



## Gıda Endüstrisinde Bakteriyel Biyofilm Oluşumu, Kontrolü ve Giderilmesine Yönelik Yeni Uygulamalar

Semra KAYAARDI<sup>1,a</sup>, Müge UYARCAN<sup>1,b,✉</sup>, Havva TURAN<sup>1,c</sup>

<sup>1</sup>Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, TÜRKİYE

<sup>a</sup>ORCID: 0000-0003-1747-0976; <sup>b</sup>ORCID: 0000-0003-1474-672X; <sup>c</sup>ORCID: 0009-0007-4604-3427

Geliş Tarihi/Received  
01.06.2024

Kabul Tarihi/Accepted  
17.10.2024

Yayın Tarihi/Published  
17.12.2024

### Öz

Gıda zincirinde hammaddenin işletmeye girmesinden son ürün elde edilinceye kadar üretimin tüm aşamalarında ekipmanların yeterince temizlenmemesi ve uygun hijyen standartlarının ihmal edilmesi gibi nedenlerle çeşitli kaynaklardan kontaminasyon riski söz konusudur. Gıda işletmelerinde yaşanan kontaminasyon riskleri sadece ürün kalitesini değil aynı zamanda gıda güvenliğini ve tüketici sağlığını etkileme potansiyeline sahiptir. Kontaminasyonu önlemeye yönelik yapılan temizlik ve dezenfeksiyon uygulamalarında yaşanan en büyük zorluklardan biri ekipman yüzeylerinde bakteriyel kaynaklı biyofilm oluşumudur. Biyofilmler bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapı içinde yaşayan mikroorganizmaların oluşturduğu jeli bir tabaka olarak tanımlanmaktadır. Özellikle gıda işletmelerinde ekipman ve boruların iç yüzeyleri, filtreler, konveyör bantlar, yardımcı alet ve ekipmanlarda, temizlenmesi ve dezenfekte edilmesi zor olan alanlarda gelişerek gıdalarda bozulmalara neden olmakla birlikte ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu yüzden gıda işletmelerinde biyofilm oluşumunun engellenmesi ya da engellenemediği durumlarda da ortadan kaldırılması gerekmektedir. Son zamanlarda güncel çalışmalar biyofilmlerin endüstriyel ortamlardan giderilmesi veya oluşumunun engellenmesi için mevcut yöntem ve stratejilerin iyileştirilmesiyle birlikte daha etkili inhibitör ajanlar veya uzaklaştırma tekniklerinin geliştirilmesine odaklanmıştır. Biyofilmlerin kontrolünde son uygulamalar arasında soğuk atmosferik plazma, yüksek basınç, vurgulu ışık, elektrolize su, ozon, ultrason gibi yeşil teknolojiler ile bakteriyofaj ve bakteriyosin uygulamaları yer almaktadır. Biyofilm engel teknolojilerine bakıldığında bakterisidal yüzey teknolojileri ve nanoteknoloji gibi yeni teknikler üzerine güncel çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmada bakteriyel biyofilm oluşumu ve gelişimi, etkileyen faktörler, önlemeye yönelik stratejiler ile her şeye rağmen oluşumu engellenemeyen biyofilmlerin gıda güvenliği, tüketici sağlığı, ekipman ve yüzeylere zarar vermeyecek ileri tekniklerle en etkili şekilde giderilmesine yönelik uygulamalar derlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Bakteriyel biyofilm, gıda güvenliği, ileri teknikler, temizlik ve dezenfeksiyon

### New Applications for the Formation, Control and Removal of Bacterial Biofilm in the Food Industry

### Abstract

In the food chain, there is a contamination risk from various sources due to reasons such as inadequate equipment cleaning and neglect of appropriate hygiene standards throughout production, from the entry of raw materials into the factory to the final product acquisition. Contamination risks within food enterprises have the potential to affect not only product quality, but also food safety and consumer health. Among the foremost challenges in preventing contamination through cleaning and disinfection procedures is the formation of bacterial biofilms on equipment surfaces. Biofilms are defined as a gel-like layer formed by microorganisms living in the polymeric structure they produce by adhering to a surface. It develops especially in food enterprises, on inner equipment surfaces, pipes, filters, conveyor belts, and other hard-to-clean areas, leading to food spoilage and substantial economic losses. Therefore, biofilm formation in food enterprises should be prevented or eliminated in cases where it cannot be prevented. Recently, current studies have focused on improving existing methods and strategies to remove or prevent the formation of biofilms from industrial environments, as well as the development of more effective inhibitory agents or removal techniques. Recent applications in biofilm control include green technologies such cold atmospheric plasma, high pressure, pulsed UV, electrolyzed water, ozone, ultrasound and bacteriophage and bacteriocin applications. Ongoing studies explore novel techniques like bactericidal surface technologies and nanotechnology within the field of biofilm hurdle technologies. In this study, bacterial biofilm formation and development, influencing factors, prevention strategies, and applications for the most effective removal of biofilms, which cannot be prevented despite everything and advanced techniques that safeguard food safety, consumer health, equipment and surfaces were reviewed.

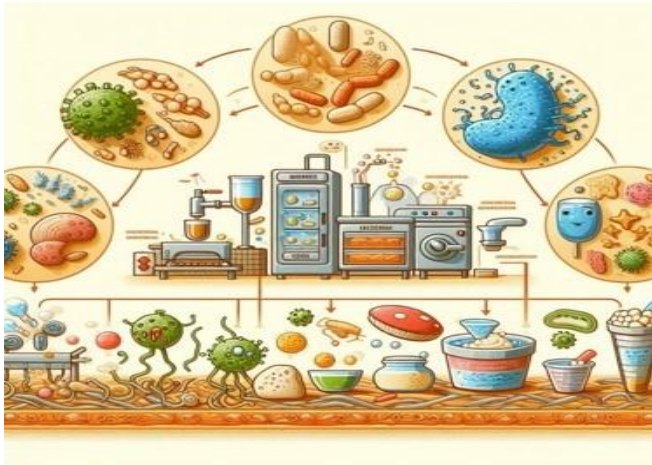
**Key Words:** Advanced techniques, bacterial biofilm, cleaning and disinfection, food safety

## GİRİŞ

Biyofilmler, canlıların yaşam alanlarının hemen hemen her alanında oluşabilmektedir (1). Patojen mikroorganizmalar tarafından oluşturulan biyofilmler gıdalarda çapraz kontaminasyon kaynağı olabildiğinden, gıda işleme stratejilerinin etkinliğini azaltarak gıda kalitesi ve güvenliğinde sıkıntı yaratabilmekte ve bu durum hem üretici hem de tüketici için bir zorluk ve/veya endişeye neden olmaktadır (2). Biyofilmler kalıcı enfeksiyonların en önemli nedenlerindedir. Biyofilm bazlı enfeksiyonlar hastaneye yatma, yaşam kalitesinin azalması, ölüm riskinin artması gibi önemli sosyo-ekonomik problemlerle sonuçlanmaktadır. Hastane enfeksiyonlarının yaklaşık %60-70'inin mikrobiyal biyofilmlerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir (3).

Kendi kendine üretilen bir polimer matrisi ile çevrelenmiş mikrobiyal hücre birliği olarak tanımlanan (4) biyofilm terimi daha önce çeşitli araştırmacılar tarafından kullanılmış olmasına rağmen, 1985 yılında J.W. Costerton bu terimi tıbbi mikrobiyoloji alanına tanıtmıştır. Literatürde biyofilmlerin giderilmesine ilişkin potansiyel yöntemleri açıklamaya yönelik çok sayıda çalışma yayınlanmıştır (5). Gıda endüstrisindeki biyofilmler ciddi ekonomik kayıp ve sağlık sorunları oluşturmaktadır. Gıda üretim alanlarında özellikle metal ekipmanların yüzeylerinde bazı bakterilerin biyofilm oluşturarak yüzeye yapışması ile o bölgeyi korozyona uğratması sonucu ekipmanlar zarar görebilmekte, bu durum da maddi kayıplara yol açabilmekte ve/veya gıda firmalarının itibarına zarar verebilmektedir (6,7).

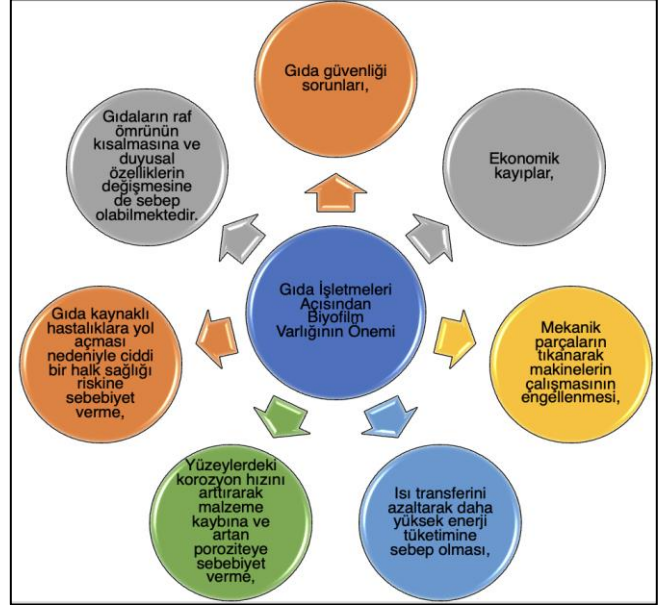
Biyofilmlerin mekanik güç veya antimikrobiyal ajanlar yoluyla çıkarılması zordur. Gıda işletmeleri mikrobiyal gelişim için uygun gıda bileşenlerinin bolluğu ve yapısal barınak sağlaması nedeniyle bakteriyel çoğalma ve biyofilm oluşumu için çok uygun ortamlardır (8) (Şekil 1). Biyofilmlerin antimikrobiyal direnç düzeyleri, antimikrobiyal maddelerin biyofilm matrisine nüfuz etmesi ya da organizmaların yüzeyle etkileşimine sebep olan diğer fizyolojik değişikliklerden etkilenmektedir (9).



Şekil 1. Gıda işletmelerinde biyofilmler (Yapay zekâ kullanılarak oluşturulmuştur.)

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, her yıl yaklaşık 600 milyon insanın kontamine gıda tüketimine bağlı olarak hastalandığı ve yaklaşık 420000 kişinin gıda kaynaklı has-

talıktan öldüğü bildirilmiş (10) ve tüm bakteriyel enfeksiyonların neredeyse %80'i biyofilm ile ilişkilendirilmiştir (7). Endüstride biyofilm oluşumu, temizlik ve hijyen sorunlarının yanı sıra, tıkanma, ısı iletiminin azalması ve akışın bozulmasıyla enerji kaybına sebebiyet verebilmektedir (11). Şekil 2'de gıda işletmeleri açısından biyofilm varlığının önemi yer almaktadır.



Şekil 2. Gıda işletmeleri açısından biyofilm varlığının önemi (22)

## BIYOFİLM OLUŞUM VE GELİŞİM MEKANİZMASI

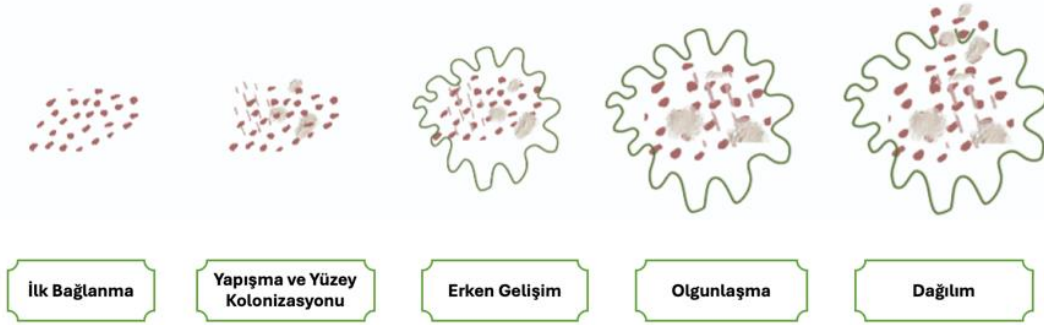
Bakteriler hem serbest formda hem de çeşitli yüzeylere yapışan biyofilmler halinde çoğalma eğilimindedirler. Biyofilmler, yüzeylere tutunan ve hücre dışı polisakkarit matrisi (EPS) içine alınmış karmaşık mikroorganizma toplulukları olduğundan, doğal ve zorlu koşullar altında bakteri hücrelerini antimikrobiyal maddelerden ve toksik bileşiklerden koruyarak bakterilerin hayatta kalmasında önemli bir rol oynamaktadır. Bakteriyel biyofilmler cam, plastik, ahşap, metal, toprak parçacıkları, tıbbi implant malzemeleri, dokular ve gıdalar da dahil olmak üzere her türlü yüzeyde oluşabilmektedir (12).

Dinamik ve karmaşık bir süreç sonucu oluşan biyofilmler, bakterilerin hayatta kalmasını sağlamak için etkili bir savunma mekanizmasıdır (5,12). Biyofilmler, farklı bakteri kolonilerine veya tek tip hücreye sahip, kendi kendini organize eden ve özerk bir şekilde çoğalan mikrobiyal topluluklardır. Bu karmaşık mikrobiyom yapılar, kendi kendine üretilen polisakkarit matrisi EPS tarafından güçlü bir şekilde korunmakta ve yüksek antibiyotik direnç göstermektedir. Buna ek olarak EPS, popülasyon yoğunluğunu algılamak ve kontrol etmek için bakterilerin çekirdek algılama ve otoindüktör salgısı yoluyla birbirleriyle iletişim kurmasına olanak tanımaktadır (7).

Biyofilmler yüzeye dönüşümlü tutunma, dönüşümsüz tutunma, koloni oluşumu, olgunlaşma ve ayrılma olmak üzere fiziksel, kimyasal ve biyolojik çok aşamalı süreçler sonucunda oluşmaktadır (13). Yüzeye tutunma sonrası koloni gelişim aşamasında, mikroorganizmalar EPS üreterek hem yüzeye bağlanmakta hem de bu sayede kendilerini çevresel streslere karşı korumaktadır. EPS oluşumu ile yüzey ve bak-

teriler arasındaki bağlantı kararlı hale geldikten sonra olgunlaşma aşamasında bakteriler çekirdek algılama yeteneği sayesinde birbirleri arasında iletişim kurup mikrokoloniler oluşturmaktadır. Yüzeye tutunmuş halde bulunan ve biyofilm

oluşturan mikrokolonilerin çevreye dağılmasıyla süreç tamamlanmaktadır (14-16). Şekil 3'te biyofilm oluşum mekanizması yer almaktadır.



Şekil 3. Biyofilm oluşum mekanizması (Yapay zekâ kullanılarak oluşturulmuştur.)

### BİYOFİLM OLUŞUMUNU ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Biyofilm oluşumunu çeşitli faktörler etkileyebilmektedir. Bunlar; mikroorganizma türü, hidrofobiklik, kamçılanma ve hareketlilik gibi hücre özellikleri, yüzey tipi, sıcaklık, pH, besin ve oksijen varlığı ile hidrodinamik koşullar gibi çevresel faktörlerdir (12). *Salmonella*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, enterohemorajik *Escherichia coli* ve *Listeria* gibi patojenik bakterilerin biyofilm oluşturduğu bilinmektedir. Bu tür biyofilmler, gıda ile temas eden yüzeylerde olduğu takdirde gıdalar için önemli bir kontaminasyon kaynağı olabilmektedir (17).

*Salmonella* spp.'nin gıdalla temas eden yüzeylerde biyofilmler oluşturabileceği ve bu biyofilm hücrelerinin planktonik hücrelere kıyasla dezenfektanlara karşı çok daha dirençli olduğu ifade edilmektedir (17). *Salmonella enterica*'nın gıda işletmelerinde hayatta kalmasının en önemli nedenlerinden birinin biyofilm oluşturma yeteneği olduğu rapor edilmiştir. *S. enterica*, çok çeşitli çevresel koşullara uyum sağlama ve canlılığını sürdürme yeteneği ile bilinen bir mikroorganizmadır ve temel hayatta kalma avantajlarından biri aerobik ve anaerobik olarak gelişme yeteneğidir (18).

*Pseudomonas aeruginosa*'nın yüksek tuz konsantrasyonlarına ve farklı çevre koşullarına dayanıklı olması, çok çeşitli besin ortamına ihtiyaç duymaması ve nemli ortamlarda üreyebilmesi gibi özelliklerinden dolayı birçok alanda gelişim gösterebilmektedir. *P. aeruginosa*, gıda ve tıbbi alet yüzeylerine yapışıp biyofilm oluşturmada, dezenfektan ve antibiyotığe dirençli bir mikroorganizma olduğundan giderilmesi zorlaşmaktadır (19-21).

*Listeria monocytogenes*'in gelişimi ve biyofilm oluşturmalarını ise besin unsurlarının varlığı ve çeşitliliği, sıcaklık, nem, pH, yüzey malzemeleri, pürüzlülüğü ve temizlik ve dezenfeksiyon uygulamaları gibi çevresel faktörler etkilemektedir (22). Dünya çapında son derece önemli olarak görülen listeriozis hastalığının kaynağı olan *L. monocytogenes* geniş sıcaklık aralıklarında gelişim gösterebilmesi, gıda işletme ortamlarında yıllarca canlı kalarak barınabilmesi ve birçok suşunun biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olmasından dolayı gıda endüstrisinde ciddi bir sorun teşkil etmektedir (23).

### BİYOFİMLERİN GİDERİLMESİ VE OLUŞUMUNUN ÖNLENMESİNE YÖNELİK UYGULAMALAR

Gıda işletmeleri, fabrika ekipmanlarının yüzeylerinde biyofilmlerin giderilmesi veya oluşumunun önlenmesi için çeşitli yöntemler kullanmaktadır. Gıda işletmelerinde biyofilm giderme için fiziksel (fırçalama, basınçlı su), kimyasal (sodyum hipoklorit, hidrojen peroksit, perasetik asit, kızgın buhar, doymuş buhar ve kuru ısı kullanarak) ve biyolojik (enzimler) yöntemler kullanılırken oluşumunu önlemeye yönelik paslanmaz çelik, polivinil kaplama ve cam kaplama gibi geleneksel kontrol stratejileri kullanılmaktadır. Ancak çoğu zaman bu tekniklerin gelişmiş biyofilmlerin giderilmesinde etkisiz kaldığı bilinmektedir. Bu nedenle, gelişmiş bakteriyel biyofilmleri ortadan kaldırmak için yeni stratejiler geliştirilmektedir. Bu yeni stratejilerden biyofilmlerin giderilmesinde atmosferik plazma, yüksek basınç, vurgulu ışık, elektrolize su, ozon gibi yeşil teknolojiler ile bakteriyofaj, bakteriyosin uygulamaları kullanılırken, oluşumu önlemek için bakterisidal yüzey ve nanoteknolojik kaplamalar gibi çevre dostu teknolojiler üzerine umut vaat eden çalışmalar sürdürülmektedir (24-28).

#### Geleneksel Uygulamalar

##### I. Dezenfektan uygulaması

Biyofilmlerin yüzeyden giderilmesi için geleneksel olarak çeşitli konsantrasyonlarda dezenfektanların kullanıldığı bilinmektedir. Klor bazlı dezenfektanlar her ne kadar gıda sektöründe yaygın kullanılsalar da *S. enterica* gibi dirençli bakterilerin giderilmesinde etkisiz kalabilmektedirler (24). Yapılan bir çalışmada perasetik asit ile birlikte esansiyel yağ kullanımının gıda işletmelerinde paslanmaz çelik ve polistiren yüzeylerde *L. monocytogenes* biyofilmlerinin giderilmesi etkili bir strateji olduğu rapor edilmiştir (29).

##### II. Sıcak buhar uygulaması

Kızgın buhar ve doymuş buhar uygulamaları gıda işletmelerinden ekipman yüzeylerinden biyofilmlerin giderilmesinde kullanılan diğer geleneksel yöntemler arasında yer almaktadır. Kızgın buhar, belirli bir basınçta doymunluk noktası boyunca sıcaklığını artırmak için ısıtılmış bir buhar şeklidir. Kız-

gın buhar, düşük nemli koşullarda patojenleri etkili bir şekilde giderebilmektedir (30). Bu konuda yapılan bir çalışmada, *Bacillus cereus* endosporlarına karşı, kızgın buhar ve nebulize organik asitlerin (laktik, malik ve sitrik asit) birlikte kullanımının bakteri sporları üzerine etkileri araştırılmıştır. 5 dakika boyunca 150°C'de kızgın buhar ve %10 laktik, malik ve sitrik asitler ile kombinasyon işleminin paslanmaz çelik üzerindeki endosporları sırasıyla 3.2- 2.6 ve 1.9 log kob/cm<sup>2</sup> azalttığı tespit edilmiştir (31). Doymuş buhar ile ısıtma, yüzeylerde mikrobiyal inaktivasyonda sıcak hava ve sıcak sudan daha etkili olduğu için yaygın kullanılan geleneksel bir yöntemdir. *L. innocua*'nın gıdayla temas eden yüzeylerden giderimi için doymuş buhar uygulaması yapılan bir çalışmada, 100°C'de doymuş buharın, test edilen tüm yüzeylerde bulunan biyofilmler üzerinde etkili olduğu tespit edilmiş, 6 saniyelik buhar uygulaması ile yüzey tipine bağlı olarak *L. innocua* sayısında 2.4-3.1 log kob/cm<sup>2</sup> azalma olduğu rapor edilmiştir (32).

### III. Enzim uygulaması

Enzimler, biyolojik olarak parçalanabilir ve düşük toksisiteye sahip olması gibi avantajları nedeniyle gıda işletmelerinde deterjan içeriklerinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar (18). Enzimler sadece agregasyonu engellemekle kalmaz, aynı zamanda gelişmiş biyofilmlerin EPS bileşenlerini de bozmakta, hücre parçalamasını doğrudan etkilemekte ve hidrolitik enzimlerle kombinasyon halinde kullanılmaları durumunda dezenfektanların etkinliğini arttırmaktadırlar (33). Yapılan bir çalışmada paslanmaz çelik yüzeylerde enzim uygulaması (50°C, 20 dk) ile *L. monocytogenes* biyofilmlerinin %85-90 oranında giderildiği tespit edilmiştir (34).

### IV. Yüzey kaplama

Biyofilm oluşumunun önlenmesinde paslanmaz çelik, polipropilen, polivinil klorür kaplama ve cam kaplama gibi geleneksel kontrol stratejileri de kullanılmaktadır (18,35). Paslanmaz çelik genellikle gıda endüstrisinde ekipman için kullanılması tavsiye edilen bir malzemedir. Bazı dezenfekte edici maddeler paslanmaz çelik için aşındırıcıdır. Hipoklorit tuzları ve kloraminler, agresif olabilen kloru serbest bırakarak yüzeylerde çatlak ve çukur korozyonuna sebep olabilmektedir. Paslanmaz çelik yüzeylerde *Vibrio parahaemolyticus* oluşumu ve benzalkonyum klorürün *V. parahaemolyticus*'e karşı inhibitör etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan çalışmada, bu patojenin temastan sonra tüm paslanmaz çelik yüzeylere bağlanabildiği ve pürüzlü yüzeye pürüzsüz olanlardan daha iyi yapışma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir (36).

Polipropilenin düşük maliyetli ve bakteriyel yapışmayı kolaylaştıran bir özellik olan yüksek hidrofobikliğe sahip hafif bir malzeme (37) olmasının yanı sıra kimyasallara ve korozyona dirençli bir polimer olduğu bilinmektedir (38). Özellikle su dağıtım sistemlerinde yaygın kullanılan polipropilenin biyofilm oluşumunu tamamen engelleyemediği bildirilmiştir (39). Ultraviyole ışık ve darbeli ışık teknolojilerinin gıda ile temas yüzeylerinde dekontaminasyon etkinliğini değerlendirilmesi için yapılan çalışmada, *P. fluorescens*'in, polietilen yüzeylere kıyasla, paslanmaz çelik yüzeylerde daha yüksek direnç gösterdiğini bildirmişlerdir (40). Buhar ve laktik asit uygulamasının, biyofilmlerin polivinil klorür (PVC) ve paslanmaz

çelik üzerindeki inaktivasyonu üzerindeki bireysel ve kombine etkilerini araştırmak için yapılan bir çalışmada, buhar ve laktik asit kombinasyonunun gıda işletmelerinde biyofilm kontrolünde uygulama potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (41).

### Yeni Uygulamalar

#### I. Soğuk atmosferik plazma

Biyofilmlerin giderilmesinde ön plana çıkan yeni teknikler arasında soğuk atmosferik plazma, yüksek basınç, vurgulu ışık, elektrolize su, ozon, ultrason gibi yeşil teknolojiler ile bakteriyofaj ve bakteriyosin uygulamaları yer almaktadır. Yapılan bir çalışmada soğuk atmosferik plazma uygulamasının *Pseudomonas aeruginosa* biyofilminin kalınlığında önemli oranda azalma meydana getirdiği rapor edilmiştir. Doğrudan ve dolaylı olarak soğuk plazma uygulaması (300 saniye) ile *P. aeruginosa* biyofilminin kalınlığının 23 µm'den 8 ve 6 µm'ye düştüğü tespit edilmiştir (42).

#### II. Yüksek basınç

Yüksek basınç teknolojisi, gıdaların besin değerini ve duyuşal özelliklerini koruyarak sterilizasyonunu sağlayan ısı olmayan etkili bir teknolojidir. Gıda kaynaklı patojen mikroorganizma ve virüsleri inaktive edebilmekte ancak tüm sporları tamamen yok edememektedir (43). Yüksek basınç teknolojisinin bakteriyel biyofilmlerin giderilmesi üzerine etkilerinin incelendiği sınırlı çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, asidik koşullar altında yüksek basınç teknolojisi (400 MPa, 20 dk) ile nisin'in birlikte kullanımının *L. monocytogenes* biyofilmlerinin giderilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (44).

#### III. Vurgulu ışık

Vurgulu ışığın ultraviyole, görünür ve kızılötesi ışık (200-1100 nm) frekans aralıklarında darbe şeklinde uyarılan yoğun beyaz ışık olduğu bilinmektedir. Vurgulu ışık uygulaması, yüksek işleme verimliliği ve gıdalarda kalıntı bırakmaması gibi avantajları sayesinde gıdalarda mikrobiyal inaktivasyon amacıyla kullanılmaktadır (45). Vurgulu ışığın *Salmonella* biyofilmleri üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, gıda işleme sırasında temas yüzeylerinde *Salmonella* biyofilmlerinin inaktivasyonu için etkili olduğu rapor edilmiştir (46).

#### IV. Elektrolize su

Sürdürülebilir ve doğa dostu bir uygulama olan elektrolize su, ekonomik, kolay ve etkili dezenfeksiyon stratejileri arasında yer almaktadır. Yapılan bir çalışmada elektrolize su süt fabrikasında paslanmaz çelik borular, PVC hortumlar ve kauçuk contaların temizlenmesi için kullanılmıştır. Paslanmaz çelik yüzeyde 9.9 dakika elektrolize su (60 mg/L) uygulamasının, kauçuk conta ve PVC hortumlarda ise 14.4 dakika elektrolize su (60 mg/L) uygulamasının etkili olduğu bildirilmiştir (26). Ultrason ile kombinasyon halinde elektrolize su veya ozonlu su kullanılarak paslanmaz çelik üzerinde gıda kaynaklı patojenler tarafından oluşturulan biyofilmlerin ortadan kaldırılması için yapılan bir çalışmada, elektrolize suyun gıda ile

temas eden yüzeyleri temizlemek için tek başına ozonlu sudan daha etkili olabileceği bildirilmiştir (47).

#### V. Ozonlu su

Güçlü bir oksidan ajan olarak ozonun, virüsler, algler, bakteriler ve mantarlar dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizma türlerine karşı oldukça etkili olduğu ifade edilmektedir (48). Yapılan bir çalışmada mikrobiyal kontaminasyonların kontrol edilmesinde çevre dostu bir teknoloji olarak öne çıkan ozon uygulamasının *Listeria monocytogenes* planktonik hücreleri ve biyofilmleri üzerinde etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada, 50 ppm konsantrasyonunda 10 ve 30 dakika ozon gazı uygulaması sonucunda mikrobiyal yükte sırasıyla  $3.7 \pm 0.4$  ve  $3.9 \pm 0.4 \log_{10}$  CFU/mL'lik bir azalma meydana geldiği, 6 saatlik uygulama sonrası planktonik hücrelerin tamamen inaktive olduğu ve biyofilm kütlelerinde % 59 oranında azalma meydana geldiği bildirilmiştir. (49).

#### VI. Ultrason

Biyofilmlerin ultrasonik olarak yok edilmesi, esas olarak kavitasyon kabarcıklarından ve biyofilm dispersiyonunu tetikleyen sıvı akışından üretilen kuvvetlere bağlı olduğu bilinmektedir (50). Ultrason yoluyla üretilen kavitasyon, bakteri hücrelerinin içinde şiddetli salınımlar üretmekte, biyofilme zarar vermekte ve sonunda bakterisidal etkiye neden olmaktadır (51). *S. aureus* biyofilminin kontrol edilmesi üzerine yüksek yoğunluklu ultrason uygulamasının etkinliğinin değerlendirilmesine yönelik yapılan bir çalışmada,  $1.38 \times 10^5$  Pa akustik basınçta 240 W güçte uygulama işlemi ile *S. aureus* biyofilmlerinin % 96.02 oranında giderildiği tespit edilmiştir (52).

#### VII. Bakteriyofaj uygulaması

Bakteriyofajlar, tek başına hayatta kalabilen fakat yayılması için bir bakteri hücresi gerektiren, doğal olarak oluşan virüsler veya bakteriyel parazitlerdir (53). Son zamanlarda, konak aralığı genişletilmiş istenen özelliklere sahip bakteriyofaj sentezi ve biyofilmlerin giderilmesinde kullanımı üzerine yapılan çalışmalar popülerlik kazanmıştır (54). Gıda endüstrisinde paslanmaz çelik üzerinde oluşmuş patojen mikroorganizmaların kontrolünde, bakteriyofajların potansiyel yeteneklerinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan bir çalışmada bakteriyofaj uygulamasının biyofilm oluşumunda önemli düzeyde %38'lik bir azalmaya neden olduğu, 4°C'de uygulandığında 25°C'nin üzerindeki sıcaklıklara kıyasla antibakteriyel faj aktivitesinin önemli ölçüde 3.54 kat azaldığı bildirilmiştir (55).

#### VIII. Bakteriyosin uygulaması

Bakteriyosinler, ribozomlarda peptitler veya protein kompleksleri olarak sentezlenmekte ve diğer mikroorganizmalara karşı inhibitör aktivite sergilemektedirler (56). Bakteriyosinler doğrudan bir bileşik olarak veya dolaylı olarak bakteriyosin üreten organizma aracılığıyla kullanılabilirler (57). Yapılan bir çalışmada, ticari nisin A'nın laktik asit bakterilerinin biyofilm oluşumunu %67 oranında önlediği tespit edilmiştir (58).

#### IX. Nanoteknoloji temelli yüzey kaplama

Nanopartikül malzemelerin yüksek su içeriği, kimyasal ve fiziksel bileşimleri, güçlü mekanik yetenekleri ve olağanüstü

biyoyoumluluk gibi olumlu özellikleri, onları antimikrobiyal yüzey kaplamaları olarak kullanım için çok uygun hale getirmektedir. Gümüş (Ag) ve gümüş nanopartikül (AgNP) kompleksi doğal olarak antibakteriyel ilaçlara direnç gösterdiğinden, Ag+AgNP'lerin etkili bir antimikrobiyal yüzey kaplaması olarak kullanılması çalışmaları sürdürülmektedir (24). Yapılan bir çalışmada cam yüzeyden, *Staphylococcus aureus* biyofilmlerinin giderilmesinde nanopartikül ve bakteriyofaj uygulamasının etkisi araştırılmıştır. Nanopartiküllerin ve bakteriyofajların sinerjik aktivitesinin biyofilm hücrelerinin yıkımına neden olarak kolonizasyonu önlediği tespit edilmiştir (59).

#### SONUÇ

Biyofilmlerin üretici ve tüketici üzerinde çeşitli olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Ekipman yüzeyinde oluşan biyofilm ekipmanda hasar oluşturduğundan temizlik zorlaşmakta, gıda ile temas edebileceği alanlarda oluşması durumunda ise çeşitli gıda güvenliği riskleri ve beraberinde ürün kalitesinde düşüşler yaşanabilmektedir. Bu nedenle gıda işletmelerinde biyofilmlerin oluşumunun engellenmesi veya engellenemediği durumlarda da kontrol altına alınması son derece önemlidir. Tüketici sağlığının korunması ancak gıda güvenliğinin sağlanması ile mümkün olabileceğinden tüm gıda üretim ortamları biyofilm oluşumunu engelleyecek şekilde tasarlanmalı veya kontrol altında tutulmalıdır. Kullanılacak malzemenin doğru seçimi biyofilmin daha az oluşumunda yarar sağlayabilir. Literatürde biyofilm oluşumunun engellenmesi veya kontrol edilmesinde yeni teknolojilerin ve uygulamaların kullanımına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Bu teknikler geleneksel yöntemlere kıyasla, daha yüksek verimlilik ve gıda ve/veya yüzey üzerinde daha az tahribat bırakması gibi avantajları nedeniyle umut vaat eden uygulamalar olarak görülmektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Kanematsu H, Barry DM. (2020). Formation and Control of Biofilm in Various Environments. 1<sup>st</sup> edition, Springer, Singapore.
2. Alvarez-Ordóñez A, Coughlan LM, Briand R, Cotter PD. (2019). Annual Review of Food Science and Technology Biofilms in Food Processing Environments: Challenges and Opportunities. Annu Rev Food Sci Technol. 10: 173-195.
3. Moser C, Jensen PØ, Thomsen K, et al. (2021). Immune Response to Pseudomonas aeruginosa Biofilm Infections, Front Immunol. 12: 625597.
4. Høiby N. (2017). A Short History of Microbial Biofilms and Biofilm Infections. Apmis. 125(4): 272-275.
5. Guzmá NI, Mctiernan C, Gonzalez-Gomez M, et al. (2021). Mimicking Biofilm Formation and Development: Recent Progress in Invitro and Invivo Biofilm Models. Iscience. 24(5): 102443.
6. Galié S, García-Gutiérrez C, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. (2018). Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. Front Microbiol. 9: 898.
7. Shineh G, Mobaraki M, Bappy MJP, Mills DK. (2023). Biofilm Formation, and Related Impacts on Healthcare, Food Processing and Packaging, Industrial Manufacturing, Marine Industries, and Sanitation—A Review. Appl Microbiol. 3(3): 629-665.
8. Byun KH, Han SH, Choi MW, Kim BH, Ha SD. (2024). Efficacy of disinfectant and bacteriophage mixture against planktonic and

- biofilm state of *Listeria monocytogenes* to control in the food industry. *Int J Food Microbiol.* 413: 110587.
9. Turhan UE, Polat S, Erginkaya Z, Konuray G. (2022). Investigation of Synergistic Antibacterial Effect of Organic Acids and Ultrasound Against Pathogen Biofilms on Lettuce. *Food Biosci.* 47: 101643.
  10. World Health Organisation, 2022. Food safety. Erişim: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. Erişim tarihi: 01.10.2024.
  11. Khanashyam AC, Shanker MA, Thomas PE, Babu KS, Nirmal NP. (2023). Phytochemicals in Biofilm Inhibition. In: *Recent Frontiers of Phytochemicals: Applications in Food, Pharmacy, Cosmetics, and Biotechnology.* S Pati, T Sarkar, D Lahiri (eds). 1<sup>st</sup> ed. pp. 397-412, Elsevier, USA.
  12. Alotaibi GF. (2021). Factors Influencing Bacterial Biofilm Formation and Development. *Am J Biomed Res.* 12(6): 617-626.
  13. Kartal MO, Ekinci MB, Poyraz B. (2021). Biyofilm Yapısı ve Önlenmesi. *Akademik Gıda.* 19(3): 353-363.
  14. Ashikur RM, Akter S, Ashrafudoulla M, et al. (2024). Insights Into the Mechanisms and Key Factors Influencing Biofilm Formation by *Aeromonas hydrophila* in the Food Industry: A Comprehensive Review and Bibliometric Analysis. *Food Res Int.* 175: 113671.
  15. Gürlük N, Koluman A, Kahraman T. (2017). Gıda İşletmelerinde Biyofilm Sorunu ve Gümüş Nanopartikül Uygulamaları. *Aydın Gastronomy,* 6(1): 51-63.
  16. Türetgen İ. (2005). Su Sistemlerinde Mikrobiyal Biyofilm Oluşumunun İncelenmesi, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 79 s., İstanbul.
  17. Joseph B, Otta SK, Karunasagar I, Karunasagar I. (2001). Biofilm Formation by *Salmonella* spp. on Food Contact Surfaces and Their Sensitivity to Sanitizers. *Int J Food Microbiol.* 64: 367-372.
  18. Ghosh S, Sarkar T, Chakraborty R. (2021). Formation and Development of Biofilm- an Alarming Concern in Food Safety Perspectives. *Biocatal Agric Biotechnol.* 38: 102210.
  19. Çevikbaş H, Ulusoy S. (2023). Gül (*Rosa damascena* Mill.) Uçucu Yağının *Pseudomonas aeruginosa*'da Biyofilm Oluşumu ve Kayma Hareketi Üzerine Etkisi. *Akademik Gıda.* 21(4): 367-374.
  20. Li X, Gu N, Huang TY, Zhong F, Peng G. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: A Typical Biofilm Forming Pathogen and an Emerging but Underestimated Pathogen in Food Processing. *Front Microbiol.* 13: 1114199.
  21. Sırıken B, Öz V. (2017). *Pseudomonas aeruginosa*: Özellikleri ve Quorum Sensing Mekanizması. *Gıda ve Yem Bilimi- Teknolojisi Dergisi.* 18: 42-52.
  22. Fagerlund A, Langsrud S, Mørretrø T. (2021). Microbial Diversity and Ecology of Biofilms in Food Industry Environments Associated with *Listeria monocytogenes* persistence. *Curr Opin Food Sci.* 37: 171-178.
  23. Gemmell, C. T., Parreira, V. R., & Farber, J. M. (2022). Controlling *Listeria monocytogenes* growth and biofilm formation using flavonoids. *J Food Prot.* 85(4), 639-646.
  24. Gouda M, Khalaf MM, Taleb MFA, El-Lateef HMA. (2024). Fabrication of Silver Nanoparticles Loaded Acacia Gum/Chitosan Nanogel to Coat The Pipe Surface for Sustainable Inhibiting Microbial Adhesion and Biofilm Growth In Water Distribution Systems. *Int J Biol Macromol.* 262: 130085.
  25. Gungor C, Onmaz NE, Gundog DA, Yavas, GT, Koskeroglu, K, Gungor, G. (2024). Four Novel Bacteriophages From Slaughterhouse: Their Potency on Control of Biofilm-Forming *MDR S. aureus* In Beef Model. *Food Control.* 156: 110146.
  26. Liu Y, Yan Y, Yang K, et al. (2023). Inhibitory Mechanism of *Salmonella* Derby Biofilm Formation by Sub-inhibitory Concentrations of Clove And Oregano Essential Oil: A Global Transcriptomic Study. *Food Control.* 150: 109734.
  27. Zhang Q, Hu X, Zhang R, et al. (2024). Characterization of *Brevibacillus* Biofilm Isolated from Pasteurized Milk and Evaluation of the Efficacy of Sodium hypochlorite, CIP, and Enzymatic Treatment Against the Biofilm. *Food Control.* 161: 110405.
  28. Zhu T, Yang C, Bao X, Chen F, Guo X. (2022). Strategies for Controlling Biofilm Formation in Food Industry. *Grain Oil Sci Technol.* 5(4): 179-186.
  29. Vázquez-Sánchez D, Galvão JA, Ambrosio CMS, Gloria EM, Oetterer M. (2018). Single and Binary Applications of Essential Oils Effectively Control *Listeria monocytogenes* Biofilm. *Ind Crops Prod.* 121: 452-460.
  30. Park HW, Xu J, Balasubramaniam VM, Snyder AB. (2021). The Effect of Water Activity and Temperature on the Inactivation of *Enterococcus faecium* In Peanut Butter During Superheated Steam Sanitation Treatment. *Food Control.* 125: 107942.
  31. Kim SH, Park SH, Kang DH. (2024). Simultaneous Combination Treatment with Superheated Steam and Nebulized Organic Acid to Inactivate *Bacillus cereus* Endospores on Stainless Steel Surfaces. *Food Control.* 155: 110028.
  32. Hua Z, Younce F, Tang J, et al. (2021). Efficacy of Saturated Steam Against *Listeria innocua* Biofilm on Common Food-Contact Surfaces. *Food Control.* 125: 107988.
  33. Nahar S, Ha AJ, Byun KH, Hossai MI, Mizan MFR, Ha SD. (2021). Efficacy of Flavourzyme Against *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms on Food-Contact Surfaces. *Int J Food Microbiol.* 336: 108897.
  34. Mazaheri T, Ripolles-Avila C, Hascoët AS, Rodríguez-Jerez JJ. (2020). Effect of an Enzymatic Treatment on the Removal of Mature *Listeria monocytogenes* Biofilms: A Quantitative and Qualitative Study. *Food Control.* 114: 107266.
  35. Kartal MO, Ekinci MB, Poyraz B. (2021). Biyofilm Yapısı ve Önlenmesi. *Akademik Gıda.* 19(3): 353-363.
  36. Tantratian S, Srimangkornkaew N, Prakitchaiwattana C, Sanguanadeekul R. (2022). Effect of Different Stainless Steel Surfaces on the Formation and Control of *Vibrio parahaemolyticus* Biofilm. *LWT.* 166: 113788.
  37. Moraes JO, Cruz EA, Pinheiro Í, et al. (2019). An Ordinal Logistic Regression Approach to Predict the Variability on Biofilm Formation Stages by Five *Salmonella enterica* Strains on Polypropylene and Glass Surfaces as Affected by pH, Temperature and NaCl. *Food Microbiol.* 83: 95-103.
  38. Ergin Ç, Öner SZ, Özkan B, et al. (2023). Evaluation of *Malassezia furfur* Biofilm Formation on Polypropylene Membrane. *Mikrobiyoloji Bülteni.* 57(3): 432-443.
  39. Hoca S. (2010). Model Şebeke Boru Sisteminde Oluşan Biyofilmdeki Bakteriler Üzerine Kısa Süreli Kurumanın Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 72 s., İstanbul.
  40. Pedrós-Garrido S, Condón-Abanto S, Clemente I, et al. (2018). Efficacy of Ultraviolet Light (UV-C) and Pulsed Light (PL) For The Microbiological Decontamination of Raw Salmon (*Salmo salar*) and Food Contact Surface Materials. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 50: 124-131.
  41. Ban GH, Park SH, Kim SO, Ryu S, Kang DH. (2012). Synergistic Effect of Steam and Lactic Acid Against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* Biofilms on Polyvinyl chloride and Stainless Steel. *Int J Food Microbiol.* 157(2): 218-223.

42. Traba C, Liang JF. (2011). Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Biofilms to Reactive Discharge Gases. *Biofouling*. 27(7): 763-772.
43. Liu L, Chen X, Li Y, Yuan L, Rao Y. (2023). Biofilm Formation, Hyphae Growth, and Transcriptome Characteristics of *C. albicans* Surviving High-Pressure Processing. *LWT- Food Sci Technol*. 187: 115332.
44. Cava R, Higuero N, Ladero L. (2021). High-Pressure Processing and Storage Temperature on *Listeria monocytogenes*, Microbial Counts and Oxidative Changes of Two Traditional Dry-Cured Meat Products. *Meat Sci*. 171: 108273.
45. Liu S, Chen S, Shao L, Ding Z, Xu X, Wang H. (2024). Spoilage Bacteria Growth Reduction and Microbial Community Variation of Chilled Chicken Packaged in PA/PE Treated With Pulsed Light. *Food Control*. 157: 110196.
46. Gao F, Lyu C, Ning Z, et al. (2023). Inactivation of *Salmonella* Biofilms Formed on Stainless Steel Surfaces by Pulsed Light. *Food Control*. 153: 109955.
47. Shao L, Dong Y, Chen X, Xu X, Wang H. (2020). Modeling the Elimination of Mature Biofilms Formed by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. Using Combined Ultrasound and Disinfectants. *Ultrason Sonochem*. 69: 105269.
48. Bigi F, Maurizzi E, Quartieri A, Leo RD, Gullo M, Pulvirenti A. (2023). Non-Thermal Techniques and the "Hurdle" Approach: How is Food Technology Evolving? *Trends Food Sci Technol*. 132: 11-39.
49. Panebianco, F., Rubiola, S., Chiesa, F., Civera, T., & Di Ciccio, P. A. (2021). Effect of gaseous ozone on *Listeria monocytogenes* planktonic cells and biofilm: An in vitro study. *Foods*. 10(7), 1484
50. Erriu M, Blus C, Szmukler-Moncler S, et al. (2014). Microbial Biofilm Modulation by Ultrasound: Current Concepts and Controversies. *Ultrason Sonochem*. 21(1): 15-22.
51. Wang M, Jiang L, Liu M, et al. (2024). Effects of Ultrasound on Disrupting Metabolite Profiles of *Pseudomonas fluorescens* Biofilms Cultured on the Surface of Lettuce. *Food Control*. 155: 110103.
52. Yu H, Liu Y, Yang F, et al. (2021). Combined an Acoustic Pressure Simulation of Ultrasonic Radiation and Experimental Studies to Evaluate Control Efficacy of High-Intensity Ultrasound Against *Staphylococcus aureus* Biofilm. *Ultrason Sonochem*. 79: 105764.
53. Ashrafudoulla M, Kim HJ, Her E, Shaila S, Park SH, Ha SD. (2023). Characterization of *Salmonella* Thompson-Specific Bacteriophages and Their Preventive Application Against *Salmonella* Thompson Biofilm on Eggshell as a Promising Antimicrobial Agent in the Food Industry. *Food Control*. 154: 110008.
54. Wang D, Zhao X, Wang H. (2023). Recent Advances of Bacteriophage-Derived Strategies for Biofilm Control in the Food Industry. *Food Biosci*. 54: 102819.
55. Azari R, Yousefi MH, Fallah AA, et al. (2024). Controlling of Foodborne Pathogen Biofilms on Stainless Steel by Bacteriophages: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Biofilm*. 100170.
56. Lei W, Hao L, You S, Yao H, Liu C, Zhou H. (2022). Partial Purification and Application of a Bacteriocin Produced by Probiotic *Lactococcus lactis* C15 Isolated from Raw Milk. *LWT- Food Sci Technol*. 169: 113917.
57. Melian C, Ploper D, Chein R, Vignolo G, Castellano P. (2024). Impairment of *Listeria monocytogenes* Biofilm Developed on Industrial Surfaces by *Latilactobacillus curvatus* CRL1579 Bacteriocin. *Food Microbiol*. 121: 104491.
58. Villarreal LA, Ladero V, Sarquis A, Martinez B, del Rio B, Alvarez MA. (2024). Bacteriocins Against Biogenic Amine-Accumulating Lactic Acid Bacteria in Cheese: Nisin A Shows the Broadest Antimicrobial Spectrum and Prevents The Formation of Biofilms. *J Dairy Sci*. 107(7): 4277-4287.
59. Manoharadas, Salim, Mohammad Altaf, Abdulwahed Fahad Al-refaei, Rajesh Mamkulatil Devasia, Ahmed Yacine M. Badjah Hadj, ve Mohammed Saeed Ali Abuhasil. 2021. "Concerted dispersion of *Staphylococcus aureus* biofilm by bacteriophage and 'green synthesized' silver nanoparticles". *RSC Advances*. 11(3): 1420-29.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Müge UYARCAN

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Manisa, TÜRKİYE

E-posta: muge.akkara@cbu.edu.tr