

T.C.
BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA GÜVENLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ YETİŞTİRME ORTAMLARININ MİKRO FİLİZLERİN ŞİGA TOKSİN ÜRETEN
ESCHERİCHİA COLİ (STEC) VE JENERİK *ESCHERİCHİA COLİ* KONTAMİNASYONU
İÇİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hasan IŞIK

OCAK 2020

GIDA GÜVENLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇEŞİTLİ YETİŞTİRME ORTAMLARININ MİKRO FİLİZLERİN ŞİGA TOKSİN ÜRETEN
ESCHERİCHİA COLİ (STEC) VE JENERİK *ESCHERİCHİA COLİ* KONTAMİNASYONU
İÇİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hazırlayan
Hasan IŞIK

Danışman

1. Danışman Doç. Dr. Aziz AKSOY
2. Danışman Dr. Öğr. Üyesi Zeynal TOPALCENGİZ

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Aziz AKSOY
Dr. Öğr. Üyesi Seda OĞUR
Dr. Öğr. Üyesi Zeynal TOPALCENGİZ
Dr. Öğr. Üyesi Harun ÖNLÜ
Dr. Öğr. Üyesi Abdullah KURT

OCAK 2020

ONAY

Hasan IŞIK tarafından hazırlanan “Çeşitli Yetiştirme Ortamlarının Mikro Filizlerin Şiga Toksin Üreten *Escherichia coli* (STEC) ve Jenerik *Escherichia coli* Kontaminasyonu için Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması 12/01/2020 tarihinde yapılan sınavla aşağıdaki jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Güvenliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Aziz AKSOY

(Başkan-Danışman)

Dr. Öğr. Üyesi Zeynal TOPALCENGİZ

(Üye-2. Danışman)

Dr. Öğr. Üyesi Seda Dursun OĞUR

(Üye)

Dr. Öğr. Üyesi Harun ÖNLÜ

(Üye)

Dr. Öğr. Üyesi Abdullah KURT

(Üye)

İmza



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun 28.01.2020 gün ve 12/03 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Doç. Dr. Fatih Ahmet ÇELİK
Enstitü Müdür V.

BİTLİS EREN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre hazırlamış olduğum “**Çeşitli Yetiştirme Ortamlarının Mikro Filizlerin Şiga Toksin Üreten *Escherichia coli* (STEC) ve Jenerik *Escherichia coli* Kontaminasyonu için Değerlendirilmesi**” adlı tezimin özgün bir çalışma olduğunu, tez hazırlanırken tüm aşamalarda bilimsel etik ilkelerine uygun davrandığımı, tez kapsamında sunulan tüm verileri bilimsel etik ilkelerine uygun elde ettiğimi, tezde faydalandığım tüm eserlere atıf yaptığımı ve kaynaklar kısmında bu eserleri gösterdiğimi beyan ederim. 24.01.2020

Hasan İŞİK
İmza

ÖZET

ÇEŞİTLİ YETİŞTİRME ORTAMLARININ MİKRO FİLİZLERİN ŞİGA TOKSİN ÜRETEN *ESCHERİCHİA COLİ* (STEC) VE JENERİK *ESCHERİCHİA COLİ* KONTAMİNASYONU İÇİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Hasan IŞIK

Yüksek Lisans Tezi

Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Güvenliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Aziz AKSOY

İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Zeynal TOPALCENGİZ

Ocak 2020, 66 sayfa

Günümüzde tüketicilerin sağlıklı ve taze gıdalara olan talebi artmaktadır. Çiğ tohum filizleri, daha sağlıklı ve yüksek besin içerikleri nedeniyle dünya genelinde popülerlik kazanmıştır. Tohum filizlerinin yeni bir sınıfı olan mikro filizler (mikro yeşiller) çiğ tüketilen marul, turp, bezelye vb. ürünlerin olgunlaşmamış sürgünleridir. Ancak bu ürünler patojen mikroorganizma ile kontamine olmuşlarsa sağlık açısından risk oluşturmaktadırlar. Patojen bakteriler mikro filizlere tohumdan, sulama suyundan ve büyüme ortamından geçiş yapabilmektedir.

Bu tez çalışmasında, şiga toksin üreten *Escherichia coli* O157:H7 ve jenerik *Escherichia coli*'nin, spreyl ve taban sulama yöntemleriyle torf ve perlit ortamında yetiştirilen marul ve turp mikro filizlerine kontaminasyonu değerlendirilmiştir. Marul ve turp tohumları, nalidiksik aside dirençli *E. coli* suşları aşılanmış torf ve perlit ortamlarında yetiştirilmiştir. Yetiştirilen mikro filizlerin yenilen ve yenilmeyen kısımlarında canlı kalan hücre konsantrasyonu sayılmıştır. Ayrıca *E. coli* suşlarının sağkalımı da büyüme ortamlarında ve bitki besini çözeltilisinde incelenmiştir. Çalışmamızda torf ortamında yetişen turp mikro filizlerinin yenilebilir kısmındaki *E. coli* O157:H7'nin popülasyonu 4.48-4.70 log CFU/g, perlit ortamında ise 5.82-6.07 log CFU/g arasında bulunmuştur. Torf ortamında marulun yenilebilir kısımlarında *E. coli* O157:H7 tespit edilemezken, perlit ortamında 1.55-1.83 log CFU/g arasında *E. coli* O157:H7 popülasyonları tespit edilmiştir. Turpta marula göre, perlitte torfa göre ve bitkilerin yenilmeyen kısımlarında yenilen

kısımlarına göre daha yüksek popülasyonda patojen *E. coli* belirlenmiştir. Sulama türü, mikro filizlerin yenilebilir kısmına aktarılan hücre popülasyonunu etkilememiştir ($P>0.05$). 28. gün sonunda torf ortamında *E. coli* O157:H7, jenerik *E. coli*'ye benzer sağkalım eğilimleri göstermesine rağmen, perlit ve bitki besini çözeltilisinde popülasyonun anlamlı derecede düşük olduğu görülmüştür ($P<0.05$).

Bu sonuçlara göre *E. coli*'nin kontamine olmuş büyüme ortamından mikro filizlerin yenilebilir kısmına transfer olabildiği görülmektedir. Buna göre bitki yetiştirme ortamlarının *E. coli* bakterisi ile kirlenmesi durumunda, mikro filizlerin kısa hasat süresi göz önüne alındığında gıda güvenliği açısından risk oluşturacak sürede ve düzeyde hayatta kalabildiği anlaşılmaktadır. Sonuç olarak, perlit ortamında yetiştirilen mikro filizlerde kirlenmeyi azaltmak için risk azaltma stratejileri geliştirilmesi gerekmekte olup *E. coli* O157:H7'nin mikro filizlere kontaminasyonun engellenmesi temel hedef olmalıdır.

Anahtar kelimeler: Mikro filiz, Yetiştirme ortamı, Kontaminasyon, *Escherichia coli*, Sağkalım,

ABSTRACT

EVALUATION OF VARIOUS GROWING MEDIA FOR SHIGA TOXIN-PRODUCING *ESCHERICHIA COLI* (STEC) AND GENERIC *ESCHERICHIA COLI* CONTAMINATION OF MICROGREENS

Hasan IŞIK

Master Thesis

Bitlis Eren University Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Safety

Supervisor: Associate Professor Aziz AKSOY

Co-Supervisor: Asst. Prof. Dr. Zeynal TOPALCENGİZ

January 2020, 66 pages

Nowadays, consumers' demand for healthy and fresh foods has been increasing. Raw seed sprouts have gained worldwide popularity due to their healthier and higher nutrient content. As a new class of seed sprouts, microgreens are immature seedlings of crops consumed raw including lettuce, radish, pea, and etc. When microgreens are contaminated with pathogenic microorganisms, they pose a health risk. Pathogen bacteria can pass to microgreens from seed, irrigation water and growth medium.

In this study, the contamination of shiga toxin producing *Escherichia coli* O157:H7 and generic *Escherichia coli* were evaluated for lettuce and radish microgreens grown in peat and perlite watered by spray and bottom irrigation. Lettuce and radish seeds were grown in nalidixic acid resistant *E. coli* strains inoculated peat and perlite media. Survived cell concentrations were counted in the edible and inedible parts of the grown microgreens. Survival of *E. coli* strains was also investigated in growth media and plant nutrient solution. In this study, the population of *E. coli* O157:H7 in the edible portion of radish microgreens grown was found in ranges of 4.48-4.70 log CFU/g in peat and 5.82-6.07 log CFU/g in perlite. While *E. coli* O157:H7 was not detected in edible parts of lettuce in peat medium, *E. coli* O157:H7 populations were detected between 1.55 and 1.83 log CFU/g in perlite. Pathogenic *E. coli* was found to be in higher populations in radish compared to lettuce, perlite compare to peat and, edible parts of plants compared to inedible parts.

Irrigation type did not affect the cell population transferred to the edible portion of microgreens ($P>0.05$). At the end of day 28, *E. coli* O157:H7 showed similar survival trends to generic *E. coli*, but the population was significantly lower in perlite and plant nutrient solutions ($P<0.05$).

Based on these results, microgreens can survive long enough and in high level that would cause a risk for food safety when the plant growth environments are contaminated with *E. coli* bacteria. *E. coli* can transfer from contaminated growth medium to the edible portion of microgreens. Risk reduction strategies need to be developed to reduce contamination in microgreens grown in perlite and prevention of *E. coli* O157:H7 contamination to microgreens should be the main objective.

Keywords: Microgreens, Growth medium, Contamination, *Escherichia coli*, Survival



TEŞEKKÜR

Bu tez alıŐması sırasında, tez konusunun belirlenmesinden başlayarak son aŐamaya kadar her konuda benden yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Aziz AKSOY'a ve ikinci danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Zeynal TOPLACENGİZ'e teşekkür ederim. Laboratuvar alıŐması sırasında benden yardımlarını esirgemeyen mesai arkadaşım Öğr. Gör. Sefa IŞIK'a ve Dr. Öğr. Üyesi Harun ÖNLÜ'ye teşekkür ederim.

Ayrıca bu tez çalışmasında BEBAP 2019/007 numaralı proje kapsamında verdikleri desteklerden dolayı Bitlis Eren Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne ve Laboratuvar çalıŐmalarımnda yer tahsisinden dolayı Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarları Müdürlüğüne teşekkür ederim.

ÖNSÖZ

Tüketicilerin sağlık ve uzun ömürlülüğü desteklemesinden dolayı son yıllarda taze ve fonksiyonel gıdalara olan ilgisi artmaktadır. Mikro filizler insan beslenmesinde besin değerini arttırmak için çok büyük bir potansiyele sahip fonksiyonel gıdadır. Kontrollü koşullarda ayrı bir teknikle genellikle iç mekanlarda veya seralarda yetiştirilen bu ürünlerde kullanılan bitki yetiştirme ortamı, gübre kullanımı, sulama suyu vb. faktörlerden dolayı patojen bakteriler tarafından kirlenme meydana gelebilir. Ayrıca topraksız tarım (hidroponik sistem) uygulamaları da, kullanılan bitki besini çözültüsü de kirlenme riski oluşturabilir. Bu genç çimlendirilmiş tohumlar ile ilgili henüz herhangi bir gıda kaynaklı salgın bildirilmemesine rağmen, bu ürünler genellikle çiğ olarak tüketilmesi ve patojenlerin gelişmesi için uygun ortam sunmasından dolayı gıda kaynaklı hastalıklar açısından risk taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında patojenik ve patojenik olmayan *Escherichia coli*'nin sprej ve taban sulanan torf ve perlit ortamında yetişen marul ve turp mikro filizlerine transfer potansiyeli ve bu bakterilerin sağkalımı değerlendirilmiştir. Bu tez çalışması sonucunda elde edilen sonuçlar ile literatüre katkı sağlanmıştır. Ayrıca ülkemizde de son yıllarda evlerde ve seralarda üretilmeye başlanan bu ürünle ilgili olarak üretimde kullanılan değişik yetiştirme ortamlarında ve sulama türlerinde oluşabilecek kontaminasyon ve tehlikeleri hakkında bilgi sağlanmıştır.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTARCT	iii
TEŞEKKÜR	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Gıda Kaynaklı Hastalıklar.....	2
1.2. <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>).....	4
1.3. Gıda Güvenliği Bakımından Bitkisel Ürünler.....	7
1.4. Gıda Güvenliği Bakımından Mikro Filizler (Microgreens).....	12
1.4.1. Sağlık ve Beslenme Açısından Mikro Filizler.....	14
1.4.2. Mikro Filizlerin Yetiştirilmesi ve Hasat Edilmesi.....	16
1.4.3. Mikro Filizlerde Kontaminasyon.....	23
2. MATERYAL VE YÖNTEM	29
2.1. Materyal.....	29
2.1.1. Yetiştirilen Mikro Filiz Türleri.....	29
2.1.2. Kullanılan Bakteriler.....	29
2.1.3. Kullanılan Bitki Yetiştirme Ortamları.....	30
2.1.4. Kullanılan Bitki Yetiştirme Odası.....	32
2.2. Yöntem.....	32
2.2.1. <i>E. coli</i> Bakterilerinin Naladiksik Aside Dirençlerinin Artırılması.....	33
2.2.2. Besiyerleri, Naladiksik Asit Eklenmiş Besiyerleri ve Peptonlu Su Hazırlanması.....	33
2.2.3. Örneklerin Aşılamaya Hazırlanması.....	35
2.2.4. Mikro Filiz Örneklerinin Hazırlanıp Yetiştirilmesi, Bitki Yetiştirme Ortamının ve Bitki Besini Çözeltisinin Mikrobiyolojik Analiz İçin Hazırlanması.....	35
2.2.5. Mikro Filiz Örneklerinin Toplanması ve Tüm Örneklerin Mikrobiyolojik Analizi.....	38

2.2.5.1. Mikro Filiz Örneklerinde Jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7'nin belirlenmesi.....	39
2.2.5.2. Mikro Filiz Örneklerinde Toplam Aerob Mezofil Bakteri (TAMB) ve Toplam Maya- Küf (TMK) Sayımı.....	40
2.2.5.3. Bitki Yetiştirme Ortamlarında ve Bitki Besini Çözeltilerinde Jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7'nin Hayatta Kalma Sürelerinin Belirlenmesi.....	41
2.2.6. İstatistiksel Analiz.....	42
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	43
3.1. Bulgular.....	43
3.1.1. Mikro Filizlerde Jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7 Popülasyonu.....	43
3.1.2. Bitki Yetiştirme Ortamlarında ve Besin Çözeltilerinde Jenerik <i>E.coli</i> ve <i>E.coli</i> O157:H7'nin Hayatta Kalması.....	44
3.1.3. Mikro Filizlerde TAMB ve TMKS Popülasyonun Belirlenmesi.....	48
3.2. Tartışma.....	49
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
5. KAYNAKLAR.....	55
ÖZGEÇMİŞ.....	66

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Sayfa

2.1. Naladiksik asit direnç protokolü tablosu.....	33
3.1. Torf ve perlit ortamlarında taban ve spreyl sulama ile sulanarak yetiştirilen mikro filizlerin yenilebilir ve yenilemez kısımlarındaki jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7 popülasyonu.....	43
3.2. Torf ve perlit yetiştirme ortamlarında taban ve spreyl sulama ile sulanarak yetiştirilen mikro filizlerin yenilebilir ve yenilemez kısımlarındaki toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve toplam maya ve küf sayısının (TMKS) popülasyonu.....	48



ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Sayfa

1.1. Günümüzde ticari olarak satılan 25 mikro filiz	13
1.2. Mikro filiz yetiştirme alanı	16
1.3. Torf karışıklı yetiştirme ortamı	18
1.4. Elyafllı mattan oluşlan yetiştirme ortamı (Hidroponik sistem)	19
1.5. Filizlerin ve mikro filizlerin yaşa göre hasat değişimi	21
1.6. Turp mikro filiz bitkisinin 7 günlük bir diseksiyon diyagramı	27
2.1. Naladiksik aside dirençli jenerik <i>E. Coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7	30
2.2. Bitki yetiştirme odası	32
2.3. Perlit ortamına ekilen turp ve marul tohumları (Taban sulama)	36
2.4. Torf ortamında ekilen turp ve marul tohumları (Sprey sulama)	36
2.5. Bitki yetiştirme odasında örneklerin bekletilmesi	37
2.6. Fındık turpu mikro filizi	38
2.7. Balkan marulu mikro filizi	39
2.8. Balkan marulu peptonlu su eklenmiş gövde ve kök örnekleri	39
2.9. <i>E. coli</i> O157:H7 kolonilerinin sayımı	40
2.10. PDA üzerinde TMK Sayımı	41
2.11. Bitki yetiştirme ortamları (Torf ve Perlit)	41
3.1. Mikro filiz büyüme odasında ölçülen sıcaklık ve bağlı nem	45
3.2. Jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7 bakterilerinin taban sulamayla sulanan torf ortamında hayatta kalması	45
3.3. Jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7 bakterilerinin sprej sulamayla sulanan torf ortamında hayatta kalması	46
3.4. Jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7 bakterilerinin taban sulamayla sulanan perlit ortamında hayatta kalması	46
3.5. Jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7 bakterilerinin sprej sulamayla sulanan perlit ortamında hayatta kalması	47
3.6. Bitki yetiştirme besin çözeltisinde jenerik <i>E. coli</i> ve <i>E. coli</i> O157:H7 bakterilerinin hayatta kalması	47

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat Derece
cm	Satimetre
CFU	Koloni oluşturan birim (Colony-forming unit)
g	Gram
Kcal/mhC	Kilo Kalori/ Metre Saat Santigrat Derece
Kg	Kilogram
kPa	Kilo Pascal
L	Litre
Log	Logaritma
$\mu\text{mol/m}^2$	Mikromol/ Metrekare
mL	Mililitre

KISALTMALAR DİZİNİ

ATR	Acid Tolerance Response
ATTC	American Type Culture Collection
CDC	Centers For Disease and Prevention
DAEC	Difuz-adhering <i>E. coli</i>
DHHS	Department of Health Human Services
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EaggEC	Entero-agregativ <i>E. coli</i>
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EFSA	European Food Safety Authority / Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
EHEC	Enterohemorajik <i>E. coli</i>
EIEC	Enteroinvazif <i>E. coli</i>
EPEC	Enteropatojenik <i>E. coli</i>
ETEC	Enterotoksijenik <i>E. coli</i>
FDA	Food and Drug Administration
FSAM	Food Safety Modernization Act
FSNAZ	Food Standards Australia New Zealand
GAP	Good Agricultural Practice
GHP	Good Hygiene Practices
GMP	Good Manufacturing Practices
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
HC	Hemorajik Kolit (Hemorrhagic Colitis)
HPS	High Pressure Sodium
HuNoV	İnsan Norovirüsü
HUS	Hemolitik Üremik Sendrom
MAP	Modifiye Atmosferde Paketleme
MEGEP	Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi
MK	Maya-Küf
Nal	Naladiksik Asit
OTR	Oksijen İletim Hızı
PDA	Potato Dextrose Agar
SMAC	Sorbitol MacConkey Agar

SMACN	Naladiksik Asit Eklenmiş Sorbitol MacConkey Agar
STEC	Şiga Toksin Üreten <i>E. coli</i>
Stx	Şiga (Shiga) Toksin
TAMB	Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri
TMKS	Toplam Maya ve Küf Sayımı
TSA	Tryptic Soy Agar
TSAN	Naladiksik Asit Eklenmiş Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
TSBN	Naladiksik Asit Eklenmiş Tryptic Soy Broth
TTP	Trombotik Trombositopenik Purpura
USDA	United States Department of Agriculture
WHO	World Health Organisation
vd.	Ve Diğerleri
vb.	Ve Benzeri
VTEC	Verositotoksin Üreten <i>E. coli</i>

1. GİRİŞ

İnsanların yaşamlarını sağlıklı bir şekilde devam ettirebilmeleri ve fiziksel gelişimlerini sürdürebilmeleri için yeterli ve dengeli beslenmeleri gerekmektedir (Demirci, 2011). Yeterli ve dengeli beslenmenin yanında sağlıklı beslenme de önemli hale gelmekte ve bunun sonucunda güvenli gıda tüketimi önem arz etmektedir (Erkmen, 2010). Yaşamımızın temel maddesi olan gıdalar, çiftlikten çatala kadar geçen aşamalarda gıda güvenliğinin yeterince sağlanamaması nedeniyle zararlı hale gelerek sağlığımız için gizli bir tehlike oluşturabilmektedir (Şahin ve Çetin, 2017). Bunun sonucunda sağlığımızı bozabilen gıda kaynaklı hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Gıda kaynaklı hastalık etmenleri içerisinde çok sayıda patojen mikroorganizma bulunmasına rağmen özellikle; *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ve *Escherichia coli* (*E. coli*) O157:H7 serotipi gıda kaynaklı olarak en fazla sayıda hastalanmaya ve ölüme neden olan gıda kaynaklı patojenler olarak sayılabilir (Halkman, 2013).

Gıda kaynaklı infeksiyon ve intoksikasyonlara neden olan bakterilerden en önemli ve en sık karşılaşılanlarından biri *E. coli* O157:H7 patojenidir (Sağlam ve Şeker, 2016). Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen, ekonomik kayıplara neden olan ve halk sağlığı açısından tehlike arz eden patojenlerden biri olan *E. coli* O157:H7, birçok gıdada olduğu gibi meyve ve sebzelerin (filizler, ıspanak, marul, lahana salatası vb.) tüketimi ile de ilişkilidir. Kirlenme, ekim veya kullanım sırasında insan kontaminasyonu, kullanılan su, hayvanlardan gelen dışkı ile temasa bağlı olabilmektedir (WHO, 2018). Son dönemlerde yeni bir tür olarak ortaya çıkan ve olgunlaşmamış bitkiler olarak tüketilen mikro filizler de tohumdan hasada kadar patojenler tarafından kontamine olma potansiyeline sahiptir. Bu ürünler ile ilgili henüz bir salgın veya hastalık bildirilmemiştir (Riggio vd., 2019). Ancak taze ürünler ve filizlerle ilgili hastalıklar, mikro filizlerin tüketimi ile ilgili güvenlik endişelerini arttırmaktadır. Bu sebepten dolayı *E. coli*'nin mikro filizlere transfer potansiyelinin değerlendirilmesi önem arz etmektedir.

Bu çalışmada; son yıllarda tüketimi artan, farklı yetiştirme ortamları ve farklı sulama türleri kullanılarak yetiştirilen mikro filiz çeşitlerinde, naladiksik aside dirençli şiga toksin üreten *E. coli* O157:H7 (STEC) ve jenerik *E. coli* ATCC 25922 bakterisinin kontaminasyon durumu incelenmiştir. Ayrıca bu ürünlerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi amacı ile toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) popülasyonu ve toplam maya ve küf sayımı (TMKS) kontaminasyon durumu incelenmiştir. Çalışmada mikro filiz türü olarak balkan marulu ve findık turpu; yetiştirme ortamı olarak ise genel kullanımlı torf ve bitki besini çözültüsüyle desteklenen perlit kullanılmıştır. Sulama türü olarak taban sulama ve sprey sulama yöntemleri uygulanmıştır.

Ek olarak bitki yetiştirme ortamında ve topraksız tarım (Hidroponik sistem) uygulamalarında da kullanılan bitki besini çözeltilisinde *E. coli* O157:H7 (STEC) ve jenerik *E. coli* ATCC 25922 bakterisinin hayatta kalım durumu incelenmiştir. Yetiştirme ortamı türleri naladiksik aside dirençli *E. coli* bakterisi ile muamele edildikten sonra ürünler yetiştirilerek *E. coli* ile kirlenmiş yetiştirme ortamlardan üretilen ve hasat edilen ürünlerdeki *E. coli* kontaminasyonu incelenmiştir.

1.1. Gıda Kaynaklı Hastalıklar

Gıdalarda bulunan çeşitli mikroorganizma gruplarından bazıları normal yaşam fonksiyonlarını sürdürürken bazıları da gıda üretiminde kullanılmakta (fermente gıdaların üretimi), birçoğu ise gıdalarda bozulmaya veya gıda kaynaklı hastalıklara neden olmaktadır (Erkmen, 2011). Gıda kaynaklı hastalık, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından “gıda veya suyun tüketilmesi ile oluşabilen enfeksiyöz veya toksik karakterli hastalık” olarak tanımlanmaktadır (Muratoğlu vd., 2015). Dünyanın en yaygın problemlerinden biri olan gıda kaynaklı hastalıkların birçok nedeni (ağır metaller, kimyasallar, gıdalardaki toksin maddeler vb.) olabileceği gibi gıda zehirlenmelerine en fazla yol açanların ve en tehlikeli olanlarının patojen mikroorganizmalar olduğu bildirilmektedir (Mansfield ve Forsythe, 2000). Dünyada hastalıklara neden olabilen değişik tipte birçok mikroorganizma ve bu mikroorganizmalardan kaynaklandığı bilinen 250'den fazla gıda kaynaklı hastalık bulunmaktadır. Gıda kaynaklı hastalıklar; besinlere bulaşmış olan patojen bakteri, virüs, parazit ve mantarların kendilerinin veya oluşturdukları toksinlerin besinler vasıtasıyla alınmasıyla veya toksik maddelerle kontamine besinlerin tüketimi neticesinde ortaya çıkan hastalıklardır (Muratoğlu vd., 2015).

Mikroorganizmaların gıdalara başlıca bulaşma (kontaminasyon) kaynakları toz, toprak, hava, hayvanlar, çiğ gıdalar, çöpler, gıda üretiminde kullanılan araçlar ve insanlardır. İnsanlar, birçok patojen bakterinin kaynağıdır. İnsanın boğazı, burnu, elleri, derisi, bağırsakları ve dışkı bakterilerle yüklüdür. Bu nedenlerle patojen bakterilerin çoğunluğu insanlar tarafından gıdalara bulaştırılır (Erkmen, 2010). Patojen mikroorganizmalar ya da mikrobiyel toksinler ile kontamine olmuş gıdaların tüketilmesi ile kusma, ishal, baş dönmesi, gıda zehirlenmeleri vb. hastalıklar oluşmaktadır (Sağlam ve Şeker, 2016). Bu hastalıklar, sıklıkla ishale sebep olduğu için “ishalli hastalıklar” olarak da tanımlanmaktadır. Gıda kaynaklı hastalıklar, intoksikasyon ve enfeksiyonları içerir ama bazı ülkelerde yanıltıcı olarak “gıda zehirlenmesi” terimi de kullanılmaktadır (Eren, 2012). Hastalık belirtileri orta seviyedeki gastroenteritten hayatı tehdit eden nörolojik, hepatik ve renal sendromlara kadar değişebilen akut ve kronik hastalıklara neden olabilmektedir.

Gıda kaynaklı hastalıkların bir kısmının ölümle sonuçlandığı bilinmektedir. İzlenebilirliğin sağlandığı ve sağlıklı kayıtların tutulduğu ülkelerde rapor edilen mikroorganizmalardan kaynaklanan gıda kaynaklı hastalık vakalarında artış olduğu bildirilmektedir (Ben, 2008). Özellikle az gelişmiş ülkelerde su ve gıdaların neden olduğu ishaller hastalıklar nedeniyle her yıl, çoğunu çocukların oluşturduğu, yüz binlerce kişi ölmektedir (Erkmen, 2010). WHO verilerine göre dünya nüfusunun %10'unu gıda kaynaklı hastalıklardan etkilenmekte; gıda ve su kaynaklı ishaller hastalıkların yılda yaklaşık 2 milyon kişinin ölümünden sorumlu olduğu ve bunun 1.9 milyonunun çocuk olduğu tahmin edilmektedir (Alegbeleye vd., 2018; Muratoğlu vd., 2015). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA) 12 Aralık 2018 tarihli raporunda; 2017 yılında AB genelinde haftada 100 adet gıda ve su kaynaklı salgın bildirmiştir. Bu salgınlara sebep olan enfeksiyonlar, AB ülkelerindeki başlıca hastalıklar arasında sayılmaktadır. Salgınların büyük çoğunluğunun enfekte et ürünleri ve yumurtadan kaynaklandığı belirtilmiştir. Türkiye'de ise gıda kaynaklı enfeksiyonlar ve gıda zehirlenmeleri, Sağlık Bakanlığı tarafından genel enfeksiyon hastalıkları içinde ya da genel zehirlenmeler başlığı altında yayınlandığı için ayırt edilmemektedir (BAA, 2019). Ülkemizde acil servise başvuran zehirlenme olguları arasında gıda zehirlenmeleri, ilaç zehirlenmelerinden sonra ikinci sırada yer almaktadır. Olgular genellikle genç yaş grubunda ortaya çıktığı, gıda zehirlenmelerinin değişik mevsimlerde ön plana çıktığı ve en sık et, tavuk ve süt ürünlerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Tucer, 2015).

Tüketim alışkanlıklarının değişmesi, uluslararası gıda dolaşımının artması vb. nedenlerden dolayı gıda kaynaklı hastalıklar artmaktadır. Gıdaların hijyenik kontrolünün etkin bir şekilde yapılması, gıda kaynaklı hastalıkların halk sağlığı ve ekonomi üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılmasında önemlidir. Gıdaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesinde koliformlar, enterokoklar, toplam aerob mezofil bakteri ve maya-küf sayısı esas alınırken, patojenler yönünden yapılan analizlerde *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *Staphylococcus aureus* gibi bakteriler üzerinde daha fazla durulmaktadır. Patojenite açısından bilinen en önemli gıda kaynaklı bakteri *E. coli* O157:H7 serotipi olup ardından *L. monocytogenes* gelmektedir. Ancak dünyadaki vaka sayılarına göre *Salmonella* spp. diğerlerine göre daha fazla dikkat çekmektedir (Ben, 2008). *E. coli* O157:H7, enfektif dozunun az olması ve doğrudan veya dolaylı olarak dışkı ile bulaşmış gıdaları aracı olarak kullanabilmesinden dolayı gıda güvenliği açısından tehlike arz etmektedir (Halkman, 2013).

1.2. *Escherichia coli* (*E. coli*)

İnsanlar için fırsatçı bir patojen olan *Escherichia coli*, Enterobacteriaceae familyasında yer alan en önemli türdür (Sağlam ve Şeker, 2016). İlk olarak 1885 yılında Theodor Escherich tarafından tanımlanan bu bakteri, uzun yıllar insanlar ve sıcakkanlı hayvanlar ile kuşların normal bağırsak florasında bulunan ve patojen olmayan fakültatif bir mikroorganizma olarak kabul edilmiştir, ancak 1920’li yıllarda üriner sistem enfeksiyonlarına ve 1940’lı yıllarda çocuklarda gastroenteritise neden olduğu belirlenmiştir (Wasteson, 2002). Gram negatif, kısa çomak şeklinde, fakültatif anaerobik ve sporsuz bir bakteri olan *E. coli*’nin bazı suşları peritrik flagelları ile hareketlidir. Mezofilik bir bakteri olan *E. coli*, 4°C ile 45°C arasında üreme gösterir (Sağlam ve Şeker, 2016). Genelde zararsız olan bu bakterinin insanlarda hastalıklara neden olan patojen türleri de bulunmaktadır. Bu patojen türler virülans özellikleri, patojenite mekanizmaları, klinik sendromlar ve O:H serotiplerine göre sınıflandırıldığında başlıca; enteropatojenik (EPEC), enterotoksijenik (ETEC), enteroinvasiv (EIEC), enterohemorajik (EHEC), difuz-adhering (DAEC) ve entero-agregativ (EaggEC) olmak üzere altı grupta toplanmaktadır (Tosun ve Gönül 2003). *E. coli* sitotoksin üretimine göre tanımlamada ise, şiga toksin üreten *E. coli* (STEC), verositotoksin üreten *E. coli* (VTEC) ve STEC’lerin patojenik alt kümesi olan EHEC terimleri birlikte kullanılmaktadır. Bazı araştırmacılar EHEC terimini kanlı ishal veya hemolitik üremik sendrom (HUS) hastalığına neden olan *E. coli* için kullanırken, orta şiddetle kansız ishale neden olan *E. coli* için ise VTEC veya STEC terimlerini kullanmayı tercih etmektedirler. Bu nedenle EHEC’lerin STEC’lerin patojenik bir alt kümesi olduğu kabul edilmektedir. EHEC bilinen *E. coli* tipleri içerisinde en önemlisi olup, ölümle sonuçlanan çoğu gıda kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu tutulan O157:H7 serotipini içermektedir. EHEC suşlarının stx1 ve stx2 olmak üzere şiga toksinleri ailesine ait olduğu düşünülen iki ayrı toksin üretir ve bu bakterilere genellikle şiga toksin üreten *E. coli* STEC (VTEC) adı verilmektedir. VTEC (STEC) toksinleri, doku kültürü hücrelerine toksik etki yapar ve bundan dolayı verotoksin olarak da adlandırılmaktadır. Ayrıca bu toksin STEC’in temel virülans özelliğini oluşturmaktadır. *E. coli* O157:H7 serotipi, şiga benzeri toksin salgılayan *E. coli* bakterisinin yüzlerce serotipinden biri olup salgıladığı toksin ile ağır hastalığa sebep olmaktadır (ECDC/EFSA 2011; Turgut, 2015).

E. coli O157:H7, verotoksin üreten en önemli suş olup bilinen en tehlikeli gıda kaynaklı patojen bakteriler arasında değerlendirilmektedir. Sorbitolü 24 saatte fermente edememesi, β -glukuronidaz enzim aktivitesine sahip olmaması ve 44-45 °C’de çok zor gelişebilmesi özellikleri ile diğer *E. coli* suşlarından ayrılmaktadır (Tosun ve Gönül, 2003). Ayrıca bu serotipin optimum gelişme pH’ının 7.0 olup pH 4.5-9.0 aralığında geliştiği, optimum üreme ısısının 37 °C olup 7-10

°C'lerden 50 °C'lere kadar geniş bir aralıkta gelişebildiği, pH 4.4 ve altındaki asidik gıdalar ile 0.95 ve altındaki su aktivitesi değerlerinde gelişebildiği ve orta derecedeki tuzda (%6.5 NaCl) canlılığını sürdürebildiği bildirilmektedir (Temelli, 2002). Dondurulmuş veya soğukta saklanan ürünlerde, düşük su aktivitesine sahip ürünlerde ve asidik gıdalarda uzun süre canlılığını sürdürebilmektedir. Bu ortamlarda karşılaştığı olumsuz çevre koşullarına adapte olarak direnç kazanabilmektedir. Yapılan çalışmalar *E. coli* O157:H7'nin, pH 4.5-5.5 değerlerinde bir ortama maruz kalması durumunda aside adapte olarak direnç kazandığını göstermektedir. Bu işleme, Aside Tolerans Kazanma (Acid Tolerance Response, ATR) denir. ATR, *E. coli* O157:H7'nin hem asidik gıdalarda hem de fermente gıdalarda aside direnç kazanarak canlılığını sürdürmesini sağlamaktadır (Tosun ve Gönül, 2003). *E. coli* O157:H7 ancak ısıya duyarlı olup pastörizasyon ve pişirme gibi ısı işlemleriyle etkisiz hale gelebilmektedir (Turgut, 2015).

E. coli O157:H7'nin başlıca kaynağı sığırlar olmakla birlikte insanlar ve sıcak kanlı sindirim kanalında da bulunmaktadır ve *E. coli*'nin besinlerdeki mevcudiyeti fekal bir kontaminasyonun indikatörü olarak bilinmektedir (Chapman vd., 1993; Uçar vd., 2016). Sağlıklı sığırların dışkılarında normal olarak bulunan, kontamine gıda ve su vasıtasıyla ya da enfekte insan veya hayvanlarla doğrudan temasla insanlara bulaşabilen *E. coli* O157:H7 hava yoluyla dağılarak da kontaminasyon oluşturabilmektedir. *E. coli* O157:H7, çevrede 10 aydan fazla canlı kalabilmekte ve insanlar için uzun bir süre enfeksiyon riski oluşturabilmektedir (Bell, 2002; Varma vd., 2003). Sığırların et olarak tüketilen kaslarında bu bakteri türü bulunmaz fakat enfekte bir sığır dışkısıyla ya da bağırsaklarıyla temasta bulunan ette bulaşma riski oluşmaktadır (Chapman vd., 1993). Suyun veya toprağın fekal yollarla kirlenmesi ise ekili alanlarda ürünlere taşınmasına neden olmaktadır. Geçmiş yıllarda meydana gelen *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu hastalıklarda, yetersiz ısıl işlem görmüş et ürünleri, çiğ süt, taze sıkılmış meyve suları, yoğurt, peynir, sosis, mayonez, çiğ taze meyve (elma, portakal vb.) ve sebzeler (marul, beyaz turp filizi, yonca filizi vb.) gibi gıdaların rol oynadığı belirlenmiştir (Bell, 2002). *E. coli* O157:H7'nin özellikle yaprağı tüketilen sebzelerde yaygın olarak görüldüğü ve marulun en önemli enfeksiyon kaynağı olduğu bilinmektedir (Turgut, 2015).

Bu konuda yapılan çalışmalar, gıda kaynaklı insan patojenlerinin hayvan dışkılarından gıdalara bulaştığı üzerine yoğunlaşmıştır. Bu durumda sebzeler ve meyveler pek çok hastalığın kaynağını oluşturmaktadır. Berger vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada, *E. coli* O 157:H7 ile bulaşık ıspanak ve turpun, bulaşık dana etine göre daha yüksek enfeksiyon kaynağı olduğu görülmüştür. Bankole vd. (2014) yaptıkları çalışmada, domuz çiftliklerinden ve bunların yakınındaki bahçelerden elde edilen domuz gübresinin %50'sinde, büyükbaş hayvan gübresinin %25'inde, et örneklerinin ve sebzelerin ise % 14.6'sında *E. coli* O157:H7 tespit etmiştir. Iwasa vd.

(1999) ve Talley vd. (2009) yaptıkları çalışmalar ile, sineklerin *E. coli* O 157:H7'yi hayvan dışkıları aracılığı ile bitkilere taşıdıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca hasat sonrasında yıkama suyu, çalışanlar, paketlenme materyalleri, işleme ve taşıma makineleri etmen için potansiyel bulaştırma kaynaklarıdır (Turgut, 2015). Etkili bir su dezenfeksiyon yöntemi kullanılmazsa su, sebze yıkama sırasında gıda kaynaklı patojen çapraz kontaminasyonu için bir vektör olabilmektedir. Klorlama, en yaygın kullanılan dezenfeksiyon yöntemidir. Gomez-Lopez vd. (2015), sebzelerde 0.5 g/l klor uygulaması ile *E. coli* O157:H7'nin kontrol altına alındığını gözlemlemiştir. Zeng vd. (2014), sebzelerin nakliyesi ve depolanması sırasında sıcaklık faktörünün mikrobiyal güvenlik ve ürün kalitesini negatif etkilediğini tespit etmiştir. Abadias vd. (2012), yaptıkları çalışmada, süper marketlerden toplanan meyve ve sebzelerin %40'ının *E. coli* ile kirli olduğu gözlemlemiştir fakat bu ürünlerde *E. coli* O157:H7'ye rastlanmamıştır. Bu çalışmaya göre farklı sıcaklıklarda ve farklı ürünlerde *E. coli* O157:H7 gelişimi farklı olmasına rağmen 5 °C'de popülasyonun gelişmeyip yaşamını sürdürdüğü görülmüştür.

E. coli O157:H7 serotipi, insanlarda ciddi ve çoğu kez letal etkili enfeksiyonlara neden olmakta, son yıllarda tüm dünyada gıdalar ile bulaşan patojenler arasında en önemlilerinden birisi olarak kabul edilmekte ve sağlık açısından büyük bir tehlike oluşturmaktadır (Karmali, 2010). Bu serotip insanlarda hastalığa neden olan en yaygın tür olup insanlarda ciddi bağırsak enfeksiyonlarına sebep olmaktadır. Güçlü bir toksin olan verotoksin üreterek bağırsak duvarı zararına zarar vermesi ve kanlı ishale neden olmasıyla da diğer *E. coli* bakterilerinden ayırt edilebilmektedir. Bu hastalık Enterohemorajik *E. coli* enfeksiyonu olarak da bilinmektedir. Minimal enfeksiyon dozu çok düşük olan *E. coli* O157:H7, ağız yoluyla yaklaşık 100 bakterinin alınması durumunda insanlarda hastalık oluşturabilmektedir (Turgut, 2015). STEC insanlarda gıda kaynaklı enfeksiyonlara, bununla beraber hemorajik kolit (HC), HUS ve trombotik trombositopenik purpura (TTP) olarak adlandırılan ve ölümlü sonuçlanabilen hastalıklara neden olmaktadır. HC, kramplı karın ağrıları, sulu-kanlı diayare ve kusma şeklinde olmaktadır. Çoğu hasta 10 gün içinde iyileşir, ancak hastaların küçük bir kısmında (özellikle küçük çocuklar ve yaşlılar) enfeksiyon, HUS gibi hayatı tehdit edici bir hastalığa neden olabilmektedir. HUS, *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu enfeksiyonların içinde en tehlikeli olanıdır. Böbrek yetmezliğine yol açıp diyaliz ve kan nakli gerektirebilmektedir. Ayrıca merkezi sinir sistemi etkilenir. TTP ise beyinde kan pıhtısına neden olur ve genellikle ölümlü sonuçlanmaktadır. Ancak HUS ve HC'ye göre daha az görülmektedir. *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu enfeksiyonlarda HUS veya TTP görülme oranı %20'dir. HUS gelişen vakaların %5'i ölümlü sonuçlanmaktadır. Bu oran okul öncesi çocuklarda veya 65 yaşın üzerindeki yaşlılarda %50'ye kadar yükselmektedir (Tosun ve Gönül, 2003; Wasteson, 2002; WHO, 2018).

İnsan sağlığı açısından bu kadar ciddi sorunlar oluşturan *E. coli* O157:H7, Kuzey Amerika'da ve Avrupa lkelerinde sık görülerek salgınlar meydana getirmektedir. Türkiye'de yapılan araştırmalarda ise bu suşun epidemiyolojik ve mikrobiyolojik olarak varlığı tespit edilememiştir (Turgut, 2015). *E. coli* O157:H7'nin sebep olduğu salgınlar arasında en önemlisi 1992-1993 yıllarında 700'den fazla kişinin etkilendiği Amerika Birleşik Devletleri'nin (ABD) batısında görülen ve kontamine etin yetersiz pişirilmesi sonucunda meydana gelen salgındır (Meng ve Doyle, 1998). ABD'de pastörize edilmeden yapılan elma cideri ve taze sıkılan elma suyunun tkutilmesi sonucu *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu birçok hastalık vakası meydana gelmiştir. Bu vakaların birçoğunda ishal ve HUS'un geliştiği görülmüştür. Elma bahçelerinde yere düşerek toprakla veya gübreyle temas eden elmalara *E. coli* O157:H7'nin bulaştığı sanılmaktadır. Bu vakalardan sonra araştırmacılar, *E. coli* O157:H7'nin 4 C'de depolanan elma ciderinde haftalarca canlı kalabileceğini tespit etmişlerdir (Tosun ve Gönül, 2003). ABD'de 1991 yılında kaynak sularının dezenfekte edilmemesi sonucu 243 kişinin etkilendiği ve 4 kişinin öldüğü salgınlar bulunmaktadır (Temelli, 2002). Ayrıca Amerikada 1996'da *E. coli* O157:H7 infeksiyonunun kaynağı araştırılmış ve enfeksiyonun %95 oranla marul tüketiminden bulaştığı ve tek kirlenme kaynağının marul tarlalarının yakınındaki büyükbaş hayvan iftliklerinin varlığı olarak belirtilmiştir (Hilborn vd., 1999). Güney Afrika'da da içme ve sulama sularının kontaminasyonu sonucu 2000 adet *E. coli* O157:H7 vakası bildirilmiştir (Temelli, 2002). Almanya'da 2011 yılında bulaşık salatalık tüketime bağlı olarak ortaya çıkan ve yaklaşık 1000 kişinin etkilendiği olayda 10 kişinin hayatını kaybettiği kayıtlara geçmiştir (Turgut, 2015). Yapılan çalışmalara ve meydana gelen salgınlara göre insan sağlığını tehdit eden *E. coli* O157:H7, özellikle kontamine olmuş gübreler, sular ve tohumlar gibi etkenler ile tarımsal alanlara taşınıp ve bu alanlarda yetişen bitkisel ürünlere kontamine olabilmektedir. Bu şekilde kontamine su ve besin maddeleri başta olmak üzere birçok yolla insanlara bulaşarak hastalıklara yol açabilmekte, hatta ölümlere sebep olabilmektedir (Tosun ve Gönül, 2003; Uçar vd., 2016).

1.3. Gıda Güvenliği Bakımından Bitkisel rnler

Günümüzde dengeli, sağlıklı ve modern beslenme anlayışında bitkisel gıdalar vazgeçilmez öneme sahip olup bu ürünlerin her gün, her öğün soframızda bulunması gerekmektedir (Demirci, 2011). Bitkisel gıdalar sınıfında olan meyve ve sebzeler çiğ ya da pişirilmış olarak sıklıkla tükettiğimiz gıdaların başında gelmektedir. Taze meyve ve sebzeler, vitamin ve mineraller açısından zengin olduğundan diyetin kalitesini yükseltmekte ve besleyici değerini arttırmaktadır (Yücel ve Halkman, 2009). Ayrıca enerji içeriklerinin düşük, mineral madde ve vitamin

içeriklerinin yüksek olması nedeniyle beslenme ve insan sağlığı bakımından önemli gıdalardır. Yeterli seviyede sebze ve meyve tüketimi ile kanser, kalp ve damar hastalıkları, hipertansiyon, sindirim sistemi hastalıkları başta olmak üzere birçok kronik hastalık riskinin azalması, bağışıklık sisteminin güçlenmesi ve yaşlanmanın gecikmesi sağlanmaktadır. WHO tarafından günde en az 400-500 g meyve ve sebze tüketilmeli önerisine dayanarak, günde en az beş porsiyon meyve ve sebze yenilmesi gerektiği bildirilmektedir (Sezgin, 2014). Meyve ve sebze tüketiminin dünya çapında artmasının yanında son yıllarda gelişmiş ülkelerde yenilebilir filizler de sıklıkla tüketilmektedir. Bu ürünler bazı bitki türlerinin belirli sıcaklık ve sürelerde çimlendirilmesi ile elde edilen, fonksiyonel bileşenlerce zengin ve tam olgunlaşmadan genellikle çiğ ya da minimal düzeyde işlenerek tüketilen halleridir (Turgut, 2015). Filizler, besinsel özellikleri yanında çimlendirilmeleri esnasında artış gösteren diyet lifi içeriği ile vitamin, mineral, flavonoidler ve fenolik bileşenler sayesinde önemli fonksiyonel gıdalar arasında değerlendirilmektedir. Dünyada filiz olarak en fazla tüketilen bitkiler; brokoli, yonca, soya, bezelye, nohut, buğday, arpa, yulaf ve karabuğday gibi ürünlerdir (Yetim vd., 2010).

Yararlarından dolayı meyve ve sebze tüketimi gelişmiş ülkelerde oldukça yaygındır. Gelişmekte olan ülkelerde ise tazelik ve kolay bulunabilirliğinden dolayı popülaritesi artmaktadır (Chaudry vd., 2004). Ancak sağlık ve besin değeri açısından bu kadar önemli olan bu ürünler gıda kaynaklı hastalıklar açısından oldukça risklidir. 2013 tarihinde Amerika Gıda Kaynaklı Hastalık Salgın Gözetleme Sistemi (Center for Disease Control and Prevention, CDC) raporuna göre, gıda ürünlerine atfedilen hastalıkların %46'sının sebze ve meyveden kaynaklandığı ve ölümlerin %23'ünden bu gıdaların sorumlu olduğu belirtilmiştir. Ayrıca CDC, 2010 ve 2014 yılları arasındaki salgınların %17'sinin meyvelerden, %15'inin sebzelerden, %10'unun filizlerden ve %9'unun da tohumlu sebzelerden geldiğine işaret etmiştir (Crowe vd., 2015). Bununla birlikte CDC'ye göre, gıda kaynaklı hastalıkların %51'ine bitkisel ürünlerin, yapraklı sebzelerin bu vakaların %22'sine neden olan en yüksek kategoriye oluşturduğu ve *Escherichia spp.* vakaların %17'sinden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Wright ve Holden, 2018). Ayrıca gıda kaynaklı hastalıkların nedenlerinden biri de insan norovirüsü'dür (HuNoV). ABD'de bilinen tüm gıda kaynaklı hastalıkların %5'inden ve Kanada'dakilerin %65'inden sorumludur. Yapılan çalışmalara göre sebze ve meyveler, norovirüs salgınlarında yer alan en yaygın gıda kategorilerindedir (Riggio vd., 2019).

Bitki tohumları ıslatılarak ve belli bir süre boyunca nemli bir ortamda çimlenerek üretilmektedir. Bu durum mikroorganizmaların üremeleri için optimal sıcaklıklar ve nem seviyeleri vb. uygun ortam oluşturduğundan dolayı, üretimden tüketime kadar olan tüm aşamalarda çeşitli kaynaklardan mikroorganizmalar bulaşabilmektedir (Abadias vd., 2008). Bu ürünler bünyelerinde yüksek ölçüde tohum kaynaklı patojen mikroorganizma bulundurabilmekte

ve çimlenme koşulları, patojen çoğalması için yeterli zamanı sağlamaktadır. Özellikle patojenik bakterilerin, filiz çimlenme ortamında çoğalma gösterebildiği belirtilmiştir. Bu patojenler arasında enterohemorajik *E. coli* ve *Vibrio cholerae* O1, *Salmonella* Typhi ve *E. coli* O157:H7 bulunmaktadır (Riggio vd., 2019). İnsan patojenleri ile kontamine olma riski en yüksek olan ürünler arasında marul, ıspanak, maydanoz, fesleğen, çilek, yeşil soğan, kavun ve domates bulunmaktadır (Alegbeleye vd., 2018).

Patojenlerin kontaminasyonu açısından yetiştiriciler için ortak kontrol noktaları arasında; tohum, işlenmemiş gübre veya kompost gibi toprak, sulama suyu, hayvancılık ve vahşi hayvan dışkı kirliliği, işçi sağlığı ve hijyen, kontamine yüzeye temas, tarla ve hasat sanitasyonu, paketleme tesislerinin temizliği, hasat sonrası yıkama ve taşıma, depolama, ulaştırma ve dağıtım sayılabilmektedir. Tarım işçilerinin yetersiz hijyen uygulamaları gıda üretiminde bir risk oluşturmaktadır. Patojenler kirli bir çalışandan gıdaya, gıdayla temas eden yüzeylere veya diğer çalışanlara transfer için yeterince uzun süre hayatta kalabilmektedir (Riggio vd., 2019). Bartz vd. (2017) tarafından yapılan çalışma sonucunda, tarımsal üretimde işçi elinden transferin, kirleticilerin ana katkısı olduğunu belirtilmiştir. Todd vd. (2009), gıda işçilerinden kaynaklanan salgınlardaki bakteri ve virüs kategorileri için en yaygın olanının *Salmonella* türleri ve norovirüs olduğunu tespit etmiştir. Gıda kaynaklı hastalıklarda su kaynaklarının etkisinin yüksek olduğu tahmin edilmektedir. Bu alanda yapılan çalışmada norovirüsün, sulama suyundan sebzelere doğrudan temas ile kontamine olabildiği tespit edilmiştir (Stine vd., 2005). Tohum yüzeyinde bulunan bakteriler, çimlenme esnasında tohumun iç kısmına girebilmektedirler. Yapılan çalışma sonucunda, *E. coli* O157:H7'nin tohumlara veya hidroponik suya kontamine olması durumunda turp filizlerinin yenilebilir kısmına kontamine olabildiği ifade edilmiştir. Ayrıca turp filizlerinde *E. coli* O157:H7'nin hızlı çoğalma yeteneğine sahip olduğu ve bu durumun ciddi bir tehlike yaratabileceği belirtilmiştir (Hara-Kudo vd., 1997). Genereux vd. (2015), doğal olarak *E. coli* ile kirlenmiş sulama suyuyla üretilen çilekte *E. coli*'nin kalıcılığını değerlendirmek amacıyla yaptığı çalışmada; iki farklı sulama yöntemi (damla sulama ve salma sulama) ve iki farklı malç tipi (saman ve plastik) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda örneklerde *E. coli* tespit edilemezken yapılan zenginleştirme sonucunda yetiştirme ortamları arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Bu çalışmayla sulama tekniği tipiyle ilişkili patojen bulaşmasının sınırlı olsa da olduğu kaydedilmiştir.

Normal koşullarda çiğ sebzelerde, hayvansal gıdalara göre patojene daha az rastlanılmaktadır. Ancak çiğ sebzelere uygulanan kesme, doğrama, parçalama, sıkma gibi işlemler sonucunda bu gibi ürünler kontaminasyona ve mikroorganizmaların üremesine daha duyarlı olmaktadır (Uçak, 2014). Ayrıca hasat sonrası işleme sırasında bitkinin hasar görmesi patojen bulaşmasını kolaylaştırabilmektedir. Bu ürünlerde özellikle keserek hasat, kontaminasyon riskini

artırabilmektedir (Riggio vd., 2019). Bu alanda yapılan bir çalışmada, *Salmonella Montevideo*'nun, düşük dozlarda belli bölgelerinden kesilen domatese inokule edilmesiyle domatesin sap ve kökteki kesik bölgelerinde toplandığı, yüksek aşılama dozlarında ise domatesin içine yayıldığı belirtilmiştir. Bu nedenle, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından önerilen güvenlik önlemlerine göre; kesilmeden önce meyvelerin yıkanması, temiz ve sterilize edilmiş kaplar ve yüzeylerin kullanılması ve kesilmiş meyvelerin 7 °C'nin altında saklanması, bu ürünün neden olduğu salmonelloz salgınlarını en aza indirmek için önemlidir (Lin ve Wei, 1997). Aruscavage vd. (2008) tarafından yapılan çalışmanın sonucunda, *E. coli* O157:H7 popülasyonu aşılanan yapraklar üzerinde 10 günlük bir süre zarfında zamanla azalmasına rağmen, popülasyonun hasarlı yapraklarda sağlıklı yapraklara oranla daha yüksek popülasyonlarda kaldığı tespit edilmiştir. Bitkisel ürünler, mikroorganizmalarla teması ve bağlanmayı kolaylaştıran bitkinin fizyolojik özellikleri nedeniyle yüksek riskli durumdadırlar (Riggio vd., 2019). Gao vd. (2016), marul hücre duvarında norovirüslerin bağlanması için uygun yapıların olduğunu ve bunun sonucunda marul yapraklarına eklenen virüslerin miktarının önemli ölçüde arttığını tespit etmiştir. Ayrıca yapışkan yüzeylerde bulunan lektinler ve adezinler, *Salmonella* ve *E. coli* O157:H7 gibi bakteriler için bağlayıcı bölgeler olarak da işlev görmektedir. Bu patojenler ıspanak ve marulda izlenen salgınların çoğunda rol oynamaktadır (Deng ve Gibson, 2019). Hem bitki çeşitlerinin hem de bakteri türlerinin, kirleticilerin bitki yüzeylerine yapışma kabiliyetinde rol oynadığı belirtilmiştir (Berger vd., 2010). Minimal seviyede işlem görmüş olarak tüketilen bu ürünler herhangi bir dezenfeksiyon işlemine tabi tutulmamaktadır (Hara-Kudo vd., 1997). Bu ürünlere uygulanan yıkama ve pişirme işleminin patojenlerin uzaklaştırılmasında yetersiz olmasından dolayı mikrobiyolojik açıdan risk grubundadırlar (Temelli, 2002). Bu ürünlerden patojenlerin uzaklaştırılmasına yönelik yapılan çalışmalardan bazıları, iyonize radyasyon, yüksek basınç, ısı işlem, klorlu bileşikler, etanol, hidrojen peroksit ve ozon gibi kimyasal bileşiklerle muameledir (Singh vd., 2002). Singh vd. (2002) yaptıkları çalışmalar sonucunda klorlama (ClO₂), ozon ve kekik yağı uygulamasının marul ve havuç filizlerindeki *E. coli* O157:H7 patojeninin azaltılmasında etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Filizler, sebze ve meyveler çeşitli araçlar ile patojen bakteriler tarafından kontamine olabilmektedir. Bundan dolayı sebze ve meyveler özellikle çiğ tüketildiklerinde insan sağlığını ciddi derecede tehdit etmektedir (Abadias vd., 2008; Ben, 2008). Kirilenmiş yapraklı yeşilliklerin tüketilmesi sonucunda, *E. coli* O157:H7 ile ilişkili çok sayıda salgın meydana gelmiştir (Sharma vd., 2009). Japonya'da 1996'da 6000'den fazla kişiyi etkileyen *E. coli* O157:H7 salgınına kontamine turp filizi tüketiminin neden olduğu bildirilmiştir (Taormina vd., 1999; Tosun ve Gönül, 2003). Michigan ve Virginia'da 1997'de birbirini takip eden salgınlarda, sorumlu gıdanın

aynı tohumlardan gelişen yonca filizleri olduğu, kontaminasyonun hasat sırasında veya sonrasında elle müdahale edilmesi ve işlenmesi sonucu ortaya çıktığı, bakteri sayısının artışında filizlenme dönemindeki nem ve ısı şartlarının önemli bir etken olduğu belirtilmiştir (Temelli, 2002). 1998'den 2010'a kadar ABD'de filiz tüketimi ile ilişkili en az 33 gıda kaynaklı hastalık salgını ve 1.330 bildirilmiş hastalık vakası olduğu bunun sonucunda birçok kişinin hayatını kaybettiği bildirilmiştir (Xiao vd., 2015a). Aralık 2010'da yonca filizi tüketimiyle ilişkili *salmonella* salgını patlak vermiş ve ABD'de 15 eyalette 88 kişiyi etkilemiştir. 2011 yılında Almanyada başlayıp daha sonra diğer Avrupa ülkeleri ve Amerikaya'da sıçrayan, Almanya'daki organik bir çiftlikten üretilen filizlerden (mısır ya da hindistan kaynaklı fasulye filizi/çemen otundan kaynaklandığı düşünülen) kaynaklanan ve yaklaşık 4000 kişiye bulaşıp ve 53 ölüme neden olan *E. coli* O104:H4 salgını belirlenmiştir (Halkman, 2013; Uphoff vd., 2014). ABD'de *Salmonella enterica*, şiga toksin üreten *E. coli*, *L. monocytogenes* ve insan norovirüs, 1998 ve 2016 yılları arasında filizlerden elde edilen 1876 gıda kaynaklı hastalıktan sorumludur. *Salmonella enterica* kirlenmiş filizlerin neden olduğu rapor edilen hastalıkların dörtte üçünden fazlasının nedeni gibi görünmektedir ve buna organik toprağın önemli bir katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Riggio vd., 2019). Özellikle, yonca filizlerinin 1998 ve 2016 arasında bildirilen hastalıklar arasında en yaygın çeşidi olduğu görülmektedir (Taormina vd., 1999). Filiz tüketiminin yanında sebze ve meyve tüketimi ile ilgili olarak da *E. coli* O157:H7 kaynaklı birçok salgın meydana gelmiştir. ABD'nin çeşitli eyaletlerinde marul ve ıspanak tüketiminden kaynaklanan gastroenterit salgınları meydana gelmiş ve ajan olarak da *E. coli* O157:H7 gösterilmiştir (Seow vd., 2012). ABD'yi ve Kanada'yı kapsayan 2006 yılında taze ıspanak ve rendelenmiş marul tüketimi ile ilişkili olan salgında, 276 kişi *E. coli* O157:H7 ile hastalanmış ve 3 kişinin öldüğü belirtilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda yaban domuzlarının direk olarak tarlaları kontamine etmesi veya dolaylı olarak dışkılarının su kaynaklarına bulaşması sebebiyle böyle bir salgının ortaya çıktığı savunulmuştur (Cooley vd., 2007; Gelting, 2007; Sharma vd., 2009). Almanya'da 2012'de kaydedilen en büyük gıda kaynaklı salgında norovirüs, etken madde olarak tanımlanmıştır. 2011 yılında, 390 ilkökul ve çocuk bakımı tesisi, Çin'den ithal edilen kirli dondurulmuş çileklerden norovirüs kapmıştır. Araştırmacılar salgının büyüklüğü nedeniyle kaynağın norovirüsle kirlenmiş sulama suyu olabileceğini varsayılmıştır (Bernard vd., 2014).

Tüm dünyada taze ürünlerin tüketimi ile meydana gelen salgınlar artarak kaygı verici boyutlara ulaşmıştır (Seow vd., 2012). CDC veri tabanından, hemen hemen her yıl taze meyve ve sebzelerle ilişkili gıda kaynaklı hastalık salgınının gerçekleştiği görülmektedir. Raporlamanın artması, üretimdeki denetim eksiklikleri, meyve ve sebze tüketiminin artmasının salgınlardaki

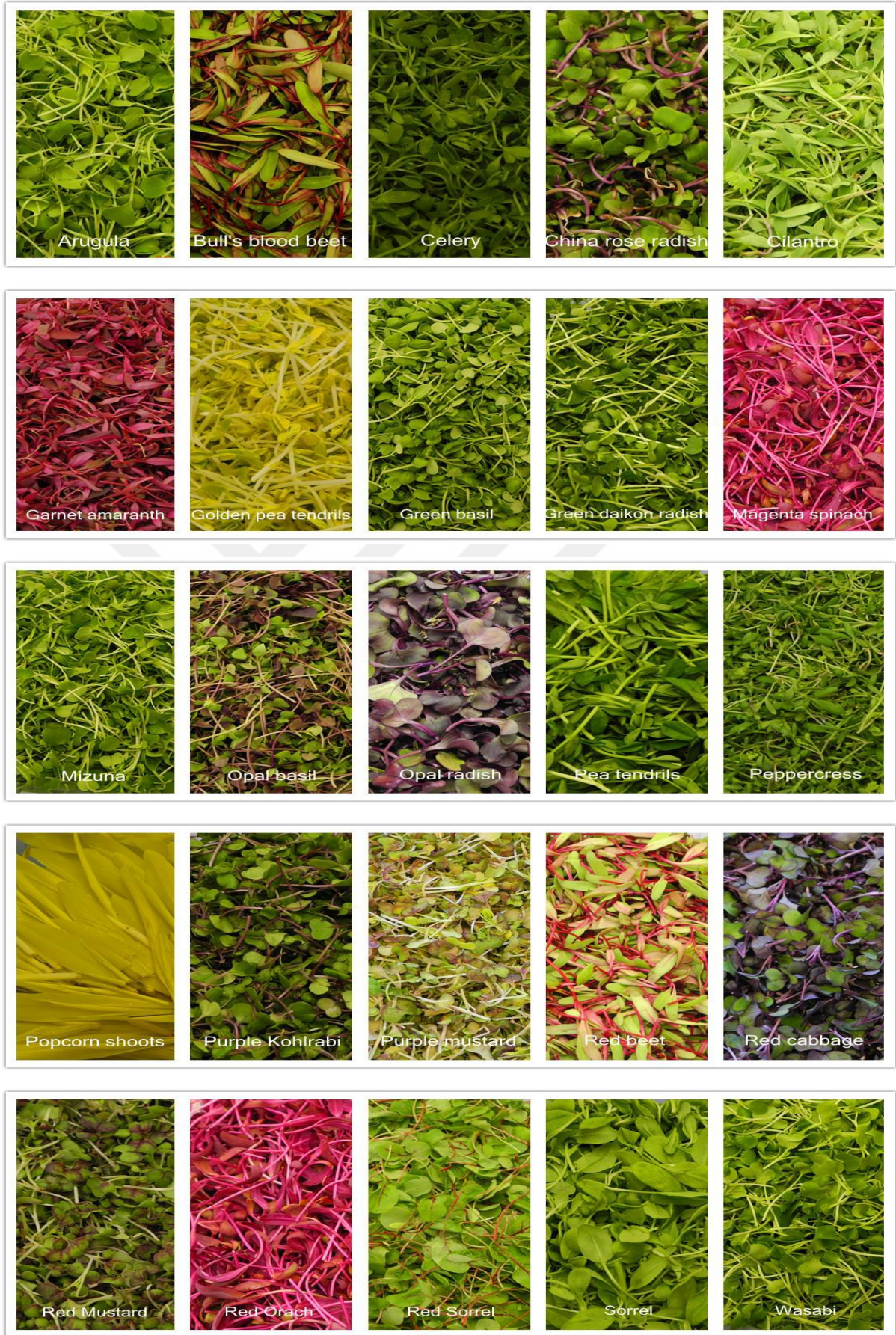
artışların nedeni olarak görülsede, ülkeler arasındaki tarımsal uygulama farklılıkları gıda güvenliğinin düzenlenmesi konusunda zorluklar yaratmaktadır (Riggio vd., 2019).

1.4. Gıda Güvenliği Bakımından Mikro Filizler (Microgreens)

Günümüzde tüketicilerin sağlığı ve uzun ömürlülüğü destekleyen diyetlere olan ilgileri artmakta ve bununla birlikte tüketim eğilimleri değişmektedir (Yetim vd., 2010). Özellikle son yıllarda bu değişim ile birlikte taze ve fonksiyonel gıdalara olan ilgi artmıştır. Bu gıdalardan biri olan, besin değeri ve sağlık açısından daha faydalı olduğu algılanan çiğ filiz tohumları dünya genelinde popülerlik kazanmıştır. Çiğ tohum filizlerinin yeni bir sınıfı olan mikro filizler, yapraklı sebze üretimini mikro ölçeğe uyarlanmış ve insan beslenmesinde besin değerini arttırmak için çok büyük bir potansiyele sahip fonksiyonel gıdalar sınıfında yer alan bitki gurubudur. Sıklıkla "sebze konfeti" olarak adlandırılan mikro filizler (mikro yeşiller), yabancı türler dahil olmak üzere sebze, ot veya tahıl tohumlarından üretilen olgunlaşmamış yeşillikler olarak tanımlanan yeni bir özel ürün sınıfıdır. Her ikisi de olgunlaşmamış bir halde tüketilse de mikro filizler, ilk filizlerden farklıdır. Sebze ve bitki tohumlarından üretilen ve olgunlaşmamış iki kotiledon yaprağına sahip olan bu olgunlaşmamış yeşillikler, filizlerden daha yaşlı ve bebek yeşilliklerinden daha genç olarak tüketilen türlerdir. Ayrıca filizler, mikro filizlerin aksine genellikle karanlık ve nemli ortamlarda oluşurlar. Bunun yanında, mikro filizler filizlerden çok daha güçlü lezzet artırıcı özelliklere, çeşitli yaprak rengine, çeşitliliğine ve şekline sahiptir (Xiao vd., 2012).

Bir sebze sınıfı olan bu ürünler, yenilebilir sebzeleri ve bitkileri içeren çok spesifik bir türdür (Pinto vd., 2015; Sun vd., 2013). Bu yeşillikler çoğunlukla, *Brassicaceae*, *Asteraceae*, *Chenopodiaceae*, *Lamiaceae*, *Apiaceae*, *Amarillydaceae*, *Amaranthaceae* ve *Cucurbitaceae* familyasına ait türlerdir (Kyriacou vd., 2016). Tere, nane, ayçiçeği, dereotu, kırmızı pancar, havuç, roka, turp, brokoli, fesleğen, soğan, şeker otu, deniz börülcesi, kişniş, hardal, lahana, buğday, bezelye, ıspanak, maydanoz, marul vb. bitkilerinin ilk gerçek yaprakları oluştuğunda bu ürünler mikro filiz olarak kullanılabilir. Mikro filiz üretimi ile değerlendirilebilen ve tüketici sağlığına faydalı çok çeşitli renk, şekil, tat ve hepsinden önemlisi gerekli besinler sağlayabilen yenilebilir türler vardır (Renna vd., 2017). Günümüzde 80-100 kadar bitki çeşidinin mikro filiz olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Treadwell vd., 2010).

Son dönemlerde tüketimi artan bu egzotik tür; 80'li yılların sonlarında San Francisco, Kaliforniya'da ortaya çıkmıştır ve o zamandan beri dünyanın en iyi restoranlarında ve lüks marketlerinde yeni mutfak malzemeleri olarak popülerlik kazanmışlardır. Microgreens kelimesinin ilk kullanımı 1998'de belgelenmiştir.



Şekil 1.1. Günümüzde ticari olarak satılan 25 mikro filiz (Xiao, 2013)

Popülerliği canlı renklerinden, narin dokularından, garnitür gibi eşsiz lezzet arttırıcı özelliklerinden, takviyeli yüksek bitkisel besin içeriğinden ve potansiyel biyoaktif değerlerinden de kaynaklanmaktadır (Kyriacou vd., 2016; Treadwell vd., 2010). Bu nedenlerden dolayı son yıllarda, yeni bir mutfak eğilimi olarak popülerlik kazanan bu ürünler salata, çorba ve sandviçlerde renk, doku ve/veya lezzet artıran yeni bir bileşen olarak kullanılabilir. Ayrıca bu ürünler özellikle yeşil içecekleri ve çok çeşitli başka yemekleri veya yeni bir salata malzemesini süslemek için yenilebilir bir garnitür olarak kullanılabilir (Chandra vd., 2012; Kou vd., 2013; Pinto vd., 2015; Renna vd., 2017; Treadwell vd., 2010; Xiao vd., 2012).

1.4.1. Sağlık ve Beslenme Açısından Mikro Filizler

Bitki besinleri insan büyümesinde, gelişmesinde ve sağlığının korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Hung vd., 2004). Meyve ve sebze açısından zengin diyetler, kansere ve kalp hastalıklarına karşı koruyucu yararları olduğu bilinen askorbik asit, karotenoidler, tokoferoller, polifenoller, fitoöstrojenler, antosiyaninler ve izoflavonlar gibi çok sayıda insan biyoaktif bileşiği sağlar. Antikanser aktivitesinin en yüksek olduğu yiyecekler ve otlar arasında sarımsak, soya fasulyesi, lahana, zencefil vb. sebzeler bulunmaktadır (Craig ve Beck, 1999). Genellikle vitaminler, karotenoidler ve diğer fitokimyasallar bakımından zengin olan mikro filiz için hemen hemen her sebze tohumu kullanılabilir. Ancak ticari mikro filiz türlerinin çoğu *Brassicaceae* familyasındaki (brokoli, karnabahar, lahana, turp vb.) bitki veya otlardır. Dünyada en yaygın tüketilen sebzeler olan *Brassicaceae* sebzeleri, içerdikleri biyoaktif bileşenler sayesinde kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer dejeneratif hastalıkların görülme sıklığını azaltmadaki yararlı nedeniyle tercih edilmektedir (Xiao vd., 2019). Sebzelerin biyoaktif bileşenlerinin içeriğindeki çeşitlilik hem genetiğe hem de çevreye bağlıdır. Bu nedenle farklı besin içeriğine sahip mikro filiz tüketmek isteyen tüketiciler için ticari tohum şirketleri, çeşitli türler içeren belirli ürün karışımları sunmaktadır (Kyriacou vd., 2016).

Mineral yetersizliği hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde yaygın bir sorundur (Pinto vd., 2015). Dünya nüfusunun üçte ikisinden fazlasının diyetleri bir veya daha fazla temel mineral elementi (demir [Fe], çinko [Zn], bakır [Cu], kalsiyum [Ca], magnezyum [Mg], iyot [I] ve selenyum [Se]) içermemektedir (White ve Broadley, 2009). Dünyadaki 7 milyar insanının %60'ından fazlasında Fe, %30'undan fazlasında Zn ve %15'inde de Se eksikliği olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca, bazı gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde Ca, Mg ve Cu eksiklikleri yaygındır (Pinto vd., 2015). Günümüzde, mineral yetersizliği, insanlığın önlenebilecek en önemli küresel sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir. Bu, diyet çeşitlendirmesi, mineral takviyesi,

besin takviyesi veya üründeki mineral elementlerin konsantrasyonlarını ve/veya biyoyararlanımını artırarak (biyolojik iyileştirme) giderilebilmektedir. Filizlerde ve diğer sebze kategorilerinde olduğu gibi, mikro filizlerde de insan diyetinde sıklıkla bulunmayan temel mineral elementler bulunmaktadır (White ve Broadley, 2009). Sebze ve meyvelerin bu yararlarından dolayı ABD Tarım Bakanlığı (USDA) ve Sağlık ve İnsan Hizmetleri Departmanı (DHHS) tarafından yayımlanan Amerikalılar için Beslenme Rehberi'nde (2010) beslenme üzerine ve insan sağlığına faydalarından dolayı tabakların yarısının meyve ve sebzelerle doldurulması tavsiye edilmektedir (Xiao, 2013).

Mikro filizlerin besin içerikleri ile ilgili olarak birtakım çalışmalar yapılmıştır. Araştırmalar, özellikle *Brassicaceae* ailesinin üyeleri için besinsel niteliklere odaklanmıştır. Yakın zamandaki çalışmalarda mikro filizlerin olgun bitkilere göre daha yüksek miktarlarda askorbik asit, vitamin (C, E ve K vitaminleri), karotenoidler (β -karoten, lutein ve zeaksantin), mineral madde (Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Se ve Mo) ve daha düşük miktarda nitrat içerdiği görülmüştür. Bu nedenle, mikro filizlerin insan beslenmesinde iyi bir mineral kaynağı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca mikro filiz kotiledon yapraklarında daha yüksek besin yoğunluğu olduğu ve ışığın mikro filizlerin büyümesi sırasında besin değerleri üzerinde önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Xiao vd., 2012; Pinto vd., 2015). Xiao vd. (2019), *Brassicaceae* familyasındaki 30 çeşit mikro filizin fitokimyasal ve antioksidan kapasitesinin bileşimi ve konsantrasyonunu belirlemek için yaptıkları çalışmada sonuç olarak; *Brassicaceae* mikro filizlerinin iyi bir antioksidan fitokimyasal kaynağı olduğunu, ancak türler arasında önemli farklılıklar bulunduğunu belirtmişlerdir. Sağlığa sağladığı faydalar yanında bu ürünlerin duyuşal açıdan beğenilmesi de kullanımını artırmaktadır. Besin açısından yetişkin hallerinden daha zengin olan mikro filizler, yetişkin hallerine göre daha yoğun tat ve aromada taşımaktadır (Treadwell vd., 2010). Xiao vd. (2015b) tarafından yapılan çalışmada, 6 adet mikro filiz türü seçilip 80 tüketici panelisti tarafından duyuşal özellikler açısından değerlendirilmiştir. Genel olarak mikro filizlerin beğeni durumunun ve lezzetinin; pH değeri, toplam fenolik içeriği ve acılık ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak tüm mikro filizlerin “tüketici” kabulü ve beslenme kalitesi için “iyi” olduğu görülmüştür. Mikro filizler garnitür yeşillikleri olarak, tatlı ve tuzlu yemeklerin hazırlanmasında pişirilerek veya çiği olarak da tüketilme konusunda olumlu sonuç vermektedir (Renna vd., 2017).

Sonuç olarak hızla talebin arttığı bu ürünler benzersiz renk ve zengin lezzetlerinin yanında; antioksidanlar, fenoller, vitaminler ve mineraller gibi sağlığı teşvik eden bileşiklerin yüksek konsantrasyonları nedeniyle “fonksiyonel gıda” veya “süper gıda” olarak kabul edilebilir (Delia vd., 2015; Janovska vd., 2010; Kou vd., 2014; Renna vd., 2017; Treadwell vd., 2010). Mikro filizlerin, standart büyüme aşamasında toplanan sebzelere kıyasla daha yüksek bir besin

konsantrasyonu ile karakterize olduğu bildirilmiştir (Janovska vd., 2010; Pinto vd., 2015; Treadwell vd., 2010; Xiao vd., 2012). Bu nedenle mikro filizler, vejetaryen ve vegan beslenme turleri için geniş çeşitlilikteki diyetleri eşitlendirebilecek ve zenginleştirebilecek kategoriler için zengin bir gıda kaynağını temsil edebilir (Di Gioia ve Santamaria, 2015).

1.4.2. Mikro Filizlerin Yetiştirilmesi ve Hasat Edilmesi

Mikro filizler ayrı bir teknikle, genellikle iç mekanlarda veya seralarda; topraksız (hidroponik), toprakta veya alternatif büyüme substratlarında yetiştirilir (Renna vd., 2017). Turlere ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak mikro filizler (aromatik bitki turleri); genellikle tohum çimlenmesinden itibaren yaklaşık beş ila on santimetre boyunda (sap ve kotiledonlar dahil), 7 ila 21 gün içinde ilk gerçek yaprak çiftinin ortaya çıkması üzerine makasla hasat edilip günlük olarak sofralara servis edilebilir. Evlerde retilabileceği gibi pazarlama amacıyla işletmelerde de üretilir (Kyriacou vd., 2016; Treadwell vd., 2010). Üretici profili, büyük illerden yerel çiftliklere kadar uzanmaktadır. Evde yetiştirilen mikro filizlerin popülaritesi, hem sağlığa yararı hem de mutfakların yeni malzemesi olarak kullanılması nedeniyle yükselen bir eğilimdir (Mir vd., 2017).



şekil 1.2. Mikro filiz yetiştirme alanı (Heliospectra)

Mikro filizler, filizler ile birçok özelliği paylaşmasına rağmen üretim süreçleri farklıdır (Xiao vd., 2015a). Mikro filizler, daha uzun büyüme süresi olan bir büyüme ortamı, hafif ve ilave besin maddesi gereksinimi gibi farklılıklara dayalı olarak tohum filizlerinden ayrılmaktadır (FSNAZ, 2010). Ticari retim için, filizler genellikle karanlık, ılık ve nemli koşullar altında toprak

veya benzeri ortamlarda üretilmektedir. Buna karşılık, mikro filizler, ışık altında hidroponik olarak, sığ bir toprak veya toprak ikamesi katmanında (torf, perlit, vermikülit, tekstil elyafı matı, jüt ve kenaf elyafı içeren biyolojik olarak parçalanabilen mat, kaya yünü vb.) gerçek bitkiler olarak daha uzun yapraklı ve daha yeşil yetiştirilmektedir (Di Gioia vd., 2017; Janovska vd., 2010; Xiao vd., 2015a). Mikro filiz üretiminde dikkat edilmesi gereken başlıca faktörleri arasında; tür seçimi, yetiştirme ortamı ve gübreleme, sulama, biyotazeleme, aydınlatma, mahsul fizyolojisi, hasat sonrası kullanım ve uygulamaları, sıcaklık, atmosfer bileşimi, mikrobiyal güvenlik ve paketlenme sayılabilmektedir (Kyriacou vd., 2016). Ayrıca, tohumların seçiminden başlayarak, hasat ve hasat sonrası işleme kadar tüm üretim sürecinde kirlenme risklerinden kaçınarak, mikro filizlerin mikrobiyolojik kalitesine büyük önem verilmelidir (Renna vd., 2017; Xiao vd., 2015a).

Mikro filizlerin üretiminde rol oynayan kritik özelliklerden biri kullanılacak türlerin seçimidir. Türün yenilebilir olduğu değerlendirildiğinde, ürünün tüketici için tamamen kabul edilebilir ve çekici sonuç veren iyi bir lezzete sahip olması gerekmektedir (Renna vd., 2017; Xiao vd., 2015a). Tohumlamadan hasada kadar geçen süre, mahsulden mahsule büyük ölçüde değişmektedir. Ürünler ayrı ayrı kaplarda üretileceği gibi sebze sepeti şeklinde karışık tohumlar kullanılarak aynı kaptaki da yetiştirilebilir. Ancak burada dikkat edilmesi gereken, yetiştiriciler benzer bir büyüme oranına sahip olan ürünleri seçmesidir. Böylece tüm çeşitler bir kerede hasat edilebilir. Alternatif olarak yetiştiriciler, çeşitli mahsulleri tek tek tohumlayabilir ve hasattan sonra bunları karıştırabilirler (Treadwell vd., 2010).

Mikro filizlerin üretilmesinde rol oynayan koşullardan biride, üretim ortamının sürdürülebilirliğinin yanı sıra mikro filizlerin verimliliğini ve kalitesini belirlemede temel bir rol oynadığından, büyüme ortamının seçilmesidir. Mikro filizler, üretim ölçeğine bağlı olarak kapalı veya açık mekanlarda, topraklı (standart, steril, gevşek) veya topraksız yetiştirme ortamlarında yetiştirilebilir (Kyriacou vd., 2016; Renna vd., 2017) Yetiştirme ortamı olarak torf, vermikülit, perlit, hindistancevizi lifi ve diğerleri ile birçok karışım başarıyla kullanılmıştır (Treadwell vd., 2010). Ayrıca mikro filiz üretimi için özel geliştirilen substratlar (jüt lifi, pamuk lifi, yosun lifi ve kâğıt posası) veya sentetik (elyaf ile üretilen) lifli malzemelerin oluşturduğu matlar ve polietilen tereftalat-PET bulunmaktadır (Kyriacou vd., 2016; Renna vd., 2017). İyi bir çimlenme ve optimal büyüme sağlamak için, yetiştirme ortamının fiziksel özellikler bakımından iyi olması gerekmektedir. Genel olarak mikro filiz yetiştirmede kullanılacak ortam; toplam hacmin %85'inin üzerinde bir gözeneklilik yapıya, iyi su tutma kapasitesine (toplam hacmin %55-70'i) ve kök sisteminin iyi bir havalandırma seviyesine (toplam hacmine %20-30'u) sahip olmalıdır (Kyriacou vd., 2016; Renna vd., 2017).



Şekil 1.3. Torf karışımı yetiştirme ortamı (Di Gioia ve Santamaria, 2015)

Ayrıca yetiştirme ortamının mikrobiyolojik olarak kirlenmiş olmaması çok önemlidir. Özellikle organik kökenli materyaller, *Salmonella* spp. ve *Escherichia coli* gibi insana patojen olan mikroorganizmalar içerebilir. Bu nedenle, hijyenik sorunları önlemek için, mikrobiyolojik kalitesi garanti edilen substratları veya sterilizasyon işlemlerine tabi tutulmuş materyalleri (fiziksel veya kimyasal) seçmek önemlidir (Renna vd., 2017). Mikro filiz üretimi için özel hazırlanmış yetiştirme ortamları, iyi tasarlanmış, standardize edilmiş, su tutma kapasitesi ve hava kapasitesi arasında iyi bir dengeye sahiptir ve hijyen kalitesi iyidir (Kyriacou vd., 2016; Renna vd., 2017).

Bitkinin gelişmesi için güneş ışığına, havanın CO₂'ine, toprağın ise su, mineral ve diğer besin maddelerine ihtiyaç duyulur (Kumlay ve Eryiğit, 2011). Bitkiler en azından 90 farklı elementi havadan, sudan ve topraktan absorbe etmektedir (Bolat ve Kara, 2017). Günümüzde su kaynaklarının yetersiz oluşu, tarım alanlarının azalması, toprak veriminin düşmesi gibi nedenlerden dolayı bitki yetiştirme yöntemlerinde yeni tekniklerin geliştirilmiştir. Bu tekniklerden biri de topraksız tarım (hidroponik sistem) uygulamalarıdır. İçerisinde toprak bulunmayan her türlü yetiştirme ortamında bitki yetiştirilmesine genel anlamda topraksız tarım adı verilir. Topraksız tarımın amacı; bitkilerin gelişmesini besin çözeltisi yardımıyla sağlamak, bitkilerin besin maddesi ve su gereksinimlerini stres oluşturmadan karşılamak ve bunu en ekonomik şekilde gerçekleştirmektir (MEGEP, 2011). Bitki besini çözeltisi, birçok bitkinin yetiştirilmesinde ihtiyaç duyulan maddeleri içerdiğinden dolayı bitkinin büyümesine ve verimine katkı sağlayan karışımlardır. Hidroponik sistemde önemli besinlerin hepsi besin çözeltisi yoluyla bitkiye verilir. Eğer çözelti içerisinde herhangi bir besin maddesi az veya fazla olursa bitkiler beslenme bozukluğu belirtileri gösterir (MEGEP, 2008). Mikro filiz üretiminde geleneksel toprak veya toprak ikame esaslı üretim basit ve kullanışlıdır, ayrıca küçük ölçekli aile işletmeleri ve artan

bireysel yetiştiriciler tarafından yaygın olarak uygulanmaktadır. Ancak mikro filiz üretimi için kurulan modern ticari tesislerde genellikle toprağın bir substrat ile değiştirildiği topraksız yetiştirme sistemleri kullanılarak bu ürünler üretilir ve fideler, bir bitkinin yaşaması için gerekli olan tüm unsurları içeren bir besin çözeltisi ile beslenir (Renna vd., 2017; Xiao vd., 2015a). Yüksek kalitede birinci sınıf mikro filiz üretmek için yeterli besin büyüme ortamından sağlanmalıdır. Bu da ek gübreleme ile gerçekleştirilebilir. Burada gübre olarak kalsiyum klorür, kalsiyum nitrat, amonyum nitrat vb. maddeler farklı oranlarda, farklı kombinasyonlarda ve farklı uygulama şekillerinde kullanılarak mikro filizlerde verim artışı sağlanabilir (Kyriacou vd., 2016). Çoğunlukla hidroponik veya yarı hidroponik olarak çok kısa büyüme döngüleri ile üretilen mikro filizler ile ilgili gübrelemeyi içeren kültürel uygulamalar henüz standartlaştırılmamış olup, mineral gereksinimleri bilinmemektedir. Hidroponik bir sistemde yetişen fesleğen ve İsviçre pazı verimine, mineral alımına ve kalitesine ilişkin yapılan çalışmada, mikro filizlerde yüksek mineral içeriğine rağmen düşük verim nedeniyle besin alımlarının sınırlı olduğu ve nitrat içeriklerin düşük olduğu belirtilmiştir. Bundan dolayı bu bitkilerde düşük gübre girdisi gerekmektedir (Bulgari vd., 2017).



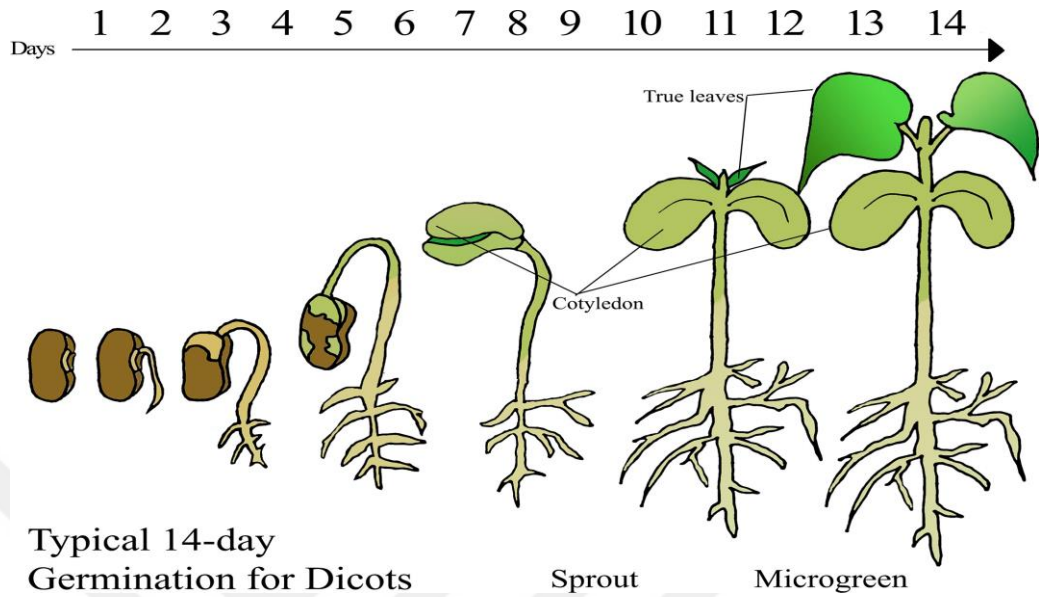
Şekil 1.4. Elyafli mattan oluşan yetiştirme ortamı (Hidroponik sistem) (Di Gioia ve Santamaria, 2015)

Ayrıca mikro filiz yetiştirmede ortamdaki ışığın da etkisi de önemlidir. Işık koşulları, mikro filizlerin fizyolojisi ve özellikle kontrollü büyüme ortamlarında fitokimyasalların biyosentezi ve birikimi üzerinde oldukça etkilidir. Bitkisel üretimde sıklıkla kullanılan ilave ışık kaynakları arasında metal halojenür, floresan, akkor, yüksek basınçlı sodyum (HPS) ev gelişmiş ışık yayan diyot (LED) lambaları bulunur. Özellikle ledler sebzelerdeki fotoreseptörlerin seçici

aktivasyonunu ve fitokimyasal maddenin artmasını sağlar (Kyriacou vd., 2016). Choi vd. (2015) yaptıkları çalışma sonucunda mavi, kırmızı ve beyaz LED aydınlatma uygulamasının, karabuğday mikro filizlerinin çözünür katı maddelerini ve C vitamini içeriğini karanlık ortama kıyasla arttırdığını belirtmişlerdir. Benzer şekilde Wu vd. (2007), kırmızı ışığın bezelyede karotenoid konsantrasyonunu ve antioksidan kapasiteyi önemli ölçüde arttırdığını ve fotoperyodun, ışık kalitesinin ve yoğunluğun mikro filizlerin fitokimyasal birikimini etkilediği bildirmişlerdir.

Üretimde sulama programlarına bağlı olarak bir ortama 1 inç veya 2 inç derinliğe kadar kısmen yetiştirme ortamı doldurulur. Bu ürünlerde genelde yetiştirme ortamına bağlı olarak taban (altta su vererek), sprey veya damla sulama türleri kullanılmaktadır. Sprey sulamaları genellikle bu ortam sistemlerinde sadece çimlenme aşamasında kullanılır. Tohumlama bir yayın olarak veya sıra halinde yapılabilir. Yetiştiricilerin çoğu üretimi maksimize etmek için olabildiğince yoğun olarak tohumlamak istemektedirler. Ancak yoğun tohum uzun sapları teşvik ettiği ve hastalık riskini arttırdığı için tavsiye edilmez. Çimlenme karanlık ortamda gerçekleştirilir. Bazı mikro filiz mahsulleri kolayca çimlenir ve hızla büyür. Bunlar arasında lahana, pancar, hardal, turp, amaranth vb. bulunur. Çimlenmenin ardından ürün aydınlık ortama alınır. Tohum çimlenme için yeterli besin sağladığı için gübreleme gerektirmez ancak bazı türlerde hafif gübrelemeye ihtiyaç duyulabilir. Hafif gübreleme en iyi şekilde, yaklaşık 80 ppm azottan hazırlanan bir besin çözeltisi ile gerçekleştirilmektedir (Treadwell vd., 2010). Mikro filizler, ilk gerçek yaprak aşamasına ulaştığında, genellikle yaklaşık 2 inç (5-10 cm) yüksekliğinde, hasat için hazırdır. Tohumlamadan hasada kadar geçen süre bitki türüne göre 7-21 gün arasında değişebilmektedir (Treadwell vd., 2010; Kyriacou vd., 2016). Tüm bitki (fide) kotiledon veya tohum yaprakları tamamen genişlediğinde ve gerçek yapraklar tamamen ortaya çıktığında köklerin hemen üzerinden toplanmaktadır (Reed, 2018; Sun vd., 2013). Mikro filizler kök, kotiledonlar (tohum yaprakları) ve ilk gerçek yapraklar olarak hasat edilip satılırlar. Bu yeşil bitkilerin filizler, mikro filizler ve bebek yeşillikler olarak olgunlaşmamış bir durumda toplanan ve tüketilen değişik türleri vardır. Bu bitkilerden üretilen ve salata mahsulü kategorilerini büyüklüğüne veya yaşına göre, filizler en genç ve en küçük, mikro filizler ise biraz daha büyük ve daha olgundur (genellikle 2 inç uzunluğunda) ve bebek yeşillikleri en büyüğü ve en olgunudur (genellikle 3-4 inç uzunluğunda). Mikro filizler diğer iki çeşit ürüne kıyasla lezzet ve besin değerleri açısından daha iyidir. Hem bebek filizlerin hem de mikro filizlerin herhangi bir yasal tanımı yoktur. Bebek yeşillikleri ve mikro filiz terimleri, kendi kategorilerini tanımlamak için kullanılan pazarlama terimleridir. Filizler, filizlenmiş tohumlardır ve genellikle türe bağlı olarak bütün bir bitki (kök, tohum ve sürgün) olarak tüketilir. Filizler yasal olarak tanımlanmıştır ve diğer yeşillikler ile

karşılaştırıldığında nispeten daha yüksek mikrobiyal kontaminasyon riski nedeniyle üretim ve pazarlaması ile ilgili ek düzenlemelere sahiptir (Reed, 2018; Treadwell vd., 2010).



Şekil 1.5. Filizlerin ve mikro filizlerin yaşa göre hasat değişimi (Bitki türüne göre değişmektedir) (Riggio vd., 2019)

Yenilebilir kısmı sadece gerçek yapraklardan oluşan ve kesilerek hasat edilen bebek filizlerden farklı olarak, mikro filizler kesilmiş halde hasat edilmeden önce bile satılabilme avantajına sahiptirler (Renna vd., 2017). Hasat, fidelerin elle veya mekanik olarak, büyüyen ortam yüzeyinin birkaç milimetresi üzerinde kesilmesiyle gerçekleştirilir. Küçük tepsilerde yetiştirmede genelde makasla hasat yapılır (Treadwell vd., 2010; Kyriacou vd., 2016). Mikro filizler hasat edilerek veya büyüme ortamını da içeren tepsilerde canlı formlar halinde satılmaktadır (Xiao vd., 2014b; Renna vd., 2017).

Hasat sonrası dayanıklılık, ticari mikro filiz üretiminin artması için tartışmasız en sınırlayıcı faktördür. Soğutmada bile üç ila beş günlük veya daha kısa bir raf ömrüne sahip olduğundan az miktarlarda kullanılmaktadır (Kou vd., 2014). Hasat sonrası hasatta toprağa yakınlık (yani bitki boyu), hasat öncesi yıkama işlemlerinden sonra kalan nem ve depolama sıcaklığı mikro filizlerde mikrobiyal birikme ile mikrobiyal etkileşime neden olabilir (Chandra vd., 2012). Olgun türlerine göre daha genç dokulardan oluşan mikro filizler, sınırlı raf ömrü ve hasat ve hasat sonrası işleme uygulamalarına karşı yüksek hassasiyetli türlerdir. Bitki dokusu hasarı, insan kontaminasyonu ve hasat araçlarından kaynaklanan kontaminasyonlar, mikroorganizma kirlenmesini kolaylaştırılabilir. Hasat işleminin keskin bıçakla yapılması ve

hasattan sonra hızlıca yıkaması ve soğutma gereklidir, aksi halde bu bitkilerin raf ömrü daha da kısılacaktır (Kyriacou vd., 2016).

Yıkama ve temizleme işlemleri, taze meyveler ve sebzelerdeki mikrobiyal popülasyonları azaltmada ve böylece bu ürünlerin kalitesini ve güvenliğini arttırmada önemli bir rol oynar (Xiao vd., 2014b). Ancak mikro filizlerde yıkama ve kurutma işlemi mekanik hasarın artmasına ve hem patojenik hem de bozulma ile ilgili mikroorganizmaların büyümesine; bunun sonucunda da raf ömrünün kısılmasına neden olmaktadır (Kyriacou vd., 2016). Yapılan çalışmalara göre; hasat sonrası yıkama yerine, hasat öncesi bir kalsiyum klorür uygulaması hem doku hasarının azalmasını hem de hasat sonrası mikrobiyal kütlelerin azalmasını sağlayarak mikro filizlerin kalitesi ve raf ömrü üzerinde yararlı bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Chandra vd., 2012; Kou vd., 2014; Sun vd., 2015; Xiao vd., 2014b). Sonuç olarak hasat öncesi kalsiyum sprey uygulamalarının mikro filizlerin kalitesini ve raf ömrünü artırmak için etkili yöntem olduğu görülmüştür. Dezenfektanlarla hasat öncesi ilaçlama, yüzey kirliliğini iyileştirmek için hasat sonrası yıkama işleminde geçerli bir alternatif sağlayabilir (Kou vd., 2014).

Sıcaklık, mikro filizlerin hasat sonrası bozulmasını etkileyen en kritik faktördür (Kou vd., 2014). Optimum depolama sıcaklığı meyve veya sebze türüne göre bağlı olarak değişir (Xiao, 2013). Genel olarak mikro filizler ortam sıcaklığında 2-4 gün, 5°C'de ise 10-14 güne kadar uzayabilen raf ömrüne sahiptir (Chandra vd., 2012; Kou vd., 2013). Genel olarak, düşük sıcaklıkta saklama; solunum, yaşlanma, bozulma ve mikroorganizmalarının büyümesini azaltarak, kalite kaybını azaltabilir ve raf ömrünü uzatabilir (Kou vd., 2014). Bu konuda yapılan bir çalışmada; bitkilerin solunum hızlarını düşürmenin, raf ömrünün artmasına olumlu etkisinin olacağını gösterilmiştir (Berba ve Uchanski, 2012). Ayrıca ürünün solunum hızına uyacak uygun oksijen iletim hızına (OTR) sahip bir ambalaj filmi seçmek, kaliteyi muhafaza etmenin ve ürünün raf ömrünü uzatmanın en iyi yoludur. Bunun yanında soğutma sıcaklığı, uygun ambalaj filmleri ve modifiye atmosferde paketlenme (MAP) ile beraber meyve ve sebzelerin raf ömrünü etkin bir şekilde uzatılabilir (Xiao, 2013). Yapılan çalışmaya göre mikro filizlerde hasat sonrası raf ömrü için en önemli iki depolama parametresinin; depolama sıcaklığı ve atmosferik kompozisyon olduğu görülmüştür (Kou vd., 2013).

Hasat sonrası ışığa maruz kalma, mikro filizler de dahil olmak üzere taze bahçecilik ürünlerinin perakende sergilenmesinde yaygın olarak görülmektedir. Ancak mikro filizlerde hasat sonrası karanlık depolamanın fayda sağladığı; ışığın, bitkinin dokusu, duyuşal ve görsel kalitesi üzerinde olumsuz etkisinin olduğu belirlenmiştir (Kyriacou vd., 2016). Yapılan bir çalışmada, ışığa maruz kalmanın turp mikro filizlerinin bozulmasını hızlandırdığı, karanlıkta saklama ile

kalitenin korunduğu, ayrıca uygun OTR'ye sahip ambalaj filmi kullanılmasının raf ömrünün uzatılmasında faydalı olduğu görülmüştür (Xiao vd., 2014a).

Hollanda'nın üretimde öncü olduğu bu ürünlere talep artmaktadır (Renna vd., 2017). Tüketicilerin mikro filizlere olan ilgisinin artması, yüksek fiyat pazarı ve bu ürünlerin kısa üretim döngüsüne sahip olmasından dolayı, bu pazar sera yetiştiricilerinin ilgisini çekmekte ve birçok çiftlik, üretime yatırım yapmaktadır (Kyriacou vd., 2016; Treadwell vd., 2010). Ancak hasat edilen mikro filizler çok kolay bozulabilir olduğundan, mümkün olduğunca çabuk yıkanmalı, ambalajlanmalı ve önerilen sıcaklıklara soğutulmalıdır. Ticari olarak yetiştirilecek mikro filiz türleri farklı renk, doku ve tatlara sahip olduğundan sıklıkla özel karışımlar halinde pazarlanmaktadır. Mikro filizlerin ticari pazarlaması temel olarak lüks marketlere ve özellikle lüks restoranlara yöneliktir (Renna vd., 2017; Treadwell vd., 2010). Ancak bu ürünlerin yüksek fiyatı ve düşük dayanıklılığı, pazarlarını sınırlamaktadır. Dolayısıyla, raf ömrünün uzamasına koşulların belirlenmesi, piyasada bu ürünlerin artmasını sağlayacaktır (Delia vd., 2015; Kou vd., 2013; Kyriacou vd., 2016; Treadwell vd., 2010).

1.4.3. Mikro Filizlerde Kontaminasyon

Olgunlaşmamış yenilebilir bitkiler olarak da adlandırılan mikro filizler kısa sürede hasat edildiklerinden dolayı filizlere benzemektedir. Bugüne kadar filizler ile ilgili birçok salgın meydana gelmesine rağmen, mikro filizlerin tüketimi ile ilişkili gıda kaynaklı bir salgın bildirilmemiştir (Kyriacou vd., 2016). Olgun türlerinden farklı olarak hem mikro filizler hem de filizler genellikle seralarda, yüksek tünellerde; çiftlik hayvanları, böcekler ve yaban hayatı ile temasın minimal olduğu iklim kontrollü binalarda veya tesislerde kısa üretim süresi içerisinde yetiştirilir (Taormina vd., 1999). Bu genç çimlendirilmiş tohumlar genellikle çiğ olarak tüketilir ve patojenlerin gelişmesine izin veren üretim, büyüme ve işleme koşullarının kesişimini örneklemektedir. Bu bitkilerde tohumdan hasada kadar patojen bakteriler tarafından kirlenme meydana gelebilir. Ayrıca topraksız tarım (hidroponik sistem) uygulamalarında kullanılan bitki besini çözeltisi de kirlenme riski oluşturabilir. Bu bitki türleri; çimlenme koşullarının patojen çoğalması için yeterli zaman sağlaması ve birçok insan patojenleri dahil olmak üzere mezofilik bakterilerin büyümesi için optimal sıcaklıklara ve nem seviyelerinde yetiştirilmesi gibi etkenlerden dolayı sağlık açısından tehlike göstermektedir (Riggio vd., 2019; Xiao vd., 2015a). Bu genç çimlendirilmiş tohumların, genellikle çiğ olarak tüketilmesi ve patojenlerin gelişmesi için uygun ortam sunmasından dolayı filizler gibi yüksek profilli gıda kaynaklı hastalık salgınına neden olabileceği belirtilmiştir (Riggio vd., 2019; Xiao vd., 2012).

Filizler ile ilgili üretim ve dağıtım için çok sayıda ulusal ve uluslararası standart bulunmasına rağmen, mikro filizlerin mikrobiyolojik güvenliğine ilişkin veri eksikliği bulunmaktadır (Xiao vd., 2014c). Mikro filizler ile ilgili olarak tarımsal su, toprak değişikliği, işçiler, hayvan ve teçhizatı mikro filiz üretimi için potansiyel kirlenme yolları olarak görülmektedir. Ancak toprak değişiklikleri ve hayvan girişi, iç mekân üretimi ve gübre veya gübrelerin olası kullanımını sınırlayan kısa hasat süresi nedeniyle mikro filizler için önemli bir kirlenme risk faktörü teşkil etmemektedir. Bununla birlikte Gıda Güvenliği Modernizasyon Yasası (Food Safety Modernization Act, FSMA) kapsamında mikro filizlerin kirlenmesini önlemek için özel bir düzenleme önerilmemiştir (FDA, 2015). Ancak mikro filizlerin güvenlik ölçütleri, diğer bütün çiğ tüketilen ürünler olarak Güvenlik Üretimi Kuralı kapsamında ele alınmıştır. (Riggio vd., 2019). Ayrıca FDA, filizlerden farklı olarak mikro filiz üretiminde kullanılan tohum sanitasyon işlemlerini zorunlu kılmamaktadır (Xiao vd., 2015a).

Mikro filizlerin mikrobiyolojik kirlenme kaynakları arasında; kirlenmiş tohum veya gübre, sulama suyu, toprak, hayvancılık/yaban hayatı gibi sayısız faktör bulunmaktadır (Alegbeleye vd., 2018). Dünyada 2000'den bu yana filizle ilgili gıda kaynaklı salgınların sayısı artmaktadır. Her ne kadar çeşitli kontaminasyon yolları belirtilmiş olsa da, kontamine olmuş tohumlar, en fazla filizle ilişkili gıda kaynaklı hastalıkların kaynağı gibi görünmektedir (Reed, 2018). Kirlenmiş tohumlar filizlerle ilişkili salgınlar nedeniyle, mikro filizler için gıda kaynaklı hastalıkların potansiyel kaynağı olarak kabul edilir ve patojenler kirlenmiş tohumdan mikro filizlerin yenilebilir kısmına transfer olabildiğine dair çalışmalar mevcuttur (Riggio vd., 2019; Warriner ve Smal, 2014; Xiao vd., 2014c; Xiao vd., 2015a). Tohumlar kirlenirse, büyüme sürecinin başından itibaren patojenler içselleştirilebilir ve bir kez dahil edildiklerinde çıkarılmaları çok zordur. Bu nedenle, etkili tohum dezenfeksiyon işlemi için sınırlı miktarda klor bileşimi kullanılabilir. Kalsiyum hipoklorit kullanımı, ısıtma işlemi ve ışınlatma gibi teknikler bakteriyel yükte ortalama bir düşüş sağlamaktadır (Riggio vd., 2019).

Genel olarak mikro filizlerin ekiminden sonra hasat süresi üç haftaya kadar olduğundan, gübre uygulaması yetiştiriciler tarafından tercih edilmez (Riggio vd., 2019). Doğal gübre kullanımı, bitkisel ürünlerin insan patojenleri ile kontamine olmasına neden olabilmektedir. Ham organik gübre bir seçenek olarak kabul edilemez, çünkü Ulusal Organik Program, ürün ile değiştirilmiş toprak arasındaki temasın varlığına bağlı olarak hasattan önce 90 ve 120 günlük bir bekleme süresi gerektirmektedir (USDA, 2011). Bitkisel üretimde kullanılan işlem görmemiş veya yetersiz işlem görmüş hayvan gübreleri ve hayvan gübresi karışmış yüzey suları patojenleri içerebilmekte ve ürünleri kontamine edebilmektedir. Beuchat (1999; 2002) yaptığı çalışmalar sonucunda, sığır dışkısında bulunan *E. coli* O157:H7'nin hayvan gübresinde 37°C'de 42-49 gün,

22°C’de 49-56 gün boyunca canlı kalabildiğini göstermiştir. Ayrıca hayvan gübresi ile kontamine olmuş marulda, 4°C’de 15 gün depolama sonunda *E. coli* O157:H7 varlığını tespit edip, *E. coli*’nin geri dönüşümsüz olarak marul yapraklarına bağlanmasının nedeni olarak birkaç saat süren uygulamadan sonra kullanılan sığır dışkısından kaynaklandığını bildirmiştir.

Sulama suyu, çeşitli şekillerde patojenler ile kirlenebildiğinden potansiyel bir diğer kirlenme kaynağıdır. FDA’nın taze meyve ve sebzelerin üretimi öncesi, sırası ve sonrasında kontaminasyonun önlenmesinde filizler için özel kuralları vardır, ancak bu kurallar mikro filizler için geçerli değildir. Bu kurallara göre; *Listeria*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* türleri ve gerekli olduğunda diğer patojenler için yetiştirme ortamının, tarımsal suyun ve filizlerin rutin olarak test edilmesini içerir. Kural ayrıca kirlenme bulunursa uygun düzeltici önlemlerin alınmasını gerektirir. Sulama suyu, özellikle topraksız (hidroponik) olarak yetiştirilen sistemlerde, filizler ve mikro filizler söz konusu olduğunda risk oluşturmaktadır. Sulama tekniğinin tipi kirlenme riskini etkiler (Riggio vd., 2019). Damla sulama ve taban sulamanın, sprey sulamaya kıyasla bitkilerin yenilebilir kısmının suya maruz kalmasını sınırlandırılmasından ötürü kontaminasyon oluşturma riskini azalttığı anlaşılmıştır (Painter vd., 2013). Bu ürünler, seralarda veya kapalı alanlarda raflarda yetiştirildiğinden, üreticilerin belediye kaynaklarından, yeraltı suyundan, geri dönüşümlü sudan veya toplanan yağmur suyundan su alma olasılığı daha yüksektir. Ayrıca yeraltı sularına kanalizasyon sularıyla veya çatılardan gelen yağmur sularına kuş dışkısından mikroorganizma kontaminasyonu olabilmektedir (Riggio vd., 2019). Yapılan çalışma ile, belediye suyunun en iyi mikrobiyal kaliteye sahip olduğu, bunu yeraltı suyu, geri dönüşümlü su ve toplanan yağmur suyunun takip ettiği sonucuna varmıştır (Uyttendaele vd., 2015). Xiao vd. (2014c), *E. coli* ile kirletilmiş turp tohumlarından ve sulama suyundan filiz ve mikro filiz üretmişlerdir. Hasat edilmiş turp mikro filizlerindeki patojen *E. coli* popülasyonlarının turp filizlerindeki 3-5 log CFU/g daha düşük olduğu, sulama tipinin mikro filizlerin yenilebilir kısımlarında *E. coli*’nin çoğalmasında önemli bir fark yaratmadığı, ancak yenmeyen parçaların toprakta daha yüksek seviyelere karşılık geldiği için popülasyonun daha yüksek seviyelerde olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlar, filizler üzerindeki mikrobiyal büyümenin, mikrobiyolojik tehlike riski yüksek olan mikro filizlerden çok daha hızlı olduğunu, bu da mikro filizlerin nispeten düşük olmasına rağmen gıda güvenliği açısından risk taşıdığını göstermektedir.

Filizler ve mikro filizler için önemli kontaminasyon kaynaklarından biri de yetiştirme ortamlarıdır. Topraklı ve topraksız ortamlarda yetiştirilebilen bu ürünlerde yetiştirme ortamının kirlenmesi durumunda patojenler yetiştirme ortamında uzun süre hayatta kalabilmekte ve bitkilere geçebilmektedir. Minnesota’da *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu vakasına bağlı olarak bahçe toprağında yapılan çalışmada; *E. coli* O157:H7’nin iki aydan daha uzun süre gübrelenmiş toprakta

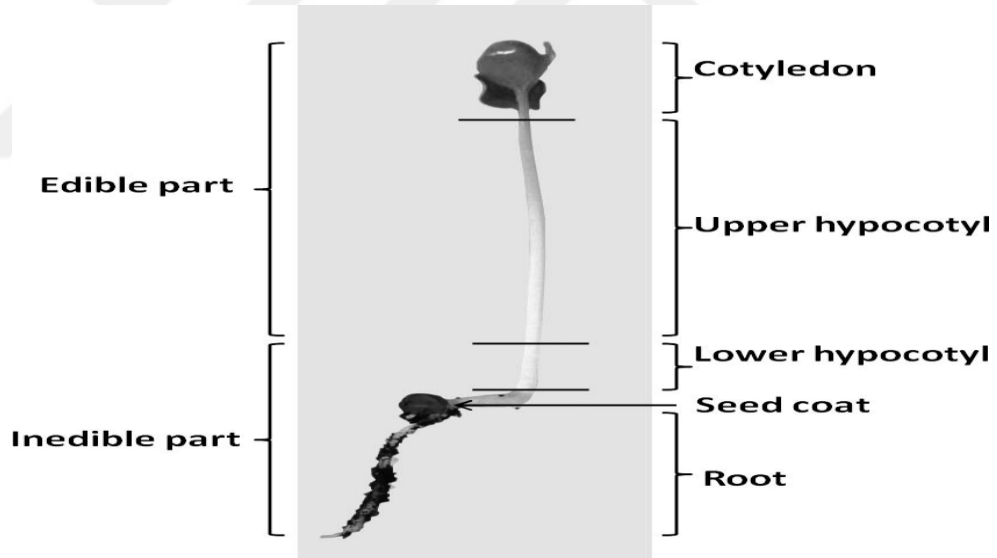
hayatta kalabildiği ve +4 °C’de tutulan bahçe topraklarında *E. coli* O157:H7 popülasyonunun çok hızlı düşerek 10. günden sonra patojen tespit edilmediği bildirilmiştir (Mukherjee vd., 2006). Bezanson vd. (2012) Kanada’da *E. coli* O157:H7’nin hayatta kalması üzerine, farklı toprak yapılarında ve iklimlerde tarla denemeleri yapılmıştır. Çalışmada marul yapraklarına ve toprağa 10⁵ CFU/g naladik aside dirençli *E. populasyonları* inokule edilmiştir. 7 gün sonra marul yapraklarında 10² CFU/g ve toprakta 10³ CFU/g düzeylerine kadar düşmüştür. Analiz sonucunda her iki ortamdaki değişim oranları arasında anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir. Torf karışımları, hidroponik sistemler, sentetik matlar vb. ortamlar mikro filizlerin üretiminde kullanılan ana substratlardır. Ancak, torf karışımları ve sentetik matlar pahalıdır ve yenilenemezdir. Geri dönüştürülmüş lifli malzemeler ise düşük maliyetli ve yenilenebilir olmalarından dolayı bu alanda tercih edilebilirler. Di Gioia vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada; farklı türdeki büyüme ortamlarında doğal mikrobiyal popülasyonların (TAMB, TMKS, Enterobacteriaceae ve *E. coli*) karşılaştırılması yapılmıştır. Çalışmada substratların, mikro filizlerin üretimi için uygun fizikokimyasal özelliklere olduğu ve benzer verim sağladığı görülmüştür. Tüm substratlardaki mikro filizlerde, TAMB popülasyonları benzer olmasına rağmen torf ortamında en yüksek TMKS ve Enterobacteriaceae seviyelerine sahiptir. Bu sonuçlara göre tekstil elyafları, gıda sınıfı plastik paspaslar ve jüt kenafeli elyaf mikro filiz üretiminde hem daha yüksek verim hem de daha yüksek mikrobiyolojik kalite açısından torf yerine kullanılabileceği anlaşılmıştır.

Mikro filizlerin üretim yöntemleri filizlenmiş tohumlarla benzerdir. Ancak STEC gibi gıda kaynaklı patojenlerin bu bitkileri kolonize etme potansiyeli hakkında çok az veri vardır. Wright ve Holden (2018) tarafından yapılan ve dokuz çeşit bitkinin STEC tarafından kolonizasyonun değerlendirildiği çalışmada; STEC ile kontamine edilmiş tohumlar, kontamine sulama suyu ile 21°C’de 5 günde yetiştirilmiştir. Sonuç olarak bitkilerin STEC ile kolonize edilmesi ile bitkilerde yüksek büyüme oranlarıyla çoğalan STEC bulunmuştur. Kolonoizasyon seviyelerini etkileyen faktörler sebze türüne göre değişmektedir. Çalışma sonucunda doğrudan tohum kontaminasyonuna, kıyasla kirli suda daha yüksek seviyelerde meydana gelebilecek şekilde kirlenme olduğu, aşılama dozu, çevresel faktörler, nem ve bitki yetiştirme substratıda kolonizasyon seviyesini etkilediği belirtilmiştir.

Hidroponik olarak yetiştirilebilen mikro filizlerin popülaritesi artmasına rağmen mikrobiyolojik güvenlikleriyle ilgili bilgi eksikliği bulunmaktadır. Wang vd. (2016) tarafından insan norovirüsünün köklerden mikro filizlerin yenilebilir dokularına içselleştirilebilme kabiliyeti açısından yapılan çalışmada; yeterli dezenfeksiyon olmadan devridaim suda virüs sağkalımı değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, suya aşılama virüsünün mikro filizlerin kökleri üzerinden

yenilebilir dokulara alındığı görülmüştür. Virüslerin ürün içerisine içselleştirilmesi, bunların çıkarılması veya etkisiz hale getirilmesi daha zor olacağından potansiyel bir risk oluşturduğu belirtilmiştir.

Xiao vd. (2015a) yaptıkları çalışma ile, torf ve hidroponik üretim sistemlerinde yetiştirilen mikro filizlerde bakteri bağlanma, iletim ve *E. coli* O157:H7'nin suni olarak kontamine turp tohumları ile yetiştirilen mikro filizlerdeki büyüme ortamlarındaki dağılımı incelenmiştir. Ekimden 7 gün sonra hasat edilen mikro filizlerin yenilebilir ve yenilmeyen kısımları üzerinde *E. coli* O157:H7 popülasyonları incelendiğinde; turp mikro filizlerinin, hidroponik üretim sisteminin (5.3 log₁₀ CFU/g) torf ortamına (3.6 log₁₀ CFU/g) oranla daha büyük popülasyonlar içerdiği görülmüştür. Araştırmacılar, toprak karışımının hidroponik ortamla karşılaştırıldığında *E. coli*'nin büyümesini engelleyen rekabetçi bir mikroflora olabileceğini öne sürmektedirler. Ayrıca ve her iki üretim sisteminde de bitkinin farklı kısımları incelenmiş ve *E. coli* O157:H7 ile kirlenmiş tohumların yenilebilir parçaların da dahil olduğu tüm bitkinin sistematik kirlenmesine ve hidroponik suyun kirlenmesine yol açarak bitkinin büyüme süresince hayatta kaldığı görülmüştür.



Şekil 1.6. Turp mikro filiz bitkisinin 7 günlük bir diseksiyon diyagramı (Xiao vd., 2015a)

Mikro filizlerin popüleritesi, yeni mutfak ürünleri olarak kullanımın artması ve kısa raf ömrüne sahip farklı mahsul türlerinin bu olgunlaşmamış fidelerinin sağlık yararları nedeniyle artmaktadır (Mir vd., 2017; Riggio vd., 2019; Treadwell vd., 2010; Xiao vd., 2012; Xiao vd., 2015a). Mikro filiz üretim sırasındaki uygulamalar, bitki yüzey morfolojisine, bitkinin metabolik fonksiyonlarına, büyüme malzemelerinin uygulanmasına ve kullanımına bağlı olarak mikro filiz kirlenmesine neden olabilir. Mikro filizler fekal materyal veya kontamine olmuş tarım suyu ile

kirlendikten sonra insan patojenleri için elverişli koşullar sağlayabilir (Brandl, 2006). Mikro filizlerde hasat sonrası işleme sırasında oluşacak doku hasarı patojen kontaminasyonunu kolaylaştırabilir. Bitkisel ürünlerde yetersiz işçi hijyeni, el ile hasat edilen ürünler için insan patojenleri tarafından ürünün kontaminasyonuna katkıda bulunan önemli bir faktördür. Özellikle işçi ellerinden gıdalara bulaşan kirletici maddelerin ana kirletici olduğu bilinmektedir (Riggio vd., 2019).

Yapılan çalışmalarda, mikro filizlere gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilen *E. coli* O157:H7 patojeninin kontamine tohumlardan (Xiao vd., 2014c), sulama suyundan (Xiao vd., 2015a), kullanılan yetiştirme ortamından, çalışan işçilerden vb. aşamalardan geçebildiği belirtilip patojenik bakterilerin, mikro filiz çimlenme ortamında çoğalabildiğini göstermiştir. Filizlenme koşulları bakteri üremesine elverişlidir ve *E. coli*'nin filiz üretimi sırasında filizlerin görünümünü olumsuz yönde etkilemeden 7 log CFU/g'yi geçebileceği bildirilmiştir (Taormina vd., 1999). Yıkama vb. uygulamalar ile bakterilerin uzaklaştırılması bitki yüzeyine tutturulduktan sonra pratik olarak zordur (Castillo vd., 2014). Tohum ve mikro filizlerin klorlu su veya diğer dezenfektanlarla işlenmesi etkili olmasına rağmen patojenleri tamamen ortadan kaldıramaz (Taormina vd., 1999). Bozulma ve raf ömrü, patojenler tarafından kirlenme ve hasat sonrası depolama koşulları ile bağlantılı olabilir (Gao vd., 2016; Kou vd., 2013; Kou vd., 2015; Xiao vd., 2014b). Farklı büyüme koşulları ve çoğu durumda köklerin tüketilmemesi nedeniyle, mikro filizlerin yetişkin türlerine göre kirlenmeye daha az duyarlı oldukları kabul edilir (Treadwell vd., 2010).

Mikro filiz tüketimi ile ilgili bir salgın veya hastalık bildirilmemesine (Riggio vd., 2019) rağmen taze ürünler ve filizlerle ilgili hastalıklar, mikro filizlerin tüketimi ile ilgili güvenlik endişelerini arttırmaktadır. Ayrıca mikro filizlerin mikrobiyolojik güvenlik riskleri ile ilgili bilimsel bilgi ve yönetmelik eksikliği bulunmaktadır. Bununla birlikte mikro filizler, filizler gibi çiğ olarak tüketilen ve hızlı büyüyen ürünler olduğundan, hasat öncesi veya hasat sonrası kaynaklardan kaynaklanan benzer mikrobiyal kontaminasyon riskleri, mikro filizlerin ekiminde, toplanmasında ve pazarlanmasında mevcut olabilir (Reed vd., 2018). Bu açıdan riski hafifletmek için filizlenmiş tohumlarla aynı şekilde düşünülmesi gerektiği görülmüştür (Wright ve Holden, 2018). Yapraklı yeşil sebzeler ve filiz güvenliği yoğun olarak incelenmesine rağmen mikro filizler ile ilgili özellikle gıda güvenliği riski üzerine yeterince çalışma mevcut değildir (Riggio vd., 2019). Bu açıdan bu çalışmanın temel amacı, patojenik ve patojenik olmayan *Escherichia coli*'nin sprey ve taban sulanan torf ve perlit ortamında yetişen marul ve turp mikro filizlerine transfer potansiyelini değerlendirmektir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada mikro filiz türü olarak balkan marulu ve fındık turpu, yetiştirme ortamı olarak ise genel kullanımlı torf ve bitki besini çözeltisiyle desteklenen perlit ve sulama tipi olarak sprey ve taban (alttan) sulama yöntemleri kullanılmıştır. Kirlenme etkeni olarak naladiksik aside dirençli şiga toksin üreten *E. coli* O157:H7 (STEC) ve jenerik *E. coli* ATCC 25922 bakterileri kullanılmıştır. Çalışmada, *E. coli* ile kirlenmiş yetiştirme ortamlardan üretilen ve hasat edilen mikro filizlerdeki *E. coli* kontaminasyonu ve bu ürünlerin mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi amacı ile toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve toplam maya ve küf sayımı (TMKS) poülasyonları da incelenmiştir. Ek olarak bitki yetiştirme ortamında ve topraksız tarım (Hidroponik sistem) uygulamalarında da kullanılan bitki besini çözeltisinde *E. coli* O157:H7 ve jenerik *E. coli* bakterisinin hayatta kalım durumu incelenmiştir.

Çalışma için gerekli olan malzeme ve ekipman BEBAP 2019/007 numaralı proje kapsamında Bitlis Eren Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından verilen maddi destek ile sağlanmıştır. Mikro filiz örnekleri Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında bulunan bitki yetiştirme odasında yetiştirilip mikrobiyolojik analizler her iki üniversite laboratuvarında da yapılmıştır.

2.1. Materyal

2.1.1. Yetiştirilen Mikro Filiz Türleri

Çalışmada sertifikalı bir satıcıdan satın alınan balkan marul tohumu (886V-lettuce Yedikule-Zengarden) ve fındık turp tohumu (IF-SSTP015-Hazelnut Radish-İntfa Tarım) mikro filiz olarak yetiştirilmiştir. Mikro filiz tohumları kullanılıncaya kadar uygun koşullarda (4 °C'de karanlık ortam) muhafaza edilmiştir.

2.1.2. Kullanılan Bakteriler

Bu çalışmada nalidiksik aside (Nal; Sigma-Aldrich, St Louis, MO) dirençli jenerik *E. coli* (ATCC® 25922™) ve şiga toksin üreten *E. coli* O157:H7 (ATCC® 35150™) kullanılmıştır.



Şekil 2.1. Naladiksik aside dirençli jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7

2.1.3. Kullanılan Bitki Yetiştirme Ortamları

Bitki yetiştirme ortamı olarak tek başına ya da diğer değişik kombinasyonlarla karıştırılarak kullanılan çok çeşitli ortamlar vardır. En yaygın olarak kullanılan organik materyal ise turba yosunu olarak adlandırılan torftur. İnorganik bir materyal olan perlit, topraksız tarım (hidroponik sistem) uygulamalarında bitki besini çözeltisiyle desteklenerek alternatif bitki yetiştirme ortamı olarak kullanılabilir. Bitki besini çözeltisi, birçok bitkinin yetiştirilmesinde ihtiyaç duyulan maddeleri içerdiğinden bitkinin büyümesine ve verimine katkı sağlayan karışımlardır (Bolat ve Kara, 2017). Hidroponik sistemde önemli besinlerin hepsi besin çözeltisi yoluyla bitkiye verilmektedir. Bu çalışmada; bitki yetiştirme ortamı olarak torf ve bitki besini çözeltisiyle desteklenen perlit sertifikalı bir firmadan satın alınıp kullanılmıştır.

Torf ya da diğer adıyla turba toprağı, nemli ve çok yağış alan yaz sıcaklarının düşük olduğu yörelerde bataklık ve benzeri su altındaki arazilerde yetişen bitkilerin, su altında hava ile ilişkisi kesilmiş bir ortamda yıllarca çürüyüp birikerek kalın yataklar meydana getirmesi sonucu oluşan organik toprak türüdür. Organik bir toprak düzenleyici olan torf, köklerin etrafındaki toprağın hava ve nemliliğini düzenleyerek ideal bir büyüme ortamı sağlar. Torf, saksılı süs bitkileri ve fidan yetiştiriciliğinde çok değerli bir materyaldir. Torfun en önemli özelliklerinden biri de fazla miktarda su absorbe etmesi ve suyu bünyesinde tutabilmesidir (MEGEP, 2008). Çalışmada kullanılan steril torf sertifikalı bir satıcıdan alınmıştır. Satın alınan tek bir steril torf markası (SAB Germany Gartengold®, Syke, Almanya) olup vermikulit, perlit ve humus katkılı hazır saksı bahçe toprağıdır. Çalışmada kullanılan torfun fiziksel ve kimyasal özellikleri aşağıdaki gibidir.

Kullanılan torfun fiziksel ve kimyasal özellikleri;

- Ayrışma derecesi: H2-H5
- Çapı: 0-40 mm
- pH değeri yaklaşık: 5.9-6.4
- Porosity ağırlığı: %90-95
- Hacim ağırlığı (g/L) (Kuru halde yaklaşık): 60-70 g/L
- Organik madde oranı (Kuru halde): %95-99
- Nem oranı: %40-50
- Hava iletkenliği oranı: %16-55
- EC elektrik iletkenliği: %0.30-0.37
- Gübre oranı (NPK fertilizer):1.0 g/L

Perlit, volkanik camın bir türü olup gözenekli bir yapıya sahip, kimyasal reaksiyonlara girmeyen ve suda çözünmeyen bir maddedir. Çok farklı alanlarda kullanılan perlitin %10'u tarım sektöründe kullanılmaktadır. Perlitin en önemli özelliği bünyesine aldığı suyu uzun süre tutmasıdır. Perlit, tarım toprağının fiziksel özelliklerini artırıcı "substrat" maddesi olarak kullanıldığında topraktaki su kaybını azaltarak ortamın nemini korumakta, gözenekli yapısı nedeniyle toprağın havalanmasını sağlamakta, böylece bitkiler için en uygun üreme ve büyüme ortamını oluşturmaktadır. Bu özellikleriyle perlit bahçelerde, seracılıkta, fide yetiştirmede, organik ve kültür tarımında yaygın olarak kullanılmaktadır. Perlit aynı zamanda topraksız tarım (hidroponik) sistemlerde de kullanılmaktadır. Pek çok dış ülkede %95'lere varan oranlarda topraksız tarım uygulamaları görülmektedir. Bu uygulamalarda perlit tek başına kullanılabilirdiği gibi torf, kum, ağaç kabuğu vb. diğer harçlar ile de karıştırılabilmektedir (Yıldız, 2014). Çalışmada kullanılan steril perlit sertifikalı bir satıcıdan (Mita Tarım, Türkiye) alınmıştır. Satın alınan tek bir steril perlit markası olup bitki besini ile desteklenerek kullanılmıştır. Kullanılan perlit; pH değeri: 6.5-7.5, yoğunluk: 1kg/20 Lt, tane çapı: 3-6 mm, ısı iletim katsayısı: 0.040-0.045 Kcal/mhC özelliklere sahiptir. Perlit bitki besiniyle desteklenerek kullanılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan bitki besini çöeltisi sertifikalı bir satıcıdan (TARTES) satın alınmıştır. Bitki besin çöeltisi, iki çöeltinin (çöelti A ve B) karışımından oluşmaktadır. Üreticinin talimatlarına göre 2 mL A besini ve 2 mL B besini karıştırılıp 1 Lt saf suya eklenmiştir. Birinci çöeltinin (A) bileşimi; %1.6 amonyum (NH₄), %8.7 nitrat (NO₃), %7.5 suda çözünür potasyum oksit (K₂O), % 8.6 kalsiyum ve % 0.3 ferrodietilentriaminepentaasetik asit (Fe-DTPA) içermektedir. İkinci çöelti (B) bileşimi; %2.1 nitrat (NO₃), % 6.4 suda çözünür fosfor pentoksit (P₂O₅), % 11.6 suda çözünür potasyum oksit (K₂O), % 1.6 magnezyum, % 0.1 çinko ve manganez,

%0.03 bohriyum ve %0.004 molibden içermektedir. Hazırlanan bitki besini çözeltisi belirli aralıklar ile (2 veya 3 sulamada bir) perlit yetiştirme ortamına verilmiştir.

2.1.4. Kullanılan Bitki Yetiştirme Odası

Mikro filizler, yetiştirme ortamları ve bitki besini çözeltisi Muş Alparslan Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında bulunan bitki yetiştirme odasında bekletilmiş veya yetiştirilmiştir. 16 m²'lik alana ve 2.5 metre yüksekliğe sahip bu oda flüoresan lambalar ile aydınlatılmaktadır. Flüoresan lambalar yaklaşık 400 µmol/m² (C.E.M. DT-1309 Luxmeter, Shenzhen, Çin) civarında bir beyaz ışık ışımasıyla günde 12 saat olacak şekilde ortamı aydınlatmaktadırlar.



Şekil 2.2. Bitki yetiştirme odası

2.2. Yöntem

Çalışmada seçilen ekim alanları (torf ve perlit) naladiksik aside dirençli hale getirilen *E. coli* bakterileri ile ayrı ayrı kirletilmiştir. Ardından balkan marulu ve fındık turpu bu ortamlara ekilip, farklı sulama yöntemleri kullanılarak yetiştirildikten sonra bitkinin kök ve yenilebilir kısımlarından örnekler alınıp, jenerik *E. coli*, *E. coli* O157:H7, TAMB ve TMKS popülasyonlarının belirlenmesi için mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Ayrıca yetiştirme ortamları ve bitki besini çözeltisi naladiksik aside dirençli hale getirilen *E. coli* bakterileri ile ayrı ayrı kirletilip aynı koşullarda bekletildikten sonra, jenerik *E. coli*, *E. coli* O157:H7'nin sağ

kalımını belirlemek için 0., 1., 3., 5., 7., 14. ve 28. günlerde örnekler alınıp, mikroorganizma yükündeki değişimleri izlemek amacıyla mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

2.2.1. *E. Coli* Bakterilerinin Naladiksik Aside Dirençlerinin Artırılması

Çalışmada kullanılan jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 bakterileri, Parnell vd. (2005) tarafından ayrıntılı olarak tarif edilen aşamalı bir prosedür izlenerek 50 µg/mL naladiksik aside dirençli hale getirilmiştir. Öncelikle naladiksik asit stok çözeltisi (5.000 µg/mL) stok çözeltilerde tarif edildiği şekilde hazırlanmıştır. Çözelti için; 10 mL saf suya 0.5 g naladiksik asit eklenip, iyice karıştırıldıktan sonra kullanılıncaya kadar karanlık ortamda bekletildi. Ardından TSB eklenmiş 10 mL'lik TSB tüpleri otoklavda steril edilip soğutudu. Jenerik *E. coli* bir TSB tüpüne, *E. coli* O157:H7 başka bir TSB tüpüne ayrı ayrı inoküle edilip 24 saat ve 35 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon işleminin ardından bu tüplerden 100 µL inoculum alınıp 20 µL naladiksik asit eklenen 10ml'lik TSBN tüplerine ayrı ayrı aktarılıp 24 saat ve 35 °C'de tekrar inkübe edildi. İnkübasyon işleminin ardından bu tüplerden 100 µL inoculum alınıp 40 µL naladiksik asit eklenen 10mL'lik TSBN tüplerine ayrı ayrı aktarılıp 24 saat ve 35 °C'de tekrar inkübe edildi. Bu işlem aşağıdaki çizelgeyi takiben artan naladiksik asit konsantrasyonlarına seri maruz kalmaya bırakılarak devam ettirildi.

Çizelge 2.1. Naladiksik asit direnç protokolü tablosu

Gün	µl NA	TSB
1. Gün	20	10 mL
2. Gün	40	10 mL
3. Gün	80	10 mL
4. Gün	160	10 mL
5. Gün	320	10 mL
6. Gün	640	10 mL
7. Gün	1280	10 mL
8. Gün	2500	10 mL
9. Gün	TSAN (50 µg/mL NA) üzerine ekim ve 24 saat ve 35 °C	
10. Gün	Dondur ve kültür koleksiyonuna yerleştir	

2.2.2. Besiyerleri, Naladiksik Asit Eklenmiş Besiyerleri ve Peptonlu Su Hazırlanması

Çalışmamızda Tryptic Soy Agar (TSA), naladiksik asit eklenmiş TSA (TSAN), Tryptic Soy Broth (TSB), naladiksik asit eklenmiş TSB (TSBN), tartarik asit eklenmiş Potato dextrose agar (PDA), naladiksik asit eklenmiş Sorbitol MacConkey Agar (SMACN) besiyerleri ve peptonlu su üretici talimatlarına göre hazırlanıp kullanılmıştır.

TAMB sayımı için TSA (TSA, 50 µg/mL; Biolife; Milan, İtalya) hazırlanmıştır. Besiyeri için 750 mL saf suya 30 g TSA besiyeri eklenip iyice karıştırıldıktan sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Otoklav sonrasında 50-55 °C'lik su banyosunda soğutulan agar, petri kaplarına yaklaşık 15 mL/petri olacak şekilde dökülüp ardından oda koşullarında soğumaya bırakıldı. Mikro filiz, ortam ve bitki besininde *E. coli* O157:H7 ve jenerik *E. coli* tespiti için naladiksik asit eklenmiş (TSAN) besiyeri kullanılmıştır. TSAN için üstte anlatıldığı şekilde hazırlanan 1000 mL TSA besiyeri 50-55 °C'lik su banyosunda bekletildikten sonra önceden hazırlanmış olan naladiksik asit stok çözeltisinden 10 mL eklenip karıştırılmıştır. Ardından 50 µg/mL nihai konsantrasyon olacak şekilde besiyerlerine dökülüp oda sıcaklığında karanlık ortamda soğumaya bırakılmıştır.

STEC zenginleştirmede besi yerleri olarak çoğunlukla SMAC, TSB, *E. coli* broth, enterohemorajik *E. coli* broth, buffered peptone water (BPW) ve brain heart infusion broth kullanılmaktadır (Hussein ve Omaye, 2003). TSB (TSB, 50 µg/mL; MerckKGaA, Darmstadt, Almanya) besiyerleri hazırlanmıştır. TSB 30.0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde karıştırılarak eritilmiştir. Ardından pipet ile 10 mL'lik TSB tüplerine aktarıldıktan sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip kullanılıncaya kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Koloni tespit edilememesi durumunda zenginleştirme işlemi için çift mukavemetli TSB hazırlanmıştır. Çifte konsantrasyonlu TSB (60.0 g/L) normal TSB ile aynı yöntem kullanılarak hazırlanmıştır. Naladiksik asit eklenmiş TSBN hazırlanması için ise TSB 30.0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde karıştırılarak eritilmiştir. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip 50-55 °C'lik su banyosunda bekletildikten sonra 10 mL naladiksik asit stok çözeltisi eklenip karıştırıldı. Ardından steril pipet ile 10 mL'lik TSB tüplerine aktarılıp kullanılıncaya kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

TMKS için tartarik asit eklenmiş PDA, hazırlanmıştır. PDA 39.0 g/L olacak şekilde damıtık su içinde karıştırılarak eritilmiştir. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip, 50-55 °C'lik su banyosunda bekletildikten sonra %10'luk tartarik asitten 14 mL stok çözeltisi eklenip karıştırıldı. Ardından petri kaplarına yaklaşık 12.5 mL/petri olacak şekilde dökülüp oda koşullarında soğumaya bırakılmıştır.

E. coli serotipleri sorbitolü fermente edebildikleri halde *E. coli* O157:H7 serotipi sorbitolü fermente edemez. Bundan dolayı *E. coli* O157:H7 izolasyonunda çoğunlukla SMAC kullanılmaktadır (Vernozy-Rozand, 1997). *E. coli* doğrulama için naladiksik asit eklenmiş SMACN (SMACN 50 µg/ mL: Biolife; Milan, İtalya) üretici talimatlarına göre hazırlanmıştır. SMAC 51.6 g/L oranı ile distile su içinde karıştırılarak eritilip ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra 50-55 °C'lik su banyosunda bekletilip, önceden hazırlanmış olan naladiksik asit stok çözeltisinden 10 mL eklenip karıştırılmıştır. Ardından 50

$\mu\text{g/mL}$ nihai konsantrasyon olacak şekilde besiyerlerine dökülüp oda sıcaklığında karanlık ortamda soğumaya bırakılmıştır.

Genel amaçlı seyreltme için peptonlu su çözeltisi hazırlanmıştır. Pepton (Biolife; Milan, İtalya) %0.1 konsantrasyonda olacak şekilde damıtık su içinde eritilip ve amaca uygun olarak tüplere (9 mL) ve/veya erlenlere dağıtılıp, otoklavda 121 °C'de 15 dakika sterilize edildi. Sterilizasyon işleminin ardından kullanılmaya kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.3. Örneklerin Aşılama Hazırlanması

Derin dondurucuda -80 °C'de saklanan donmuş *E. coli* suşları kültürlerini aktive etmek için TSAN üzerine ekim yapılmıştır. Ekim yapılan jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 bakterileri 35 ± 2 °C'de 24 ± 2 saat süreyle inkübe edilerek aktif hale getirilmiştir. Aktive edilmiş *E. coli* suşlarının tek bir kolonisi alınarak naladiksik asit ile hazırlanan TSBN içine aşılanmıştır. Ardından 35 ± 2 °C'de 18 saat süren inkübasyon işlemi ile mikroorganizmaların sıvı besiyerinde çoğalmaları gerçekleştirilmiştir. Aktivasyon işleminin ardından bu ortamdan 100 μL TSBN'li kültür alınıp, 10 mL TSBN besiyeri içeren 15 mL steril santrifüj tüplerine (LABSOLUTE®, Almanya) tekrar inoküle edilip 35 ± 2 °C'de 18 saat boyunca tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon işleminin ardından hücreler, $3030 \times g$ 'de 10 dakika boyunca santrifüjleme işlemine (ThermoScientific, Labofuge 200 Masaüstü Santrifüj, Almanya) tabi tutularak süpernatanın 10 mL %0.1 pepton suyla değiştirilmesiyle iki kez yıkanmıştır. Yıkama aşamasından sonra, 10^9 - 10^{10} CFU/mL arasında konsantrasyona sahip hücreler, 5 mL pepton su içinde yeniden süspansiyon edilmiştir. Hücrelerin süspansiyonu, istenen konsantrasyonda (10^7 - 10^8 CFU/mL) inokulum elde etmek için 45 mL pepton suda seyreltilmiştir. Ardından kullanılmaya kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.2.4. Mikro Filiz Örneklerinin Hazırlanıp Yetiştirilmesi, Bitki Yetiştirme Ortamının ve Bitki Besini Çözeltisinin Mikrobiyolojik Analiz İçin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan bitki yetiştirme ortamları sertifikalı bir satıcıdan satın alınmıştır. Ardından satın alınan torf ve perlit, 400 mL'lik stomacher torbalarının (BagLight®, Interscience, Saint Nom, Fransa) içerisine 200 mL hacminde her bir örnek için ayrı ayrı konulmuştur. Torf ortamına steril damıtılmış su, perlit ortamına ise bitki besini çözeltisi ıslatma amacıyla eklenmiştir. Islatma işleminde, torf için 25 mL damıtılmış su, perlit için 50 mL bitki besini çözeltisi kullanılmıştır. Ardından her bir ortamda 10^5 - 10^6 CFU/g bir nihai konsantrasyon elde etmek için

her bir torbaya 2 mL inokulum eklenmiştir. Aşılana bitki büyüme ortamı, iki dakika boyunca elle karıştırılmıştır. İyice karıştırılan ortamlar 375 mL'lik kapaksız şeffaf kaplara 2-5 cm yükseklikte olacak şekilde aktarılmıştır.

Her bir kaba yaklaşık 150 mL inokule edilmiş torf veya perlit ayrı ayrı konulmuştur. Ardından her bir kaba yaklaşık 200-250 adet balkan marulu (*Lactucasativa*) veya 100 adet fındık turpu (*belleradishes*, *Raphanussativus*) tohumları serpilmiştir. Her bir örnekten a,b,c,d,e,f olmak üzere 6 paralel olacak şekilde toplamda 96 adet örnek hazırlanmıştır (s = 6).

Kalan aşılama torf ve perlit (yaklaşık 50 mL) tohumları örtmek için kullanılmıştır. Ardından ortamlara su verilmiştir. Çalışmada iki farklı sulama yöntemi kullanılmıştır. Sprey sulama için plastik kaplara bir işlem yapılmazken, taban (alttan) sulama için akvaryum hortumu bitki yetiştirme kabının içinde yuvarlanmış olarak kullanılmıştır.



Şekil 2.3. Perlit ortamına ekilen turp ve marul tohumları (Taban sulama)



Şekil 2.4. Torf ortamına ekilen turp ve marul tohumları (Sprey sulama)

Bu çalışmada bitki yetiştirme ortamı olarak torf ve bitki besiniyle desteklenmiş perlit kullanılmıştır. Aynı işlemler tohumlanmamış ortamlar (torf ve perlit) kullanılarak aynı koşullarda jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin hayatta kalmasını izlemek için hazırlanmıştır. Kullanılan ortamlar (torf ve perlit) 200 mL olacak şekilde stomacher torbalarına konulup ısılatılmıştır. Ardından naladiksik aside dirençli hale getirilmiş jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 bakterileri ile ayrı ayrı her bir ortamda 10^5 - 10^6 CFU/g nihai konsantrasyon elde etmek için 2 mL inokulum eklenmiştir. İnokulasyonu sonucunda ayrı ayrı şeffaf kaplara konularak örnekler hazırlanmıştır. Bitki yetiştirme ortamı için a,b,c olmak üzere 3 paralel yapılmıştır. Toplamda 24 adet örnek hazırlanmıştır.

Ek olarak benzer işlemler bitki besini çözeltisi için de gerçekleştirilmiştir. Perlit takviyesi için kullanılan bitki besini çözeltisinde jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin hayatta kalmasını izlemek için bitki besini çözeltisi hazırlanmıştır. Bitki besini çözeltisi (1 Lt saf su+ 2'şer mL bitki besini A ve B) analizi için temin edilen 100 mL'lik steril polipropilen kaplara 100 mL bitki besini çözeltisi eklenmiştir. Ayrıca karşılaştırma amaçlı olarak steril polipropilen kaplara 100 mL steril peptonlu su eklenip aynı ortamda tutulmuşlardır. Her bir kaba 10^5 - 10^6 CFU/g nihai konsantrasyon elde etmek için 1 mL inokulum aşılanıp bitki yetiştirme odasında aynı şartlarda tutulmuştur. Bitki besini çözeltisi için a, b, c olmak üzere 3 paralel yapılmıştır. Toplamda 63 adet örnek hazırlanmıştır.

Naladiksik aside dirençli jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 bakterileri ile ayrı ayrı kirletilen mikro filiz ekili ortamlar, tohumlanmamış ortamlar ve bitki besini çözeltisi günde 12 saat olmak üzere yaklaşık $400 \mu\text{mol}/\text{m}^2$ civarında ışık ışımasıyla beyaz flüoresan ışığa maruz bırakılmak üzere bitki yetiştirme odasına bırakılmıştır.



Şekil 2.5. Bitki yetiştirme odasında örneklerin bekletilmesi

Mikro filiz ekili örneklerin çimlenebilmesi için tüm örnekler bitki yetiştirme odasında 3 gün oda sıcaklığında karanlık ortamda tutulmuştur. Ardından tüm örnekler 4. günden itibaren beyaz flüoresan ışığa maruz bırakılmıştır. Bitki yetiştirme ortamları ve mikro filiz ekili ortamlar çimlenmeden sonra taban ve spreysel sulama olacak şekilde her gün doygunluğa gelecek şekilde sulanmıştır. Taban sulamada kapların içine yerleştirilen akvaryum hortumuna şırınga ile su verilirken, spreysel sulama için püskürtücü uygulanmıştır. Ayrıca perlit ortamı için 2-3 sulamada bir bitki besini çözeltisi uygulandı. Tohumlanmamış ortamlar da aynı rutinde sulandı. Bitki büyüme odasının sıcaklığı ve bağıl nemi bir veri kaydedici ile ölçülmüştür (Loyka® Instruments, Çin).

2.2.5. Mikro Filiz Örneklerinin Toplanması ve Tüm Örneklerin Mikrobiyolojik Analizi

Yetiştirilen mikro filiz örneklerinin hasat zamanı, gerçek yaprakların büyümesine ve büyüklüğüne göre belirlenmiştir. Marul örnekleri, perlit yetiştirme ortamında yetiştirilen örnekler için 17. günde ve torfta yetiştirilen örnekler için 21. günde toplanmıştır. Turp örnekleri, her iki büyüme ortamında da 10. günde toplanmıştır. Mikro filizler ikinci filizlerinden itibaren hasat edilip kök ve gövdeye ayrı ayrı analiz yapılmıştır. Tohumlu bitki büyüme ortam örneklerinden 10 g ve bitki büyüme besin çözeltisi numunelerinden 1 mL alınıp 0., 1., 3., 5., 7., 14. ve 28. günlerde mikrobiyolojik analiz yapılmıştır.



Şekil 2.6. Fındık turpu mikro filizi



Şekil 2.7. Balkan marulu mikro filizi

Her bir mikro filiz örneğinin yenilebilen kısmından 5 g ve yenilemeyen kısmından 2 g numune alınmıştır. Yenilebilen kısımdan alınan numuneler 6 paralelin tamamından olacak şekilde, steril makas ile büyüme ortamı yüzeyinin 1-2 cm yukarisından kesilip steril torbalara konulmuştur. Steril torbalara konulan örneklere gövde için 45 mL, kök için 18 mL peptonlu su eklenmiştir. Ardından bu örnekler el ile yaklaşık iki dakika boyunca çalkalanmıştır.

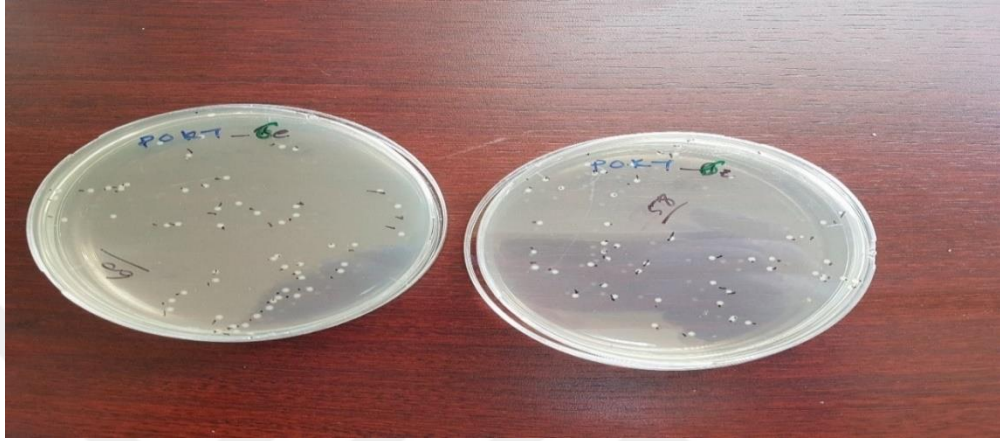


Şekil 2.8. Balkan marulu peptonlu su eklenmiş gövde ve kök örnekleri

2.2.5.1. Mikro Filiz Örneklerinde Jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin belirlenmesi

Örneklerden belirli oranlarda dilisyonlar hazırlanarak daha önceden hazırlanmış ve numaralandırılmış TSAN üzerine ekim yapılarak jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonları aranmıştır. Bu işlemde düşük hücre konsantrasyonu beklendiğinden, tespit limitini 10^{-1} CFU/g

başlangıç konsantrasyonundan başlanarak 4 besiyerinin her birine 0.25 mL ekim yapılmıştır. Ayrıca kök örneklerinde populasyon yoğunluğuna göre 10^{-2} CFU/g, 10^{-3} CFU/g, 10^{-4} CFU/g, 10^{-5} CFU/g konsantrasyonlarında dilisyonlar hazırlanıp her bir konsantrasyon için 2 besiyerine her dilüsyondan 0.1 mL ekim yapılmıştır. Tüm besiyerleri 35 ± 2 °C'de 24 ± 2 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminin ardından sayılabilen koloniler sayılıp kaydedilmiştir.

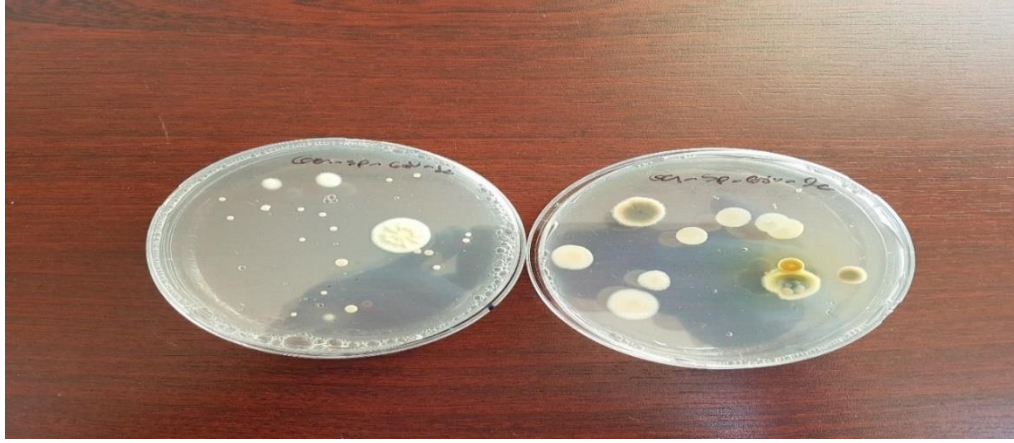


Şekil 2.9. *E. coli* O157:H7 kolonilerinin sayımı

Ayrıca, ekim yapılmış besiyerlerinde koloni tespit edilememesi durumunda zenginleştirme uygulanmıştır. Aynı hacimde çift mukavemetli TSB hazırlanarak peptonlu numune karışımı üzerine ilave edilmiştir. TSB ilave numuneleri, 35 ± 2 °C'de 24 ± 2 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminin ardından bu numunelerden 10 µL alınarak SMACN üzerinde ilmek şeklinde ekilerek 35 ± 2 °C'de 24 ± 2 saat süreyle büyümesi izlenmiştir. Ardından jenerik *E. coli* için kırmızı veya pembe (sorbitol pozitif), *E. coli* O157:H7 için renksiz veya dumanımsı gri renkte (sorbitol negatif) 1-2 mm çapında koloniler pozitif olarak kaydedilmiştir. Pozitif örnekler için tespit sınırı 0.3 log CFU/g'dır.

2.2.5.2. Mikro Filiz Örneklerinde Toplam Mezofil Aerob Bakteri (TMAB) ve Toplam Maya-Küf (TMK) Sayımı

Mikro filiz örneklerinde mikrobiyolojik kalitenin belirlenmesi ve hijyen kontrolü amacıyla TAMB ve TMKS popülasyon durumu da incelenmiştir. Bitki kısımları dahil toplamda 96 örnek TAMB için TSA besiyerine ve TMKS için ise PDA besiyerine uygun dilisyonlarda ekim yapılmıştır. Ekimden sonra TAMB için 35 ± 2 °C'de 48 saat, TMKS için 72-96 saat oda koşullarında inkübasyon süresinden sonra pozitif örnekler için 0.3 log CFU/g tespit sınırı olacak şekilde sayılmıştır.



Şekil 2.10. PDA üzerinde TMK sayımı

2.2.5.3. Bitki Yetiştirme Ortamlarında ve Bitki Besini Çözeltisinde Jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin Hayatta Kalma Sürelerinin Belirlenmesi

Tohumlanmamış bitki yetiştirme ortamları ve bitki besini çözeltisinde inokülasyonun ardından 0., 1., 3., 5., 7., 14. ve 28. günlerde örnekleme yapılmış ve naladiksik asit ilave edilmiş TSAN besiyerlerine uygun dilüsyonlardan ekim yapılarak, 35 ± 2 °C'de 24 ± 2 saat inkübasyon süresi sonunda sayım gerçekleştirilmiştir. Bitki yetiştirme ortamları karıştırıldıktan sonra her birinden 10 g alınarak 90 mL peptonlu su ile tamamlanmıştır. Tespit limitini 10^{-1} CFU/g başlangıç konsantrasyonundan başlanarak 4 besiyerinin her birine 0.25 mL ekim yapılmıştır. Ardından popülasyon yoğunluğuna göre 10^{-2} CFU/g, 10^{-3} CFU/g, 10^{-4} CFU/g, 10^{-5} CFU/g konsantrasyonlarında her bir konsantrasyon için 2 besiyerine her dilüsyondan 0.1 mL ekim yapılmıştır.



Şekil 2.11. Bitki yetiştirme ortamları (Torf ve Perlit)

Aynı işlemler bitki besini için de tekrarlanmıştır. Bitki besinin tespit limitini 10^0 CFU/g başlangıç konsantrasyonundan başlanarak 4 besiyerinin her birine 0.25 mL ekim yapılmıştır. Ardından populasyon yoğunluğuna göre 10^{-1} CFU/g, 10^{-2} CFU/g, 10^{-3} CFU/g, 10^{-4} CFU/g konsantrasyonlarında her bir konsantrasyon için 2 besiyerine her dilüsyondan 0.1 mL ekim yapılmıştır.

Hem bitki yetiştirme ortamları hem de bitki besini çözeltisinden uygun seyreltilerden ekimler yapıldıktan sonra inkübasyon işleminin ardından sayım yapılmıştır. Depolama periyodu sonunda bitki yetiştirme ortamları, besin çözeltisi ve peptonlu su örneklerindeki jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonundaki değişim istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada üç tekrar ($s=3$) yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen tüm sonuçlar istatistiksel analiz amaçlı kaydedilmiştir. Ayrıca TSAN besiyerinde üreyen şüpheli kolonilerden SMACN agarlara öze ile ekim yapıldıktan sonra petri kutuları 35 ± 2 ° C'de 24 ± 2 inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda renksiz olan koloniler sorbitol negatif, pembe-kırmızı koloniler ise sorbitol pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.2.6. İstatistiksel Analiz

Örnekler arasındaki istatistiksel anlamlılık, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey'in HSP testi ile JMP Pro 9.0 (SAS, Cary, NC, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Kritik P değeri 0.05 olarak ayarlanmıştır.

3. BULGULAR VE TARIŞMA

Bu çalışma sonucunda yetiştirilen mikro filiz örneklerinde jenerik *E. coli*, *E. coli* O157:H7, TAMB ve TMKS popülasyonu tespiti analizleri yapılmıştır. Ayrıca yetiştirme ortamlarında ve bitki besini çözeltisinde *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin sağ kalımının belirlenmesine yönelik analizler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar, yorumlama amacıyla kaydedilip istatistiki analiz ile tablo ve grafikler oluşturulmuştur.

3.1. Bulgular

3.1.1. Mikro Filizlerde Jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 Popülasyonu

Mikro filiz örneklerine ekim aşamasında yetiştirme ortamlarına başlangıç seviyesi olarak 10^5 - 10^6 CFU/g konsantrasyonunda jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin popülasyonu inoküle edilmişti. Hasat işleminin ardından mikro filizlerin üzerindeki jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin popülasyonu Çizelge 3.1'de test edilen tüm koşullar için gösterilmektedir.

Çizelge 3.1. Torf ve perlit yetiştirme ortamlarında taban ve sprej sulama ile sulanarak yetiştirilen mikro filizlerin yenilebilir ve yenilemez kısımlarındaki jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonu (ortalama \pm standart sapma, s = 6).

Büyüme Ortamı- Sulama Türü	Mikro filiz Kısmı	Jenerik <i>E. coli</i> (Log CFU/g)		<i>E. coli</i> O157:H7 (Log CFU/g)	
		Marul	Turp	Marul	Turp
Torf-Taban	Yenilebilir	1.59 \pm 1.14 ^{eB}	4.27 \pm 0.51 ^{dA}	<1.00 ^{eC}	4.70 \pm 0.23 ^{cA}
	Yenilemeyen	4.48 \pm 0.51 ^{bcB}	5.96 \pm 0.88 ^{bcA}	2.85 \pm 0.43 ^{bcC}	5.91 \pm 0.30 ^{bA}
Torf-Sprej	Yenilebilir	2.07 \pm 0.58 ^{deB}	4.15 \pm 0.71 ^{dA}	<1.00 ^{eC}	4.48 \pm 0.33 ^{cA}
	Yenilemeyen	4.41 \pm 0.47 ^{cB}	6.12 \pm 0.58 ^{bcA}	3.13 \pm 0.20 ^{bcC}	5.71 \pm 0.40 ^{bA}
Perlit-Taban	Yenilebilir	3.05 \pm 1.04 ^{dB}	5.64 \pm 1.11 ^{cA}	1.83 \pm 0.55 ^{dB}	6.07 \pm 0.20 ^{bA}
	Yenilemeyen	6.31 \pm 0.42 ^{aB}	7.18 \pm 0.39 ^{abAB}	4.51 \pm 0.97 ^{aC}	7.83 \pm 0.48 ^{aA}
Perlit-Sprej	Yenilebilir	3.24 \pm 0.46 ^{cdB}	6.49 \pm 0.89 ^{bcA}	1.55 \pm 0.89 ^{cdC}	5.82 \pm 0.21 ^{bA}
	Yenilemeyen	5.71 \pm 0.19 ^{abC}	8.17 \pm 0.15 ^{aA}	5.38 \pm 0.80 ^{aC}	7.43 \pm 0.17 ^B

Sütünlardaki farklı küçük harfler, popülasyonlarda anlamlı bir fark olduğunu gösterir ($P < 0.05$).
Satırlardaki farklı büyük harfler, popülasyonlarda anlamlı bir fark olduğunu gösterir ($P < 0.05$).

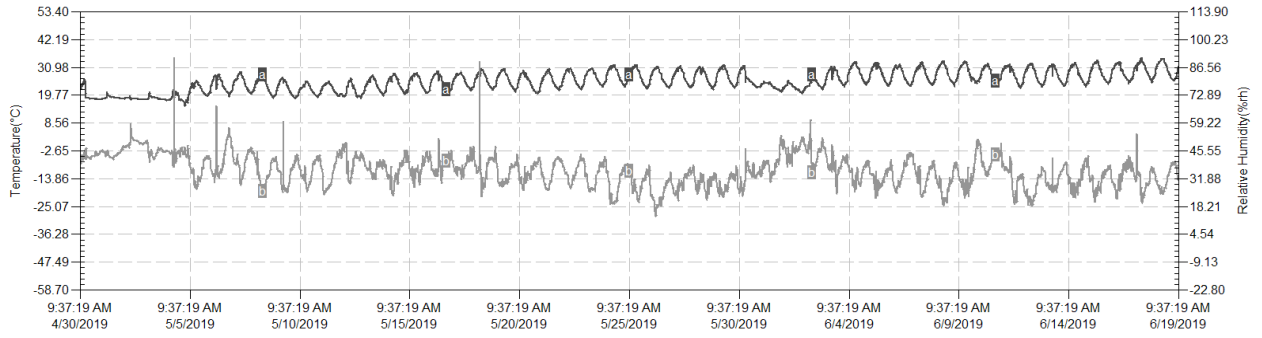
Sonuçlara göre; büyüme ortamı ve mikro filiz türü jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonunu tüm koşullarda genel olarak etkilerken sulama türü özellikle yenmeyen kısımlardaki *E. coli* popülasyonlarını anlamlı bir şekilde etkilememiştir. Sprej sulama ile yetiştirilen marul ve turptaki jenerik *E. coli* popülasyonu hariç mikro filizlerin yenilebilir ve yenilemez kısımlarındaki patojenik ve patojenik olmayan *E. coli* popülasyonları torf ortamında, perlit ortamına göre daha düşük belirlenmiştir ($P < 0.05$). Mikro filiz türü test edilip geri kazanılan

tüm mikroorganizma popülasyonunu etkilemiştir. Tüm koşullarda büyüme ortamı ve sulama tipine bakılmaksızın, mikro filizlerin yenilen ve yenilmeyen kısımlarındaki hem jenerik *E. coli* (0.87-3.25 log CFU/g aralığında) hem de *E. coli* O157:H7'nin (2.05-4.70 log CFU/g aralığında) popülasyonu, turp örneklerine kıyasla, marulda daha düşük tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Patojenik ve patojenik olmayan *E. coli* popülasyonları arasındaki fark, çoğunlukla mikro filiz türüne ve büyüme ortamına bağlı olarak değişmiştir. Perlitteki taban sulamayla sulanan marul yenilmeyen kısımları ve spreylenilen sulamayla sulanan marulun yenilen kısımları hariç, test edilen tüm koşullarda, marul örneklerinin tüm bölümlerinde jenerik *E. coli* popülasyonları, *E. coli* O157:H7 popülasyonlarından daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Marul mikro filizlerinin yenilen kısımlardaki *E. coli* O157:H7 popülasyonları perlit ortamında 1.55-1.83 log CFU/g aralığında olup en yüksek *E. coli* O157:H7 popülasyonu, taban sulama ile sulanan perlit içinde yetiştirilen marul örneklerinde tespit edilmiştir. Torf ortamında yetiştirilen marul örneklerinin yenilen kısmında ise spreylenilen sulama ile yetiştirilen marul örneklerinden birinde hariç *E. coli* O157:H7 popülasyonu bulunmamıştır. Marul mikro filizlerinin yenilmeyen kısımlardaki *E. coli* O157:H7 popülasyonları ise 2.85-5.38 log CFU/g aralığında saptanmıştır. Marul mikro filizlerinin yenilen kısmındaki jenerik *E. coli* popülasyonları torfta 1.59-2.079 log CFU/g, perlitte ise 3.05-3.24 log CFU/g aralığında iken yenilmeyen kısımda 4.41-6.31 log CFU/g aralığında belirlenmiştir. Perlitte spreylenilen sulamayla yetiştirilen turp örneklerinin yenilmeyen kısımları hariç, turp örneklerinde patojenik ve patojenik olmayan *E. coli* popülasyonları arasındaki anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$). Turp mikro filizlerinin *E. coli* O157:H7 popülasyonları yenilen kısımlarında torfta 4.48-4.70 log CFU/g, perlitte ise 5.82-6.07 log CFU/g aralığında olup en yüksek *E. coli* O157:H7 popülasyonu, taban sulama ile sulanan perlit içinde yetiştirilen turp örneklerinde saptanmıştır. Turp örneklerinin yenilmeyen kısmındaki *E. coli* O157:H7 popülasyonu ise 5.71-7.83 log CFU/g aralığında bulunmuştur. Turfta jenerik *E. coli* popülasyonları ise yenilen kısımlarda 4.15-6.49 log CFU/g aralığında iken yenilemeyen kısımlarda 5.96-8.17 log CFU/g aralığında tespit edilmiştir. Sonuç olarak turp örneklerinin yenilen kısmındaki *E. coli* popülasyonu, tüm büyüme ortamlarında ve sulama türlerinde marul örneklerinden daha yüksek saptanmıştır ($P<0.05$).

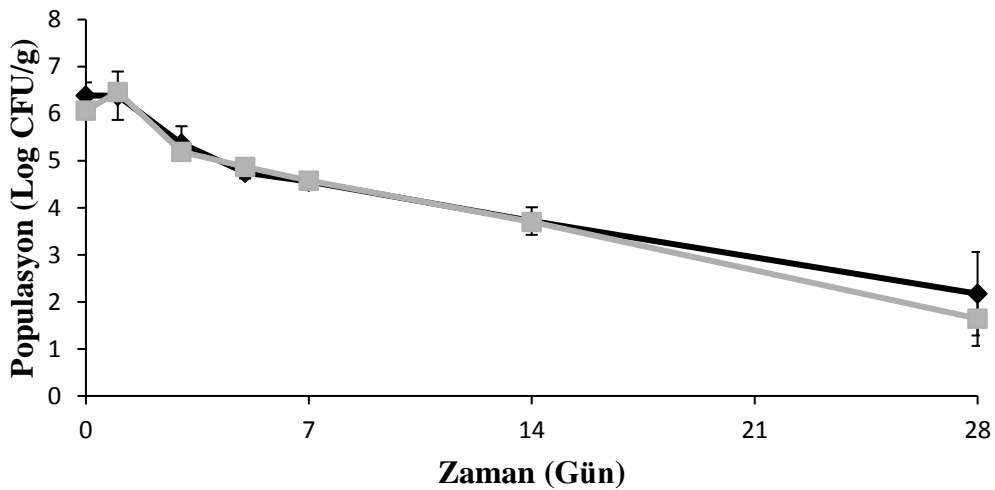
3.1.2. Bitki Yetiştirme Ortamlarında ve Besin Çözeltilerinde Jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin Hayatta Kalması

Tüm örneklerin tutulduğu bitki yetiştirme odasının deney süresi boyunca bağıl nemi ve sıcaklığı ölçülmüş olup ölçüm sonuçları Şekil 3.1'de gösterilmektedir. Ortalama sıcaklık ve bağıl nem sırasıyla 25 ± 7.2 °C ve 35.4 ± 8.0 değerindedir.

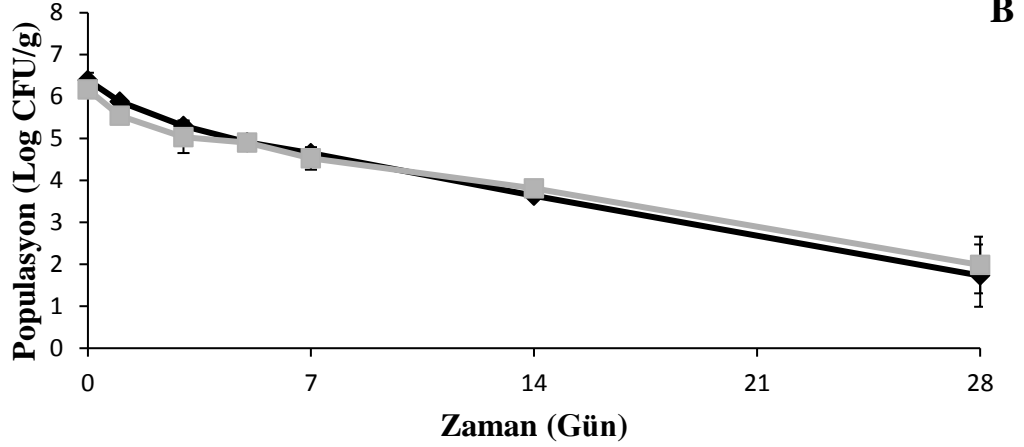


Şekil 3.1. Mikro filiz büyüme odasında ölçülen sıcaklık (a) ve bağıl nem (b) değerleri.

Başlangıçta (0. gün) test edilen tüm mikroorganizma popülasyonu her koşulda 6.0-6.9 log CFU/g arasında olduğu belirlenmiştir. Torf yetiştirme ortamında jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonunun hayatta kalma eğilimleri taban sulama ile sulanan örneklerde Şekil 3.2’de ve spreysel sulama ile sulanan örneklerde Şekil 3.3’te verilmiştir. Torf ortamında taban sulamayla sulanan *E. coli* O157:H7 hariç patojenik ve patojenik olmayan *E. coli* popülasyonları 1. günden itibaren, perlit ortamında ise patojenik ve patojenik olmayan *E. coli* popülasyonları birinci gün 1 log CFU/g log CFU/g artışın ardından düşmeye başlamıştır. *E. coli* popülasyonu her iki sulama türü için 7. gün sonunda torf ortamında 1.8 log CFU/g kadar düşüp 4.55 ± 0.03 log CFU/g seviyelerine gelirken, perlitte ise başlangıç (0. gün) seviyesine yakın değerde kalmıştır. Torf ortamında 28 günlük örnekleme periyodu boyunca jenerik *E. coli* popülasyonunda 4.40 ± 0.2 log CFU/g, *E. coli* O157:H7 popülasyonunda ise 4.30 ± 0.1 log CFU/g toplam düşüşle her iki sulama türünde de benzer sağkalım eğilimleri görülmüştür.

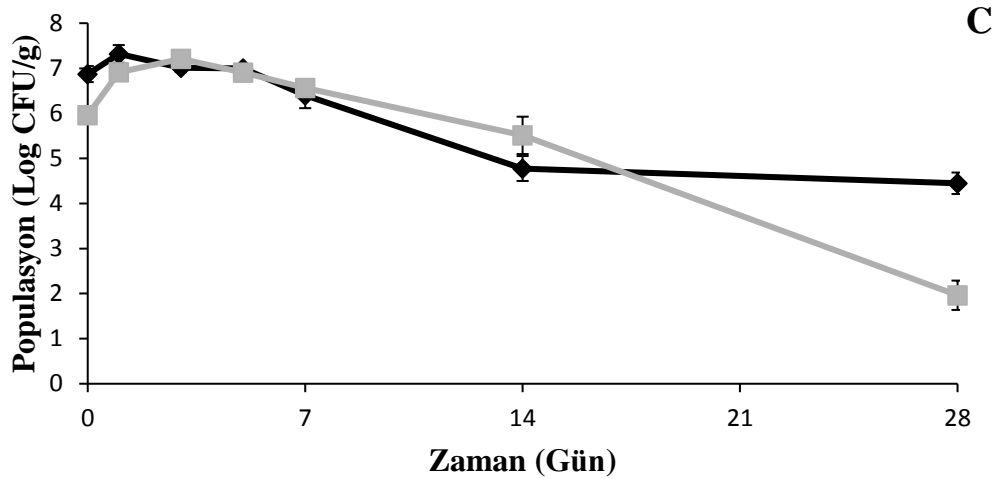


Şekil 3.2. Jenerik *E. coli* (◆) ve *E. coli* O157:H7 (■) bakterilerinin taban sulamayla sulanan torf ortamında hayatta kalması (ortalama \pm standart sapma, $s= 3$).

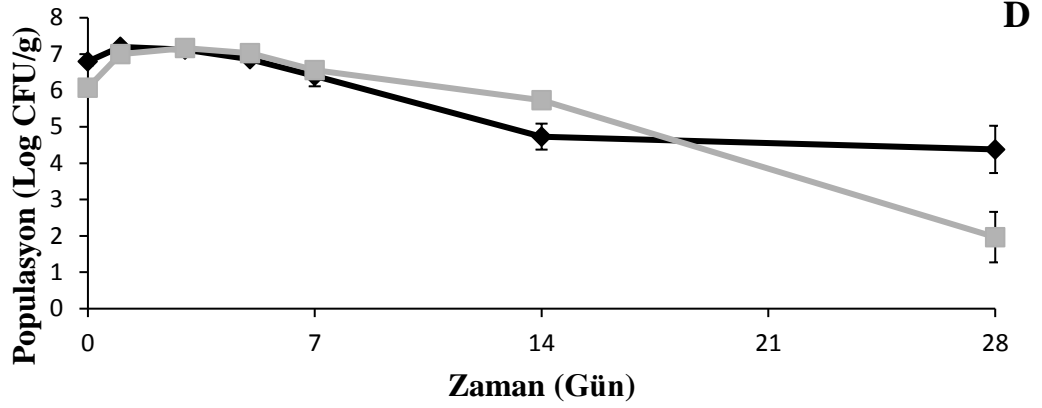


Şekil 3.3. Jenerik *E. coli* (◆) ve *E. coli* O157:H7 (■) bakterilerinin spray sulamayla sulanan torf ortamında hayatta kalması (ortalama \pm standart sapma, $s = 3$).

Perlit yetiştirme ortamında jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonunun hayatta kalma eğilimleri taban sulama ile sulanan örneklerde Şekil 3.4'te ve spray sulama ile sulanan örneklerde Şekil 3.5'te verilmiştir. Perlit ortamında her iki sulama türünde de jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonu 14. güne kadar benzer azalma eğilim göstermiştir. Ancak 28. gün sonunda jenerik *E. coli* popülasyonunda 2.30 ± 0.1 log CFU/g, *E. coli* O157:H7 popülasyonunda ise 4.00 ± 0.1 toplam düşüş meydana gelerek, jenerik *E. coli* popülasyonu her iki sulama tipinde de *E. coli* O157:H7 popülasyonuna göre 2.5 ± 0.1 log CFU/g daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$).



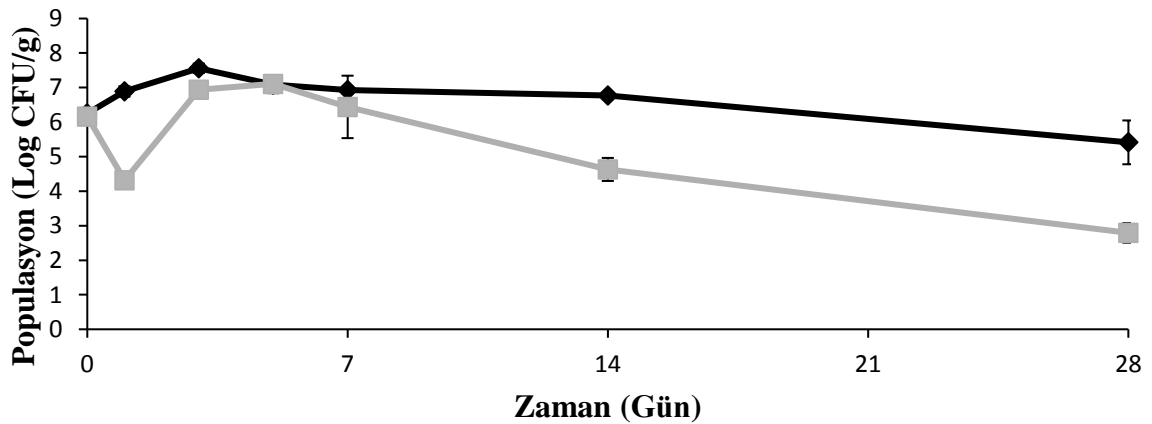
Şekil 3.4. Jenerik *E. coli* (◆) ve *E. coli* O157:H7 (■) bakterilerinin taban sulamayla sulanan perlit ortamında hayatta kalması (ortalama \pm standart sapma, $s = 3$).



Şekil 3.5. Jenerik *E. coli* (◆) ve *E. coli* O157:H7 (■) bakterilerinin spray sulamayla sulanan perlit ortamında hayatta kalması (ortalama \pm standart sapma, $s = 3$).

Genel olarak 28. günün sonunda torf ortamındaki her iki *E. coli* popülasyonu ile perlitteki *E. coli* O157:H7 popülasyonu benzer sağkalım göstermesine rağmen perlitteki jenerik *E. coli* popülasyonundan 2.5 ± 0.2 log CFU/g daha düşük olduğu saptanmıştır. Ayrıca jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 aynı yetiştirme ortamlarında, sulama türünden etkilenmeden benzer hayatta kalma eğilimleri göstermiştir.

Bitki yetiştirme besin çözeltilisinde, jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin hayatta kalma eğilimleri Şekil 3.6'da verilmiştir. Bitki yetiştirme besin çözeltilisinde, jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin hayatta kalma eğilimleri incelenmiştir. Her iki *E. coli* popülasyonunun başlangıç seviyesi 6.0 ± 0.2 log CFU/g idi. *E. coli* O157:H7 popülasyonları, 1. günde 2 log CFU/g azalmasının ardından yükselişe geçmiş ve 5. günün ardından tekrar azalma eğilimine girmiştir. Jenerik *E. coli* popülasyonları ise 3. güne kadar 1.5 log CFU/g artışın ardından düşüşe başlamıştır.



Şekil 3.6. Bitki yetiştirme besin çözeltilisinde jenerik *E. coli* (◆) ve *E. coli* O157:H7 (■) bakterilerinin hayatta kalması (ortalama \pm standart sapma, $s = 3$).

28. gün sonunda jenerik *E. coli* popülasyonları başlangıç seviyesine göre 0.4 log CFU/g azalmayla 5.41 log CFU/g seviyesine gerilerken, *E. coli* O157:H7 popülasyonları ise başlangıç seviyesine göre 3.4 log CFU/g azalmayla 2.8 log CFU/g seviyesine gerilemiştir. Buna göre depolama periyodu sonunda jenerik *E. coli* popülasyonları *E. coli* O157:H7 popülasyonlarına göre bitki besini çözeltisinde 2.6 log CFU/g daha yüksek sağkalım göstererek perlit ortamındaki sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmiştir.

3.1.3. Mikro Filizlerde TAMB ve TMKS Popülasyonu Sayımı

Mikro filizlerdeki TAMB ve TMKS test edilen bütün koşullar için Çizelge 3.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.2. Torf ve perlit yetiştirme ortamlarında taban ve spreylama ile sulanarak yetiştirilen mikro filizlerin yenilebilir ve yenilemez kısımlarındaki toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve toplam maya ve küf sayısının (TMKS) popülasyonu (ortalama \pm standart sapma, s = 6).

Büyüme Ortamı- Sulama Türü	Mikro filiz Kısmı	TAMB (Log CFU/g)		TMKS (Log CFU/g)	
		Marul	Turp	Marul	Turp
Torf-Taban	Yenilebilir	5.45 \pm 0.44 ^d	8.19 \pm 0.49 ^c	1.25 \pm 0.47 ^c	3.42 \pm 0.21 ^{bc}
	Yenilemeyen	7.26 \pm 0.24 ^b	9.36 \pm 0.24 ^a	4.91 \pm 0.26 ^a	3.85 \pm 0.51 ^{abc}
Torf-Sprey	Yenilebilir	5.95 \pm 0.20 ^d	8.29 \pm 0.19 ^c	2.41 \pm 0.35 ^a	3.63 \pm 0.28 ^{abc}
	Yenilemeyen	7.32 \pm 0.47 ^d	8.84 \pm 0.18 ^{ab}	4.80 \pm 0.35 ^a	3.86 \pm 0.52 ^{abc}
Perlit-Taban	Yenilebilir	6.62 \pm 0.46^c	8.32 \pm 0.24^c	3.36 \pm 0.59^b	3.08 \pm 0.22^c
	Yenilemeyen	8.13 \pm 0.16^a	8.19 \pm 0.25^c	4.74 \pm 1.03^a	4.05 \pm 0.78^{ab}
Perlit-Sprey	Yenilebilir	6.99 \pm 0.20^{bc}	8.13 \pm 0.25^c	3.28 \pm 0.50^b	3.79 \pm 0.19^{abc}
	Yenilemeyen	8.28 \pm 0.06^a	8.61 \pm 0.27^{bc}	4.83 \pm 0.27^a	4.54 \pm 0.84^a

Sütunlardaki farklı küçük harfler, popülasyonlarda anlamlı bir fark olduğunu gösterir ($P < 0.05$).

Tüm koşullarda marulun yenilen kısımlarında; TAMB popülasyonu 5.45-6.99 log CFU/g ve TMKS popülasyonu 1.25-3.36 log CFU/g aralığında iken yenilmeyen kısımlarında ise TAMB popülasyonu 7.26-8.28 log CFU/g ve TMKS popülasyonu 4.74-4.91 log CFU/g aralığında bulunmuştur ($P > 0.05$). Torfta spreylama ile sulanarak yetiştirilen örnekler hariç, genel olarak tüm koşullarda perlit içinde yetiştirilen marul mikro filizlerinin yenilen kısımlarındaki TAMB (1.46 log CFU/g'ye kadar) ve TMKS (2.21 log CFU/g'ye kadar) popülasyonu, torfta yetiştirilen TAMB ve TMKS popülasyonlarından daha yüksek tespit edilmiştir ($P < 0.05$).

Tüm koşullarda turp mikro filizlerinin yenilen kısımlarında TAMB popülasyonu 8.13-8.32 log CFU/g ve TMKS popülasyonu 3.08-3.79 log CFU/g aralığında iken yenilmeyen kısımlarında ise TAMB popülasyonu 8.19-9.36 log CFU/g ve TMKS popülasyonu 3.85-4.54 log CFU/g aralığında saptanmıştır. Genel olarak perlit içinde yetiştirilen turp mikro filizlerinin yenilen ve

yenilmeyen kısımlarındaki TAMB ve TMKS popülasyonları ile torfta yetiştirilen TAMB ve TMKS popülasyonları birbirine yakın değerlerde olup aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($P>0.05$).

Tüm büyüme ortamlarında ve sulama türlerinde turp örneklerinin yenilen ve yenilmeyen kısımlarındaki TAMB popülasyonları, marul örneklerinin yenilen ve yenilmeyen kısımlarındaki TAMB popülasyonlarından 2.74 log CFU/g'a kadar daha yüksek bir değere sahipti. TMKS popülasyonlarında tüm koşullarda marul ve turp arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Perlit ortamında taban sulamayla yetiştirilen marul örnekleri hariç olmak üzere, tüm örneklerde yenilmeyen kısımlarda TAMB ve TMKS yenilen kısımlardan ve tüm örneklerde TAMB, TMKS'den yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca genel olarak sprey sulama ile sulanan örneklerdeki TAMB ve TMKS popülasyonları taban sulama ile sulanan örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$).

3.2. Tartışma

Kirlenmiş taze ürün tüketiminden kaynaklanan gıda kaynaklı hastalık yaygın bir olgudur ve önemli ekonomik ve sosyal etkilerle birlikte insan sağlığı üzerinde ciddi etkileri vardır. Taze ürünlerle ilişkili gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan patojenlerin kontaminasyonu için sayısız faktör bulunmaktadır (Alegbeleye vd., 2018). Gıda kaynaklı salgınlara yol açan tüm patojenler, son yıllarda tüketimi artan mikro filizlerin risk değerlendirmesi için potansiyel vektör olarak kabul edilmektedir (Taormina vd., 1999). Gıda kaynaklı patojenlerden biri olan patojen *E. coli*, gıda zehirlenmelerine hatta ölümlere neden olabildiğinden halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Fekal kontaminasyon, *E. coli*'nin kalıcılığına katkıda bulunan en önemli faktör olup *E. coli* gıdalarla veya doğrudan temas ile hayvanlara ve insanlara bulaşabilmektedir (Wasteson, 2002).

Mikro filizler hidroponik sistemlerde, sıg bir toprak veya farklı büyüme ortamı tabakasında korunaklı tesislerde üretilmektedir (Di Gioia vd., 2017; Janovska vd., 2010; Xiao vd., 2015a). Bitki büyüme substratları, mikro filizlerde patojenlerin çoğalmasını veya hayatta kalmasını destekleyebilir. Hidroponik ortamlar katı besiyerine kıyasla bakteriyel kolonizasyona çok daha duyarlı görünmektedir (Wang ve Kniel, 2016; Wright ve Holden, 2018; Xiao vd., 2015a). Mikro filizlerle ilgili olarak kayda geçen herhangi bir salgının bulunmamaktadır ancak mikro filizlere en çok benzeyen ürün olan filiz tüketimi ile ilişkili salgınlara ana kaynağı olarak kirlenmiş tohumlar kabul edilmektedir (Dechet vd., 2014; Liu vd., 2019; NACMCF, 1999; Riggio vd., 2019; Warriner ve Smal, 2014). Mikro filiz tohumları filiz olarak tüketilemez ancak patojenler ile kirlenmiş tohumdan mikro filizlerin yenilebilir kısmına transfer olabildiğinden risk

oluşturmaktadır (Taormina vd., 1999). Bitki yüzeyindeki mikro ortamlar fekal materyalden veya kontamine olmuş tarım suyundan alındıktan sonra insan patojenleri için daha elverişli koşullar sağlayabilir (Brandl, 2006). Patojenik bakteri, yetiştirme ortamına girdikten sonra bitkisel ürünlere kontamine olup bu ürünler üzerinde kolonileşebilir. Yetiştirilme koşullarından dolayı mikro filizler, kontaminasyon riski yüksek olan bitkisel ürünler arasında sayılabilir ve patojenlerin bu hayatta kalma yetenekleri göz önüne alındığında üretimden tüketime kadar gıda güvenliğine önem gösterilmesi gerektiği anlaşılmaktadır (Alegbeleye vd., 2018).

Çalışmamızda, jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin marul ve turp mikro filizlerinin yenilebilir kısmına aktarılması sulama türüne bakılmaksızın değişmiştir. Hara-Kudo vd. (1997) ve Xiao vd. (2015a) tarafından yapılan çalışmalarda; turp filizlerinde ve mikro filizlerinde, *E. coli* O157:H7'nin tohumlar veya hidroponik su ile kontamine olması durumunda bu ürünlerin yenilebilir kısımlarına transfer olabileceği görülmüştür. Çalışmamızda da benzer şekilde, torf ortamında yetişen turp mikro filizlerinin yenilen kısmındaki *E. coli* O157:H7'nin popülasyonu 4.48-4.70 log CFU/g aralığında bulunmuştur. Paralel şekilde turp örneklerinin yenilen ve yenilmeyen kısımlarında hem jenerik *E. coli* hem de *E. coli* O157:H7 popülasyonu perlit ortamında torf ortamına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte iki üretim sisteminde de mikroorganizmaların önemli ölçüde hayatta kaldığı ve çoğaldığı görülmüştür. Torf ortamında yetişen marul mikro filizlerinde, her sulama türü için yapılan altı tekrar örnekte ve bunlar için yapılan zenginleştirmeler dahil, bir zenginleştirme haricinde, bitkilerin yenilebilir kısımlarında *E. coli* O157:H7 mevcut değilken, perlit ortamında yetiştirilen marul örneklerinde *E. coli* O157:H7 popülasyonu bulunmuştur.

Patojenlerin içselleşmesi, doğal olarak açık, hasarlı veya kesilmiş dokulardan bakteri girişinden kaynaklanabilir (Aruscavage vd., 2008; Kou vd., 2015; Yaron, 2014). İçselleştirme fideden olgun bitkiye kadar gerçekleşebilmektedir. *E. coli* O157:H7'nin, kirlenmiş sulama suyu ve gübre bulamacında beş gün yüksek popülasyonlu patojen maruziyetinin ardından kökler yoluyla marul dokularına içselleştirildiğini gözlemlenmiştir (Solomon vd., 2002). *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* spp. hücreleri, hidroponik olarak yetiştirilmiş marul ve turpta dokuz gün sonra tespit edilmiş, ancak tere ve ıspanakta saptanmamıştır (Jablasone vd., 2005). Çalışmamızda jenerik *E. coli* popülasyonu, perlit ortamında yetiştirilen marul mikro filizlerinin yenilebilir kısımlarında 1.17-1.46 log CFU/g arasında torf ortamından daha yüksek bulunmuştur. *E. coli* O157:H7 popülasyonu ise torf ortamında marulun yenilebilir kısımlarında tespit edilemezken, perlit ortamında 1.55-1.83 log CFU/g arasında tespit edilmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde, torf ortamında yetişen marul ve turp örneklerinin yenilen ve yenilmeyen kısımlarında hem jenerik *E. coli* hem de *E. coli* O157:H7 popülasyonu, perlit ortamına göre daha düşük sağkalım

sonuçları ortaya çıkmıştır. Buna göre torfta yetiştirilen marul mikro filizleri daha düşük sağkalım sonuçlarıyla marul bitkilerine daha önce bağlanma ve içselleştirme çalışması desteklenmemiştir. Bu sonuca göre torf ortamındaki muhtemel rekabetçi mikrobiyotanın varlığı, marul bitkisine bakteriyel bağlanmanın zayıf oluşu, soy çeşitliliği ve daha uzun hasat süresi test edilen mikroorganizma popülasyonlarının perlit ortamından daha düşük popülasyonlarda olması ve marulun yenilebilir kısmında *E. coli* O157:H7'nin yokluğunun kısmi nedenleri olabilir. Ayrıca marul örneklerinde tüm koşullarda jenerik *E. coli* popülasyonunun, *E. coli* O157:H7 popülasyonuna göre daha yüksek seviyelerde hayatta kaldığı ancak turp mikro filizlerinde test edilen tüm koşullarda jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonları arasında anlamlı bir fark bulunamadığı görülmüştür. Bu sonuçlar jenerik *E. coli*'nin patojenik *E. coli* için uygun bir gösterge olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Bitkilerde sulama türü, üretimde bakteri bulaşma riskini artırabilecek önemli bir faktördür ve kontaminasyon riskini artırabilmektedir (Painter vd., 2013; Song vd., 2006). Sulama suyu kanallar, hendekler veya borular yoluyla nakliye sırasında patojenleri alır. Solomon vd. (2002), *E. coli* O157:H7'nin, yüzeysel sulamaya kıyasla, sprey sulamadan sonra daha fazla sayıda marul bitkisine transfer olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Painter vd. (2013), damla ve taban sulamanın, spreyli sulamaya kıyasla kontaminasyon oluşturma riskini azalttığını belirtmiştir. Buna göre patojenlerin bitkilere transferini, kontamine olmamış su sıçramaları etkileyebilir. Çalışmamızda mikro filizlere aktarılan jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonu, test edilen mikro filizlerin hem yenilen hem de yenmeyen kısımlarında sulama türünden etkilenmemiştir. Bu sonuç Xiao vd. (2014c) tarafından yapılan ve STEC popülasyonunda yetişen turp mikro filizlerini gözlemlemek için farklı sulama yöntemlerinin kullanıldığı önceki bir çalışmaya benzemektedir. Ayrıca jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7, her iki sulama türü için ekim yapılmamış torf veya perlitte benzer sağkalım göstermiştir. Rhizosphere, mikro filizlerin dış yapraklarına kıyasla daha fazla mikrobiyal büyümeyi desteklemektedir (Xiao vd., 2014c; Wang ve Kneil, 2016). Mikro filizlerin yenmeyen kısımları toprak kısmına denk gelmektedir. Önceki çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda; mikro filizlerin yenmeyen kısımları (rizosferde daha yüksek kolonizasyon olması nedeniyle) büyüme ortamlarına ve yenilebilir kısımlara kıyasla yüksek jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 popülasyonuna sahipti.

Mikro filiz üretiminde toprak ikame sistemleri ve hidroponik sistemlerin kullanılması çok yaygındır. Perlit içinde yetiştirilen mikro filizlerde inoküle edilmiş mikroorganizma popülasyonu, test edilen mikro filizlerin hem yenilebilir hem de yenmeyen kısmında, torf ortamına kıyasla daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Hidroponik sistemler, rekabetçi mikrobiyota eksikliği ve bol su varlığından dolayı mikroorganizmaların hayatta kalmasını ve çoğalmasını destekleyebilir (Xiao

vd., 2015a). Bu çalışmada, doğrudan toprak ikamesi olarak kullanılan saf perlitte patojenik ve patojenik olmayan *E. coli*'nin davranışı mikro filiz üretim sırasında test edilmiştir. Daha önceden perlit, sulu ortamın bakteri üremesine etkisinin belirlendiği bir büyüme substratı olarak kullanılmıştır (Wright ve Holden, 2018). Tohum ekilmemiş torf ve perlit ortamlarında jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin hayatta kalmasını incelediğimiz çalışmamızda; başlangıç popülasyonu her koşulda 6.0-6.9 log CFU/g iken, 28 günlük depolamanın ardından her iki ortamda *E. coli* O157:H7 popülasyonu azalmasına rağmen risk oluşturabilecek seviye ve sürede hayatta kalabildiği görülmüştür. Bu sonuçlar Mukherjee vd. (2006) ve Bezanson vd. (2012) tarafından yapılan *E. coli* O157:H7'nin farklı toprak yapılarında hayatta kalım süreleri ile ilgili çalışmaları desteklemektedir. Ayrıca perlit içinde yetiştirilen mikro filizler üzerinde test edilen jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'deki sonuçlar ile bitki besleme çözeltisi ve aynı çözeltiyle desteklenen perlit ortamında jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin sağkalım eğilimleri benzer özellik göstermiştir. Bu çalışma ile Wright ve Holden (2018) tarafından yapılan sıvı bitki yetiştirme ortamından yüksek düzeyde STEC suşlarının geri kazanıldığı çalışma desteklenmektedir. ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından standart yetiştirme ortamları için test amaçlı geliştirilen en kötü sular (worst-case water) ve tarımsal sular, *Salmonella* spp. ve STEC uzun süre yaşayabilmektedir (Topalcengiz ve Danyluk, 2019; Topalcengiz vd., 2019). Bu durum sulama suyunun kirlenmesinin, mikro filiz üretim sırasında kontaminasyon endişesine neden olabileceği anlamına gelmektedir.

Toplam aerobik mezofilik bakteri popülasyonu (TAMB) ve toplam maya ve küf sayımı (TMKS), torf ortamında yetiştirilen marul mikro filizlerinin yenilebilir kısmında turp mikro filizlerinin yenilebilir kısmına göre daha düşük kalmıştır. Ayrıca TAMB popülasyonunun büyümesini turp mikro filizlerinin yenilebilir kısmı, marul mikro filizlerinin yenilebilir kısmından daha fazla desteklediği görülmüştür. Bu, aynı koşullarda jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7 için elde edilen sonuçlara benzer. Test edilen mikro filizlerin yenilemeyen kısımlarında sayılan TAMB ve TMKS popülasyonları, tüm büyüme ortamları ve sulama türlerinde birbirlerine benzer olmakla birlikte aralarındaki fark en fazla 1.2 log CFU/g seviyesinde olmuştur. Di Gioia vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada, torf ortamının farklı türdeki ortamlar arasında en yüksek TAMB ve TMKS seviyesine sahip olduğunu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada, perlit test edilen büyüme ortamlarından biri değildi. Çalışmamızda perlitin TAMB ve TMKS popülasyonu üzerinde azaltıcı etkisinin olmadığı görülmüştür.

Mikro filizler ile ilgili gıda kaynaklı salgın olmamasına rağmen yapılan çalışmalarda mikro filizlerin gıda kaynaklı hastalıklar açısından filizlerden daha düşük riskli olabileceği, bakteri düzeyi açısından geleneksel sebzelerden daha yüksek olduğu görülmüştür (Chandra vd., 2012). Mikro filizler sebzeler, meyveler ve filizler gibi çiğ tüketilen yüksek riskli mahsullere

benzediğinden mikro filizlerin güvenlik ölçütleri, diğer bütün çiğ tüketilen ürünler olarak Güvenlik Üretimi Kuralı kapsamında ele alınmıştır (Riggio vd., 2019). Güvenlik Üretimi Kuralı, en az iki en fazla dört yıl boyunca kullanılan suyu yirmi kez örneklenerek mikrobiyal su kalitesi profili oluşturulmasını, ayrıca geometrik bir ortalama ($\leq 126 E. coli$) ve istatistiksel bir eşik değerinin ($\leq 410 E. coli$) hesaplanmasını gerekli kılmaktadır (FDA, 2015). Mikro filizlerin hasat zamanı, çiğ tüketilen ortalama bir mahsulden daha kısa olduğu için, bu güvenlik ölçütleri yeterli olmayabilir. FDA, mikro filiz üreticilerini filiz kılavuzlarına uymaya teşvik eder, ancak bu mikro filiz güvenliğini garanti etmez. Bu nedenle İyi Tarım Uygulamaları (GAP) ve İyi Hijyen Uygulamaları (GHP), İyi Üretim Uygulamaları (GMP) ve Kritik Kontrol Noktalarına (HACCP) dayanan kapsamlı bir yaklaşım ile mikro filizlerin kirleticiler tarafından kontaminasyonu azalacaktır (Riggio vd., 2019; Taormina vd., 1999).

Ayrıca mikro filiz üretiminde hayvan gübrelerinden veya diğer kaynaklardan suya fekal kontaminasyon engellenmeli ve taze hayvan dışkılarından elde edilen gübreler kullanılmamalıdır (Turgut, 2015). Bu ürünlerde özellikle keserek hasat, kontaminasyona riskini artırabilir. Buna göre sağlıklı bitkilerin korunması ve hasat zamanı boyunca fiziksel hasarın en aza indirilmesi, mikro filiz gibi taze ürünlerin güvenliğini artırabilir (Riggio vd., 2019). Çalışmamızda da görüldüğü üzere *E. coli* O157:H7 belirli koşullar altında aside tolerans kazanabilir. *E. coli* O157:H7'nin aside tolerans kazanması enfektif dozunun düşmesine ve hastalık yapma etkisinin artmasına neden olmaktadır. *E. coli* O157:H7, uygun koşullarda yapılan pastörizasyon ile ölür ancak ısıl işlem uygulanmadan tüketilen ürünlere *E. coli* O157:H7'yi uzaklaştırılacak bir işlem mutlaka uygulanmalıdır (Turgut, 2015). Gıda kaynaklı hastalık riski düşünüldüğünde özellikle yaşlılar, çocuklar ve bağışıklık sistemi zayıflamış olan kişiler çiğ filiz yememelidir (Taormina vd., 1999).

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Mikro filizlerin genellikle çiğ olarak tüketilmesi ve patojenlerin gelişmesi için uygun ortam sunmasından dolayı *E. coli* kontaminasyonu ve bunun sonucunda gıda kaynaklı hastalıklar açısından bu ürünler risk taşımaktadır. Mikro filizlerde *E. coli* kontaminasyon durumunu incelediğimiz çalışmamızda özetle; jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin kontamine olmuş büyüme ortamından mikro filizlerin yenilebilir kısmına transfer olabildiği görülmüştür. Bununla birlikte rizosfer mikroorganizmaların çoğalmasını ve mikro filizlerin yenilebilir kısımlarına kadar kontaminasyonunu desteklemesinden dolayı kirlenme kaynağı, sulama suyu ve tohumdan daha önemli bir faktör olabilmektedir. Turp mikro filizlerinin marul mikro filizlerine ve perlit ortamının torf ortamına kıyasla daha yüksek potansiyel kontaminasyon riskine sahip olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, patojenlerin topraksız sistemlerde olduğu gibi büyüme ortamlarında da çoğalabildiği görülmüştür. Topraksız sistemlerde kullanılan bitki besini çözeltisinde jenerik *E. coli* ve *E. coli* O157:H7'nin uzun süre hayatta kalabildiği ve popülasyonlarının çok yavaş azaldığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre bitki yetiştirme ortamlarının *E. coli* bakterisi ile kirlenmesi durumunda, mikro filizlerin kısa hasat süresi göz önüne alındığında gıda güvenliği açısından risk oluşturacak sürede ve düzeyde hayatta kalabildiği görülmektedir.

Patojenlerin hayatta kalma yetenekleri, üretimden tüketime kadar mikro filiz güvenliğinin önemini göstermektedir. Bu sebeple mikro filizlerde insan sağlığı için ciddi risk oluşturabilecek olan *E. coli* O157:H7'nin engellenmesi temel hedef olmalıdır. Bu kapsamda *E. coli* O157:H7 gibi patojenlerin kontaminasyon kaynaklarını azaltma yollarının geliştirilmesi ve tarladaki taze ürünlerde patojen sağkalımının ve büyümesinin azaltılmasına yönelik çalışmaların yapılması gerekmektedir.

5. KAYNAKLAR

- Abadias M, Alegre I, Oliveira M, Altisent R, Vinas I, 2012. Growth potential of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut fruits (melon and pineapple) and (carrot and escarole) stored under different conditions. *Food Control*, 27: 37-44.
- Abadias M, Usall J, Anguera M, Solsano C, Vinas I, 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*, 123: 121-129.
- Alegbeleye O, Singleton I, Sant'Ana A, 2018. Sources and contamination routes of microbial pathogens to fresh produce during field cultivation: a review. *Food Microbiology*, 73: 177-208.
- Aruscavage D, Miller SA, Lewis Ivey ML, Lee K, Lejeune JT, 2008. Survival and dissemination of *Escherichia coli* O157:H7 on physically and biologically damaged lettuce plants. *Journal of Food Protection*, 71: 2384-2388.
- Bankole HS, Dougnon VT, Johnson RC, Dougnon TJ, Yehouenou B, Koungblenou S, Agonsa M, Legonou M, Dadie T, Moussa LB, 2014. Assesment of the contamination of some Food stuffs by *Escherichia coli* O157:H7 in Benin. *West Africa International Journal of Microbiology*, 1-8.
- Bartz FE, Lickness JS, Heredia N, Aceituno AF, Newman KL, Hodge DW, Jaykus LA, García S, Leon JS, 2017. Contamination of fresh produce by microbial indicators on farms and in packing facilities: elucidation of environmental routes. *Applied and Environmental Microbiology*, 83: 1-10.
- Bell C, 2002. Approach to the Control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). *International Journal of Food Microbiology*, 78: 197-216.
- Ben U, 2008. Ankara çevresinde yetiştirilen yeşil yapraklı sebzelerde *Salmonella* spp. varlığının moleküler tekniklerle belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Berba KJ, Uchanski ME, 2012. Post-harvest physiology of microgreens. *Journal of Young Investigators*, 447-454.
- Berger CN, Sodha SV, Shaw RK, Griffin PM, Pink D, Hand P, Frankel G, 2010. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology*, 12: 2385-2397.
- Bernard H, Faber M, Wilking H, Haller S, Höhle M, Schielke A, Ducomble T, Siffczyk C, Merbecks S, Fricke G, Hamouda O, Stark K, Werber D, 2014. Large multistate outbreak of

- norovirus gastroenteritis associated with frozen strawberries, Germany, 2012. *Euro Surveillance*, 19 (8): 20719.
- Beuchat LR, 1999. Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in bovine feces applied to lettuce and the effectiveness of chlorinated water as a disinfectant. *Journal of Food Protection*, 62: 845-849.
- Beuchat LR, 2002. Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*, 4: 413-423.
- Bezanson G, Delaquis P, Bach S, Mc Kellar R, Topp E, Gill A, Blais B, Gilmour M. 2012. Comparative Examination of *Escherichia coli* O157 H7 survival on romaine lettuce and in soil at two independent experimental sites. *Journal of Food Protection*, 75 (3): 480-487.
- Bilim ve Aydınlanma Akademisi (BAA), 2019. Gıda Kaynaklı Hastalıklar Halk Sağlığını Tehdit Ediyor. <http://bilimveaydinlanma.org/gida-kaynakli-hastaliklar-halk-sagligini-tehdit-ediyor/>. (Erişim Tarihi: 08.08.2019)
- Bolat İ, Kara Ö, 2017. Bitki Besin Elementleri: Kaynakları, İşlevleri, Eksik ve Fazlalıkları, Bartın Orman Fakültesi Dergisi, 19 (1): 218-228.
- Brandl MT, 2006. Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. *Annual Review of Phytopathology*, 44: 367-392.
- Bulgari R, Baldi A, Ferrante A, Lenzi A, 2017. Yield and quality of basil, Swiss chard, and rocket microgreens grown in a hydroponic system. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 45 (2): 119-129.
- Castillo A, Martínez-Téllez MA, Rodríguez-García MO, 2014. Melons. 207-236, in *The Produce Contamination Problem. Second Edition.* (eds: Matthews KR, Sapers GM, Gerba CP) Academic Press, San Diego, California.
- Chandra D, Kim JG, Kim Y P, 2012. Changes in microbial population and quality of microgreens treated with different sanitizers and packaging films. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 53: 32-40.
- Chapman PA, Siddons A, Wright DJ, Norman P, Fox J, Crick E, 1993. Cattle as a possible source of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 infections in man. *Epidemiology of Infection*, 111: 439-447.
- Chaudry MA, Bibi N, Khan M, Khan M, Badshah A, Qureshi MJ, 2004. Irradiation treatment of minimally processed carrots for ensuring microbiological safety. *Radiation Physics and Chemistry*, 71: 169-173.

- Choi MK, Chang MS, Eom SH, Min K S, Kang M H, 2015. Physiological composition of buckwheat microgreens grown under different light conditions. *Journal of the Korean Society of Food Science Nutrition*, 44 (5): 709-715.
- Cooley M, Caryhao D, Crawford-Miksza L, Jay MT, Myers C, Rose C, Keys C, Farrar J, Mandrell RE, 2007. Incidence and tracking of *Escherichia coli* O157:H7 in a major production region in California. *Public Library of Science*, 2 (11): 1159.
- Craig W, Beck L, 1999. Phytochemicals: Health Protective Effects. *Canadian Journal of Dietetic Practice and Research* 60: 78-84.
- Crowe SJ, Mahon BE, Vieira AR, Gould LH, 2015. Vital signs: multistate foodborne outbreaks-United States 2010-2014, 64: 1221-1225.
- Dechet AM, Herman KM, Parker CC, Taormina P, Johanson J, Tauxe RV, Mahon E, 2014. Outbreaks caused by sprouts, United States, 1998-2010: Lessons learned and solutions needed. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11: 635-644.
- Delia E, Chira A, Badulescu L, Chira L, 2015. Insights into Microgreens Physiology. *Scientific Papers. Series B, Horticulture. Vol. LIX*
- Demirci M, 2011. Beslenme. *Gıda Teknolojisi Derneği. İstanbul.*
- Deng W, Gibson KE, 2017. Interaction of microorganisms within leafy green phyllospheres: where do human noroviruses fit in?. *International Journal of Food Microbiology*, 258: 28-37.
- Di Gioia F, De Bellis P, Mininni C, Santamaria P, Serio F, 2017. Physicochemical, agronomical and microbiological evaluation of alternative growing media for the production of rapini (*Brassica rapa* L.) microgreens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97: 1212-1219.
- Di Gioia F, Santamaria P, 2015. Microgreens. 41-47, in *Le proprietà nutrizionali dei micro-ortaggi-The nutritional properties of microgreens - Las propiedades nutricionales de las micro-hortalizas.* (eds: Di Gioia F, Santamaria P). *Eco-logica editöre, Bari, Italy.*
- Eren B, 2012. Gıda kaynaklı hastalıkların ekonomik ve sosyal sonuçları. *Sağlık Düşüncesi ve Tıp Kültürü Dergisi*, 21: 8-11.
- Erkmen O, 2010. Gıda kaynaklı tehlikeler ve güvenli gıda üretimi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 53: 220-235
- Erkmen O, 2011. *Gıda Mikrobiyolojisi. 3. Baskı, Eflatun Yayınevi, Ankara.*
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) ve European Food Safety Authority (EFSA) 2011, Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104.

- Ortak Teknik Rapor, <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/shiga-toxinverotoxin-producing-escherichia-coli-humans-food-and-animals-eueea> (Erişim Tarihi: 08.08.2019)
- European Food Safety Authority (EFSA), 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. <http://www.efsa.europa.eu/en/news/zoonotic-diseases-progress-has-stalled> (Erişim Tarihi: 08.08.2019)
- Food Standards Australia New Zealand (FSNAZ). 2010, Proposal P 1004-Primary Production & Processing Standard for Seed Sprouts, <http://www.foodstandards.gov.au/code/proposals/documents/P1004%20PPPS%20for%20Sprouts%20SD1%20Technical%20Report1.pdf>. (Erişim Tarihi: 09.08.2019)
- Gao X, Esseili MA, Lu Z, Saif LJ, Wang Q, 2016. Recognition of histo-blood group antigen-like carbohydrates in lettuce by human GII.4 norovirus. *Applied Environmental Microbiology*, 82: 2966-2974.
- Gelting R, 2007. Investigation of an *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak Associated With Dole Pre-packaged Spinach. *CDC National Center for Environmental Health*, 1-51.
- Genereux M, Grenier M, Cote C, 2015. Persistence of *Escherichia coli* following irrigation of strawberry grown under four production systems: Field experiment. *Food Control*, 47: 103-107.
- Gomez-Lopez V, Gil MI, Pupunat L, Allende A, 2015. Cross-contamination of *Escherichia coli* O157:H7 is inhibited by electrolyzed water combined with salt under dynamic conditions of increasing organic matter. *Food Microbiology*, 46: 471-478.
- Halkman AK, 2013. Gıda Mikrobiyolojisi II ders notları. Ank. Üniv. Mühendislik Fakültesi. Gıda Mühendisliği Bölümü.
- Hara-Kudo Y, Konuma H, Iwaki M, Kasuga F, Sugita-Konishi Y, Ito Y, Kumagai S, 1997. Potential hazard of radish sprouts as a vehicle of *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*, 60: 1125-1127.
- Heliospectra AB. <https://www.heliospectra.com/customer-references/led-grow-light-yield/>. (Erişim Tarihi: 09.09.2019)
- Hilborn ED, Jonathan H, Mermin H, Patricia A, Mshar PA, James L, Hadler JL, Voetsch A, Wojtkunski C, Swartz M, Mshar R, Lambert-Fair MA, Farrar JA, Glynn MK, Slutsker L, 1999. A Multistate outbreak *Escherichia coli* O15:H7 infections associated with consumption of mesclun lettuce. *Archives of Internal Medicine*, 59: 1758-1764.

- Hung HC, Joshipura KJ, Jiang R, Hu FB, Hunter D, Smith-Warner SA, Colditz GA, Rosner B, Spiegelman D, Willett WC, 2004. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *Journal of the National Cancer Institute*, 96: 1577-1584.
- Hussein HS, Omaye ST, 2003. Introduction to the Food Safety Concerns of Verotoxin-Producing *Escherichia coli*. *Experimental Biology and Medicine*, 228: 331-332.
- Iwasa M, Makino S, Asakura H, Kobori H, Morimoto Y, 1999, Detection of *Escherichia coli* O157:H7 from *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) at a cattle farm in Japan. *Journal of Medical Entomology*, 36: 108-112.
- Jablasone J, Warriner K, Griffiths M, 2005. Interactions of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* plants cultivated in a gnotobiotic system. *International Journal of Food Microbiology*, 99: 7-18.
- Janovska D, Stockova L, Stehno Z, 2010. Evaluation of buckwheat sprouts as microgreens. *Acta Agriculturae Slovenica*, 95 (2): 157-162.
- Karmali MA, Gannon V, Sargeant JM, 2010. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC). *Veterinary Microbiology*, 140: 360-370.
- Kou L, Luo Y, Yang T, Xiao Z, Turner ER, Lester GE, Wang Q, Camp MJ, 2013. Postharvest biology, quality and shelf life of buckwheat microgreens, *LWT-Food Science and Technology*, 51: 73-78.
- Kou L, Yang T, Liu X, Luo Y, 2015. Effects of pre- and postharvest calcium treatments on shelf life and quality of broccoli microgreens. *Hortscience*, 50 (12): 1801-1808.
- Kou L, Yang T, Luo Y, Liu X, Huang L, 2014. Pre-harvest calcium application increase biomass and delays senescence of broccoli microgreens. *Postharvest Biology and Technology*, 87: 70-78.
- Kumlay AM, Eryiğit T, 2011. Bitkilerde Büyüme ve Gelişmeyi Düzenleyici Maddeler: Bitki Hormonları. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1 (2): 47-56.
- Kyriacou MJ, Roupael Y, Gioia FD, Kyrtziz A, Serio F, Renna M, Pascale S.D, Santamaria P, 2016. Micro-scale vegetable production and the rise of microgreens. *Trends in Food Science & Technology*, 57: 103-115.
- Lin C, Wei C, 1997. Transfer of *Salmonella* Montevideo onto the interior surfaces of tomatoes by cutting. *Journal of Food Protection*, 60: 858-862.
- Liu D, Cui Y, Walcott R, Díaz-Pérez J, Tishchenko V, Chen J, 2019. Transmission of human enteric pathogens from artificially-inoculated flowers to vegetable sprouts/seedlings developed via contaminated seeds. *Food Control*, 99: 21-27.

- Mansfield LP, Forsythe SJ, 2000. Detection of salmonellae in food, *Medical Microbiology*, 11 (1): 37-46.
- Meng J, Doyle MP, 1998. Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. *Bulletin Institute of Pasteur*, 96: 151-154.
- Mir SA, Shah MA, Mir MM, 2017. Microgreens: Production, shelf life, and bioactive components. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 57: 2730-2736.
- Muratoğlu K, Çetin Ö, Çolak H, 2015. Besin Kaynaklı Hastalıkların Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J Food Hyg Technol-Special Topics*, 1 (3): 1-8.
- Mukherjee A, Cho S, Scheftel J, Jawahir S, Smith and Diez-Gonzalez F. 2006. Soil survival of *Escherichia coli* O157:H7 acquired by a child from garden soil recently with cattle manure. *Journal of Applied Microbiology*, 101: 429-436.
- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF), 1999. Microbiological safety evaluations and recommendations on sprouted seeds. *International Journal of Food Microbiology*, 52: 123-53.
- Painter JA, Hoekstra RM, Ayers T, Tauxe RV, Braden CR, Angulo FJ, Griffin PM, 2013. Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 19: 407-415.
- Parnell TL, Harris LJ, Suslow TV, 2005. Reducing Salmonella on cantaloupes and honeydew melons using wash practices applicable to postharvest handling, foodservice, and consumer preparation, *International Journal of Food Microbiology*, 99: 59-70.
- Pinto E, Almeida AA, Aguiar AA, Ferreira IM, 2015. Comparison between the mineral profile and nitrate content of microgreens and mature lettuces, *Journal of Food Composition and Analysis*, 37: 38-43.
- Reed E, Ferreira CM, Bell R, Brown EW, Jie Z, 2018. Plant-microbe and abiotic factors influencing salmonella survival and growth on alfalfa sprouts and swiss chard microgreens. *Applied and Environmental Microbiology*, 84 (9): 02814-17
- Renna M, Gioia FD, Leoni B, Mininni C, Santamaria P, 2017. Culinary Assessment of Self Produced Microgreens as Basic Ingredients in Sweet and Savory Dishes. *Journal of Culinary Science & Technology*, 15 (2): 126-142
- Riggio Gina M, Wang Q, Kniel Kalmia E, Gibson Kristen E, 2019. Microgreens-A review of food safety considerations along the farm to fork continuum, *International Journal of Food Microbiology*, 290: 76-85.
- Sağlam D, Şeker E, 2016. Gıda Kaynaklı Patojenler. *Kocatepe Veterinary Journal*, 9 (2): 105-113.

- Seow J, Agoston R, Phus L, Yuk H, 2012. Microbiological quality of fresh vegetables and fruits sold in Singapore. *Food Control*, 25: 39-44.
- Sezgin AC, 2014. Meyve, Sebze ve Sağlığımız, *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 2 (2): 46-51.
- Sharma M, Ingram TD, Patel JR, Millner PD, Wang X, Hull AE, Donnenberg MS, 2009. A Novel Approach To Investigate the Uptake and Internalization of *Escherichia coli* O157:H7 in Spinach Cultivated in Soil and Hydroponic Medium. *Journal of Food Protection*, 72 (7): 1513-1520.
- Singh N, Singh RK, Bhunia AK, Strohshine RL, 2002. Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *Food Science and Technology*, 35: 720-729.
- Solomon EB, Potenski CJ, Matthews KR, 2002. Effect of irrigation method on transmission to and persistence of *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. *Journal of Food Protection*, 65: 673-676.
- Song I, Stine SW, Choi CY, Gerba CP, 2006. Comparison of crop contamination by microorganisms during subsurface drip and furrow irrigation. *Journal of Environmental Engineering*, 132: 1243-1248.
- Stine SW, Song I, Choi CY, Gerba CP, 2005. Application of microbial risk assessment to the development of standards for enteric pathogens in water used to irrigate fresh produce. *Journal of Food Protection*, 68: 913-918.
- Sun J, Xiao Z, Lin L, Lester GE, Wang Q, Harnly JM, Chen P, 2013. Profiling polyphenols in five *Brassica* species microgreens by UHPLC-PDAESI/ HRMS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 10960-10970.
- Sun J, Kou L, Geng P, Huang H, Yang T, Luo Y, Chen P, 2015. Metabolomic assessment reveals an elevated level of glucosinolate content in CaCl₂ treated broccoli microgreens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63 (6): 1863-1868.
- Şahin B, Çetin SA, 2017. Gıda güvenliğinde risk faktörleri ve hijyenin önemi. *Journal of Tourism and Gastronomy Studies*, 5 (2): 310-321.
- Talley JL, Wayadande AC, Wasala LP, Gerry AC, Fletscher J, DeSilva U, Gilliland SE, 2009. Association of *Escherichia coli* O157:H7 with filth flies (Muscidae and Calliphoridae) captured in leafy greens fields and experimental transmission of *Escherichia coli* O157:H7 to spinach leaves by house flies (Diptera: Muscidae). *Journal of Food Protection*, 72: 1547-1552.
- Taormina PJ, Beuchat LR, Slutsker L, 1999. Infections associated with eating seed sprouts: an international concern. *Emerging Infectious Diseases Journal*, 5: 626-634.

- Temelli S, 2002. Gıda zehirlenmesine neden olan *E.coli* O157:H7 ve önemi. Uludag University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, 21: 133-138.
- Todd ECD, Greig JD, Bartleson CA, Michaels BS, 2009. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 6. Transmission and survival of pathogens in the food processing and preparation environment. Journal of Food Protection, 72: 202-219.
- Topalcengiz Z, Danyluk MD, 2019. Fate of generic and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in Central Florida surface waters and evaluation of EPA Worst Case water as standard medium. Food Research International, 120: 322-329.
- Topalcengiz Z, McEgan R, Danyluk MD, 2019. Fate of *Salmonella* in central florida surface waters and evaluation of EPA worst case water as a standard medium. Journal of Food Protection, 82: 916-925.
- Tosun H, Gönül ŞA, 2003. *E. coli* O157:H7'nin aside tolerans kazanması ve asidik gıdalarda önemi, Orta On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 10: 10-17.
- Treadwell DD, Hochmuth R, Landrum L, Laughlin W, 2010. Microgreens: A new specialty crop, university of florida. <https://edis.ifas.ufl.edu/hs1164> (Erişim Tarihi: 14.01.2019)
- Tucer D, 2015. Gıda zehirlenmeleri ve toksik hepatit, Güncel Gastroenteroloji, 19 (3): 188-196.
- Turgut N, 2015. Aydın ilinde tüketime sunulan marullarda *E.coli* O157:H7 varlığının araştırılması. Doktora Tezi, Aydın Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2008. Hidroponik Sistemler, MEGEP Yayınları, Ankara.
- T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, 2011. Topraksız Tarım, MEGEP Yayınları, Ankara.
- Uçak G, 2014. İstanbul'da tüketime sunulan hazır sebze salatalarının mikrobiyal güvenliğin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Uçar G, Yörük NG, Güner A, 2016. *Escherichia coli* enfeksiyonları. Türkiye Klinikleri Journal of Food Hygiene Technology-Special Topics 1 (3): 22-29.
- United States Department of Agriculture (USDA), 2011. National organic program (NOP) Handbook: Processed animal manures in organic crop production. <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/5006.pdf> (Erişim Tarihi: 26.09.2019)
- United States Food and Drug Administration (FDA), 2015. Federal register notice: Standards for the growing, harvesting, packing, and holding of produce for human consumption; Final Rule. <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/FR-2015-11-27/pdf/2015-28159.pdf>. (Erişim Tarihi: 14.09.2019)

- Uphoff H, Hedrich B, Strotmann I, Arvand M, Bettge-Weller G, Hauri A, 2014. A prolonged investigation of an STEC-O104 cluster in Hesse, Germany, 2011 and implications for outbreak management. *Journal of Public Health*, 22: 41-48.
- Uyttendaele M, Jaykus LA, Amoah P, Chiodini A, Cunliffe D, Jacxsens L, Holvoet K, Korsten L, Lau M, McClure P, Medema G, Sampers I, Rao Jasti P, 2015. Microbial hazards in irrigation water: standards, norms, and testing to manage use of water in fresh produce primary production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14: 336-356.
- Varma JK, Greene KD, Reller ME, DeLong SM, Trottier J, Nowicki SF, DiOrio M, Koch EM, Bannerman TL, York ST, Lambert-Fair MA, Wells JG, Mead PS, 2003. An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building, *The Journal of the American Medical Association*, 290 (20): 2709-2712.
- Vernozy-Rozand C, 1997. Detection of *Escherichia coli* O157:H7 and other Verocytotoxin producing *E. coli* (VTEC) in food, *Journal of Applied Microbiology*, 82: 537-551.
- Wang Q, Keniel KE, 2016, Survival and Transfer of Murine Norovirus within a Hydroponic System during Kale and Mustard Microgreen Harvesting. *Applied and Environmental Microbiology*, 82 (2): 1-19.
- Warriner K, Smal B, 2014. Microbiological safety of sprouted seeds: Interventions and regulations, 237-268, in: *The Produce Contamination Problem. Second Edition.* (eds: Matthews KR, Sapers GM, Gerba CP). Academic Press, San Diego, California.
- Wasteson Y, 2002. Zoonotic *Escherichia coli*. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 43 (1): 79-84.
- White PJ, Broadley MR, 2009. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets-Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytologist*, 182: 49-84.
- Wright KM, Holden NJ, 2018. Quantification and colonisation dynamics of *Escherichia coli* O157:H7 inoculation of microgreens species and plant growth substrates. *International Journal of Food Microbiology*, 273: 1-10.
- World Health Organisation (WHO), 2018. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> (Erişim Tarihi: 24.08.2019)
- Wu M, Hou C, Jiang C, Wang Y, Wang C, Chen H, Chang HM, (2007). A novel approach of LED light radiation improves the antioxidant activity of pea seedlings. *Food Chemistry*, 101: 1753-1758.

- Xiao Z, 2013, Nutrition, sensory, quality and safety evaluation of a new Specialty produce: microgreens, dissertation submitted to the faculty of the graduate school of the university of Maryland. <http://hdl.handle.net/1903/14900> (Erişim Tarihi: 24.09.2019)
- Xiao Z, Bauchan G, Russell L, Luo Y, Wang Q, Nou X, 2015a. Proliferation of *Escherichia coli* O157:H7 in soil-substitute and hydroponic microgreen production systems. *Journal of Food Protection*, 78 (10): 1785-1790.
- Xiao Z, Lester GE, Luo Y, Wang Q, 2012. Assessment of vitamin and carotenoid concentrations of emerging food products: edible microgreens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 7644-7651.
- Xiao Z, Lester GE, Luo Y, Xie Z, Yu L, Wang Q, 2014a. Effect of light exposure on sensorial quality, concentrations of bioactive compounds and antioxidant capacity of radish microgreens during low temperature storage, *Food Chemistry* 151: 472-479.
- Xiao Z, Lester GE, Park E, Saftner RA, Luo Y, Wang Q, 2015b. Evaluation and correlation of sensory attributes and chemical compositions of emerging fresh produce: Microgreens. *Postharvest Biology and Technology*, 110: 140-148.
- Xiao Z, Luo Y, Lester GE, Kou L, Yang T, Wang Q, 2014b, Postharvest quality and shelf life of radish microgreens as impacted by storage temperature, packaging film, and chlorine wash treatment, *LWT - Food Science and Technology*, 55: 551-558.
- Xiao Z, Nou X, Luo Y, Wang Q, 2014c. Comparison of the growth of *Escherichia coli* O157: H7 and O104: H4 during sprouting and microgreen production from contaminated radish seeds, *Food Microbiology*, 44: 60-63.
- Xiao Z, Rauscha SR, Luo Y, Sunc J, Yud L, Wang Q, Chenc P, Yud L, Stommel JR, 2019. Microgreens of Brassicaceae: Genetic diversity of phytochemical concentrations and antioxidant capacity-LWT - *Food Science and Technology* 101: 731-737.
- Yaron S, 2014. Microbial Attachment and Persistence on Plants. 21-58. İn: *The Produce Contamination Problem. Second Edition.* (eds: Matthews KR, Sapers GM, Gerba CP). Academic Press, San Diego, California.
- Yetim H, Öztürk İ, Törnük F, Sağdıç O, Hayta M, 2010. Yenilebilir bitki ve tohum filizlerinin fonksiyonel özellikleri. *Gıda*, 35 (3): 205-210.
- Yıldız N, 2014. Yalıtımda doğal çözüm: Perlit. *Madencilik Türkiye Dergisi*, 100-102.
- Yücel PK, Halkman HBD, 2009. Minimal İşlem Görmüş Meyve ve Sebzelerin Işınlama ile Kalitesinin Arttırılması. X. Ulusal Nükleer Bilimler ve Teknolojileri Kongresi, İzmir. 6-9 Ekim 2009. 291-301.

Zeng W, Vorst K, Brown W, Marks B, Sanghyup J, Perez-Rodriguez F, Ryser ET, 2014. Growth *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* in packaged fresh-cut romaine mix at fluctuating temperatures during commercial transport retail storage and display. *Journal of Food Protection*, 77 (2): 197-206.



ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Muş'ta doğmuştur. İlköğretimi ve ortaokulu Yavuz Selim İlköğretim Okulu'nda, ve liseyi Muş Lisesi YDAL'de tamamlamıştır. 2005 yılında kazandığı Mersin Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2009 yılında mezun olmuştur. 2018'de Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Güvenliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başlamıştır. Ocak 2020'de yüksek lisansını tamamlamıştır. Yabancı dili İngilizce'dir.

Hasan IŞIK

