



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**SALAMURA LAHANANIN BAKTERİYAL VE
BAZI FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ
ÜZERİNE TUZ KONSANTRASYONUNUN
ETKİSİ**

Beksultan TAZHYBEKOV

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ Anabilim Dalı

Nisan-2023
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Beksultan TAZHYBEKOV tarafından hazırlanan “**Salamura Lahananın Bakteriyal Ve Bazı Fizikokimyasal Özellikleri Üzerine Tuz Konsantrasyonunun Etkisi**” adlı tez çalışması 08/05/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Dr. Öğr. Üyesi Talha DEMİRCİ

.....

Danışman

Doç. Dr. Ahmet ÜNVER

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Gamze ÜÇÖK

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Talha DEMİRCİ

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim KALAYCI
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Beksultan TAZHYBEKOV

Tarih: 14.04.2023

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SALAMURA LAHANANIN BAKTERİYAL VE BAZI FİZİKOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE TUZ KONSANTRASYONUNUN ETKİSİ

Beksultan TAZHYBEKOV

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ahmet ÜNVER

2023, 51 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Ahmet ÜNVER

Dr. Öğr. Üyesi Talha DEMİRCİ

Dr. Öğr. Üyesi Gamze ÜÇÖK

Lahana turşusu bazı Avrupa ve Çin gibi ülkelerde çok tüketilen *Brassica* cinsindeki sebzenin fermente ürünü olarak bilinmektedir. Bu çalışma, farklı tuz konsantrasyonuna sahip salamura suyunda lahananın fermente edilmesi ile birlikte fermentasyon sürecinde meydana gelen fizikokimyasal değişimlerin ve tuz konsantrasyonunun bakteriyal kompozisyon üzerine etkisini tayin etmek amacıyla hazırlanmıştır. Yapılan araştırmada lahana turşusu üretimi sürecinde fizikokimyasal olarak % toplam asitlik tayini, pH değeri analizi, L*, a*, b* renk tayini ve % tuz miktar tayini analizleri yapılmıştır. Fermentasyon sürecinin 21. Gününde ise metagenomik analiz ile bakteriyal kompozisyon belirlenmiştir. Farklı tuz konsantrasyonunda hazırlanmış lahana turşularında *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumları (şube) arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir. %2 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda %49,64 olmak üzere *Proteobacteria* filumunu domine ettiği ve ortamda tuz miktarının artmasıyla %66,232 olmak üzere *Firmicutes* filumunun arttığı metagenomik analiz sonucu belli olmuştur. Cins düzeyinde yapılan araştırma sonucu *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* ve *Levilactobacillus* mikroorganizma cinsleri farklı konsantrasyonlarda bulunmuştur. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla *Yersiniaceae*, *Lactiplantibacillus* cinsindeki mikroorganizmaların azaldığı, *Weissella* ve *Levilactobacillus*, mikroorganizmaların arttığı mikrobiyolojik analiz sonucu tespit edilmiştir. *Leuconostoc* cinsindeki mikroorganizmalar %5 tuz konsantrasyonunda artış gösterirken, %8 tuz konsantrasyonunda bu cinsteki mikroorganizmaların yaşamının olumsuz etkilendiğini gözlemlenmiştir. Tuz konsantrasyonu lahana turşusu fermentasyonu üzerinde önemli etki göstermiş olup pH değerinin düşme hızı ve % toplam asitlik bakımından en yüksek değer %2 ve %5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşularında bulunmuştur. Duyusal açıdan ise; %5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusu en çok tercih edilen olmuştur.

Anahtar Kelimeler: Lahana turşusu, metagenomik, fermentasyon, tuz miktarı

ABSTRACT

MS THESIS

THE EFFECT OF SALT CONCENTRATION ON THE BACTERIAL COMPOSITION AND SOME PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF PICKLED CABBAGE

Beksultan TAZHYBEKOV

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN FOOD ENGINEERING**

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ahmet ÜNVER

2023, 51 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Ahmet ÜNVER

Asist. Prof. Dr. Talha DEMİRCİ

Asist. Prof. Dr. Gamze ÜÇÖK

Sauerkraut is known as the fermented product of the Brassica type of vegetable that is widely consumed in countries such as China. The purpose of this study was to prepare pickled cabbage in different salt concentrations and study the effect of salt concentration on some physicochemical properties, as well as to determine the effect of different salt ratios on bacterial composition using metagenomic analysis. During the fermentation process, total acidity, pH value, color analysis and salt concentration were performed during the production of pickled cabbage, and metagenomic analysis was carried out on the last day of the fermentation process. All microbial analysis results showed that *Proteobacteria*, and *Firmicutes* phyla were found to be significant at the phylum level in sauerkraut prepared at different salt concentrations. Metagenomic analysis revealed that it dominates the *Proteobacteria* phylum (49.64%) in sauerkraut, which contains a small amount of salt, and that *Firmicutes* phylum (66.232%) increased with the increase in salt content in the pickled cabbage. At the genus level, *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella*, and *Levilactobacillus* genera were found at different concentrations and affected by salt concentration. Microbiological analysis showed that with an increase in salt concentration, the number of genera *Yersiniaceae*, *Lactiplantibacillus* decreased, by that time the number of genera *Weissella*, and *Levilactobacillus* increased. With an increasing salt concentration to 5%, the number of genera *Leuconostoc* provided positive results, while an increasing salt to 8% had an adverse effect on the growth of the microorganisms in this genus. Salt concentration had a significant effect on the fermentation of pickled cabbage, and the highest value in terms of pH' decrease and acid accumulation was found in sauerkraut containing 2% and 5% salt. In terms of sensory quality, pickled cabbage containing 5% salt was found to be the best.

Keywords: pickled cabbage, metagenomic, fermentation, salt content

ÖNSÖZ

Bu çalışmada, farklı tuz konsantrasyonuna sahip salamura suyunda lahananın fermente edilmesi ile birlikte fermentasyon sürecinde meydana gelen fizikokimyasal değişimlerin ve tuz konsantrasyonunun bakteriyal kompozisyon üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Yüksek lisans tezi olarak yaptığım bu çalışmanın her aşamasında bana yol gösteren, destek ve katkılarını esirgemeyen saygıdeğer danışmanım Doç. Dr. Ahmet ÜNVER'e teşekkür eder, sonsuz saygılarımı sunarım.

Proje çalışmalarım sürecinde destek gördüğüm yüksek lisans öğrencisi Büşra Nur İSTANBUL'a, YÖK 100/2000 doktora asistanı Fatma UÇAR'a, gıda mühendisliği bölümü asistanlarına, YTB'ye ve tabi ki her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.

Beksultan TAZHYBEKOV
KONYA-2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Lahana Turşusu Fermantasyon Teknolojisi	3
2.1.1. Lahana turşusu üretim teknolojisi	4
2.1.1.2. Lahana turşusu üretimi ve laktik asit fermantasyonu	5
2.1.2. Lahana turşusu üretimini domine eden bazı mikroorganizmalar.....	8
2.1.2.1. <i>Lactobacillus</i>	8
2.1.2.2. <i>Leuconostoc</i>	11
2.1.2.3. <i>Lactococcus</i>	12
2.1.2.4. <i>Pediococcus</i>	13
2.2. Turşu Üretiminde Oluşan Bazı Metabolitler ve Sağlık Üzerine Etkisi	13
2.2.1. Fenolik maddeler	13
2.2.2. Glukozinolatlar	14
2.2.3. Diyet lifleri.....	15
2.2.4. Vitamin ve Karotenoidler	15
2.3. Metagenomik Analiz.....	15
2.3.1. DNA ekstraksiyonu ve kütüphane hazırlanması.....	17
2.3.2. DNA moleküllerin konsantrasyonun ve saflığının hesaplanması.....	18
2.3.3. Genetik materyalin amplifikasyonu.....	18
2.3.4. DNA kütüphanesi oluşturma ve sekanslama	19
2.3.5. Biyoinformatik analiz	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Materyaller.....	21
3.2. Turşu Üretimi.....	21
3.3. Fizikokimyasal Analizler	21
3.3.1. pH tayini	21
3.3.2. Titrasyon asitliği tayini	21
3.3.3. Tuz tayini	22
3.3.4. Renk Tayini.....	22
3.4. Bakteriyal Analizler	23
3.4.1. Metagenomik analiz öncesi toplam bakteriyal DNA ekstraksiyonu	23
3.4.2. 16S rRNA gen kütüphanesi oluşturma ve sekanslama	23
3.4.3. Biyoinformatik analizler	24
3.5. Duyusal Analiz	24

3.6. İstatistik Analizler.....	24
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	25
4.1. Lahana Turşularına Uygulanan Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Fermantasyon Sürecindeki Bazı Parametrelere Etkisi	25
4.2. Lahana Turşularına Uygulanan Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Fermantasyon Sürecindeki Mikroorganizmalara Etkisi	33
4.3. Duyusal Analiz Sonuçları	38
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	40
5.1 Sonuçlar	40
5.2 Öneriler	41
6. KAYNAKLAR	43



SİMGELER VE KISALTMALAR

LA: laktik asit
mo: mikroorganizma
LAB: laktik asit bakteri
%: yüzde
pH: hidrojen gücü
TTA: toplam titrasyon asitliği
°C : Santigrat derece



1. GİRİŞ

Meyve ve sebzeler, farklı suda çözünür (B ve C vitaminler) vitaminlerin, diyet liflerinin, minerallerin, fitosteroller ve fitokimyasalların temel kaynağı olarak bilinmektedir. Meyve ve sebzelerin yüksek su aktivitesine sahip olmaları uzun süre muhafaza edilmelerine engel olmaktadır. Ayrıca, insanların taze, sağlıklı, minimal proses görmüş ve yüksek beslenme kabiliyetine sahip gıda maddelerine olan ilgisi arttığından dolayı hızlı bozulan gıda maddelerinin raf ömrünü uzatmak için farklı yöntemler uygulanmaya başlanmıştır (Hu vd., 2021; Yang - Hu - Xiu - Jiang - Yang - Sarengaowa vd., 2020). Farklı gıda maddelerinin raf ömrünü uzatmak maksadıyla günümüzde kurutma, konserve yapma ve fermentasyon gibi işlemler uygulanmaktadır. Ancak fermentasyon tekniği diğer yöntemlere göre daha da etkili olup farklı alkol, organik asit, amino asit ve uçucu bileşenleri değiştirerek tat, aroma gibi özelliklerinin gelişmesini sağlamaktadır (Chen vd., 2019).

Genel olarak, lahana turşusu; lahananın temizlenmesi, belli bir kalınlıkta kesilmesi ve farklı orandaki tuz içeren salamura suyuna yerleştirilerek anaerobik şartlarda fermentasyonu sonucu elde edilmektedir. Özellikle bazı Avrupa ve Çin gibi ülkelerde çok tüketilen lahana turşusu farklı kalsiyum, fosfor, demir, sodyum, potasyum, A vitamini, tiamin, riboflavin, niasin ve askorbik asit içermesi yanı sıra aynı zamanda antioksidan, anti-obezite ve antikanserojen maddeler içermesi ile de sağlık açısından önem taşımaktadır (Erdoğan, 2021; Majcherczyk - Surówka, 2019; 2019; Park vd., 2014). Geleneksel fermentasyonla turşu üretiminde dominant mikroorganizmalar (laktik asit bakterileri) ortamın sıcaklığı, tuz konsantrasyonu gibi iç ve dış faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Ayrıca turşu üretiminde laktik asit bakterilerinin hızlı şekilde gelişmesi, farklı asit ve buna benzer yan ürünleri üreterek gıda maddesini bozulması ve gıda zehirlenmesine yol açan sporlu/patojen ve saprofit mikroorganizmaların çoğalmasını engellemektedir. Lahana turşusu fermentasyonunda başta *Leuconostoc citreum* ve *Leuconostoc mesenteroides* olmak üzere çeşitli laktik asit bakterileri ile fermentasyon işlemi başlamaktadır. Bu mikroorganizmalar sayesinde ortamda farklı asitlerin üretilmesi ve CO₂ gazının konsantrasyonunun artması az sayıda bulunan *Levilactobacillus brevis* ve *Lactiplantibacillus plantarum* gibi LAB'nin gelişmesi için gerekli şartlar sağlamaktadır (Zabat vd., 2018; Xiong vd., 2012; Park vd., 2010). Özellikle baskın olarak bilinen *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* cinsli LAB'nın ortamda hızlı şekilde gelişmesi ve farklı asitleri üretmesi insan sağlığı için zararlı biyojenik aminler/nitritlerin üretimini sağlayan

Enterobacter bakterilerinin ve lahanada gibi sebzelerin yumuşamasına neden olan mantarların engellenmesini sağlamaktadır (Zhou vd., 2018; Xia vd., 2017; Rabie vd., 2011; Xia vd., 2017; Xiong vd., 2016). Turşu üretiminde önem verilmesi gereken diğer bir husus, tuzun en uygun oranda eklenmesidir. Tuzun eklenmesi, tuzluluk özelliğini geliştirmesinin yanı sıra lahanadaki sakkaroz, glikoz, fruktoz gibi bileşenleri açığa çıkarmakta ve aynı zamanda indikatör mikroorganizmaların gelişmesini de önlemektedir (Liang vd., 2020; Xiong vd., 2016).

Araştırmacılar, lahanada turşusu başta olmak üzere farklı gıda maddelerinin bakteri popülasyonlarını incelerken, geleneksel yöntemleri kullanmaktadırlar. Ancak bu işlemin doğruluğu kültür koşulları, araştırmacının deneyimi gibi faktörlere bağlı olması nedeniyle her zaman doğru analiz yapma ve istenilen sonuca ulaşma konusunda pek mümkün olmamaktadır. Ayrıca, kültüre bağımlı yöntemin fazla zaman alması ve az miktarda varlığını sürdüren mikroorganizmaların tayin edilmesinde yetersiz olması, yeni kültürden bağımsız yöntemlerin uygulanmaya başlamasına neden olmuştur (Wu et al., 2015; Xiong et al., 2014). Günümüzde kültür bağımsız moleküler yöntem olarak bilinen metagenomik analiz yöntemi pek çok araştırmacı tarafından uygulanmaya ve tercih edilmeye başlanmıştır. Metagenomik analiz de farklı genomik teknoloji ve biyoinformatik araçlar kullanılarak örneklerin içerdiği genomlar doğrudan tanımlanmaktadır. Kültürden bağımsız moleküler yöntem, ilk 1985 yılında Pace adında bir bilim adamı tarafından önerilmiştir. Kültürden bağımsız moleküler yönteminin esası DNA ekstraksiyon ve kolonizasyon işlemine dayanmaktadır (Alves vd., 2018; Thomas vd., 2012). Yüksek verimli sıralama gibi metagenomik analiz yardımıyla hem hızlı şekilde mikroorganizma sayısını öğrenmek, hem de her bir bakterinin DNA diziliminin izole edip sıralayarak taksonomik tanımlamak mümkün olmaktadır (Wang - Shao, 2018).

Bu çalışmada farklı tuz konsantrasyonlarında hazırlanan salamura suyu kullanılarak lahanada fermentasyona tabii tutulmuştur. Fermentasyon süreci takibi yapılarak fizikokimyasal değişimler gözlemlenmiş, fermentasyon bitiminde ise ortamda gelişen mikroorganizmaların biyoinformatik olarak tespit edilebilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Lahana Turşusu Fermantasyon Teknolojisi

"Fermantasyon" terimi, mayanın meyve veya maltlı tahıl özleri üzerindeki etkisinin görünümünü açıklayan, kaynatmak anlamına gelen Latince *fervere* fiilinden türetilmiştir. Son 150-200 yıl içerisinde farklı mikroorganizma ve enzimlerin keşfedilmesi sayesinde fermantasyon prosesinin asıl amacı anlaşılmış ve fermantasyonla elde edilmiş ürünlerin değeri artmaya başlamıştır. Başlangıç itibariyle fermantasyonla ilişkin çalışmalar Lavoisier and Gay-Lussac olmak üzere farklı kimyacılar tarafından gerçekleştirilmiştir. Ardından mikroskobun gelişmesiyle Kützing ve arkadaşları bira ve şarapta bulunan mayaları incelemeye başlamıştır. Louis Pasteur'un süt, bira ve şaraptaki laktik asit ve etanol fermantasyonu açıklaması ayrıca, şarabın bozulmasında asetik asit fermantasyonunun sorumlu olduğunun belirlenmesi fermantasyon prosesine ilişkin çalışmaların ilerlemesine büyük katkı sağlamıştır (Hutkins, 2007).

Fermantasyonun prosesi keşfedilmeye başladıktan sonra mikroorganizmaların bulunması için farklı kültürler hazırlanmaya başlanmıştır. Özellikle bira endüstrisinde çalışan üreticileri kaliteli ürün üretebilmek için maya kültürü kullanılmaya özen göstermesi fermantasyon tekniğinin ilerlemesine sebep olmuştur. Ancak gıda alanında saf kültürlerin kullanılması 1900 yıllarında başlamıştır (Hutkins, 2007).

Fermente gıdaların lezzetli, ilgi çekici, güzel aromalı bir ürüne dönüşmesi hammaddede bulunan polisakkarit, lipid veya proteinlerin farklı mikroorganizmalar veya enzimlerle parçalanmasıyla meydana gelmektedir. Fermantasyon esnasında kaliteli ürün üretebilmek ve sporlu mikroorganizmaların antagonizmasını sağlayabilmek için tüm gerekli şartların sağlanması gerekmektedir (Steinkraus, 1997).

Fermente meyve veya sebzeler yetiştiği bölgenin mikroflorasını taşımakta olup tat, lezzet ve aroma gibi duyuşsal açıdan üretildiği bölgeden bölgeye göre değişim göstermektedirler. Avrupa, Orta Doğu ve Asya ile Amerika'nın birkaç ülkesinde yaklaşık 2000 yılı aşkın bir süre önce sebzelerin fermantasyonunun başladığına dair bulgular bulunmaktadır. Buna göre, genellikle sebzelere tuz veya salamura suyu koruyucu madde olarak eklenir ve uygun sıcaklıkta depolamayla laktik asit sonucu turşu üretilmektedir (Hutkins, 2007)

2.1.1. Lahana turşusu üretim teknolojisi

Lahana, Brassicaceae (*Cruciferae*) familyasına ait (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) *Brassica* cinsinde yer alan eskiden bu yana çok tüketilen bir sebze olarak bilinmektedir (Şamec vd., 2017). Diğer adıyla Turpgiller olarak geçen familya üyesi olan lahananın insanların diyetine eklenmesi bazı kronik hastalıkları önleyip kanser gibi hastalıklara yakalanma olasılığını azaltmaktadır. Sağlık üzerine etkisi içerdiği glukozinolatlar, polifenoller, karotenoidler, terpenoidler, farklı mineral ve vitaminlerle anlaşılmaktadır. Geleneksel tıpta inflamasyon ve gastrointestinal problemleri çözmek maksadıyla da kullanılmaktadır (Şamec vd., 2018). Fermantasyondan önce çiğ lahananın mikrobiyal popülasyonu yaklaşık 5,0 ile 7,0 log kob/g civarında değişim göstermektedir. Genel olarak lahana gibi sebzelerde *Pseudomonas*, *Enterobacter*, maya ve küf gibi mikroorganizmalar bulunmaktadır ve bunun yanı sıra LAB da 2,0 ile 4,0 log kob/g miktarda bulunurlar (Di Cagno vd., 2013). Bu sebepten dolayı lahananın taze halde saklanması pek mümkün olamamaktadır ve günümüzde fermente halde saklanmaktadır. Aynı zamanda turşu üretiminde raf ömrüyle beraber lahananın fermantasyon esnasında biyolojik değeri de artmaktadır (Şamec vd., 2017).

Başlangıçta fermantasyonun asıl amacı gıda maddesinin raf ömrünü uzatmak iken, fermantasyon işlemi sonucunda hem kalite hem de duyuşsal özelliğini arttırdığı bilimsel araştırmalar sonucu kanıtlanmıştır. Bu da fermantasyon sürecinde mikroorganizmaların ürettiği farklı asitlerin, bakterosin gibi antimikrobiyal maddelerin ve alkollerin oluşmasıyla açıklanmaktadır (Lavefve vd., 2019).

Lahana turşusu üretiminde asıl madde olarak tuz ve *Brassica oleracea* isimli lahana bilinmektedir. İlk olarak lahananın temizlenmesi, dış kısmından ayrılması ve çekirdek kısmının temizlenmesiyle başlayıp isteğe göre farklı hacimdeki tanklara ürünler yerleştirilmektedir. Ardından tuzlama yöntemine göre direk tuz veya yaklaşık %2-8 civarında tuz içerecek şekilde salamura suyu hazırlanıp koyulmaktadır ve 20-25°C sıcaklıkta hammaddeden doğal olarak gelen mikrobiyotayla fermente edilmektedir (Lavefve vd., 2019; Xiong vd., 2012; Hutkins, 2007). Fermantasyon sürecinde çok sayıda fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyon gerçekleşmekte olup turşu üretimindeki fermantasyon tekniği zor bir dinamik proses olarak bilinmektedir. Ayrıca turşu üretiminde yabancı bakterilerin gelişmesini önlemek ve LAB için uygun şartlar sağlamak maksadıyla ortamda anaerobik şartların sağlanması gerekmektedir (Shishlova vd., 2018).

Fermantasyon esnasında ilk başta lahanada bulunan LAB yardımıyla asetik asit, laktik asit gibi ürünlerin oluştuğu hetero-fermantatif reaksiyon gerçekleşmektedir. Hetero-fermantatif reaksiyon esnasında ortamda *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *Weissella koreensis* gibi mikroorganizmalar gelişmekte olup farklı asitlerin üretimi sağlanmaktadır (Shishlova vd., 2018; Xiong vd., 2016). Fakat ortamda bulunan glikozun hetero-fermantatif LAB tarafından tüketilmesi ve fermantasyon sonucu oluşan farklı asitler ortamın pH değerini düşürerek homo-fermantatif reaksiyonun başlamasına sebep olmaktadır. Homo-fermantatif reaksiyonda ortamda *Lactiplantibacillus plantarum*, *Levilactobacillus brevis*, *Lactobacillus curvatus*, ve *Latilactobacillus sakei* mikroorganizmaları dominant olarak gelişmekte olup sadece laktik asit üretmektedirler (Xiong vd., 2016; Plengvidhya vd., 2007). Laktik asit fermantasyonuyla elde edilen lahana turşusu yapısal özelliğinin yanında renk, tat ve aroma bakımından kendine özgü karakteristikleri de kazanmaktadır (Şahin ve Akbaş, 2001).

Turşu üretiminde önem verilmesi gereken işlem tuzun optimal şekilde eklenmesidir. Tuzun eklenmesi ortama farklı osmotik basınç, su aktivitesi sağlanmaktadır. Turşu yapımında tuzun yetersiz konsantrasyonda eklenmesi yabancı mikroorganizmaların hızlı çoğalmasına, fermentatif yumuşamaya ve istenmeyen tadın oluşmasına neden olmaktadır (Pérez-Díaz vd., 2020; Yang - Hu - Xiu - Jiang - Yang - Saren vd., 2020). Fakat aşırı miktarda tuz içermesi insanlarda hipertansiyon ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi hastalıkların meydana gelmesine neden olmaktadır. Öte yandan tuz, fermantasyon prosesinin ilk aşaması olarak bilinen heterofermentatif reaksiyonun gerçekleşmesine engel olmaktadır ve bu engel *Leuconostoc* cinsindeki mikroorganizmaların tuza karşı duyarlı olmasıyla anlaşılmaktadır (Yang - Hu - Xiu - Jiang - Yang - Saren vd., 2020; Wouters vd., 2013). Xiong ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma sonucunda araştırmalar tuzun aşırı miktarda eklenmesinin sadece turşu olgunlaşmasını geciktirmeyele kalmadığını aynı zamanda *E. coli* ile küflerin hızlı bir şekilde yok olmasını sağladığını tespit etmişlerdir (Xiong vd., 2016).

2.1.1.2. Lahana turşusu üretimi ve laktik asit fermantasyonu

Lahana turşusu gibi gıda maddelerin muhafazasında geniş bir şekilde uygulanan laktik asit fermantasyonu, her türlü gıda alanında uygulanabilmesi, farklı gıda maddesine istenilen duyuşal özelliği kazandırabilmesi ve en önemlisi olan diğer yöntemlere göre

ucuz olması nedeniyle oldukça çok tercih edilmektedir. Fermantasyon prosesi aşamasından sorumlu LAB'ın sağlık açısından faydalı olması ve farklı patojen mikroorganizmalara karşı inhibisyon etkisi sağlayabilmesi, sadece üreticilerin değil aynı zamanda tüketicilerin de dikkatini çekmektedir (Vinderola vd., 2019; John vd., 2009; Reddy vd., 2008; Press, 1992).

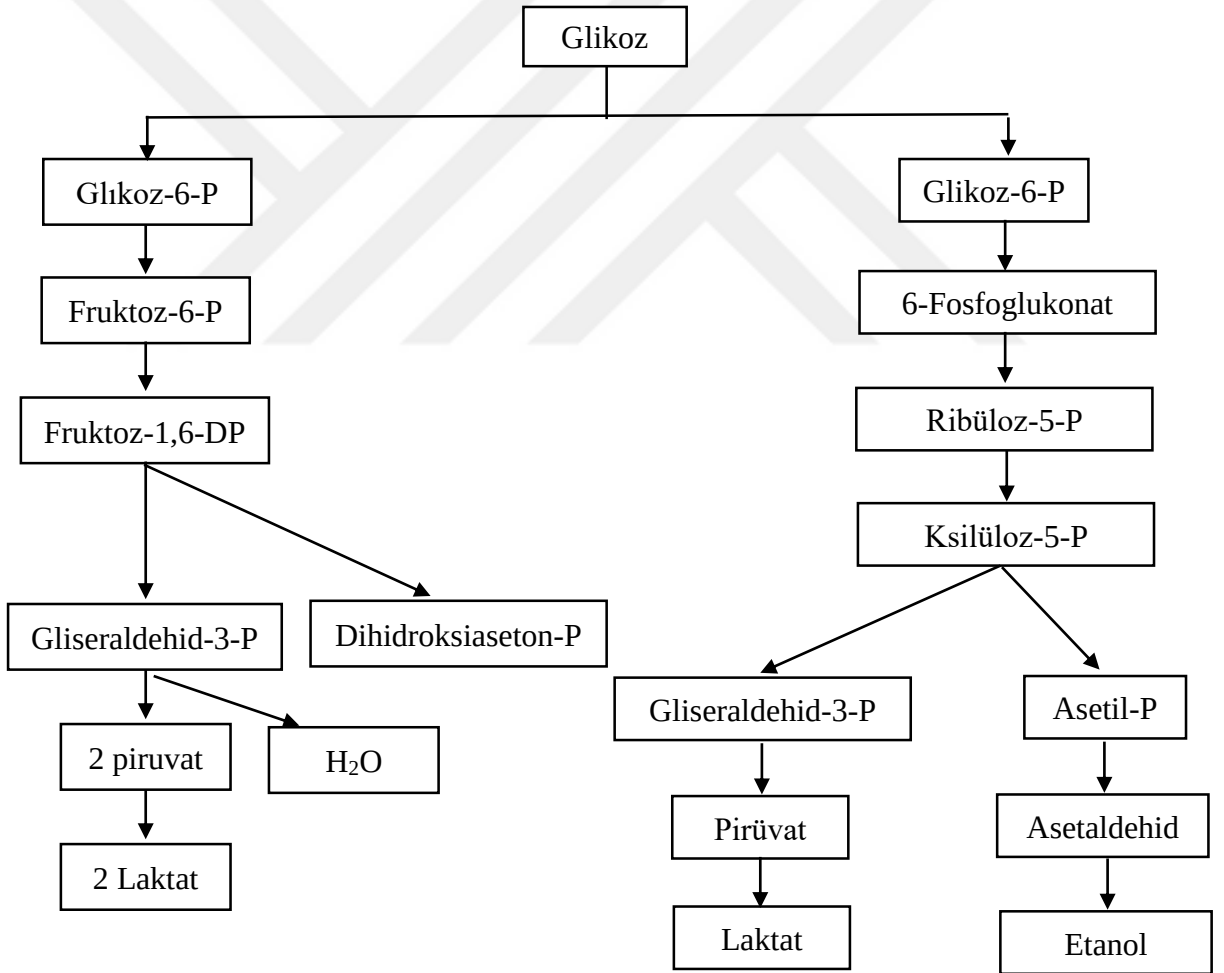
LAB, farklı heksoz karbonhidratları tüketerek laktik aside dönüştüren heterotrofilik, *Sporolactobacillus* hariç spor oluşturmayan, gram pozitif bakteri olarak tanımlanmakta ve *Firmicutes* filumunda yer alan 20 bakteriden oluşmaktadır. Özellikle *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Cornobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella* gibi cinsleri içermektedir. *Bifidobacterium* cinsindeki mikroorganizmalar daha önce LAB olarak sayılırken yeni taksonomik çalışmalara göre *Bifidobacterium*' un *Firmicutes* değil *Actinobacteria* filumuna ait olduğu belirlenmiştir (Reddy vd., 2008; Vinderola vd., 2019). Gıda ve gıda benzeri maddelerdeki LAB'nın tanımlanmasında geleneksel olarak kullanılan taksonomik sınıflandırmanın temeli; fizyolojik, morfolojik, farklı sıcaklık, farklı pH değerleri ve farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme yeteneği, arjinin parçalanması ve karbonhidrat katabolizması gibi biyokimyasal özelliklerin incelenmesini içeren fenotipik özelliklere dayanmaktadır (Botina vd., 2006).

LAB birçok gıda maddesinde üreyebildiği halde yüksek derecede aktivite gösterebilmeleri için yaklaşık pH 5,5-6,5 civarında ve 5-45°C arasındaki sıcaklığa ihtiyaç duyarlar (Reddy vd., 2008). Ancak, *Leuconostoc* ve laktik *Streptococci* mikroorganizmaları pH 4-4,5 aralığında ve bazı laktobasiller ve pediyokoklar ancak pH 3,5'de inhibe olmaktadır (Press, 1992). LAB'ın üreyebilmesi için karbonhidratlar dışında besiyerlerinde farklı aminoasitler, B vitamini, primidin ve pürinin türevlerinin olması gerekmektedir (Muck, 2010; Jay vd., 2005). LAB'ın ortamdaki farklı karbonhidratları tüketerek ürettiği ürün ve genetik, fizyolojik farklılıklarına bağlı olarak hetero-fermentatif ve homo-fermentatif olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Reddy vd., 2008)

Homofermentatif LAB aldolaz ve heksoz izomeraz enzimlerine sahip ama fosfoketolaz enzimini içermedikleri için pentozları tüketemezler. Teorik olarak Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) iz yoluyla çalışır ve bir mol glukozdan 2 mol laktik asit ve 2 mol adenozin trifosfat (ATP) üretirler (Vinderola vd., 2019; Muck, 2010; Jay vd., 2005). Bu tür LAB grup 1 laktobasil olarak adlandırılır ve *Lb. acidophilus*, *Lb.*

delbrueckii, *Lb. helveticus*, *Lb. salivarius* gibi bakterileri içerir ve başta söylendiği gibi pentoz tüketimine sahip değildir (Vinderola vd., 2019).

Hetero-fermentaif LAB tam tersidir, aldolaz ve heksoz izomeras yerine fosfoketolaz içermekte olup tükettiği karbonhidratın %50'sini laktik aside, %20-25'ini CO₂ ve diğer kalan kısmını da etil alkol ile asetik aside dönüştürür. Gerçekleştirdiği reaksiyona göre ortamda asetik asit oluşturursa 1 mol glukozdan 2 mol ATP oluşturur, fakat aldehit yerine asetil oluşturması durumunda tek 1 mol ATP oluşturur (Vinderola vd., 2019; Reddy vd., 2008). Heterofermentaif laktik asit bakterileri fermentasyon esnasında pentoz fosfoketolaz iz yoluyla çalıştığı için glikoz direk tüketemezler. Öncelikle glikozu degratasyon yaparak ribuloz-5-fosfat veya ksiluloz-5-fosfata dönüştürür ve böylelikle reaksiyon devam eder (Vinderola vd., 2019).



Şekil 2,2,1. Laktik asit bakterilerinin glikozu homo ve heterolaktik yollarla parçalaması (Vinderola vd., 2019).

Laktik asit fermentasyonu sonucu oluşan laktik asit farklı fiziko-kimyasal ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı önemli endüstriyel ürün olarak bilinmektedir. Polilaktik asit gibi polimerlerinin biyolojik parçalanabilmesi ambalaj, tekstil ve ilaç sanayisinde geniş olarak kullanılmaktadır. Özellikle antimikrobiyal etkileri nedeniyle hijyenik ve estetik madde olarak kozmetik endüstrisinde uygulanmaktadır. Ancak, günümüzde L(+) laktik asidin yaklaşık %70 sağlık açısından önemli, güvenli, antimikrobiyal ve kolay üretilebilir olması nedeniyle gıda alanında kullanılmaktadır (Ameen - Caruso, 2017; Andres vd., 2013). Laktik asidin L ve D olmak üzere iki izomeri bulunur ve insanlar tarafından sadece L izomeri sindirebilir olduğu için gıda alanında sadece L izomeri kullanılmaktadır (Dey - Pal, 2012)..

2.1.2. Lahana turşusu üretimini domine eden bazı mikroorganizmalar

2.1.2.1. *Lactobacillus*

Laktobasillerin önemli üyelerinden biri *Lactobacillus*, *Firmicutes* filumuna, *Bacilli* sınıfına ve *Lactobacillales* takımına ait anaerobik veya aerotolerans, gram-pozitif, spor oluşturmeyen çomak şeklindeki bakteridir (Vinderola vd., 2019; Hutkins, 2007). Bu tür bakterilerin çubuk uzunlukta olması yanı sıra kıvrık, eğri şekilde de olanları bulunmaktadır. Ayrıca, agar plaklarında bazı türleri geniş yuvarlak koloni oluştururken, bazıları da küçük ya da düzensiz koloni oluşturmaktadır. Dolayısıyla mikroskop altında incelenmesi halinde bazı zorluklar meydana gelmektedir (Hutkins, 2007). *L. acidophilus*, *Lactocaseibacillus casei*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Limosilactobacillus fermentum*, *L. paracasei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus* ve *L. salivarius* başta olmak üzere yaklaşık 233 tür içeren *Lactobacillus* diğer cinslere göre birçok tür içermekle kalmaksızın aynı zamanda ekolojik, fizyolojik, biyokimyasal açıdan da farklılıklar göstermektedir (Vinderola vd., 2019; Hutkins, 2007).

İnsan diyetini parçası olan *Lactobacillus* günümüzde gıda alanında starter kültür olarak kullanılmasının yanında probiyotik olarak da kullanılmaktadır (Vinderola vd., 2019). Probiyotik kelimesi de normal florada bulunan ve farklı hastalıkları önleyerek sağlık geliştirme kabiliyetine sahip canlı mikroorganizmalardan oluşan bir besin takviyesi olarak tanımlanmaktadır (Slover, 2008). *Lactobacillus* 'un probiyotik özelliğinden dolayı bulaşıcı ishal, huzursuz bağırsak sendromu ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi gastrointestinal hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Slover, 2008). Ayrıca,

Escherichia coli (*E. coli* 0157:H7 dahil), *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococ*, *Lactobacillus spp.* gibi patojen bakteriler üzerine inhibe edici aktiviteye sahip olması hem hayvancılık hem de gıda alanında geniş kapasitede kullanılmasını sağlamaktadır (Dinev vd., 2018). *Lactobacillus* 'un probiyotik etkisi de ürettiği farklı bakterosin ve fermantasyon sonucu oluşan laktik, asetik ve propiyonik asidin mide pH'sını düşürerek patojen mikroorganizmaları engellemesiyle anlaşılmaktadır (Dinev vd., 2018; Slover, 2008).

Genel anlamda mezofil ve optimum üreme sıcaklığı 30-45°C olarak bilinen laktobasil grubu sahip olduğu farklı fizyolojik özelliklerinden dolayı hem termofil, hem de psikrofil türleri bulunmaktadır. Bazı türleri tuz, ozmotik basınç ve düşük su aktivitesine yüksek tolerans göstermektedir. Bu tür bakterilerin asit toleransının olması da asidik koşullarda iyi üreyebilmesiyle anlaşılmaktadır (Hutkins, 2007).

Farklı patojen ve saprofit mikroorganizmaları önlemek amacıyla kullanılan *Lactobacillus*, yaşamını devam ettirebilmesi için şekeri farklı iz yoluyla metabolize eder. Öncelikle ortamdaki şekerleri permease sistemi veya spesifik fosfotransferaz mekanizmasıyla (PTS) hücre içerisine alırlar. Ardından reaksiyon heksozların glikoz 6-P, pentoazlar ise ksiloz-6-P dönüşmesiyle başlar. *Lactobacillus* 'un gruplandırıldığı gruba göre bakteri zorunlu homofermentatif ise; şekerler glikoliz yoluyla laktik aside, fakültatif heterofermentatif ise; laktik asit ve başka elektron alıcısı yoksa eşit molar etanol ve CO₂ dönüştürür. Ancak, ortamda zorunlu heterofermentatif türlerinin bulunması durumunda ortamdaki şekerler hem glikoliz, hem de pentoz fosfoketolaz iz yoluyla parçalanarak laktik asit ve diğer yan ürünlere dönüştürülmektedir (Vinderola vd., 2019). *Lactobacillus* oldukça geniş metabolik özelliğe sahip olduğu halde besinsel açıdan zengin ortama ihtiyaç duymaktadırlar. Proteolitik ve lipolitik olmadıkları için hızlı şekilde gelişebilme ve yüksek aktivite gösterebilmesi için farklı aminoasitler, peptitler ve yağ asitleri bulunması gerekir. Bazı türleri de vitaminler, nükleotidler ve diğer besinlere ihtiyaç duyarlar. Fermente edilebilir karbonhidratlardan glikoz, fruktoz, laktoz yanında sellobiyoz gibi bitki kaynaklı karbonhidratları da tüketebilirler (Hutkins, 2007). Sıcaklık istekleri ve biyokimyasal reaksiyona göre *Betabacterium*, *Streptobacterium* ve *Termobacterium* olmak üzere üç gruba ayrılırlar (Carr vd., 2002).

Streptobacteria çoğunlukla gıda endüstrisinde kullanılan ve oldukça geniş tür içeren homofermentatif gruptur. Doğal olarak lahana, mısır, peynir, yoğurt gibi gıda maddelerinde bulunurlar. Özellikle sucuk ve kırmızı et gibi hayvansal ürünlerde gözlenen

Streptobacteria ağırlıklı olarak 30°C sıcaklıkta gelişirler ve yaklaşık Ph 3,9'da da inhibe olurlar. Ortamdaki glikonatları fermente ederken CO₂ oluştururlar, ancak glikozu fermente etmeleri durumunda CO₂ gazı oluşturmazlar. Bu tür bakterilerin *Lactobacillus planetaryum* başta olmak üzere önemli üyeleri *Lactobacillus carnis*, *L. piscicola*, *L. coryniformis*, *Lacticaseibacillus casei* spp. *casei*, *L. casei* spp. *rhamnosus*, *L. maltaromicus*, *L. casei* spp. *pseudopantarum* ve *L. agilis*, *Lactobacillus bavaricus*, *Latilactobacillus sakei*, *Companilactobacillus alimentarius*, *L. yamanashiensis* mikroorganizmaları sayılmaktadır (Carr vd., 2002).

Lactobacillus planetaryum diğer adıyla *Streptobacterium plantarum* olarak bilinen *Lactiplantibacillus plantarum* katalaz negatif, spor oluşturmeyen, anaerobik kısa çubuk şeklindeki fakültatif heterofermentatif bakteridir. Asidik koşullara dayanıklı, çoğunlukla sauerkraut, kimçi, turşu gibi bitki bazlı ürünlerde bulunur ve pH değeri yaklaşık 4 olan gıda maddesinde iyice gelişir. Başta denildiği gibi glikozla beraber malik asit, pentoz ve/veya glukonatları da fermente eder ve laktik asit ve diğer organik asitlere dönüştürür (Khemariya vd., 2016). Özellikle indikatör mikroorganizmalara karşı antagonistik potansiyele sahip exopolisakkaridleri ve antibakteriyel bioaktif komponentleri üretmesiyle hem gıda ve hem de farmakolojide önemli yer kapsar. PlnA, iki peptid bakteriyosinler PlnJK, PlnEF ve NC8 gibi çeşitli plantarisinler üreterek patojen ve saprofit mikroorganizmaların hücre geçirgenliğini indükler ve sitoplazmik zar üzerinde gözenek oluşturarak etkisiz hale getirir (Abdelazez vd., 2018; Dinev vd., 2018).

Betabacteria fermantasyon esnasında glikozdan karbon dioksit oluşturur ve bazen arginini hidrolize ederler. Bu tür mikroorganizmalar beslenme esnalarında tiamine ihtiyaç duyarlar. Optimum üreme sıcaklığı 15°C olarak belirlenmiştir. Bu tür bakteriler *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lentilactobacillus buchneri*, *L. carnis*, *Secundilactobacillus collinoides*, *L. confusus*, *L. divergens*, *Fructilactobacillus fructivorans*, *Lentilactobacillus hilgardii*, *L. halotolerans*, *L. kandleri*, *Lentilactobacillus kefir* ve *L. minör* gibi mikroorganizmaları içerir (Carr vd., 2002).

Levilactobacillus brevis süt, peynir, lahana turşusu, ekşi hamur, silaj, inek gübresi, insan ve sıçanların ağız ve bağırsak yolları gibi kaynaklardan izole edilen heterofermentatif gram pozitif mikroorganizmadır. Bir laktobasil grubunun üyesi ve farklı geleneksel fermente gıdalarda kullanılmasıyla probiyotik olarak tanımlanmaktadır. Etanol ve n-butanol gibi kısa zincirli alkol ve aromatik organik bileşiklere dayanıklılık gösterir ve indikatör mikroorganizma *Bacillus cereus* 'un üzerine inhibe edici etkiye sahiptir. Ayrıca, bu tür bakterilerin yüksek asitli ortamda ve insan bağırsak sisteminde yaşayabilmesi

nedeniyle yoğurt gibi gıda maddelerinde ilave probiyotik mikroorganizma olarak kullanılmaktadır (Rushdy ve Gomaa, 2013; Rönkä vd., 2003). Farklı turşu üretiminde starter kültür olarak kullanılan *Levilactobacillus brevis* sağlığı ters yönde etkileyen nitrit konsantrasyonunu azaltır ve duyuşal özelliğini geliştirir (Xia vd., 2017).

Latilactobacillus sakei düşük pH, düşük sıcaklık ve yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklılık gösterir. Sakasin-1 gibi antimikrobiyal madde üretmesiyle gıda endüstrisinde önemli yere sahiptir ve *Listeria monocytogenes*'i inhibe etmesiyle farklı alanlarda biyokoruyucu ve probiyotik mikroorganizmaları geliştirmek için kullanılır (Gomes vd., 2012; Sørvig vd., 2005)

Thermobacteria türü bakteriler 45°C ve üzerindeki sıcaklıkta üreyebilen termofilik, gram pozitif ve homofermentatif bakterilerdir. Pentoz veya glukonat gibi karbonhidratları fermente edemez ve karbon dioksit gazı oluşturmada glikozu fermente ederler. 15°C altındaki sıcaklıkta üreyemeyip *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* spp. *bulgaricus*, *L. delbrueckii* spp. *lactis*, *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. leichmannii* gibi bakterilerden oluşmaktadır (Carr vd., 2002).

2.1.2.2. *Leuconostoc*

Leuconostoc cinsi *Leuconostocaceae* familyasına ait mezofilik, gram-pozitif, haraketsiz asporojen bakteridir. Optimum üreme sıcaklığı 18°C ile 25°C arası ve 4,5 pH üzerindeki asidik ortamda gelişebilen *Leuconostoc*' un hücre yapısı elipsoidal formdan küresel forma değişir ve çiftler ya da zincirler halinde bulunurlar. Heterofermentatif oldukları için metabolizma konusunda fosfoketolaz iz yolunu takip ederler (Vinderola vd., 2019; Hutkins, 2007). Glikoz gibi heksozları fermente etmek için öncelikle heksoz molekülünden karbondioksiti ayırır ve daha sonra laktik asit, etanol, CO₂ ve asetat gibi maddeler üreterek proses devam eder (Martellacci vd., 2019). Ayrıca, bu cinsteki bakteriler proteolitik aktivite gösteremez, arginini hidrolize edemez ve nitratları indirgeyemezler (Vinderola vd., 2019).

Çoğunlukla salatalık, kimçi, lahana ve zeytin gibi sebze ve meyvelerde bulunan *Leuconostoc*, laktik asit bakterileri arasında bitki kaynaklı mikroorganizma olarak bilinir (Vinderola vd., 2019). Turşu gibi gıda maddeleri üretiminde bu tür bakteriler hızlı şekilde gelişir, farklı asitler ve karbon dioksit üreterek diğer LAB için elverişli bir atmosfer sağlar. Ek olarak fermantasyon sonucu gıda maddesinin aroma profilini geliştirir (Hutkins, 2007). Ancak, *Leuconostoc*' un ürettiği dekstranlar et ürünlerinde bozulma

reaksiyonlarına neden olabilir, şeker endüstrisinde ise kararma gibi istenmeyen reaksiyonlara neden olurlar (Carr vd., 2002). Ayrıca bu cinsteki mikroorganizmaların starter kültür ya da yararlı olarak kullanılması yanında farklı hastalıklara da neden olurlar. Fakat vankomisin, ampisilin, kloramfenikol, eritromisin ve diğer glikopeptid antibiyotiklere duyarlı olması *Leuconostoc* kaynaklı hastalıklarının tedavisinde kullanılır (Vinderola vd., 2019; Hong vd., 2016)

Leuconostoc citreum optimum üreme sıcaklığı 15°C ve pH 3,9 kadar aktivite gösteren *L. citreum* lahana ve sarımsak gibi bitkilerde bulunduğu için bitkisel mikroorganizma olarak bilinir. Kimçi, lahana turşusu ve sauerkraut gibi ürünlerin üretimini de domine ederler (Choi vd., 2003). Formik, propiyonik ve bütirik asit gibi kısa zincirli yağ üretmekte olup kimçi ve buna benzer ürünlerin üretiminde ve aromasının gelişmesinde önemli rol oynar (Silva vd., 2017). Gastrointestinal sistemde hayatını sürdürebilme ve *Staphylococcus aureus* üzerine antagonistik etki göstermesi nedeniyle probiyotik özelliği de sağlayabilir (Silva vd., 2017).

Leuconostoc mesenteroides, katalaz negatif, spor oluşturmeyen fakültatif anaerobik, heterofermentatif ve çoğunlukla dekstran oluşturan laktik asit bakteridir. *L. citreum*'da olduğu gibi kimçi ve sauerkarut gibi turşu üretiminde de önemli yere sahiptir. Ürettiği antidiyabetik ve antikanserojenik özelliğe sahip manitol ile kimçi gibi ürünlere ferahlatıcı tat verir (Silva vd., 2017). *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Bacillus cereus* ve *Listeria innocua* gibi bakterilere karşı güçlü antibakteriyel aktivite ve yapay modifiye sindirim sisteminde yaşamını sürdürebilme kabiliyetini göstermesiyle çeşitli probiyotiklere özelliğe sahip olduğu anlaşılmaktadır (Lee - Kim, 2019). Ancak probiyotik etki göstermesi yanında bu mikroorganizmanın beyin apsesi, endokardit, hastane salgınları ve merkezi sinir sistemi tüberkülozu gibi hastalıklara neden olabildiği söylenmektedir (Chun vd., 2017).

2.1.2.3. *Lactococcus*

Lactococcus cinsi, kısa zincir oluşturan, yaklaşık 0,5–1,5 µm boyutundaki gram pozitif, heksozları zorunlu homofermentasyon yoluyla parçalayarak laktik aside dönüştüren haraketsiz bakteri grubudur. Bu bakteri grubu *Lactococcus lactis*, *L. taiwanensis*, *L. hirilactis*, *L. fujiensis*, *L. nasutitermitis* ve *L. garvieae* başta olmak üzere yaklaşık 13 tane bakteri içerir. Optimum üreme sıcaklığı 30°C iken 10°C ile 40°C arasındaki sıcaklıkta ve %4 tuzu geçmeyen ortamda aktivite göstermektedirler (Vinderola

vd., 2019; Carr vd., 2002; Hutkins, 2007). Ancak, ortamın pH değeri 9,6'yı ve tuz oranı %6'yı geçmesi durumunda bu cinsteki mikroorganizmalar hayatını yitirmektedir. *Lactococcus* cinsi mikroorganizmalar farklı peynir türlerinin, özellikle çedar peyniri üretiminde kullanılır ve bu mikroorganizmanın peynir üretimindeki asıl fonksiyonu tadını geliştirmektir (Carr vd., 2002).

2.1.2.4. *Pediococcus*

Pediococcus cinsi *Lactobacillaceae* familyası ait fakültatif anaerobik, gram pozitif, hareketsiz, katalaz negatif ve glikozu homofermentatif yoluyla laktik aside dönüştüren bitkisel kaynaklı LAB grubudur. Optimum üreme sıcaklığı 30°C, pH değeri 6,0-6,5 iken *Pediococcus* spp. çoğu 25°C ile 35°C arasındaki ortamda iyi şekilde gelişirler. Aynı zamanda bu bakteri grubunun bazı türleri pH değeri 4 ve/veya altındaki asidik ortamda aktivite gösterir (Vinderola vd., 2019; Carr vd., 2002). Pediyokokların iyi bir şekilde aktivite gösterebilmesi için karmaşık nitrojen bileşenlere ihtiyaçları vardır ve amonyak tuzlarını tüketemezler. Aynı zamanda besin olarak folik asidi ister ve triptofandan indol oluşturmazlar. *Pediococcus* cinsi *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus etanolidurans*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus siamensis* ve *Pediococcus stilesi* gibi bakteriler başta olmak üzere yaklaşık 12 tür içerir (Vinderola vd., 2019; Carr vd., 2002).

2.2. Turşu Üretiminde Oluşan Bazı Metabolitler ve Sağlık Üzerine Etkisi

2.2.1. Fenolik maddeler

Son 20 yıl aralığında bitkilerin ikincil metabolitleri olarak bilinen fenolik maddeler kanser, kardiyovasküler, nörodejeneratif ve oksidatif stres gibi hastalıklara karşı etkisi ve serbest radikalleri yok edici antioksidan özelliğinden dolayı pek çok araştırmacının ilgisini çekmeye başlamıştır (Şamec vd., 2017). Özellikle ultraviyole radyasyona ve patojenlerin saldırganlığına karşı savunmada yer alması hem üretici hem de tüketicilerin dikkatini çekmiştir (Şamec vd., 2017; Pandey - Rizvi, 2009). Fenolik maddeler genellikle bir veya birçok şeker kalıntısıyla bağlanmış halde bulunur ve fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler ve lignanlar olarak dört gruba ayırırlar.

Fenolik asitler; yaban mersini, kivi, çay ve kahve başta olmak üzere gıdalarda bol miktarda bulunur ve benzoik asit türevi ve sinnamik asit türevleri olarak iki gruba ayrılırlar (Ganesan - Xu, 2017; Pandey - Rizvi, 2009).

Flavonoidler; flavonoidler fenolik madde içerisinden  karbon atomu ile birbirine bağlanmış iki aromatik halkından oluşmaktadır. Flavonlar, flavonoidler, flovonoidler, izoflavonlar, antosiyaninler, kalkonlar ve kateşinler olarak alt gruba ayrılırlar. Genellikle 4000 fazla tür içerir bitkisel maddelerin çekici renklerden sorumluluk sağlar (Ganesan - Xu, 2017; Pandey - Rizvi, 2009).

Stilbenler; stilbenler kırmızı şarap ve fıstık gibi gıda maddelerinde çok bulunurlar ve bunların içerisinde resveratrol yaygın olarak yer almaktadır (Ganesan - Xu, 2017; Pandey - Rizvi, 2009).

Lignanlar; keten tohumu, baklagiller, tahıllar, meyveler, algler gibi gıda maddelerinde yer alırlar ve sinamik asidin dimerleşme sonucu oluşan difenolik bileşiklerden oluşmaktadır (Ganesan - Xu, 2017; Pandey - Rizvi, 2009).

Fenolik madde açısından genellikle bitkisel kaynaklı gıda maddeleri zengin olarak bilinir ve onların içerisinde lahanada da yer almaktadır. Lahananın fenolik madde içeriği esas olarak flavonoidler ve hidroksisinamik asitten oluşmaktadır ve turşu üretiminde fermentesyona bağlı olarak fenolik madde içeriği de artmaktadır. Bu da laktik asit bakterilerinin turşudaki biyoaktif komponentlerin artırmasıyla anlaşılmaktadır (Zubaidah vd., 2020; şamec vd., 2017). Ayrıca, laktik asit bakterilerinin fermentasyon esnasında fenolik kompleksleri basit bileşiklere dönüştürmesi antioksidatif etkisini de artırmaktadır (Tolonen vd., 2004). Özellikle mikroorganizmaların ürettiği fermentlerle bitkilerin hücre yapısı zarar görerek antioksidan maddelerin serbest kalması ve ortamdaki oksidatif strese karşı antioksidatif enzim üretmesi antioksidan bileşiğinin birden artmasına neden olmaktadır (Hur vd., 2014)

2.2.2. Glukozinolatlar

Glukozinolatlar; *Brassicaceae* familyasındaki lahanalarda yaygın olarak dağılmış bitki sekonder metabolit grubudur. Genellikle tiyoglkoza bağlı sülfatlanmış izotiyosiyanat grubundan oluşur ve herhangi bir işlem görmemiş lahanada glukozinolatlar biyolojik aktivite göstermemektedir. Ancak lahana veya buna benzer ürünlerin hasar görmesi sonucu mirosinaz enzimi açığa çıkar ve glukozinolatları D-Glukoz ve aglikona hidrolize etmektedir. Daha sonra kendiliğinden izotiyosiyanatlara veya indollere

dönüşerek biyolojik aktif hale gelmektedir(Šamec vd., 2017; Peñas vd., 2015; Martinez-Ballesta - Carvajal, 2015).

2.2.3. Diyet lifleri

Diyet lifleri; insanlar tarafından sindirilemeyen özellikle bitkisel kaynaklı polisakkaritlerden oluşmaktadır ve dünya çapında salgın bir hastalık olan obezite ve birçok kronik hastalıkların önlenmesinde kullanılmaktadır (Korus vd., 2021; Alam, 2020; Barber vd., 2020). Diyet lifce zengin gıda maddelerinin tüketilmesi kandaki kolesterolü azaltır, yeme sıklığını azaltarak kilo kaybını teşvik eder ve insülin duyarlılığını iyileştirir. Özellikle çözünür liflerinin tüketilmesi durumunda vücuttaki toksik maddeleri çıkarır ve bağırsak hareketliliğini sağlayarak sindirim sistemini güçlendirir (Alam, 2020; Barber vd., 2020). Avrupa Birliği Düzenlemelerine göre 100 gr içerisinde 3 gr diyet lifi bulunması halinde “lif kaynağı”, 6 gram bulunması durumunda “yüksek lif” kaynaklı gıda maddesi olarak adlandırılmaktadır (Korus vd., 2021)

2.2.4. Vitamin ve Karotenoidler

Vitamin ve karotenoidler, insan metabolizmasının ve bağışıklık sisteminin doğru bir şekilde çalışmasını sağlayan biyoaktif bileşenler olarak bilinir. Turpgillerden olarak bilinen lahana bu tür biyoaktif bileşenleri içermekte olup günlük gerekli K vitamininin yaklaşık %72, C vitaminin %44, folatın %11 ve B6 vitaminin %10 karşılamaktadır (Šamec vd., 2017). Tokoferol, karotenoid ve C vitamini birleşik halde bulunması farklı oksidatif stres ve radikallere karşı yüksek antioksidatif aktivite göstermektedir (Podsedeck, 2007). Antioksidan etkisi yanında karotenoidler farklı gıda maddelerinde sarı, turuncu ve kırmızı renkleri sağlamakta ve A vitamini öncüleri olarak bilinen α ve β türleri sağlıklı cilt, kemikler, gastrointestinal ve solunum sistemi için önem taşımaktadır (Šamec vd., 2017; Rao - Rao, 2007). C vitamini, çeşitli hücresel fonksiyonları destekleyerek bağışıklık sistemimizi güçlendirir. Özellikle epitel destekleyerek farklı patojen mikroorganizmalara karşı koruyucu bariyer oluşturmaktadır (Carr - Maggini, 2017).

2.3. Metagenomik Analiz

Farklı fermente ürünlerin üretim aşamasında ortamdaki mikroorganizmaların miktarı, kalite ve güvenlik açısından sıklıkla kontrol edilmesi gerekmektedir (Ampe vd.,

1999). Genellikle gıda ve diğer laboratuvarlarda mikroorganizmalar kültüre bağımlı ekim yöntemleri ile sayılmaktadır. İzole edilen mo'lar biyokimyasal testler, mikroskop ve moleküler biyolojinin yardımıyla tanımlanarak karakterize edilmektedir. Ancak, bu tür kültüre bağımlı yöntemler, ortamda az sayıda varlığını sürdüren ve ekim işlemiyle kültürlenemeyen mikroorganizmaların tanımlamasında bazı zorluklar çıkmaktadır. Bu durum kültüre bağımlı yöntemlerle gıda ve diğer maddelerin mikrobiyotasıyla ilişkili kesin sonuç alma konusunda kısıtlamalara neden olmaktadır (Stefanini - Cavalieri, 2018; Ampe vd., 1999). DNA temelli kültürden bağımsız yöntemlerin, özellikle metagenomik analizin ortaya çıkması bu tür problemlerin çözülmesine ve yeni mikroorganizmaların tanımlanmasını kolaylaştırmıştır (Morgan vd., 2017).

Metagenomik analiz, farklı genomik teknoloji ve biyoinformatik araçları kullanarak örneklerin içerdiği genomların doğrudan analizi olarak tanımlanmaktadır. Metagenomik, mikrobiyal toplulukların fonksiyonel genetik bileşenlerine erişim sağlar ve tek bir gen analizine dayanan filogenetik araştırmaya göre daha da kapsamlı sonuç sunmaktadır. Dolayısıyla metagenomik analiz yardımıyla yeni enzimlerin, kültürlenmemiş organizmalarının fonksiyonu ve filogeni arasındaki ilişki hakkında genetik bilgi almak mümkün olmaktadır (Thomas vd., 2012). İlk olarak 1985 yılında Pace bilim adamı tarafından çevresel DNA'nın doğrudan klonlaması önerilmiş ve böylelikle metagenomik çalışmalar başlamıştır (Simon - Daniel, 2011). Meta kelimesi grek dilinden türetilmiş olup "ötesinde" anlamını taşımakta, metagenomik kelimesi de "tek genom çalışmasının ötesinde" olarak açıklanmaktadır (Gilbert - Dupont, 2010)

Başlangıçta metagenomik analiz ile esas olarak ılıman ortamlardan üreyen mikrobiyal topluluklardaki yeni biyomoleküller araştırılmaktaydı. Ancak farklı DNA izolasyonu, klonlama stratejileri ve tarama tekniklerinin meydana gelmesi, farklı ortamlardaki bulunan mikroorganizmaların araştırılmasına da yol açmıştır. Ayrıca next-generation sequencing metodunun başlatılmasıyla birçok çevresel sekanslar elde edilmiştir ve bu sekanslar sayesinde taksonomik ve metabolik çeşitliliklerin analiz edilmesine ilişkin birçok biyoinformatik veri tabanların oluşturulmasına yol açılmıştır (Simon - Daniel, 2011). Farklı patojen mikroorganizmaların tanımlanmasında hassas ve spesifik real-time quantitative PCR gibi yöntemlerin rutin kullanımı ile güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. Ancak, bu yöntemlerin de analiz edilemeyen mikroorganizmaların tespit edilmesi oldukça zor olmaktadır. Bu bakımdan, high-throughput sequencing (HTS) kullanan metagenomik analiz daha da çok umut vermektedir (Wylezich vd., 2018). Ayrıca, metagenomik yaklaşımla örneklerdeki genlerin taksonomik olarak bakterilerin

cins seviyeye kadar tanımlanmasını sağlamakta ve böylelikle mikrobiyal topluluğun fizyolojisi ve ekolojisine ilişkin geniş bilgi elde edilmektedir (Martin vd., 2018).

Metagenomik analizde pek çok stratejiler kullanılabilmektedir. Metagenomik analizde ilk mikroorganizmalardan genetik DNA/RNA materyalinin ekstraksiyonu ile başlayıp daha sonra sekanslama, kalite kontrolü ve birleştirme (assembly) gibi adımlarla devam etmektedir (Breitwieser vd., 2019; Martin vd., 2018; Thomas vd., 2012).

2.3.1. DNA ekstraksiyonu ve kütüphane hazırlanması

Farklı gıda maddesindeki mo'ların genetik materyal (DNA veya RNA) ekstraksiyonu, metagenomik analiz de önemli adımlardan biri olarak bilinmektedir. Örneklerden ekstrakte edilmiş genetik materyalin, numunede bulunan tüm hücreleri temsil etmesi ve ileri adımlarda kütüphane oluşturma ve sekanslama gibi prosesler için yeterli miktarda yüksek kaliteli nükleik asit içermesi gerekmektedir (Thomas vd., 2012). Özellikle gıda maddesinden genetik materyali izole ederken genetik materyale fiziksel olarak müdahale etmek, protein, hümik asit ve metal gibi maddelerle kontamine etmek gibi hususlardan kaçınmak gerekmektedir (Prayogo vd., 2020). DNA ekstraksiyonu, öncelikle mo'ların hücre yapısının bozulması ve parçalanmasıyla başlamaktadır. Mo'ların hücre yapıları heterojen olduğu için farklı lizis yöntemi ile farklı sayıda DNA ekstrakte edebilmektedir (Martin vd., 2018). Genellikle mo'ların hücre yapısını bozmak için bead-beating metodu kullanılmaktadır. Bu yöntem sayesinde daha da yüksek verime ulaşmak mümkün olmaktadır (Wesolowska-Andersen vd., 2014). Bu tür ekstraksiyon metodlarının yerine hazır ekstraksiyon kitleri kullanılmaktadır. Ekstraksiyon kitleri ile standart protokollere göre daha hızlı bir şekilde ekstraksiyon işlemi yapılmaktadır. Ancak, bazı araştırmalar sonucu standart protokollerin kullanılması durumunda kitlere göre daha verimli sonuçlar alındığı da olmuştur (Prayogo vd., 2020).

Kütüphane hazırlama aşamasında adaptör sekanslar her DNA fragmentinin 5' veya 3' uçlarına bağlanır. Ancak bazı durumlarda kütüphanenin hazırlanabilmesi için yüksek nanogram veya mikrogram DNA materyaline ihtiyaç duyulur ve bu durumda amplifikasyon işlemi gerçekleştirilir. Amplifikasyon işleminde farklı PCR primerleri, adaptörler kullanılmakta olup, bir çok örneğin analiz edilmesi durumunda barkodlar kullanılmaktadır (Martin vd., 2018; Thomas vd., 2012).

2.3.2. DNA moleküllerin konsantrasyonun ve saflığının hesaplanması

Genel olarak DNA materyalinin saflığı ve konsantrasyonu UV absorbans, florasan boyama ve difenilamin reaksiyonu gibi 3 yöntemle analiz edilmektedir. Ancak UV absorbans yöntemi kolay, ucuz ve pratik olmasından dolayı tercih edilmektedir. UV absorbans yönteminin prensibi, genetik materyalin spektrofotometre cihazı ile sağlanan belli bir ışını emmesiyle anlaşılmaktadır. Genellikle proteinler, 260 nm dalgadaki ışığı absorbe ederken genetik DNA materyali, 280 nm dalgadaki ışıktaki yüksek kapasitede emme kabiliyetini göstermektedir. Dolayısıyla DNA moleküllerin konsantrasyonu ve saflığı hesaplanırken 260/280 oranı kullanılmaktadır. Bu oranın düşük olması DNA materyalin farklı kaynaklarla kontamine olduğunu göstermektedir (Prayogo vd., 2020).

2.3.3. Genetik materyalin amplifikasyonu

Farklı mikroorganizmaların, özellikle prokaryotik mikroorganizmaların tayin edilmesinde ribozomal RNA kullanılmaktadır. Ribozom çoğunlukla proteinlerin üretilmesinde sorumlu yapı olarak bilinmektedir. Genel olarak ribozom, %65 ribozomal RNA ve %35 proteinlerden oluşmaktadır. İki rRNA molekülü (5S ve 23S) içeren büyük alt birim (50S) ve tek rRNA molekülü (16S) küçük alt birim olmak üzere iki multimerik alt birimlerden oluşmaktadır (Ramazzotti - Bacci, 2018).

16S rRNA, prokaryotik mikroorganizmaların taksonomik olarak analiz edilmesinde kullanılmaktadır. 16S rRNA yaklaşık 1500 bp uzunluktaki hiperdeğişken farklı dokuz (V1-V9) bölgeden oluşmaktadır. Bu değişken dokuz bölge yardımıyla prokaryotik mikroorganizmalar ayırt edilebilmektedir (Prayogo vd., 2020; Ramazzotti - Bacci, 2018). Amplifikasyon işlemi polimeraz zincirleme reaksiyonu (PCR) işlemiyle yapılmakta olup bakterilerin tanımlanmasında çoğunlukla V1-V2 veya V1-V3 bölgeler kullanılmaktadır. Ancak, taksonomik çalışmalarda bu bölgelerden seçilen primerlerin evrenselliği, amplifikasyon verimliliği ve seçilen bölgedeki bilgi miktarı gibi hususlara önem verilmektedir (Prayogo vd., 2020; Ramazzotti - Bacci, 2018).

PCR yöntemiyle genlerin klonlanmasında genellikle DNA materyalin 3' ve 5' ucuna hibridize primerler kullanılmaktadır (Karami vd., 2011). PCR prosesinin ilk aşaması denaturasyon aşamasıdır. Denaturasyon aşamasında izole edilmiş DNA materyalin yaklaşık 94- 96°C sıcaklıkta ısıtılarak DNA'daki arasındaki hidrojen bağları kırılır ve iki ayrı DNA zinciri oluşmaktadır. Daha sonra yeniden birleştirme prosesiyle

DNA molekülü ortamdaki iki primerle hibridleşmektedir. Seçilen primerler daha önce denatüre edilmiş genetik materyalin bir ucunu tamamlarken ikinci primer, diğer DNA zincirindeki diğer ucunu tamamlamaktadır. Genellikle yeniden birleştirme prosesi 45-60°C arasındaki sıcaklıkta gerçekleştirilmektedir. Son olarak elongasyon aşamasında primerler DNA polimeraz enzimi tarafından ortamdaki primerlerle DNA zinciri büyütülmektedir (Noflindawati vd., 2021; Karami vd., 2011).

2.3.4. DNA kütüphanesi oluşturma ve sekanslama

Genomların incelenmesinde ne kadar sade bir kütüphane hazırlansa bile bazı hatalar içerebilmektedir. Fakat geniş kütüphanenin hazırlanması ve hataların yok denilecek kadar azaltılması ileri çalışmalar için çok önemlidir. Metagenomik analiz veya yeni nesil dizileme gibi yöntemler ile RNA veya DNA materyalin ileri sekanslama cihazına yüklenilebilmesi ve sekanslanabilmesi için nükleik asit materyallerin standart kütüphaneye dönüştürülmesi gerekir. Günümüzde kütüphanenin hazırlanmasında pek çok protokoller mevcuttur. Bu tür protokollerin hepsinde DNA veya RNA fragmentini katı bir yüzeye bağlayan ve sekanslanmasını sağlayan adaptörler mevcuttur. Bu adaptörler sayesinde genetik materyal katı yüzeye bağlanmaktadır (Li vd., 2018; Van Dijk vd., 2014). Günümüzde metagenomik analiz kütüphanelerin hazırlanmasında İllumina platformu pek çok kit sağlamaktadır ve bu kitler sayesinde kütüphaneler oluşturulabilmektedir (Li vd., 2018). Kütüphane oluşturulduktan sonra İllumina veya 454/Roche gibi platformlar sayesinde sekanslanmaktadır. Daha sonra düşük kalitedeki, belirsiz ve kimerik sekanslar uzaklaştırılmaktadır. Elde edilen sekanslar %97 benzerliğe kadar operasyonel taksonomik birimlerde kümelenmektedir (Nguyen vd., 2016). 454/Roche sekanslama tekniği DNA veya genetik materyalin su/yağ emülsiyonunda DNA yakalama boncukları tarafından tutulmasına dayanmaktadır. Daha sonra boncuklar bir PicoTiterPlate üzerine yerleştirilerek pirosekanslanmaktadır. Ancak illumina sekanslama tekniği DNA moleküllerinin bir preparat üzerinde primerlere bağlanmasıyla başlar, ardından bu DNA'nın yerel koloniler üretmek için amplifikasyonuna tabii tutulmaktadır. "DNA kümeleri" nesline, bir bloke edici grupta bağlanmış floresan etiketli, tersinir sonlandırıcı bazların (adenin, sitozin, guanin ve timin) eklenmesi eşlik etmektedir. Daha sonra bu dört baz şablon DNA'ya bağlanmak için rekabet etmektedir. Sonunda ortamdaki bağlanmamış bazlar yıkanarak ortamdan uzaklaştırılmakta ve lazer

yardımıyla boya maddesi uyarıcı hale getirilerek tarama işlemi yapılmaktadır. Bu proses tüm DNA molekölü sekanslanana kadar yapılmaktadır (Oulas vd., 2015).

2.3.5. Biyoinformatik analiz

454 pyrosequencing, Illumina, Solid ve Ion Torrent gibi sekanslama teknolojileri sayesinde elde edilen 16S veri tabanların prokaryotlar mikroorganizmaların taksonomi analiz yapılmasında QIIME, Mothur, SILVAngs MEGAN, ve AmpliconNoise başta olmak üzere pek çok programlar kullanılmaktadır. Ancak bunlar içerisinde QIIME programı taksonomi çalışmalarının yapılması için uygun ve kolay bir program olarak bilinmektedir. İllumina sekanslamada sekanslanmış veri tabanları öncelikle FASTQ dönüştürölür ve QIIME uygulaması yardımıyla mikrobiyal topluluklar analiz edilmektedir. QIIME analizi sonucu taksonomik ağacı temsil eden Newick formatta veri elde edilir ve daha sonra FigTree ve Biom (biyological Observation Matrix) gibi OTU tablosunu içeren uygulamayla görüntölü hale dönüştürölümlmektedir (Oulas vd., 2015).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

Tez çalışmasında turşu üretiminde kullanılan hammadde beyaz lahana (*Brassica oleracea var. capitata f. Alba*) Konya'daki yerel bir pazardan temin edilmiştir. Analiz sürecinde kullanılan tüm kimyasallar ve ekipmanlar Necmettin Erbakan Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünden temin edilmiştir.

3.2. Turşu Üretimi

Lahanalar 2*2*2 cm şekilde doğranarak kavanozlar içerisine konulmuş ve 3 tekerrür halinde % 2, % 5 ve % 8 tuz konsantrasyonuna sahip salamura suyu ile spontane fermentasyona tabi tutulmuştur.

Örneklerde fermentasyonun 0., 5., 10. ve 15. günlerinde fizikokimyasal özellikler incelenmiştir. Ayrıca 21. günde turşu örneklerinden numune alınarak bakteriyel kompozisyon tespiti için metagenomik analiz yapılmıştır.

3.3. Fizikokimyasal Analizler

3.3.1. pH tayini

Örneklerin pH değeri, homojenizasyon sonrası dijital pH metre (Schott Lab, Almanya) kullanılarak ölçülmüştür (Hong vd., 2016).

3.3.2. Titrasyon asitliği tayini

Lahana turşusunun titre edilebilir asitliğini analiz etmek için 1ml numune alınmıştır, ardından numune 100 ml suda homojenize edilmiş ve filtre kağıdında süzölmüştür. Süpernatana 2 veya 3 damla %1 fenolftalein eklendikten sonra, numunenin rengi açık pembeye dönene ve pH'ı 8.3'e ulaşana kadar numune 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Toplam titre edilebilir asitlik, numunenin pH'sını 8.3'e getirmek için gereken

0.1N NaOH'ın laktik aside oranı olarak ifade edilmiştir. Numune boş suyun gerçek titre edilebilir asitliğini analiz etmek için aynı yöntemle kontrol edilmiştir (Hong vd., 2016).

Titre edilebilir asitlik (%) = $[V \times N \times F \times 100] / [\text{numune ağırlığı (g)}]$

V- $V_1 - V_2$

V_1 - numunenin pH değerini 8.3'e kadar titre etmek için harcanan NaOH hacmi, (ml)

V_2 - blank sunun pH değerini 8.3'e kadar titre etmek için harcanan NaOH hacmi (ml)

N- NaOH'ın normalitesi

F- NaOH'ın laktik aside göre milieşdeğer faktörü, (0.009)

m- numune ağırlığı, g

3.3.3. Tuz tayini

Tuz tayini Mohr Yöntemi ile yapılmıştır. Yöntem ortamda bulunan Cl^- iyonlarını AgNO_3 ile muamele ederek AgCl halinde çöktürmek ve reaksiyona girmeyen AgNO_3 'ın, indikatör olarak ilave edilen potasyum kromat ile kiremit kırmızısı renkli gümüş kromat oluşturması esasına dayanır.

1 ml tuzlu su alınmış ve 40 ml su ile seyreltilmiştir. 2 veya 3 damla %5 potasyum dikromat (K_2CrO_4) eklendikten sonra, numune rengi krem kırmızısına dönene kadar numune 0.1N AgNO_3 ile titre edilmiştir. Su veya boş numune de aynı yöntemle kontrol edilmiştir.

$$\text{tuz\%} = (V * N * 0.0585 * 100) / m$$

$$V = (V_1 - V_2)$$

V_1 - lahana turşusu örneğini titre etmek için harcanan 0.1N AgNO_3 hacmi, ml

V_2 - suyu titre etmek için harcanan 0.1N AgNO_3 hacmi, ml

N- AgNO_3 'ın normalitesi, (0.1)

m- numune ağırlığı, gr

3.3.4. Renk Tayini

Hunter renk değerleri değişimi, Minolta Chroma meter CR 400 (Minolta Co., Osaka, Japan) cihazıyla ölçülmüştür. Cihaz standart beyaz yüzeyli bir kalibrasyon levhasına karşı kalibre edilmiş ve CIE Standard Illuminant C'ye göre ayarlanarak,

örneklerin L* (0: siyah- 100: beyaz), a* (+a: kırmızılık, -a: yeşillik) ve b* (+b: sarılık, -b: mavilik) değerleri saptanmıştır.

Renk tayini lahanalar parçalarında 0., 5., 10., ve 21. günde yapılmıştır.

3.4. Bakteriyal Analizler

3.4.1. Metagenomik analiz öncesi toplam bakteriyal DNA ekstraksiyonu

Toplam DNA ekstraksiyonu kitler kullanılarak elde edilmiştir. Örnekler 1:10 oranında steril DNAfree distile su içerisinde çözündürülüp Stomacher kullanılarak homojenize edilmiştir. 100 µl süspansiyon örneği sekans hazırlığı için, DNA ekstraksiyonu GeneMATRIX Tissue & Bacterial DNA Purification Kit ile üretici firmanın talimatlarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Bakteriyal DNA ekstraksiyon kitinin protokolü şu şekilde uygulanmıştır: Homojenize edilmiş 100 µl örneğe 350 µl Sol T tamponu eklenip vortekslenmiştir. Bu solüsyon 70°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra üzerine 350 µl etanol (%96-100) eklenip tüp birkaç kez ters çevirilerek iyice karıştırılmıştır. Ardından 12 000 g'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Daha sonra DNA bağlama spin kolonları içerisine süpernatantın 600 µl'si aktarılmıştır. Bu tüp 11 000 g'de 1 dakika santrifüj işlemine tabii tutulmuştur. Elde edilen süpernatant yeni bir spin kolonuna aktarılmış ve 11 000 g'de 2 dakika yeniden santrifüjlenmiştir. Üzerine 500 µl Wash TX1 tamponu eklenmiş ve 1 dakika boyunca 11.000 x g'de yeniden santrifüjlenmiştir. Daha sonra 500 µl Wash TX2 tamponundan eklenmiş ve aynı koşullarda tekrar santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Wash TX2 tamponunu tamamen dibe çöktürmek için 11 000 g'de santrifüj edilip aşağı çöktürülerek DNA tüpe aktarılmıştır. DNA'yı yıkamak için 50-150 µl elüsyon tamponu eklenip oda sıcaklığında 2 dakika boyunca bekletilip ardından 11 000 g'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. İşlemler sonucunda ekstrakte edilen DNA 16S rDNA metagenomik analizinde kullanılabilecek kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.4.2. 16S rRNA gen kütüphanesi oluşturma ve sekanslama

Ortalama fragment boyutu 500 bp olan üretici spesifikasyonlarına göre MiSeq Reagent Kit (Illumina, Inc., San Diego, CA, ABD) kullanılarak toplam DNA'dan bir

Illumina kitaplığı hazırlanmıştır. Sekanslama işlemi Illumina MiSeq platformunda eşleştirilmiş (çift) uçlu (paired-end) konfigürasyonla gerçekleştirilmiştir. Sekans verileri analiz için ham data (FASTA) formatına dönüştürülmüş ve ham datalar NCBI genom veri tabanında haritalandırılmıştır

3.4.3. Biyoinformatik analizler

Demultiplexing (çoklamanın çözülmesi) işleminden sonra, çift uçlu (paired-end) okumalara FASTX katılmıştır. Fastqc ile okuma (read) kalitesi kontrolü yapılmış, FASTX tarafından da kaliteli bir filtreleme gerçekleştirilmiş ve Phred skorları 20' nin altında olan okumalar çıkarılmıştır. Veriler, QIIME 1.9.1 yazılımı kullanılarak analiz edilmiş ve her örnek için taksonomik türler belirlenip alfa ve beta çeşitlilik analizleri yapılmış ve filogenetik çeşitlilik belirlenmiştir (Caporaso et al., 2010).

3.5. Duyusal Analiz

Turşu örneklerinin fermentasyonun tamamlandığı kabul edilen 21. gün sonunda 10 panelist tarafından; görünüm, renk, koku, fermente lahana kokusu, mayamsı koku, doku, ağızda sertlik, ekşilik, mayamsı tat, ham lahana tadı, tuzluluk ve genel beğeni parametreleri bakımından turşu örnekleri değerlendirilmiştir

3.6. İstatistik Analizler

Araştırma şansa bağlı tam bloklar deneme planına göre kurulup ve iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırma verileri Minitab® paket programında (two way ANOVA) Varyans Analizine tabi tutularak, önemli bulunan varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır. (Steel ve Torrie, 1980; Mstat-C, 1989).

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Araştırma şansa bağlı tam bloklar deneme planına göre kurulup ve üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Araştırma verileri Minitab® paket programında (One way ve Two way ANOVA) Varyans Analizine tabi tutularak, önemli bulunan varyasyon kaynaklarına ait ortalamalar Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile karşılaştırılmıştır (Steel ve Torrie, 1980; Mstat-C, 1989).

4.1. Lahana Turşularına Uygulanan Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Fermantasyon Sürecindeki Bazı Parametrelere Etkisi

Lahana turşularına uygulanan farklı tuz konsantrasyonlarının fermantasyon sürecindeki, pH % titrasyon asitliği ve % tuz miktarı özellikleri üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Lahana turşularına uygulanan farklı tuz konsantrasyonlarının fermentasyon sürecindeki bazı özellikleri üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu

Kaynak	SD	pH		% Titrasyon Asitliği		% Tuz Miktarı	
		KO	F değeri	KO	F değeri	KO	F değeri
Gün	4	146,414	19726,40**	0,014958	5393,38**	30,566	9126,12**
Tuz konsantrasyonu	2	2,493	671,82**	0,003928	2832,47**	111,915	66830,33**
Gün*Tuz konsantrasyonu	8	4,161	280,30**	0,003018	544,17**	8,343	1245,53**
Hata	30	0,056		0,000021		0,025	
Toplam	44	153,124		0,021925		150,849	

*, P<0.05; **, P<0,01; ns, istatistiksel olarak önemli değil.

Varyans tablosu incelendiğinde denemede uygulanan fermantasyon prosesinde günlere bağlı olarak pH, % Titrasyon asitliği ve % Tuz miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01).

Farklı tuz konsantrasyonu uygulaması pH, % Titrasyon asitliği ve % Tuz miktarı için istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.01).

Gün*Tuz konsantrasyonu incelendiğinde ise; pH, % Titrasyon Asitliği ve %Tuz miktarı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.01).

Çizelge 4.2. Örneklerin fermentasyon günlerine göre pH, % Titrasyon Asitliği ve % Tuz Miktarına ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Günler	N	pH	% Titrasyon Asitliği	% Tuz Miktarı
ilk gün	9	8,77 A*	0,00 E	5,09 A
5. gün	9	6,36 B	0,004 D	3,13 B
10. gün	9	5,33 C	0,019 C	3,10 B
15. gün	9	4,02 D	0,035 B	2,96 C
21. gün	9	3,84 E	0,048 A	2,95 C

*, Birbirinden farklı olan harfler istatistiksel olarak birbirinden farklılığın ifadesi olup, istatistiksel olarak önem seviyesi $p < 0.05$ 'tir.

Örneklerin fermentasyon günlerine göre pH, % Titrasyon Asitliği ve % Tuz Miktarına ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Fermentasyonun ilk gününden 21. gününe kadar pH değerindeki değişim istatistiksel olarak önemli bulunmuş olup, 8.77'den 3.84'e kadar bir değişim gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.2'ye bakıldığında % Titrasyon asitliğinde 0'dan 0.048'e kadar bir artış görülmüştür.

Fermentasyonun ilk günde 5.09 olan % Tuz miktarı fermentasyonun 21. gününde 2.95 olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.3. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre pH, % Titrasyon Asitliği ve % Tuz Miktarına ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Tuz Konsantrasyonu (%)	N	pH	% Titrasyon Asitliği	% Tuz Miktarı
2	15	5,41 C*	0,034 A	1,49 C
5	15	5,60 B	0,019 B	3,51 B
8	15	5,98 A	0,011 C	5,35 A

*, Birbirinden farklı olan harfler istatistiksel olarak birbirinden farklılığın ifadesi olup, istatistiksel olarak önem seviyesi $p < 0.05$ 'tir.

Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre pH, % Titrasyon Asitliği ve % Tuz Miktarına ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3 incelendiğinde, % 2 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde ortalama pH değeri 5.41, % 5 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde 5.60, % 8 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde 5.98 olarak tespit edilmiştir.

% Titrasyon Asitliği, tuz konsantrasyonunun artışı ile birlikte ortalama 0.034'den 0.011'e düşmüştür.

Çizelge 4.3'e göre, % 2 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde % Tuz Miktarı ortalama %1.49, % 5 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde ortalama 3.51, % 8 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde ise % 5.35 olarak gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.4. Örneklerin gün*tuz konsantrasyonu interaksyonuna göre pH, % Titrasyon Asitliği ve % Tuz Miktarına ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Gün*Tuz konsantrasyonu interaksyonu			N	pH	% Titrasyon Asitliği	% Tuz Miktarı
Gün	Tuz konsantrasyonu(%)					
İlk gün	2	3	8,65±0,01 ^{B*}	0,000±0,000 ^J	2,13±0,03 ^G	
İlk gün	5	3	8,89±0,01 ^A	0,000±0,000 ^J	5,11±0,03 ^B	
İlk gün	8	3	8,75±0,01 ^B	0,000±0,000 ^J	8,03±0,03 ^A	
5. gün	2	3	6,13±,0,00 ^E	0,004±0,001 ^I	1,64±0,00 ^H	
5. gün	5	3	6,58±0,15 ^C	0,004±0,000 ^I	3,24±0,03 ^E	
5. gün	8	3	6,36±0,06 ^D	0,005±0,000 ^I	4,52±0,03 ^D	
10. gün	2	3	4,65±0,01 ^G	0,039±0,001 ^D	1,31±0,03 ^I	
10. gün	5	3	4,88±0,01 ^F	0,011±0,001 ^H	3,24±0,03 ^E	
10. gün	8	3	6,46±0,04 ^{CD}	0,005±0,000 ^I	4,76±0,03 ^C	
15. gün	2	3	3,87±0,01 ^J	0,056±0,001 ^B	1,19±0,03 ^J	
15. gün	5	3	3,92±0,02 ^{IJ}	0,030±0,001 ^E	2,98±0,00 ^F	
15. gün	8	3	4,27±0,03 ^H	0,018±0,002 ^G	4,72±0,03 ^C	
21. gün	2	3	3,74±0,02 ^K	0,068±0,000 ^A	1,17±0,00 ^J	
21. gün	5	3	3,74±0,01 ^K	0,051±0,001 ^C	2,98±0,00 ^F	
21. gün	8	3	4,03±0,01 ^I	0,026±0,001 ^F	4,70±0,03 ^C	

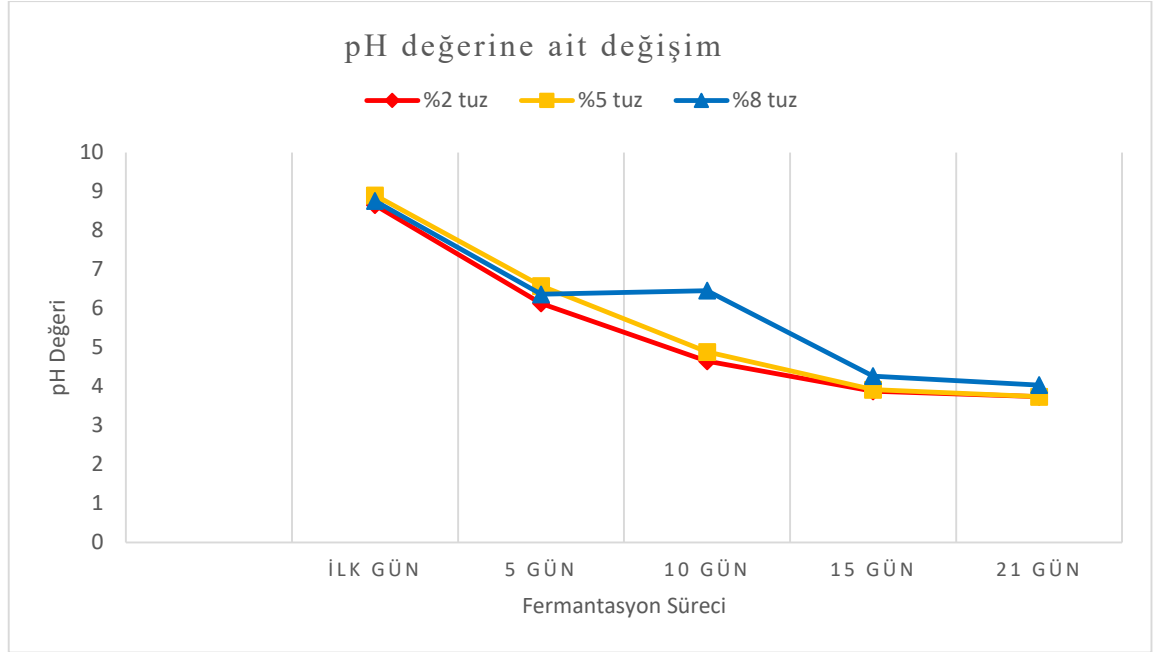
*, Birbirinden farklı olan harfler istatistiksel olarak birbirinden farklılığın ifadesi olup, istatistiksel olarak önem seviyesi $p<0.05$ 'tir.

Örneklerin gün*tuz konsantrasyonu interaksyonuna göre pH, % Titrasyon Asitliği ve % Tuz Miktarına ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları çizelge 4.4'de verilmiştir.

pH değeri bakımından incelendiğinde; üç farklı tuz konsantrasyonuna ait örneklerde fermentasyonun ilerlemesiyle pH değeri açısından 8,89-3,74 aralığında bir azalma görülmüştür. Fermentasyon prosesinin 21. gününe bakıldığında en yüksek pH değeri % 8 tuz konsantrasyonunda gerçekleşirken en düşük pH değeri % 2 ve % 5 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde görülmüştür.

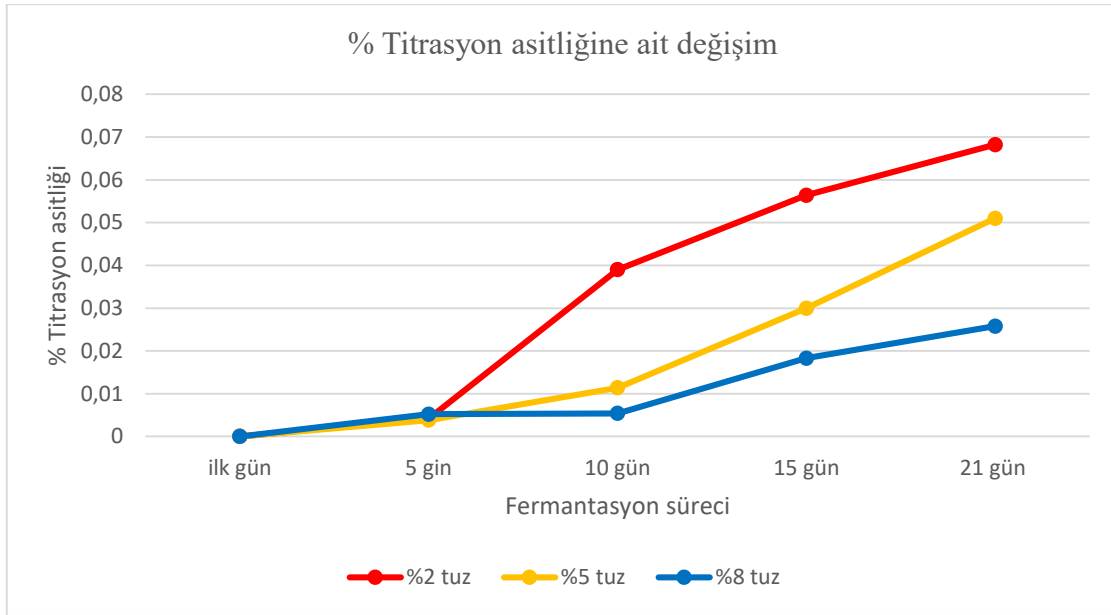
Fermentasyonun 21. gününde % Titrasyon asitliği bakımında en yüksek titrasyon asitliği % 0,068 olarak % 2 tuz içeren örneklerde saptanmıştır. % 5 tuz içeren örneklerde % Titrasyon asitliği fermentasyonun 5., 10., 15. ve 21. günlerinde % 0,004, %0,011, 0,030 ve 0,051 olmak üzere lineer bir şekilde artış göstermiştir.

% 2, % 5 ve % 8 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde 10. güne kadar geçen zamanda % Tuz miktarında sırasıyla % 2,13-% 1,35, % 5,11-% 3,24 ve % 8,04-% 4,76 aralığında bir değişim gerçekleşmiştir. 15. günden sonra ise farklı tuz konsantrasyonlarına ait sonuçlara bakıldığında istatistiksel olarak önemli bir değişim görülmüştür.



Şekil 4.1. Lahana turşusu fermantasyon sürecinde pH değeri üzerine etkili Gün*Tuz konsantrasyonu interaksiyonuna ait sonuçlar

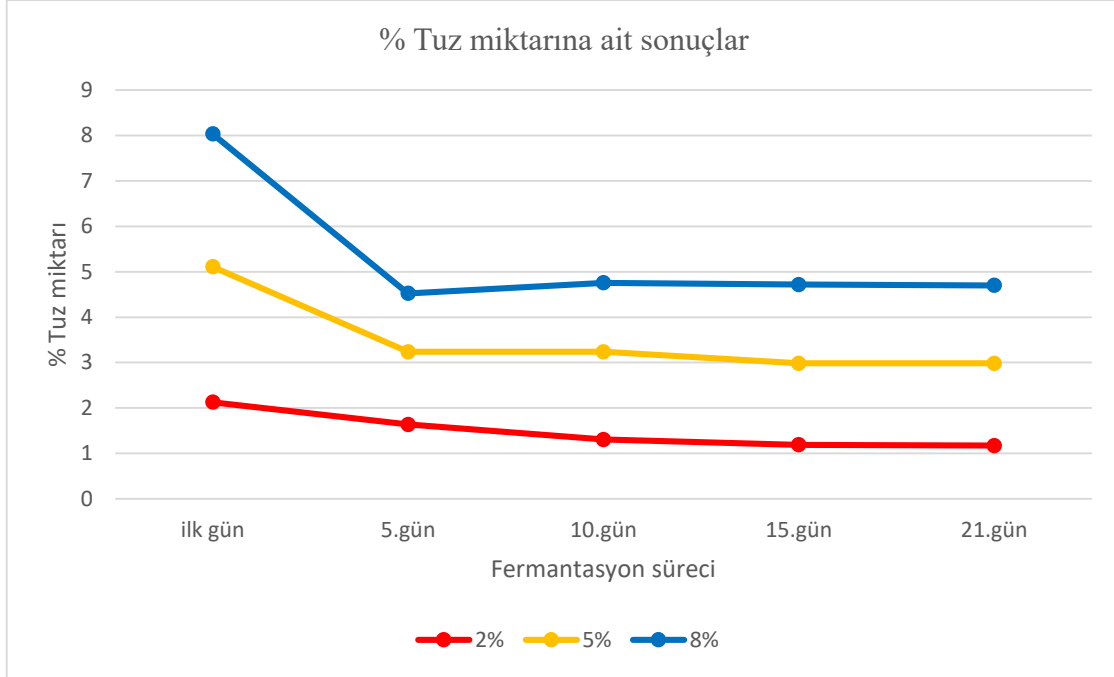
Turşu yapımında ortamın pH değeri sadece son ürünün aroma özelliklerine etki etmekle kalmaksızın aynı zamanda fermantasyon prosesinin ilerlemesinde kritik gösterge olarak bilinmektedir ve ortamdaki karbonhidratların mikroorganizmalar sayesinde tüketilmesi sonucu oluşan asitler sayesinde düşmektedir (Hu vd., 2021; Xiong vd., 2016; Rodríguez-Gómez vd., 2012). Farklı tuz konsantrasyonunda hazırlanan lahana turşusunun fermantasyon sürecindeki pH değişimi şekil 4.1’de verilmiştir. Başlangıçta turşuların pH değeri yaklaşık 8.8 civarındayken fermantasyon prosesinin ilerlemesiyle ilk 15 gün içerisinde hızlı bir düşüş saptanmıştır. Fermantasyon prosesinin son günlerinde, ayrıca 15. ve 21. gününde fermantasyon prosesinin yavaşladığı saptanmıştır. Tuz konsantrasyonu pH bakımından önemli etkiye sahip olduğu anlaşılmıştır ve fermantasyon sonucu en düşük pH değeri 3.73 olmak üzere % 2 ve % 5 tuz içeren lahana turşularında bulunmuştur. Buna benzer sonuçlar Xion ve arkadaşları ile Hu ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmalar sonucunda da elde edilmiştir (Hu vd., 2021; Xiong vd., 2016).



Şekil 4.2. Lahana turşusu fermantasyon sürecinde % Titrasyon asitliği üzerine etkili Gün*Tuz konsantrasyonu interaksyonuna ait sonuçlar

% Titrasyon asitliği değeri, ortamdaki patojen ve saprofit mikroorganizmaların gelişmesini engellediği için fermantasyon prosesinin önemli göstergesi olarak bilinmektedir (Yang - Hu - Xiu - Jiang - Yang - Sarengaowa vd., 2020). Aynı zamanda ortamda fermantasyon sürecinde meydana gelen laktik asit, asetik asit gibi asitler LAB'ın sabit şekilde hayatını devam ettirmesine direk etki etmektedir (Xiong vd., 2016). Örneklere ait fermantasyon sürecinde meydana gelen % Titrasyon asitliği değişimi Çizelge 4.2'de verilmiştir. Fermantasyonun ilk gününde toplam asitlik değeri % laktik asit cinsinden % 0.0 olan değer fermantasyon prosesinin ilerlemesiyle Şekil 4.2'de görüldüğü gibi ilk 5 gün içerisinde yavaş bir şekilde artmaya başlamıştır. 5. günden sonra % Titrasyon asitlik değeri istatistiksel olarak önemli bir artış göstermiştir. Özellikle % 2 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusundaki % Titrasyon asitlik değeri hızlı bir şekilde artışı ve fermantasyonun 21. gününde % 0,068 olmak üzere en yüksek değere ulaşmıştır. % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda ilk 10 gün içerisinde çok düşük bir artış saptanmışken 10. günden sonra hızlı bir artış saptanmıştır. % 8 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda % 0.026 olmak üzere en düşük toplam asitlik değeri görülmüştür. % Titrasyon asitliği açısından bakıldığında aynı değişimler yapılan diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir (Yang - Hu - Xiu - Jiang - Yang - Saren vd., 2020). Fermantasyon prosesinin ilk aşamasında % Titrasyon asitliğinin yavaş şekilde artması fermantasyon prosesinin ilk aşamasından sorumlu hetero-fermantatif LAB mikroorganizmalarının asit üretme konusunda zayıf olmalarıyla açıklanabilmektedir (Xiong vd., 2016; Franco - Pérez-Díaz, 2012). Fermantasyon

prosesinin ilerleyen günlerinde % Titrasyon asitliğinin hızlı bir şekilde yükselmesi fermantasyon prosesinin ikinci aşamasından sorumlu homo-fermantatif mikroorganizmaların aside karşı dayanıklı ve laktik asit üretme yeteneği ile açıklanabilmektedir (Xiong vd., 2016; Wu vd., 2012).



Şekil 4.3. Lahana turşusu fermantasyon sürecinde % Tuz miktarı üzerine etkili Gün*Tuz konsantrasyonu interaksyonu ait sonuçlar

Fermantasyon prosesinde % Tuz miktarına etki eden Gün*Tuz konsantrasyonu interaksyonu ait sonuçlar Şekil 4.5'te verilmiştir. Fermantasyonun ilk beş günü, tüm örneklerde % Tuz miktarında istatistiksel olarak önemli bir değişim meydana gelmiştir. Fermantasyonun 10 günü itibariyle daha dengeli hale gelmeye başlamış ve 15. Günden sonra değişim meydana gelmemiştir.

Lahana turşularına uygulanan farklı tuz konsantrasyonlarının fermantasyon sürecindeki, L^* , a^* ve b^* değeri üzerine etkisine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Örneklerin fermantasyon günlerine göre L*, a* ve b* değerine ait varyans analiz tablosu.

Kaynak	SD	L*		a*		b*	
		KO	F değeri	KO	F değeri	KO	F değeri
Gün	4	179,90	5,47**	58,167	7,34**	95,73	3,31*
Tuz konsantrasyonu	2	40,77	2,4	2,673	0,67	10,94	0,76
Gün*Tuz konsantrasyonu	8	44,48	0,68	16,751	1,06	214,14	3,70**
Hata	30	246,55		59,400		216,76	
Toplam	44	511,71		136,992		537,57	

*, P<0.05; **, P<0.01; ns, istatistiksel olarak önemli değil.

Çizelge 4.5 incelendiğinde, denemede uygulanan günlere bağlı olarak L* ve a* değeri istatistiksel olarak önemli iken ve b* değeri istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlenmiştir (P<0.05).

Denemede farklı tuz konsantrasyonlarına göre L*, a* ve b* değerinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlenmiştir (P<0.05).

Gün*%Tuz konsantrasyonu incelendiğinde ise; L* ve a* değeri istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, b* değerinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür (P<0.05).

Çizelge 4.6. Örneklerin fermantasyon günlerine göre L*, a* ve b* değerine ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Günler	N	L*	a*	b*
İlk gün	9	79.54 AB*	-7.60 B	16.47 A
5. gün	9	79.99 A	-8.97 B	21.19 A
10. gün	9	75.72 C	-6.82 B	17.79 A
15. gün	9	75.92 CB	-6.32 AB	17.41 A
21. gün	9	75.47 C	-3.22 A	17.45 A

*, Birbirinden farklı olan harfler istatistiksel olarak birbirinden farklılığın ifadesi olup, istatistiksel olarak önem seviyesi p<0.05'tir.

Örneklerin fermantasyon günlerine göre L*, a* ve b* değerine ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6 incelendiğinde; fermantasyonun ilk gününden 21. gününe kadar örneklerin L* değeri ortalama 79.54'ten 75.47'ye ulaşırken, a* değeri ortalama -7.60'dan -3.22 değerine ulaşmıştır. b* değeri ise fermantasyon günlerine bağlı olarak ortalama bir değişim göstermemiştir.

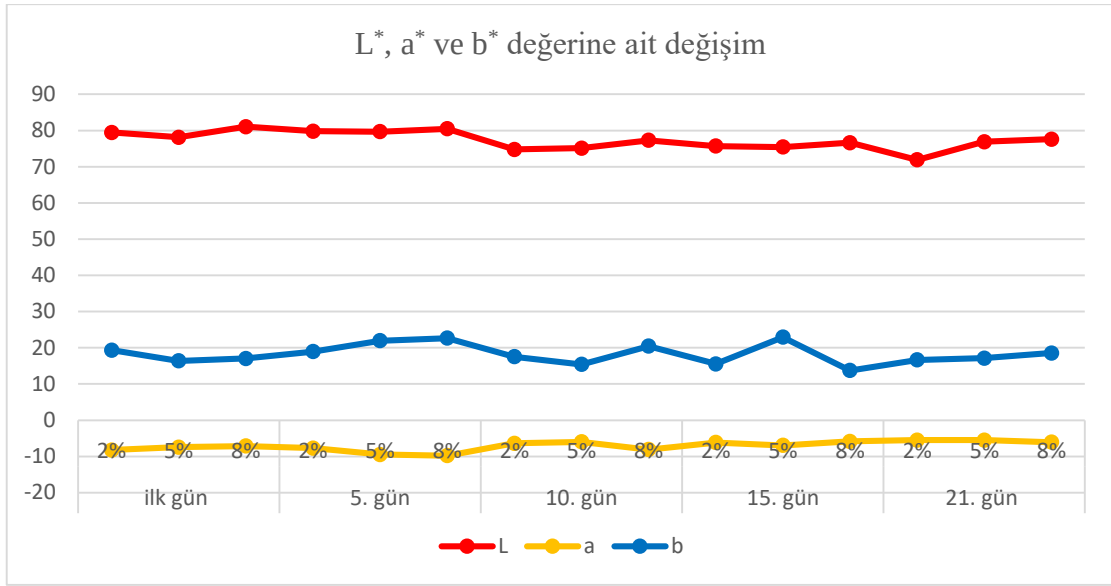
Çizelge 4.7. Örneklerin gün*tuz konsantrasyonu interaksyonuna göre L*, a* ve b* değerine ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları

Gün*Tuz konsantrasyonu interaksyonu		N	L*	a*	b*
Gün	Tuz konsantrasyonu(%)				
İlk gün	2	3	79,47 ^{AB*}	-8,22 ^{AB}	19,34 ^{AB}
İlk gün	5	3	78,12 ^{AB}	-7,45 ^{AB}	16,37 ^{AB}
İlk gün	8	3	81,03 ^A	-7,14 ^{AB}	17,03 ^{AB}
5. gün	2	3	79,80 ^{AB}	-7,70 ^{AB}	18,96 ^{AB}
5. gün	5	3	79,69 ^{AB}	-9,45 ^{AB}	21,94 ^A
5. gün	8	3	80,48 ^{AB}	-9,76 ^B	22,66 ^A
10. gün	2	3	74,75 ^{AB}	-6,36 ^{AB}	17,52 ^{AB}
10. gün	5	3	75,11 ^{AB}	-5,99 ^{AB}	15,40 ^{AB}
10. gün	8	3	77,30 ^{AB}	-8,09 ^{AB}	20,46 ^{AB}
15. gün	2	3	75,70 ^{AB}	-6,15 ^{AB}	15,54 ^{AB}
15. gün	5	3	75,45 ^{AB}	-6,95 ^{AB}	22,94 ^A
15. gün	8	3	76,61 ^{AB}	-5,85 ^{AB}	13,74 ^B
21. gün	2	3	71,91 ^B	-5,49 ^A	16,65 ^{AB}
21. gün	5	3	76,88 ^{AB}	-5,48 ^A	17,12 ^{AB}
21. gün	8	3	77,61 ^{AB}	-6,07 ^{AB}	18,56 ^{AB}

*, Birbirinden farklı olan harfler istatistiksel olarak birbirinden farklılığın ifadesi olup, istatistiksel olarak önem seviyesi $p < 0.05$ 'tir.

Örneklere uygulanan farklı tuz konsantrasyonları ve güne göre elde edilen L*, a* ve b* renk değeri verilerine ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Fermantasyon esnasında uygulanan gün*tuz konsantrasyonu interaksyonuna bağlı olarak L* değerinde bir değişim gerçekleşmemiştir. Fermantasyon prosesinin ilk gününde %2, %5 ve %8 tuz konsantrasyonuna turşularda sırasıyla 79,47, 78,12 ve 81,03 olarak tayin edilen L* değeri, fermantasyon sonucunda 71,91, 76,88 ve 77,64 olarak analiz edilmiştir. Benzer şekilde a* ve b* değerleri de örneklere uygulanan gün*tuz konsantrasyonu interaksyonuna bağlı olarak değişim göstermemiştir.



Şekil 4.4. Fermantasyon sürecindeki eklenen L*, a* ve b* değeri değişimi üzerine etkili Gün*Tuz konsantrasyonu etkisi

4.2. Lahana Turşularına Uygulanan Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Fermantasyon Sürecindeki Mikroorganizmalara Etkisi

Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumlarına ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumuna ait varyans analiz tablosu

Varyans kaynağı	SD	<i>Proteobacteria</i>		<i>Firmicutes</i>	
		KO	Faktör	KO	Faktör
% Tuz konsantrasyonu	2	357,07	49,15**	326,285	54,30**
Hata	3	10,90		9,014	
Toplam	5	367,97		335,299	

*, P<0.05; **, P<0,01; ns, istatistiksel olarak önemli değil.

Varyans tablosu incelendiğinde denemede uygulanan farklı tuz konsantrasyonuna bağlı olarak *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumu oranı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna bağlı olarak *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumlarına ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.9’ da verilmiştir.

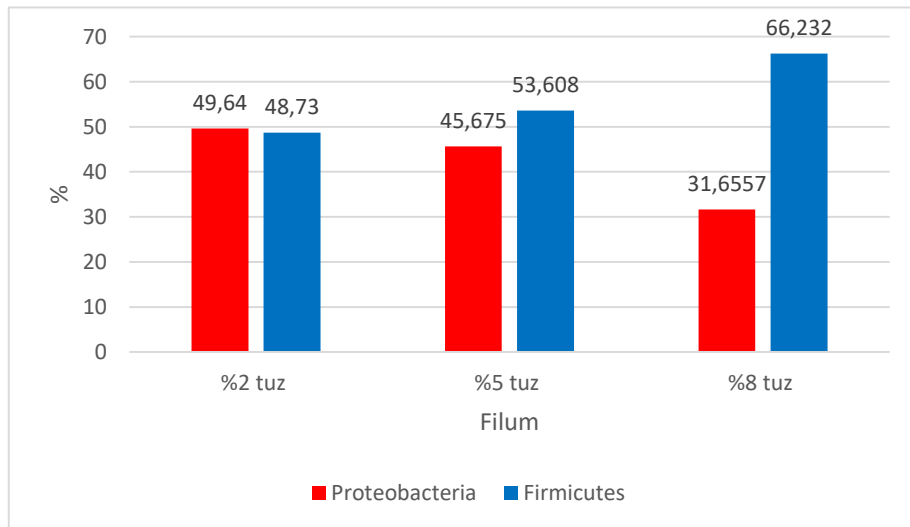
Çizelge 4.9. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumlarına ait ortalamaların TUKEY çoklu karşılaştırma testi sonuçları

% Tuz konsantrasyonu	N	<i>Proteobacteria</i>	<i>Firmicutes</i>
2	2	49,640±3,26 ^{A*}	48,730±2,95 ^B
5	2	45,685±0,532 ^A	53,608±0,526 ^B
8	2	31,656±0,0286 ^B	66,232±0,154 ^A

*, Birbirinden farklı olan harfler istatistiksel olarak birbirinden farklılığın ifadesi olup, istatistiksel olarak önem seviyesi P<0.05'tir.

Fermantasyon prosesinin 21. gününde yapılan analiz sonucunda elde edilen ortalamalar incelendiğinde % 2 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda sırasıyla ortalama % 49,64 ve % 48,73 olmak üzere *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumları domine ettiği görülmüştür. % 5 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde *Proteobacteria* filumu ortalama % 45,68 oranında iken, *Firmicutes* filumu ortalama % 53,60 olduğu gözlemlenmiştir. Tuz konsantrasyonu % 8 olan örneklerde ise *Proteobacteria* filumu ortalama % 31,65 iken *Firmicutes* filumu ortalama % 66,23 oranında olduğu gözlemlenmiştir. Çizelge 4.9'a göre örneklerin tuz konsantrasyonundaki artışı ile beraber *Proteobacteria* filumun oranı azalırken, *Firmicutes* filumunun oranı artmıştır.

Suancai ve kimchi olmak üzere lahana turşularında yapılan araştırmalar sonucu fermantasyonun 21. gününde ortamdaki mikroorganizmaların % 90'ı *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumundan oluştuğu ayrıca poa cai gibi lahana turşularında fermantasyon sonucu *Firmicutes* filumunun baskın hale geldiği birçok araştırma sonucu tespit edilmiştir (Liang vd., 2020; Zhang vd., 2018; Liang vd., 2018; Wang - Shao, 2018; Lee vd., 2017).



Şekil 4.5 Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre *Proteobacteria* ve *Firmicutes* filumlarına ait değişim grafiği

Tuz konsantrasyonuna bağı olarak meydana gelen filumlarındaki değışim şekil 4.5'te verilmiştir. şekil 4.5'e bakıldığında tuz miktarının artmasıyla *Proteobacteria* b filumunun azaldığı ancak *Firmicutes* filumunun belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir.

Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinslerine ait varyans analiz tablosu mikroorganizmalardaki cins seviyesindeki değışimine y nellik varyans tablosu  izelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinslerine ait varyans analiz tablosu

Varyans kaynağı	SD	<i>Yersiniaceae</i>		<i>Leuconostoc</i>		<i>Lactiplantibacillus</i>		<i>Weissella</i>		<i>Levilactobacillus</i>	
		KO	Faktör	KO	Faktör	KO	Faktör	KO	Faktör	KO	Faktör
%Tuz kons.	2	329,23	44,78**	1240,46	388,52**	764,064	465,39**	790,702	5081,35**	778,486	6114,21**
Hata	3	11,03		4,79		2,463		0,233		0,191	
Toplam	5	340,26		1245,25		766,527		790,935		778,677	

*, P<0.05; **, P<0,01; ns, istatistiksel olarak önemli değil.

Mikroorganizma cinslerine ait varyans analiz tablosu incelendiğinde; denemede uygulanan tuz konsantrasyonuna bağı olarak *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinslerinin oranı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05).

Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna bağı olarak *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinslerine ait ortalamalarının TUKEY  oklu karşılaştırma testi sonuçları Çizelge 4.11' de verilmiştir.

 izelge 4.11.  rneklerin farklı tuz konsantrasyonuna g re *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinslerine ait ortalamaların TUKEY  oklu karşılaştırma testi sonuçları

%Tuz kons.	N	<i>Yersiniaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Lactiplantibacillus</i>	<i>Weissella</i>	<i>Levilactobacillus</i>
2	2	48,54±3,27 ^{A*}	17,65±1,97 ^B	30,54±0,890 ^A	0,00±0,00 ^C	0,024±0,009 ^B
5	2	44,69±0,56 ^A	44,28±0,96 ^A	7,54±0,527 ^B	1,50±0,05 ^B	0,002±0,003 ^B
8	2	31,26±0,044 ^B	11,01±0,02 ^C	5,78±1,180 ^B	25,07±0,48 ^A	24,17±0,44 ^A

*, Birbirinden farklı olan harfler istatistiksel olarak birbirinden farklılığın ifadesi olup, istatistiksel olarak önem seviyesi P<0.05'tir.

% 2, % 5 ve % 8 olmak üzere farklı tuz oranında hazırlanmış lahana turşularında fermentasyon sonucu biyoinformatik analizle *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinsleri tespit edilmiştir. Kimchi ve suancai başta olmak üzere lahana turşularında yapılan diğer araştırmalar sonucu

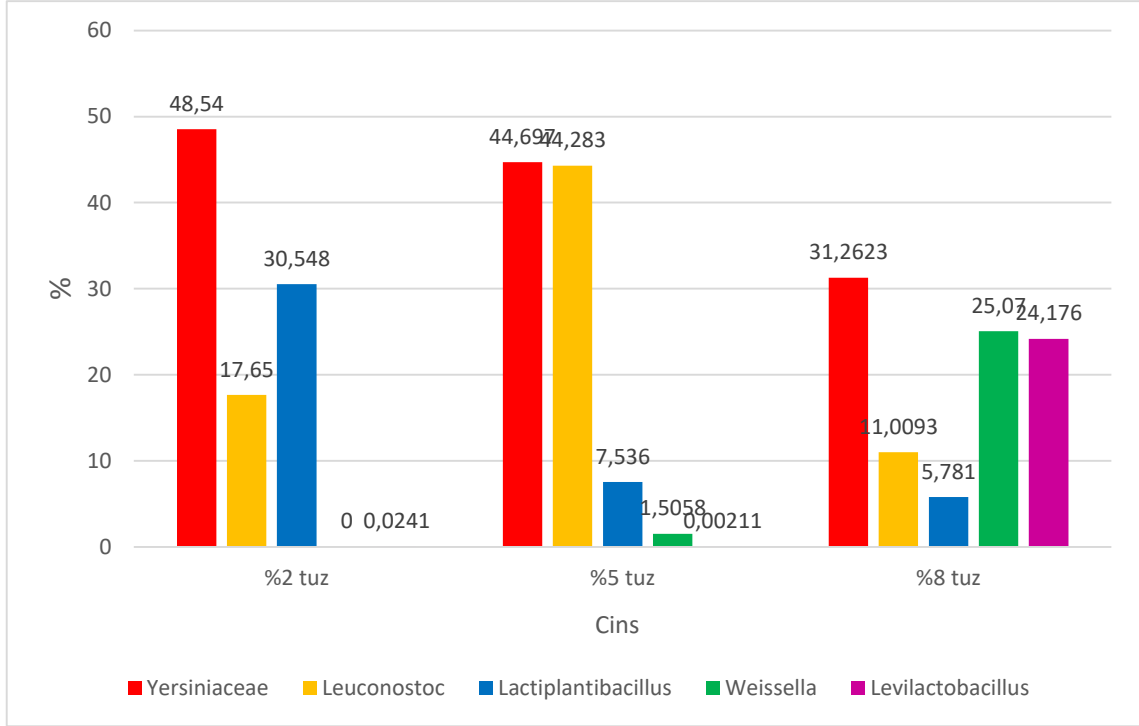
Lactobacillus, *Leuconostoc*, *Weissella*, and *Lactococcus* cinsindeki mikroorganizmaların domine ettiğini bildirmişlerdir (Liang vd., 2020; Zhang vd., 2018; Liang vd., 2018; Wang - Shao, 2018; Lee vd., 2017). Yapılan çalışmada % 2 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda fermentasyon sonucu *Yersiniaceae* cinsi ortalama % 48,54 olarak ortamda bulunurken; *Lactiplantibacillus* ve *Leuconostoc* cinsi sırasıyla ortalama % 30,55 ve % 17,65 oranında bulunduğu tespit edilmiştir. *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinsi ise çok düşük bir oranda bulunmuştur.

% 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda fermentasyon sonucu *Yersiniaceae* cinsi ortalama % 44.69 ve *Lactiplantibacillus* cinsi ortalama % 7.54 oranında bulunmuş olup bu oran % 2 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerle kıyaslandığında bir azalma olduğu tespit edilmiştir. %2 tuz konsantrasyonuna sahip turşuda ortalama % 17,65 oranında tespit edilen *Leuconostoc* cinsi mo'lar ortalama % 44.28 oranına kadar artmıştır. % 5 tuz konsantrasyonuna sahip turşularda *Yersiniaceae* ve *Leuconostoc* cinsi mo'ların ortamı domine ettiği görülmektedir. % 2 tuz konsantrasyonundaki örneklerde hiç görülmeyen *Weissella* cinsi mikroorganizmalar, % 5 tuz konsantrasyonuna sahip örneklerde ortalama % 1.50 oranında tespit edilmiştir. Aile cinsinden incelendiğinde; *Firmicutes* filumüne ait *Bacilli* sınıfındaki *Lactobacillaceae* ailesi ortamdaki mikroorganizmaların yaklaşık % 53,32 oranında içererek ortamı domine ettiği bulunmuştur. Benzer sonuçlar yapılan diğer araştırmalarda da elde edilmiştir (Liang vd., 2020; Zheng vd., 2020; Wang - Shao, 2018).

% 2 ve % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşularında fermentasyon sonucu ortalama % 48,54 ve % 44,697 oranında tayin edilen *Yersiniaceae* cinsi, % 8 tuz konsantrasyonuna sahip turşularda ortalama % 31,26 oranında tespit edilmiştir. Tuz konsantrasyonu yüksek örneklerde görülen *Yersiniaceae* cinsine ait bu azalma hem *Leuconostoc* hem de *Lactiplantibacillus* cinslerinde de saptanmıştır. Salamura tuz konsantrasyonunun % 8 olması ise *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinsindeki mikroorganizmaların gelişmesine olumlu etki sağladığı gözlemlenmiştir. % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşuda % 1,505 ve % 0,003 olarak tayin edilen *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinsindeki mikroorganizmaların oranı, tuz konsantrasyonunun % 8 olduğu ortamda % 25,070 ve % 24,176 şeklinde daha yüksek oranda tespit edilmiştir.

Weissella cinsindeki mikroorganizmaların tuz konsantrasyonuna bağlı olarak artması tuza karşı dayanıklı olduğunu göstermekte olup benzer sonuçlar lahana turşusu

üzerinde yapılan diğer çalışmalarda da saplanmıştır (Liang vd., 2020; Lee vd., 2017). *Levilactobacillus* genellikle gram-pozitif, hetero-fermantatif, asit toleranslı mikroorganizma olarak bilinmektedir. % 8 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda % Titrasyon asitliğinin düşük olması durumunda daha iyi şekilde geliştiği anlaşılmaktadır (Zheng vd., 2020).



Şekil 4.6. Farklı tuz konsantrasyonunda hazırlanan lahana turşusunun fermentasyonu sonucu tuz konsantrasyonuna bağlı mikroorganizma cinslerinin gelişimi

Farklı tuz konsantrasyonunda hazırlanan lahana turşusunun fermentasyon sonucu meydana gelen mikroorganizma gelişim grafiği Şekil 4.6'da verilmiştir. %2 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda grafikte görüldüğü gibi *Yersiniaceae*, *Lactiplantibacillus* ve *Leuconostoc* domine ettiği görülmektedir. Tuz konsantrasyonunun % 5 olduğu turşu örneğinde *Leuconostoc* cinsinin oranının ciddi bir şekilde artış göstermişken, *Lactiplantibacillus* ve *Yersiniaceae* cinsi mikroorganizmalar bir azalma göstermiştir. Aynı zamanda tuz konsantrasyonuna bağlı olarak *Weissella* cinsindeki mikroorganizmaların da arttığı tespit edilmiştir. Ortamdaki tuz konsantrasyonunun % 8 olması *Yersiniaceae*, *Lactiplantibacillus* ve *Leuconostoc* cinslerinin gelişimini olumsuz etkilerken, *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinslerinin gelişiminde ise olumlu bir etki gösterdiği görülmüştür.

4.3. Duyusal Analiz Sonuçları

Lahana turşu örneklerinde, duyusal analiz fermantasyonun son gününde 10 panelist tarafından yapılmıştır. Aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametreleri esasa alınarak 1-5 arasında bir skala ile değerlendirme yapılmıştır.

Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna göre aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametrelerine ait varyans analiz tablosu Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna bağlı aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametrelerine ait varyans analiz tablosu

Varyans kaynağı	SD	Aroma		Ekşilik		Gevreklik	
		KO	Faktör	KO	Faktör	KO	Faktör
%Tuz kons.	2	9,800	5,99	12,35	7,18	3,841	2,57
Hata	27	22,075		23,22		20,169	
Toplam	29	31,875		35,58		24,010	

*, P<0.05; **, P<0,01; ns, istatistiksel olarak önemli değil.

Çizelge 4.12. devamı. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna bağlı aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametrelerine ait varyans analiz tablosu

Varyans kaynağı	SD	Tat		Tuzluluk		Genel kabuledilebilirlik	
		KO	Faktör	KO	Faktör	KO	Faktör
%Tuz kons.	2	13,89	7,42	14,72	6,38	13,12	14,60
Hata	27	24,34		31,15		12,13	
Toplam	29	38,23		45,87		25,25	

*, P<0.05; **, P<0,01; ns, istatistiksel olarak önemli değil.

Varyans tablosu incelendiğinde denemede uygulanan farklı tuz konsantrasyonuna bağlı olarak duyusal analizdeki aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametreleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.13. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna bağlı aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametrelerine ait ortalama tablosu

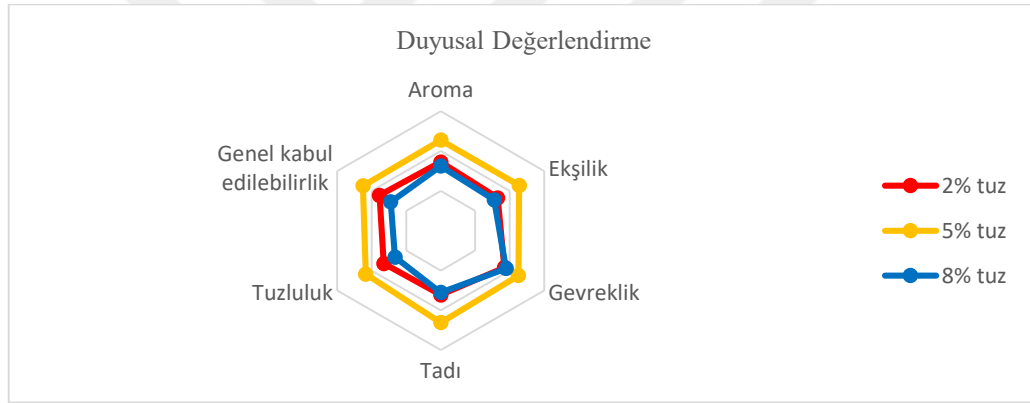
% tuz konsantrasyonu	N	Aroma	Ekşilik	Gevreklik
2,00%	10	3,450±0,832 ^B	3,300±1,160 ^B	3,700±1,160 ^A
5,00%	10	4,550±0,497 ^A	4,550±0,685 ^A	4,500±0,707 ^A
8,00%	10	3,250±1,230 ^B	3,100±0,876 ^B	3,790±0,630 ^A

*, Birbirinden farklı olan harfler istatistiksel olarak birbirinden farklılığın ifadesi olup, istatistiksel olarak önem seviyesi $P<0.05$ 'tir.

Çizelge 4.13. devamı. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna bağlı aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametrelerine ait ortalama tablosu

% tuz konsantrasyonu	N	Tadı	Tuzluluk	Genel kabul edilebilirlik
2,00%	10	3,222±0,667 ^B	3,300±1,252 ^{AB}	3,550±0,497 ^B
5,00%	10	4,610±0,458 ^A	4,350±0,818 ^A	4,510±0,578 ^A
8,00%	10	3,100±1,449 ^B	2,650±1,107 ^B	2,900±0,876 ^B

*, $P<0.05$; **, $P<0,01$; ns, istatistiksel olarak önemli değil.



Şekil 4.7. Örneklerin farklı tuz konsantrasyonuna bağlı aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametrelerine ait duysal değerlendirme grafiği.

Örneklerdeki genel beğeni Şekil 4.7. ve Çizelge 4.12’de görüldüğü gibi duysal analizdeki belirtilen tüm parametreler açısından % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda en yüksek puanlar sahip olduğu saptanmıştır. Genel kabul edilebilirlik açısından % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusu 4,5 olarak değerlendirilirken; %2 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusu 3,55 puan almıştır. % 8 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusu ise tüm parametreler bakımından en düşük puanlara sahip olduğu tespit edilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu çalışmada % 2, % 5 ve % 8 tuz konsantrasyonuna sahip salamura suyu hazırlanarak lahana turşusu hazırlanmış olup; ilk, 5., 10., 15. ve 21. günlerde fermantasyon prosesince meydana gelen fizikokimyasal değişimler incelenmiştir. Fermantasyon prosesinin 21. gününde farklı tuz konsantrasyonunda hazırlanmış lahana turşularının bakteriyal kompozisyonu metagenomik analiz vasıtasıyla tayin edilmiştir.

Fizikokimyasal özellikler kapsamında yapılan analizler sonucu lahana turşusu üretiminde tuzun belli bir miktarda eklenmesi ortamın pH değeri, % Titrasyon asitliği % Tuz miktarı gibi özellikleri üzerine bir etkisinin olduğu saptanmıştır. Turşu fermantasyonunda ortamın pH değeri ilk günlerde 8,89-8,65 aralığında tespit edilirken fermantasyon prosesinin 15. gününde 3,87-4,26 kadar düştüğü belirlenmiştir. Fermantasyon prosesinin 21. gününde pH değeri açısından pek değişim gerçekleşmediği ve en düşük pH değeri 3,73 olmak üzere % 2 ve % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşularında tespit edilmiştir. % Titrasyon asitliği bakımından değerlendirildiğinde, fermantasyon prosesi başlamadan önce % 0 olarak tayin edilen % titrasyon asitliği değeri fermantasyon işleminin 21. gününde % 2, % 5 ve % 8 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşularında sırasıyla % 0,068, % 0,051 ve % 0,025 olarak saptanmıştır. % Titrasyon asitliği ve pH değeri arasındaki değişkenliğin asıl temeli ortamdaki LAB tarafından üretilen farklı asitlerdir. LAB bakterilerinin hızlı şekilde gelişmesi ortamdaki farklı karbonhidratları metabolize ederek laktik asit gibi asitlere dönüşmesini sağlamaktadır. Bu dönüşüm sayesinde ortamda asitler birikerek ortamın pH değerinin düşmesine, titrasyon asitliğinin yükselmesine neden olmaktadır.

Turşu üretiminde eklenen tuz miktarında fermantasyonun 15. gününe kadar azaldığı saptanmıştır. 15.gün ile 21.gün aralığında pek değişim gerçekleşmemiştir ve % 2, % 5 ve % 8 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşularında tuz miktarı sırasıyla % 1,17, % 2,98 ve % 4,69 olarak tayin edilmiştir. % Tuz miktarı açısından meydana gelen değişim lahana ile salamura suyunun arasındaki difüzyon veya kütle değişim prosesiyle açıklanmaktadır.

Renk değerleri L*, a* ve b* bakımından değerlendirildiğinde; % 2, % 5 ve % 8 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşularında anlamlı bir değişim gerçekleşmemiştir.

Laktik asit fermentasyonu sonucu elde edilen gıda maddelerinde laktik asit bakterileri önemli bir yere sahiptir ve gıda maddelerine probiyotik özelliği kazandırmakla beraber ortamda istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını önleyerek gıda maddesini güvenli hale getirmektedir. Mikrobiyal açıdan değerlendirildiğinde; hem filum hem de cins düzeyinde tuz konsantrasyonu farklılığına bağlı belirgin bir değişim saptanmıştır.

Fermentasyon prosesinin 21. gününde filum düzeyinde yapılan araştırma sonucu % 2 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşularında *Proteobacteria* filumunu % 49,64 oranında ortamı domine ettiği belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonu yüksek örneklerde ise *Firmicutes* filumu olumlu etkilenmiş olup daha baskın hale geldiği gözlemlenmiştir. % 8 konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda *Firmicutes* filumu % 66,23; *Proteobacteria* filumu ise % 31,66 olarak tespit edilmiştir. Tuz konsantrasyonu yüksek örneklerde *Proteobacteria* filumun azalması tuza duyarlılığı, *Firmicutes* filumunun çoğalması ise tuza karşı dayanıklılığıyla açıklanmaktadır.

Cins bakımından incelendiğinde; tuz konsantrasyonu yüksek örneklerde filum düzeyinde olduğu gibi *Yersiniaceae*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* ve *Levilactobacillus* cinsindeki mikroorganizmalarda da belirgin bir değişim saptanmıştır. Yapılan çalışma sonucu *Yersiniaceae* ve *Lactiplantibacillus* cinsindeki mikroorganizmaların tuza karşı duyarlı olduğu, *Weissella* ve *Levilactobacillus*, cinsindeki bakterilerin ise tuza karşı dayanıklı olduğu görülmüştür. *Leuconostoc* cinsindeki bakterilerin % 5 tuz konsantrasyonuna sahip ortamda optimum geliştiği belirlenmiştir.

Farklı tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşularında aroma, ekşilik, gevreklik, tat, tuzluluk ve genel kabul edilebilirlik parametreleri üzerinde yapılan duyusal analiz sonucu en çok beğeni % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda saptanmıştır. En düşük beğeni % 8 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda olmuştur.

5.2 Öneriler

Lahana turşusu, biyoaktif maddeler ve fonksiyonel özellikleri bakımında önemli bir gıda maddesi olarak bilinmektedir ve insan sağlığı açısından olumlu sonuçlar göstererek kronik hastalıkları önlemede olumlu etki gösterdiği yapılan araştırmalar sonucu tespit edilmiştir. Günümüzde güvenilir ve sağlıklı gıda maddelerine olan talebin artması, bu tür çalışmaların yapılmasına neden olmuştur.

Yapılan analizler doğrultusunda, elde edilen sonuçlara göre düşük tuz konsantrasyonu *Yersiniaceae* cinsindeki mikroorganizmaların ortamda yüksek oranda bulunmasına neden olmaktadır. Bu cinsteki mikroorganizmalar *Yersinia pestis* gibi bazı patojen mikroorganizmaları içermesiyle gıda sektöründe istenmeyen bakteri gurubuna dahil edilmektedir. Tuz konsantrasyonunun yüksek olması, *Yersiniaceae* cinsindeki mikroorganizmaları baskımlarken, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella* gibi laktik asit bakterilerinin ise artmasına neden olmuştur ve mikrobiyal açılarından ortamın daha da güvenilir hale getirilmesini sağlamıştır.

Turşu fermantasyonunda salamura tuzun yüksek konsantrasyonlarda eklenmesi, yüksek tansiyon ve buna bağlı sodyum tüketimiyle alakalı diğer sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Bu nedenle farklı gıda maddelerinin hazırlanmasında az miktarda tuzun eklenmesi önerilmektedir.

Duyusal açılarından değerlendirildiğinde; en çok beğeni % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunda saptanmıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde; fizikokimyasal, bakteriyal kompozisyon ve duyusal değerlendirme açısından incelendiğinde % 5 tuz konsantrasyonuna sahip lahana turşusunun optimum koşulları sağlağı görülmüştür. Bu nedenle lahananın fermente edilmesinde % 5 tuz konsantrasyonu önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Al-Tawaha, R., ve Meng, C. (2018). Potential benefits of *Lactobacillus plantarum* as probiotic and its advantages in human health and industrial applications: A review. *Adv. Environ. Biol*, 12, 16-27.
- Ruhee, R. T., Sams, S., Begum, A., Alam, M. K., Begum, P., Khatun, M. ve Islam, S. N. (2020). Dietary fibre content in ethnic and unconventional vegetables and fruits growing in Bangladesh. *Slovak Journal of Food Sciences*, 14.
- Alves, L. D. F., Westmann, C. A., Lovate, G. L., de Siqueira, G. M. V., Borelli, T. C. ve Guazzaroni, M. E. (2018). Metagenomic approaches for understanding new concepts in microbial science. *International journal of genomics*, 2018.
- Ameen, S. M., Caruso, G., Ameen, S. M., ve Caruso, G. (2017). Chemistry of lactic acid. *Lactic acid in the food industry*, 7-17.
- Ampe, F., ben Omar, N., Moizan, C., Wachter, C., ve Guyot, J. P. (1999). Polyphasic study of the spatial distribution of microorganisms in Mexican pozol, a fermented maize dough, demonstrates the need for cultivation-independent methods to investigate traditional fermentations. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(12), 5464-5473.
- Martinez, F. A. C., Balciunas, E. M., ve González, J. (2013). MD; Converti, A.; Oliveira, RPS. *Trends Food. Sci. Tech*, 30, 70-83.
- Barber, T. M., Kabisch, S., Pfeiffer, A. F., ve Weickert, M. O. (2020). The health benefits of dietary fibre. *Nutrients*, 12(10), 3209.
- Botina, S. G., Tsygankov, Y. D., ve Sukhodolets, V. V. (2006). Identification of industrial strains of lactic acid bacteria by methods of molecular genetic typing. *Russian Journal of Genetics*, 42, 1367-1379.
- Breitwieser, F. P., Lu, J., ve Salzberg, S. L. (2019). A review of methods and databases for metagenomic classification and assembly. *Briefings in bioinformatics*, 20(4), 1125-1136.
- Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M., ve Gobbetti, M. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, 33(1), 1-10.
- Carr, A. C., ve Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), 1211.
- Carr, F. J., Chill, D., ve Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature

- survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.
- Chen, A. J., Luo, W., Peng, Y. T., Niu, K. L., Liu, X. Y., Shen, G. H., ve Li, S. S. (2019). Quality and microbial flora changes of radish paocai during multiple fermentation rounds. *Food Control*, 106, 106733.
- Choi, I. K., Jung, S. H., Kim, B. J., Park, S. Y., Kim, J., ve Han, H. U. (2003). Novel *Leuconostoc citreum* starter culture system for the fermentation of kimchi, a fermented cabbage product. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 84, 247-253.
- Chun, B. H., Kim, K. H., Jeon, H. H., Lee, S. H., ve Jeon, C. O. (2017). Pan-genomic and transcriptomic analyses of *Leuconostoc mesenteroides* provide insights into its genomic and metabolic features and roles in kimchi fermentation. *Scientific reports*, 7(1), 11504.
- Dey, P., ve Pal, P. (2012). Direct production of l (+) lactic acid in a continuous and fully membrane-integrated hybrid reactor system under non-neutralizing conditions. *Journal of membrane science*, 389, 355-362.
- Van Dijk, E. L., Jaszczyszyn, Y., ve Thermes, C. (2014). Library preparation methods for next-generation sequencing: tone down the bias. *Experimental cell research*, 322(1), 12-20.
- Dinev, T., Beev, G., Tzanova, M., Denev, S., Dermendzhieva, D., ve Stoyanova, A. (2018). Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* against pathogenic and food spoilage microorganisms: a review. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 21(3).
- Mekhilef, S., Saidur, R., ve Kamalisarvestani, M. (2012). Effect of dust, humidity and air velocity on efficiency of photovoltaic cells. *Renewable and sustainable energy reviews*, 16(5), 2920-2925.
- Ganesan, K., ve Xu, B. (2017). A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans. *Nutrients*, 9(5), 455.
- Vergin, K. L., Urbach, E., Stein, J. L., DeLong, E. F., Lanoil, B. D., ve Giovannoni, S. J. (1998). Screening of a fosmid library of marine environmental genomic DNA fragments reveals four clones related to members of the order Planctomycetales. *Applied and environmental microbiology*, 64(8), 3075-3078.
- Gollop, N., Zakin, V., ve Weinberg, Z. G. (2005). Antibacterial activity of lactic acid bacteria included in inoculants for silage and in silages treated with these inoculants. *Journal of Applied Microbiology*, 98(3), 662-666.
- Gomes, B. C., Rodrigues, M. R., Winkelströter, L. K., Nomizo, A., ve De Martinis, E. C.

- (2012). In vitro evaluation of the probiotic potential of bacteriocin producer *Lactobacillus sakei* 1. *Journal of food protection*, 75(6), 1083-1089.
- Hong, S. P., Lee, E. J., Kim, Y. H., ve Ahn, D. U. (2016). Effect of fermentation temperature on the volatile composition of Kimchi. *Journal of Food Science*, 81(11), C2623-C2629.
- Hu, W., Yang, X., Ji, Y., ve Guan, Y. (2021). Effect of starter cultures mixed with different autochthonous lactic acid bacteria on microbial, metabolome and sensory properties of Chinese northeast sauerkraut. *Food Research International*, 148, 110605.
- Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y. C., Choi, I., ve Kim, G. B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food chemistry*, 160, 346-356.
- Hutkins, R. W. (2008). *Microbiology and technology of fermented foods*. John Wiley ve Sons.
- Jay, J. M., Loessner, M. J., ve Golden, D. A. (2008). *Modern food microbiology*. Springer Science & Business Media.
- John, R. P., Anisha, G. S., Nampoothiri, K. M., ve Pandey, A. (2009). Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production. *Biotechnology advances*, 27(2), 145-152.
- Karami, A., Gill, P., Kalantar Motamedi, M. H., ve Saghafeini, M. (2011). A review of the current isothermal amplification techniques: applications, advantages and disadvantages. *Journal of Global Infectious Diseases*, 3(3), 293-302.
- Khemariya, P., Singh, S., Jaiswal, N., ve Chaurasia, S. N. S. (2016). Isolation and identification of *Lactobacillus plantarum* from vegetable samples. *Food biotechnology*, 30(1), 49-62.
- Korus, A., Bernas, E., ve Korus, J. (2021). Health-promoting constituents and selected quality parameters of different types of kimchi: fermented plant products. *International Journal of Food Science*, 2021, 1-9.
- Erdoğan, K. Arife (2021). Farklı Fermantasyon Yöntemleri İle Üretilen Lahana Turşularının Bazı Fonksiyonel Ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi *Danışman Dr. Öğr. Üyesi Bilge ERTEKİN FİLİZ* Yüksek Lisans Tezi Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı Isparta-2021.
- Lavefve, L., Marasini, D., ve Carbonero, F. (2019). Microbial ecology of fermented vegetables and non-alcoholic drinks and current knowledge on their impact on human health. *Advances in food and nutrition research*, 87, 147-185.

- Lee, M., Song, J. H., Jung, M. Y., Lee, S. H., ve Chang, J. Y. (2017). Large-scale targeted metagenomics analysis of bacterial ecological changes in 88 kimchi samples during fermentation. *Food microbiology*, 66, 173-183.
- Lee, S., ve Kim, M. (2019). *Leuconostoc mesenteroides* MKSR isolated from kimchi possesses α -glucosidase inhibitory activity, antioxidant activity, and cholesterol-lowering effects. *LWT*, 116, 108570.
- Li, F., Neves, A. L., ve Ghoshal, B. (2018). Symposium review: mining metagenomic and metatranscriptomic data for clues about microbial metabolic functions in ruminants. *Journal of dairy science*, 101(6), 5605-5618.
- Liang, H., Chen, H., Ji, C., Lin, X., Zhang, W., ve Li, L. (2018). Dynamic and functional characteristics of predominant species in industrial paocai as revealed by combined DGGE and metagenomic sequencing. *Frontiers in microbiology*, 9, 2416.
- Liang, H., He, Z., Wang, X., Song, G., Chen, H., Lin, X., ... ve Li, S. (2020). Effects of salt concentration on microbial diversity and volatile compounds during suancai fermentation. *Food microbiology*, 91, 103537.
- Majcherczyk, J., ve Surówka, K. (2019). Effects of onion or caraway on the formation of biogenic amines during sauerkraut fermentation and refrigerated storage. *Food chemistry*, 298, 125083.
- Martellacci, L., Quaranta, G., Patini, R., Isola, G., Gallenzi, P., ve Masucci, L. (2019). A literature review of metagenomics and culturomics of the peri-implant microbiome: current evidence and future perspectives. *Materials*, 12(18), 3010.
- Martin, T. C., Visconti, A., Spector, T. D., ve Falchi, M. (2018). Conducting metagenomic studies in microbiology and clinical research. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102, 8629-8646.
- Martinez-Ballesta, M. D. C., ve Carvajal, M. (2015). Myrosinase in Brassicaceae: the most important issue for glucosinolate turnover and food quality. *Phytochemistry Reviews*, 14, 1045-1051.
- Morgan, H. H., Du Toit, M., ve Setati, M. E. (2017). The grapevine and wine microbiome: insights from high-throughput amplicon sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 8, 820.
- Muck, R. E. (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39, 183-191.
- Nguyen, N. P., Warnow, T., Pop, M., ve White, B. (2016). A perspective on 16S rRNA operational taxonomic unit clustering using sequence similarity. *NPJ biofilms and*

microbiomes, 2(1), 1-8.

- Anwar, A., ve Sutanto, A. (2021, March). Optimization of Annealing Cycle and Temperature SNAP T12 Primer Distinguishing Markers for Male, Female and Hermaphrodite Plants in Papaya (*Carica papaya* L). In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 715, No. 1, p. 012040). IOP Publishing.
- Oulas, A., ve Pavludi, C. (2015). P. olymenakou, GA Pavlopoulos, N. Papanikolaou, G. Kotoulas, et al. "Metagenomics: Tools and Insights for Analyzing Next-Generation Sequencing Data Derived from Biodiversity Studies,". *Bioinformatics and Biology Insights*, 9, 75-88.
- Pandey, K. B., ve Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2, 270-278.
- Park, J. M., Shin, J. H., Lee, D. W., Song, J. C., Suh, H. J., Chang, U. J., ve Kim, J. M. (2010). Identification of the lactic acid bacteria in kimchi according to initial and over-ripened fermentation using PCR and 16S rRNA gene sequence analysis. *Food Science and Biotechnology*, 19, 541-546.
- Park, K. Y., Jeong, J. K., Lee, Y. E., ve Daily III, J. W. (2014). Health benefits of kimchi (Korean fermented vegetables) as a probiotic food. *Journal of medicinal food*, 17(1), 6-20.
- Peñas, E., Martínez-Villaluenga, C., Pihlava, J. M., ve Frias, J. (2015). Evaluation of refrigerated storage in nitrogen-enriched atmospheres on the microbial quality, content of bioactive compounds and antioxidant activity of sauerkrauts. *LWT-Food Science and Technology*, 61(2), 463-470.
- Pérez-Díaz, I. M., Dickey, A. N., Fitria, R., Ravishankar, N., Hayes, J., Campbell, K., ve Arritt, F. (2020). Modulation of the bacterial population in commercial cucumber fermentations by brining salt type. *Journal of Applied Microbiology*, 128(6), 1678-1693.
- Jacob, M. E., Fox, J. T., Drouillard, J. S., Renter, D. G., ve Nagaraja, T. G. (2008). Effects of dried distillers' grain on fecal prevalence and growth of *Escherichia coli* O157 in batch culture fermentations from cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), 38-43.
- Podsędek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40(1), 1-11.
- Prayogo, F. A., Budiharjo, A., Kusumaningrum, H. P., Wijanarka, W., Supriyadi, A., ve Nurhayati, N. (2020). Metagenomic applications in exploration and development of

- novel enzymes from nature: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 1-10.
- Prayogo, F. A., Budiharjo, A., Kusumaningrum, H. P., Wijanarka, W., Suprihadi, A., ve Nurhayati, N. (2020). Metagenomic applications in exploration and development of novel enzymes from nature: a review. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 18(1), 1-10.
- National Research Council. (1992). *Applications of biotechnology in traditional fermented foods*. National Academies Press.
- Rabie, M. A., Siliha, H., El-Saidy, S., el-Badawy, A. A., ve Malcata, F. X. (2011). Reduced biogenic amine contents in sauerkraut via addition of selected lactic acid bacteria. *Food chemistry*, 129(4), 1778-1782.
- Ramazzotti, M., ve Bacci, G. (2018). 16S rRNA-based taxonomy profiling in the metagenomics era. In *Metagenomics* (pp. 103-119). Academic Press.
- Rao, A. V., ve Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, 55(3), 207-216.
- Reddy, G., Altaf, M. D., Naveena, B. J., Venkateshwar, M., ve Kumar, E. V. (2008). Amylolytic bacterial lactic acid fermentation—a review. *Biotechnology advances*, 26(1), 22-34.
- Rodríguez-Gómez, F., Bautista-Gallego, J., Romero-Gil, V., Arroyo-López, F. N., Garrido-Fernández, A., ve García-García, P. (2012). Effects of salt mixtures on Spanish green table olive fermentation performance. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1), 56-63.
- Rönkä, E., Malinen, E., Saarela, M., Rinta-Koski, M., Aarnikunnas, J., ve Palva, A. (2003). Probiotic and milk technological properties of *Lactobacillus brevis*. *International journal of food microbiology*, 83(1), 63-74.
- Rushdy, A. A., ve Gomaa, E. Z. (2013). Antimicrobial compounds produced by probiotic *Lactobacillus brevis* isolated from dairy products. *Annals of Microbiology*, 63, 81-90.
- Şahin, İ., ve Akbaş, H. (2001). Hıyar turşularında yumuşamanın önlenmesi ve kullanılabilir kalsiyum klorür miktarının belirlenmesi. *Gıda*, 26(5).
- Šamec, D., Urlić, B., ve Salopek-Sondi, B. (2019). Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) as a superfood: Review of the scientific evidence behind the statement. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(15), 2411-2422.
- Utoiu, E., Oancea, A., Gaspar, A., Seciu, A. M., Ştefan, L. M., Coroiu, V., ... ve Oancea,

- F. (2017). Selenium biofortification treatment of cauliflower enhances their content in chemopreventive compounds and in vitro antitumoral activity. *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, 21, 33-40.
- Shishlova, E. S., Posokina, N. E., ve Lyalina, O. Y. (2018). The basics of fermenting white cabbage. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 80(2), 242-248.
- Silva, M. S., Ramos, C. L., González-Avila, M., Gschaedler, A., Arrizon, J., Schwan, R. F., ve Dias, D. R. (2017). Probiotic properties of *Weissella cibaria* and *Leuconostoc citreum* isolated from tejuino—A typical Mexican beverage. *LWT*, 86, 227-232.
- Simon, C., ve Daniel, R. (2011). Metagenomic analyses: past and future trends. *Applied and environmental microbiology*, 77(4), 1153-1161.
- Slover, Christine M. "Lactobacillus: a Review". *Clinical Microbiology Newsletter* 30/4 (15 Şubat 2008), 23–27. <https://doi.org/10.1016/J.CLINMICNEWS.2008.01.006>
- Sørvig, E., Mathiesen, G., Naterstad, K., Eijnsink, V. G., ve Axelsson, L. (2005). High-level, inducible gene expression in *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus plantarum* using versatile expression vectors. *Microbiology*, 151(7), 2439-2449.
- Stanbury, P. F., Whitaker, A., ve Hall, S. J. (2013). *Principles of fermentation technology*. Elsevier.
- Stefanini, I., ve Cavalieri, D. (2018). Metagenomic approaches to investigate the contribution of the vineyard environment to the quality of wine fermentation: potentials and difficulties. *Frontiers in Microbiology*, 9, 991.
- Steinkraus, K. H. (1997). Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. *Food Control*, 8(5-6), 311-317.
- Thomas, T., Gilbert, J., ve Meyer, F. (2012). Metagenomics-a guide from sampling to data analysis. *Microbial informatics and experimentation*, 2, 1-12.
- Tolonen, M., Rajaniemi, S., Pihlava, J. M., ve Saris, P. (2004). Antibacterial activity of plant derived biomolecules in sauerkraut fermentation by using different starter cultures. *Food Microbiol*, 21, 167-179.
- Vinderola, G., Ouwehand, A., Salminen, S., ve von Wright, A. (Eds.). (2019). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. Crc Press.
- Wang, Z., ve Shao, Y. (2018). Effects of microbial diversity on nitrite concentration in pao cai, a naturally fermented cabbage product from China. *Food microbiology*, 72, 185-192.
- Wesolowska-Andersen, A., Bahl, M. I., Carvalho, V., Kristiansen, K., Sicheritz-Pontén,

- T., Gupta, R., ve Licht, T. R. (2014). Choice of bacterial DNA extraction method from fecal material influences community structure as evaluated by metagenomic analysis. *Microbiome*, 2(1), 1-11.
- Wouters, D., Bernaert, N., Conjaerts, W., Van Droogenbroeck, B., De Loose, M., ve De Vuyst, L. (2013). Species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of spontaneous leek fermentations. *Food Microbiology*, 33(2), 185-196.
- Wu, C., Zhang, J., Chen, W., Wang, M., Du, G., ve Chen, J. (2012). A combined physiological and proteomic approach to reveal lactic-acid-induced alterations in *Lactobacillus casei* Zhang and its mutant with enhanced lactic acid tolerance. *Applied microbiology and biotechnology*, 93, 707-722.
- Wylezich, C., Papa, A., Beer, M., ve Höper, D. (2018). A versatile sample processing workflow for metagenomic pathogen detection. *Scientific reports*, 8(1), 1-12.
- Xia, Y., Liu, X., Wang, G., Zhang, H., Xiong, Z., Sun, Y., ve Ai, L. (2017). Characterization and selection of *Lactobacillus brevis* starter for nitrite degradation of Chinese pickle. *Food Control*, 78, 126-131.
- Xia, Y., Liu, X., Wang, G., Zhang, H., Xiong, Z., Sun, Y., ve Ai, L. (2017). Characterization and selection of *Lactobacillus brevis* starter for nitrite degradation of Chinese pickle. *Food Control*, 78, 126-131.
- Xiong, T., Guan, Q., Song, S., Hao, M., ve Xie, M. (2012). Dynamic changes of lactic acid bacteria flora during Chinese sauerkraut fermentation. *Food control*, 26(1), 178-181.
- Xiong, T., Li, J., Liang, F., Wang, Y., Guan, Q., ve Xie, M. (2016). Effects of salt concentration on Chinese sauerkraut fermentation. *LWT-Food Science and Technology*, 69, 169-174.
- Yang, X., Hu, W., Xiu, Z., Jiang, A., Yang, X., Saren, G., ... ve Feng, K. (2020). Effect of salt concentration on microbial communities, physicochemical properties and metabolite profile during spontaneous fermentation of Chinese northeast sauerkraut. *Journal of Applied Microbiology*, 129(6), 1458-1471.
- Yang, X., Hu, W., Xiu, Z., Jiang, A., ve Yang, X. (2020). Sarengaowa; Ji, Y.; Guan, Y.; Feng, K. Comparison of northeast sauerkraut fermentation between single lactic acid bacteria strains and traditional fermentation. *Food Res. Int*, 137, 109553.
- Zabat, M. A., Sano, W. H., Wurster, J. I., Cabral, D. J., ve Belenky, P. (2018). Microbial community analysis of sauerkraut fermentation reveals a stable and rapidly established community. *Foods*, 7(5), 77.

- Zhang, F., Tang, Y., Ren, Y., Yao, K., He, Q., Wan, Y., ve Chi, Y. (2018). Microbial composition of spoiled industrial-scale Sichuan paocai and characteristics of the microorganisms responsible for paocai spoilage. *International journal of food microbiology*, 275, 32-38.
- Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M., Harris, H. M., Mattarelli, P., ... ve Lebeer, S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(4), 2782-2858.
- Zhou, Q., Zang, S., Zhao, Z., ve Li, X. (2018). Dynamic changes of bacterial communities and nitrite character during northeastern Chinese sauerkraut fermentation. *Food science and biotechnology*, 27, 79-85.
- SS, Y., AP, R., ve PJ, B. (2020). Effect of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* starter cultures in lower salt concentration fermentation on the sauerkraut quality. *Food Research*, 4(4), 1038-1044.