., Chandra, J., Kuhn, D., Liu, S., Antar, O. S., Rouabhia, M. 2006.** Alcohol dehydrogenase restricts the ability of the pathogen *Candida albicans* to form a biofilm on catheter surfaces through an ethanol-based mechanism. *Infection and immunity*, 74(7): 3804-3816.
- Ölmez, Z. 2009.** Süt sanayisinde biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ve biyofilm oluşumunun önlenmesi. *Doktora tezi*, SDÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Pan, Y., Breidt, F., Gorski, L. 2010.** Synergistic effects of sodium chloride, glucose, and temperature on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* serotype 1/2a and 4b strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(5): 1433-1441.
- Poulsen, L. V. 1999.** Microbial biofilm in food processing. *LWT-Food Science and Technology*, 32(6): 321-326.
- Pumirat, P., Vanaporn, M., Boonyuen, U., Indrawattana, N., Rungruengkitkun, A., Chantratita, N. 2017.** Effects of sodium chloride on heat resistance, oxidative

susceptibility, motility, biofilm and plaque formation of *Burkholderia pseudomallei*. *Microbiology Open*, 6(4): 493.

**Purevdorj-Gage, B., Orr, M. E., Stoodley, P., Sheehan, K. B., Hyman, L. E. 2007.** The role of FLO11 in *Saccharomyces cerevisiae* biofilm development in a laboratory based flow-cell system. *FEMS Yeast Research*, 7(3): 372-379.

**Reis, V. R., Bassi, A. P. G., Silva, J. C. G. D., Ceccato-Antonini, S. R. 2013.** Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(4): 1121-1131.

**Rinaudi, L., Fujishige, N. A., Hirsch, A. M., Banchio, E., Zorreguieta, A., Giordano, W. 2006.** Effects of nutritional and environmental conditions on *Sinorhizobium meliloti* biofilm formation. *Research in Microbiology*, 157(9): 867-875.

**Schelegueda, L. I., Zalazar, A. L., Hracek, V. M., Gliemmo, M. F., Campos, C. A. 2017.** Effect of steviosides and potassium sorbate on the growth and thermal inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in acidified model aqueous systems. *LWT-Food Science and Technology*, 79: 659-663.

**Solakoğlu, D. 2013.** Fermentasyon Sırasında *Saccharomyces cerevisiae* Mayası Tarafından Tyrosol'ün Oluşum Metabolizması ve Tyrosol Oluşumunu Etkileyen Uygulamalar Üzerinde Bir Araştırma. *Yüksek Lisans Tezi*, AÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.

**Song, X., Ma, Y., Fu, J., Zhao, A., Guo, Z., Malakar, P. K., Zhao, Y. 2017.** Effect of temperature on pathogenic and non-pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* biofilm formation. *Food Control*, 73: 485-491.

**Srey, S., Jahid, I. K., Ha, S. D. 2013.** Biofilm formation in food industries: a food safety concern. *Food Control*, 31(2): 572-585.

**Szafrański, S. P., Winkel, A., Stiesch, M. 2017.** The use of bacteriophages to biocontrol oral biofilms. *Journal of Biotechnology*, 250: 29-44.

**Tango, C. N., Akkermans, S., Hussain, M. S., Khan, I., Van Impe, J., Jin, Y. G., Oh, D. H. 2018.** Modeling the effect of pH, water activity, and ethanol concentration on biofilm formation of *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiology*, 76: 287-295

**Van Acker, H., Van Dijck, P., Coenye, T. 2014.** Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms. *Trends in Microbiology*, 22(6): 326-333.

**Yavuz M. 2009.** Gıdalarda Bozulmaya Neden Olan Bazı Mayalara K-sorbit ve Organik Asitlerin Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, UÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.

**Yiğit, A. ve Korukluoğlu M. 2007.** The effect of potassium sorbate, NaCl and pH on the growth of food spoilage fungi. *Annals of Microbiology*, 57(2): 209-215.

**Walker, G. M., Stewart, G. G. 2016.** *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*, 2(4): 30.

**Zhang, H., Xie, L., Zhang, W., Zhou, W., Su, J., Liu, J. 2013.** The association of biofilm formation with antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented foods. *Journal of Food Safety*, 33(2): 114-120.

**Xu, H., Zou, Y., Lee, H. Y., Ahn, J. 2010.** Effect of NaCl on the biofilm formation by foodborne pathogens. *Journal of Food Science*, 75(9): 580-585.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Selen KOÇAKOĞLU  
Doğum Yeri ve Tarihi : SİNOP 19/12/1993  
Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Sinop Anadolu Lisesi 2007  
Lisans : Uludağ Üniversitesi 2011  
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi 2016

İletişim (e-posta) : selenkocakoglu@gmail.com

Yayınları :

**Korukluoglu, M., Arık, G., Erdogan, Ç. Koçakoğlu, S. 2017.** Screening of Antagonistic/Synergistic Effect between Lactic Acid Bacteria (LAB) and Yeast Strains Isolated from Kefir. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 11(4): 282-288.