

BİRA ÜRETİMİNDE KARIŞIK KÜLTÜR KULLANIMI

USE OF MIXED CULTURE IN BEER PRODUCTION

Sakine AYHAN

Ege University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Ege University
Campus **ORCID:** 0000-0002-6430-5837

Hatice KALKAN YILDIRIM

Ege University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Ege University
Campus **ORCID:** 0000-0001-9698-9682

ÖZET

Bira, arpanın çimlendirilip kurutulması ile elde edilen maltın su ile belli koşullar altında mayşelenmesi ve şıranın şerbetçiotu ile kaynatılmasından sonra alkol fermantasyonuna uğratılmasıyla meydana gelen, alkol içeren bir içkidir. Son yıllarda farklı duyuşal özelliklere sahip biralar tüketiciler tarafından beğeni kazanmakta olup, bira üreticileri şerbetçiotu, malt, maya ve fermantasyon koşullarını değiştirerek farklı duyuşal özelliklere sahip biralar üzerinde çalışmaktadır. Bira kalitesini etkileyen önemli unsurlardan biri de kullanılan mayalardır. Saf kültürlü fermantasyonların yanı sıra karışık kültür ile fermantasyonları, bira üretiminde farklı maya ve mayaların kombinasyonlarının seçimiyle biraya çok farklı lezzet ve karakteristik özellikler kazandırılmaktadır. Temel soru hangi kültür, hangi aşamada ve hangi kültür ile kullanılmalıdır?

Yapılan çalmalarda, *Saccharomyces cerevisiae* ve non-*Saccharomyces cerevisiae* kullanarak gerçekleşen karışık fermantasyonlarda biralarda yeni aroma özelliklerin ortaya çıkmasına katkı sağlandığı bulunmuştur. Bu olumlu özelliklerin yanı sıra, karışık kültür kullanımı ile biralara aroma dışında düşük kalorili, düşük alkollü veya alkolsüz ve glutensiz gibi yeni özellikler kazandırılmaktadır.

Karışık kültür kullanımı ile polifenol içeriğinde ve antioksidan aktivitede artışlar ve probiyotik etkiyi artırma gibi yeni özellikler içeren ürünlerin üretilmesi çok umut vericidir. Karışık kültür teknolojisi, bira üretimi için önemli bir biyoteknolojik yenilik olup çok farklı karekterde bira ve özel tatlar üretilmesine olanak sağlamaktadır. Ayrıca gıda sektörüne katkısı yalnızca daha kompleks aroma ve tat karakterine sahip ürünler vermesi değil aynı zamanda büyüyen piyasada farklı ürünler elde edilerek ürün çeşitliliğini arttırmasıdır.

Anahtar Kelimeler: Bira, Karışık Kültür, Bira Özellikleri

ABSTRACT

Beer is an alcohol-containing drink that is produced by mashing the malt obtained by germinating and drying barley with water under certain conditions and boiling the wort with hops and then subjecting it to alcoholic fermentation. In recent years, beers with different

sensory properties have been appreciated by consumers and brewers are working on beers with different sensory properties by changing hops, malt, yeast and fermentation conditions. Used yeast used is one of the important factors affecting the beer quality. In addition to pure culture fermentations, mixed culture fermentations and the selection of different yeasts and combinations of yeasts in beer production provide very different flavors and characteristics to the beer. The main question is which culture should be used at what stage and with which culture could be combined?

In performed studies, it was determined that mixed fermentations done by using *Saccharomyces cerevisiae* and non-*Saccharomyces cerevisiae* contributed to the emergence of new aroma properties in beers. With the using of mixed cultures, not only new flavoring can be added to the beer, but also new features such as low-calorie, low-alcohol or non-alcoholic and gluten-free are added to the beer properties.

It is valuable in terms of producing products with new features such as increases in polyphenol content and antioxidant activity and increasing the probiotic effect with the use of mixed cultures. Mixed culture technology is an important biotechnological innovation for beer production that allows the production of beer with special flavors and many different characteristics. In addition, its contribution to the food industry is not only to provide products with more complex aroma and taste characteristics, but also to increase product diversity by obtaining different products in the growing market.

Keywords: Beer, Mixed Culture , Beer Properties

1. GİRİŞ

Son yıllarda farklı duyuşal özelliklere sahip biralar tüketiciler tarafından beğeni kazanmakta olup, bira üreticileri şerbetçiotu, malt, maya ve fermantasyon koşullarını değiştirerek farklı duyuşal özelliklere sahip biralar üzerinde çalışmaktadır (Conanico vd., 2017). Bira kalitesini etkileyen önemli unsurlardan biri de kullanılan mayadır (Stewart, 2016). Fermantasyon sırasında maya, şıradaki şekerleri alkol ve CO₂'e dönüştürmektedir (Stewart, 2016). Aynı zamanda bu dönüşüm sırasında yüksek alkoller, esterler, uçucu asitler, karbonil bileşikleri, terpenler, laktonlar, pirazinler ve kükürtlü bileşikler gibi biranın aromasına önemli derecede katkı sağlayan ikincil metabolitler de oluşmaktadır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010).

Yıllardır kontrollü fermantasyonlarda *Saccharomyces* suşlarının kullanılması yüksek miktarda etil alkol üretimi, crabtree pozitif etki ile birlikte fermantasyonun öncelikli metabolik yol olarak kullanılması ve etanol ve diğer çevresel streslere karşı daha yüksek toleranslı olması gibi üç ana özelliğe dayanmaktadır (Steensels ve Verstrepen, 2014). Günümüzde çoğu birada fermantasyonu gerçekleştiren mikroorganizmalar farklı *Saccharomyces* türlerine ve suşlarına aittir. Dünya çapındaki biraların %99'u için *Saccharomyces* tek mikrobiyal inoculum olarak kullanılmıştır (Morata, 2017). Ancak, daha karmaşık aroma profillerine sahip biralar elde etmek amacıyla geleneksel olmayan mayaların önemini vurgulanmaktadır. Nitekim, *S. cerevisiae* ile saf ve karışık fermantasyonlarda kullanılan geleneksel olmayan mayaların, diğer

fermente ve damıtılmış içeceklerin aroma profili üzerindeki etkisi son yıllarda değer kazanmıştır (Basso ve ark., 2016; Varela, 2016).

Saccharomyces olmayan mayalar, sınırlı bir fermantasyon performansı ile sonuçlanan düşük birincil metabolik etkinliğe sahiptir. Ancak ikincil metabolizmaları nedeniyle son fermantasyon ürünlerinin duyuusal özelliklerini etkileyebilmektedir. İçecek endüstrisinde bu fermantasyon ürünleri, aroma ve aroma profiline katkıda bulunan uçucu bileşiklerdir. En belirgin ve baskın bira aroması bileşikler alkollere , esterlere , aldehitlere ve organik asitlere aittir. Çoğunun geleneksel olmayan mayalar tarafından üretilmesi, fermentasyon nihai ürünlerini zenginleştirmek için geliştirilecek potansiyelin büyük bir kısmını oluşturmaktadır (Larroque ve diğerleri,2021).

Saccharomyces olmayan mayalar haricinde ekşi bira üretiminde laktik asit bakterileri kültürlerinin mayşenin kaynatılmadan önce veya sonra kullanılmasıyla üretilmektedir. Bununla birlikte, bazı bira üreticileri, mayalar tarafından alkollü fermantasyondan birkaç gün önce mayayı asitleştirmek için laktik asit kültürleri uygulayarak daha hızlı bir yöntem kullanarak ekşi bira üretmişlerdir (Ciosek, ve diğerleri,2020).

Şarap yapımında, nihai şarabın analitik ve aromatik profilini geliştirmek ve alkol içeriğini azaltmak amacıyla *Saccharomyces* olmayan mayaların rolü ve bunların karışık fermantasyonlarda kullanımı daha çok araştırılmışken bira üretiminde *Saccharomyces* olmayan mayanın kullanımı, çoğu biranın tek bir maya suşu kullanılarak fermente edildiği bira endüstrisinde daha az araştırılmıştır. Bu sebeple bu çalışmada bira üretiminde karışık kültür kullanımı ve üretimin bira üretimine ne gibi katkılar sağladığı araştırılmıştır.

2. BİRA

Bira, çay ve kahveden sonra dünya çapında en popüler üçüncü içecektir ve en çok tercih edilen alkollü içecektir. Fermente bir içecek olarak bira, doğal olarak üretim için mikrobiyal metabolizmaya dayanmaktadır (Basso,2016).

Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliği'ne göre bira, sadece maltın veya malt ve ekstrakt maddelerinin öğütülüp, sıcak su ile belirli yöntemlerle işlenmesi sonucunda elde edilen şıranın; şerbetçiotu ile kaynatılması ve soğutulması, bira mayası ile fermente edilmesi ve dinlendirilmesinden sonra, filtre edilerek veya edilmeyerek, pastörize edilerek veya edilmeyerek üretilen içinde çözünmüş halde karbondioksit bulunan bulanık veya berrak içkidir (TGK, 2006). Bira üretimi, arpanın malt haline getirilmesi, maltın öğütülmesi, mayşelenmesi, şıranın süzülmesi, şıranın şerbetçiotu eklenerek kaynatılması, şıranın soğutulması, fermantasyon, dinlendirme, filtreleme, dolum, pastörizasyon gibi işlem basamaklarını içermektedir (Atalay,2020).

Bira üretiminde kullanılan hammaddeler arpa, su, şerbetçiotu ve mayadır (Angelino, 1991). Arpa, en eski zamanlardan beri bira hammaddesi olarak kullanılmaktadır ve kavuzlu olması, gerekli enzimleri yeterli miktarda içermesi ve ekstraktının daha uygun olması nedeniyle bira

üretimi için diğer tahıllardan daha uygundur (Türker ve Canbaş, 1995). Bira çeşitli amino asitleri, vitaminleri içermenin yanı sıra kalsiyum, demir, magnezyum, fosfor, potasyum, sodyum, çinko, bakır, manganez ve florür gibi mineralleri ve eser elementleri de içermektedir (Atalay,2020).

Bira kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden biri kullanılan mayadır. Bira endüstrisinde kullanılan iki maya türü vardır. Bunlar *S. carlsbergensis* ve *S. cerevisiae*'dir. Bu iki maya türü mikroskop altında ayırt edilemez. *Saccharomyces carlsbergensis* bir alt fermantasyon mayasıdır, fermantasyon sonunda kümeleşerek dibe çöker ve fermantörün alt kısmında toplanır. *S. cerevisiae* ise bir üst fermantasyon mayasıdır ve fermantasyon sırasında oluşan CO₂ kabarcıkları ile yükselerek kahverengi bir tabaka şeklinde fermente olan şıranın üzerinde toplanır. Her iki tür de yeni sınıflandırmada *S. cerevisiae* olarak adlandırılmıştır (Tangüler ve ark., 2007).

Bira üretiminde alt ve üst fermantasyon olmak üzere, iki ayrı fermantasyon şekli vardır. Alt fermantasyon 8-15°C'de 8-12 gün, üst fermantasyon ise 15-22°C'de 3-5 günde gerçekleşir. Fermantasyon süresi ve sıcaklık alt fermantasyon bira üretiminde oldukça farklıdır. Geleneksel alt fermantasyon bira üretiminde maya ilavesi 5-6°C 'de yapılır. Sıcaklık 8-9°C'ye çıkarılabilir. Bu genellikle daha kaliteli bira üretimini sağlamaktadır (Kunze, 1996). Genel olarak maya 7-8°C arasında aşılır ve sonraki iki günde bu sıcaklık 10-11°C'ye yükseltilir. Bazı bira üreticileri bu sıcaklıkları başlangıç sıcaklığı olarak kullanmakta ve sonra 14-15°C'ye yükseltmektedirler. Bazı üreticiler ise aşılama sıcaklığı olarak 12-14°C arasında sıcaklıklar kullanmakta ve daha sonra sıcaklığı 18°C'ye yükseltmektedirler (Knudsen, 1999). Alt fermantasyon mayaları iki tiptedir. Fermantasyon sırasında sıvı içinde ince zerrecikler halinde bulunan ve çok yavaş dibe çöken alt fermantasyon mayalarına "Toz maya", buna karşılık fermantasyon sırasında bir araya gelerek topak oluşturan ve hızla dibe çöken mayalara da "Topak mayalar" denilmektedir (Anon., 1997; Türker ve Canbaş, 1995).

Bira üretiminde fermantasyon, mayaların şekerleri esas ürün olarak alkol ve karbondioksit ve ikincil ürünler olarak esterler, yüksek alkoller, karbonilli bileşikler gibi ürünlere dönüştürdüğü bir işlemdir. Bu ürünler, biranın karakteristik özellikleri, koku ve tadı üzerinde önemli etkiye sahiptirler. Fermantasyon sırasında maya, şıradaki şekerleri alkol ve CO₂'ye dönüştürür (Stewart, 2016). Aynı zamanda yüksek alkoller, esterler, uçucu asitler, karbonil bileşikleri, terpenler, laktonlar, pirazinler ve kükürlü bileşikler gibi biranın aromasına önemli derecede katkı sağlayan ikincil metabolitler de oluşur (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010) Mayaların fermantasyon sırasında oluşturduğu başlıca aroma maddeleri yüksek alkoller, esterler, uçucu asitler, karbonil bileşikleri, kükürlü bileşiklerdir (Tangüler ve ark, 2010).

Biranın çeşitli biyolojik olarak aktif bileşikler içerdiği ve dünya çapında en sık tüketilen alkollü içecek olduğu düşünüldüğünde, polifenolikler dahil olmak üzere ek bir doğal antioksidan kaynağı olabileceği vurgulanmaktadır.. Bu bileşikler malt, şerbetçiotu, tahıllar ve başta meyveler olmak üzere bazı katkı maddelerinde bulunmaktadır (Adamenko vd.,2020).

3. BİRA ÜRETİM TEKNOLOJİSİNDEKİ YENİLİKLER

Bira endüstrisi, artan tüketici talebine yanıt olarak özel bira çeşitlerini genişletmek için yeni teknolojilerin ve yeniliklerin geliştirilmesine yönelik çok fazla çaba harcamaktadır. Özel biralar, geleneksel bira kategorilerine uymayan bira stillerinden düşük kalorili bira, düşük alkollü veya alkolsüz bira, yeni aromalı bira, glutensiz bira ve fonksiyonel bira ilgi çekici bulunmuştur. Bu bira türleri, geleneksel yaklaşıma göre teknolojik olarak zordur, ancak sağlık ve lezzet açısından tüketicilere özel bir üretim sunmaktadır. Bu üretimlerde geleneksel bir bira fabrikasının ekipmanından yararlanan biyolojik süreçlerden, termal ve membranlı süreçler gibi biyolojik olmayan teknolojilere kıyasla daha iyi yararlanılması gerekmektedir.

Ürün çeşitliliğine yönelik müşteri talebi, bira endüstrisindeki yeniliklerin temel itici gücüdür. Özel biralar, yerleşik tanımları veya sınırları olmayan, iki ana türden, lager ve ale biralardan farklı, ayrı bir bira grubu olarak kabul edilmektedir. Düşük veya alkolsüz bira, düşük karbonhidratlı bira, glütensiz bira, ekşi bira, probiyotik bira ve zenginleştirilmiş bira dahil olmak üzere özel biralar, yalnızca işlevsellikleri, tüketicinin sağlığı ve refahı göz önünde bulundurularak üretilip geliştirilmektedir (Puligundla,2021).

Kaliteli bira üretimi, yalnızca iyi fermantasyon verimi-verimliliği için değil, aynı zamanda içeceğe aroma ve aroma katmak için de nitelikli olan mayaların fermente edilmesi faaliyetine dayanır. Tat ve aroma sağlayan bileşiklerin çoğu fermantasyon sırasında ortaya çıktıklarından ve bunlar ara bileşikler ve metabolizmanın yan ürünleri olduğundan, bunların bira üretimindeki önemi etanol ve karbondioksit oluşumunun ötesine geçmektedir. (Pires vd., 2014).

Saccharomyces cerevisiae , yaygın olarak kullanılan bira mayasıdır ve seçilen suşlar, kimyasal ve duyu kalite elde etmenin yanı sıra tekrarlanabilirliği korumanın bir yolu olarak süreçlerin orantılı olarak iyileştirilmesine ve kontrolüne sahiptir. Sektördeki genişleme ve artan sayıda uzman tüketici, bira üreticilerini şerbetçiotu çeşitlerini değiştirme, özel maltlar kullanma, farklı karışımlar hazırlama ve daha pek çok yöntem geliştirmeye yöneltmiştir. Bununla birlikte, üreticilerin yalnızca çok sayıda aroma ve aroma üretimi değil, aynı zamanda biraların genel organoleptik profilinde yeni yaklaşımlar ve izlenimler buldukları yer, geleneksel olmayan mayaların fermentasyonun tercih edilmesidir (Michel et al . ., 2016).

Biyolojik yöntemlerle yeni bileşiklerin ve aromanın eklenmesi, modern tüketici beklentilerini, belirli bir maya türünün saf kültürünü kullanarak, farklı mikroorganizmalarla sıralı veya birlikte aşılama; yaparak, genetiği değiştirilmiş organizmaların (GDO'lar) kullanımı ve ayrıca diğer mikroorganizmalar tarafından üretilen izole edilmiş enzimlerin eklenmesiyle sağlamaktadır (Vanderhaegen ve diğerleri, 2003).

3.1 *Saccharomyces* olmayan türlerin kullanımı

Son yıllarda farklı duyu özelliklere sahip biralar tüketiciler tarafından beğeni kazanmakta olup, bira üreticileri şerbetçiotu, malt, maya ve fermantasyon koşullarını değiştirerek farklı duyu özelliklere sahip biralar üzerinde çalışılmaktadır (Conanico vd., 2017).

Saccharomyces olmayan uygulamalar son zamanlarda kontrollü fermentasyonlarda kullanılmaktadır. Bu uygulama, kendine özgü aromatik bileşenleri olan ürünler elde etmek için bira üreticileri arasında popülerlik kazanmıştır (Vanderhaegen vd.,2006)

Bazı *Saccharomyces* olmayanlar , bira için başlangıç kültürleri olarak kullanılır veya spontan bira fermantasyonlarında bulunmaktadır. Bunlar:

Brettanomyces , *Candida* , *Debaryomyces* , *Hanseniaspora* , *Kazachstani*, *Kluyveromyces* , *Lachancea* , *Metschnikowia* , *Meyerozyma* , *Pichia* , *Rhodotorula* , *Starmerella* , *Saccharomyces* , *Saccharomycopsis* , *Torulaspoda'dan* , *Trikosporon* , *Wickerhamomyces*, *Williopsis* , *Yarrowia* , *Zygoascus* ve *Zygosaccharomyces* olarak belirlenmiştir. (Larroque vd.,2021).

Saccharomyces olmayan türler, düşük alkollü bira (%0.5–1.2, v/v) ve alkolsüz bira (<%0.5, v/v) üretiminde kullanılabilir. *Saccharomyces ludwigii* ve *Zygosaccharomyces rouxii*'nin maya suşlarının düşük alkollü bira üretimi için uygunluğu analiz edildiğinde *Z. rouxii* suşlarının çoğu, yüksek konsantrasyonda etanol üretimi nedeniyle uygun bulunmamıştır. Alkolsüz biranın endüstriyel deneme üretimi için kullanılan en başarılı cins, tüm maltların hakim fermente şekerleri olan maltozu ve maltotriozu fermente etmedeki yetersizliği nedeniyle *S. ludwigii* olduğu belirtilmiştir (Montanari vd.,2009).

Torulaspoda delbrrueckii, *Lachancea thermotolerans* ve *Schizosaccharomyces pombe* şu anda bazı uluslararası biyoteknoloji şirketleri tarafından maya olarak endüstriyel düzeyde üretilmektedir (Morata vd.,2016).*Hanseniaspora vineae* , *Zygoascus meyeræ* ve *Pichia anomala* seçilen geleneksel olmayan mayalardır. *Hanseniaspora vineae*'nin yüksek ester üretimi , meyveli biralara için umut verici olarak görülmüştür (Larroque vd.,2021).

3.2 Probiyotik mikroorganizmaların kullanılması

Fonksiyonel biralarda mutlak bir yenilik, probiyotik mikroorganizmaların dahil edilmesiyle elde edilen probiyotik bira ile temsil edilmektedir. Araştırmalar, canlı probiyotik sayısına sahip yiyecek ve içeceklerin tüketilmesinin, sağlık etkilerinin sağlanmasında, inaktif probiyotikler içeren ürünlerden daha etkili olduğunu göstermiştir. Pastörize edilmemiş ve filtrelenmemiş olan butik bira, sağlık etkileri sağlamak için yeni bir araç olarak kabul edilebilmektedir. Aksi takdirde, pastörize edilmiş veya filtrelenmiş biralara uygulanan teknolojiler bu amaç için uygun değildir. Çünkü pastörizasyon veya filtrasyondan sonra probiyotik ilavesi probiyotikleri öldürebilir veya uzaklaştırabilmektedir. Bu nedenle, probiyotiklerin etkinliği için canlılık çok önemli olduğundan, butik bira, endüstriyel bir biradan daha probiyotik bira olarak üretilmeye daha uygun olarak görülmektedir (Capase vd.,2018). Çoğu probiyotik mikroorganizma bakteridir, sadece *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* (eşanlamlısı *S. boulardii*), probiyotik olarak yaygın olarak kullanılan ve genellikle besin takviyesi olarak pazarlanan tek mayadır (McFarland, 2010). *S. cerevisiae* var. *boulardii* onu potansiyel bir probiyotik ajan yapan birçok özelliğe sahiptir ve vücut sıcaklığında (37 °C), mide asitlerine ve safra asitlerine karşı direnç ve bağırsak yolunun rekabetçi ortamına karşı hayatta kalma özelliğine sahiptir (Czerucka ve diğerleri, 2007 ; McFarland, 2010 ; Kelesidis ve Pothoulakis, 2012).

Capase ve ark, 2018 yılında yaptıkları çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* var. *Boulardii*'nin probiyotik bir suşunu şıra fermantasyonu sırasında seçilen *S. cerevisiae* suşları ile karışık kültürlerde kullanmışlardır. Yeni bir filtrelenmemiş ve pastörize edilmemiş bira üretimi için uygun bir başlangıç kültürü seçmek amacıyla Sb suşunun fermentatif sürecin sonuna kadar hayatta kalma potansiyelinin yanı sıra biralara analitik ve antioksidan profili üzerindeki etkisi değerlendirilmiş ve potansiyel probiyotik aktivite gözlemlenmiştir. Bu çalışmada *S. cerevisiae* var. *Boulardii* (Sb), artan sağlıklı faydalar ile bira üretimi için *S. Cerevisiae* suşları ile karışık kültürlerde kullanılmış ve karışık starter kültürler, antioksidan aktivitedeki artış, polifenol içeriğindeki artış gibi ürünün sağlıklı kalitesini artırmak için çok umut verici olarak belirlenmiştir. Ayrıca, Sb ile üretilen bira probiyotik etkilerin yanında düşük alkollü veya alkolsüz bira üretimi için avantajlı özellikler olarak kullanılabilir.

Chan vd.,2019 çalışmasında ekşi bira üretimi için başlangıç kültürleri olarak LAB'den türetilen probiyotiklerin kullanımı yeni bir kavram olarak belirtilmiştir. Probiyotik *Lactobacillus paracasei* L26'nın, *Saccharomyces cerevisiae* S-04 ile birlikte kültürlendiğinde, şerbetli şıra içindeki büyümesini, canlılığını ve stabilitesini araştırılan bu çalışmada yüksek probiyotik bakteri canlı sayılarına (ürün porsiyonu başına 9 Log CFU, 100 g veya mL) sahip yeni bir ekşi bira geliştirilmiştir. Probiyotik laktobasiller, şerbetli şıra sırasında büyümemeyip ve hayatta kalamadığından şerbetli şıra özütü ortama fermantasyon sonrası ilave edilmiştir. Şerbetli şıra içermeyen ortamda *Lactobacillus paracasei* ve maya ile birlikte fermente edildiğinde büyüebilmektedir. Sonuç olarak canlı probiyotiklere sahip yeni, filtrelenmemiş ve pastörize edilmemiş bir bira geliştirilmiştir.

3.3 Laktik asit bakterilerinin kullanımı

Laktik asit bakterileri (LAB), gıda ürünleri ve içeceklerin korunmasını, organoleptik özelliklerini ve besin değerini geliştirmek için küresel olarak kullanılmaktadır. Laktobasiller sıklıkla hem bakteri hem de mayanın dahil olduğu karışık fermentasyonlar yoluyla üretilen yiyecek ve içeceklerle ilişkilendirilebilmektedir (Closek,2020).

Ekşi bira olarak adlandırılan kasıtlı asidik tada sahip bira, geleneksel olarak, şiranın aktif mikrobiyal aşılardan ziyade çevresel maruziyetle aşılandığı spontane bir süreç olarak fermente edilmektedir. Ekşi bira fermantasyonu sırasında mayalar, ale veya lager fermantasyonlarında olduğu gibi etanol ve diğer metabolik ürünleri üretirler. Asit üreten bakterilerin varlığı, diğer ekşi olmayan biralara kıyasla daha yüksek organik asit içeriğine ve düşük pH'a sahip bira ürünleri ile sonuçlanmaktadır (Van Oevelen ve diğerleri, 1976, 1977). Ekşi biranın duyu özelliklerine laktobasillerin en belirgin katkısını laktik ve asetik asit oluşturmaya ek olarak, laktobasillerin aldehitler, alkoller ve esterler dahil olmak üzere çok çeşitli diğer lezzet açısından önemli metabolik ürünler ürettiği kanıtlanmıştır (Salmerón ve diğerleri, 2015).

L. brevis genellikle ekşi bira üretmek için kullanılmaktadır. Buna karşılık, *Kluyveromyces lactis* ve *Lachancea termotolerans* gibi laktik asit mayaları da ekşi bira üretmek için kullanılabilir (Closek,2020).

Djameh vd.,2019 yılında yaptıkları çalışmada *L. delbrueckii* ve *S. cerevisiae* karışık kültür fermantasyonlarında batı Afrikada ve yakınlarında üretilen Pito olarak da bilinen geleneksel ekşi sorgum birası üretmişlerdir. Pito üretimine laktik asit fermantasyonu ve ardından bir alkol fermantasyonu gerçekleşmektedir. Saf kültür *pitonunda* daha yüksek bir toplam uçucu aroma bileşenleri seviyesi oluşmuş, bu da geleneksel ile karşılaştırıldığında daha yoğun bir aroma olduğunu göstermiştir. *L. delbrueckii* ve *S. cerevisiae* benzer fizikokimyasal kaliteli olacak bir ürün vermişken aromatik olarak daha üstün farklılıklara sahip ürün elde edilmiştir.

Closek vd.,2019 yaptıkları çalışmaya göre, sıraya mayadan önce *L. brevis* ilave edildiğinde bakterilerin maya üzerinde sinerjik bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir. Mayalar, bakterilere büyümeleri için ihtiyaç duydukları besinleri (vitaminler gibi) sağlayabilmekte, ancak etanol üretimi yoluyla bakterilerin büyümesini de engelleyebileceğini belirtilmiştir.. Bu nedenle etkileşiminin ya antagonistik ya da sinerjistik olabileceğini bildirmektedir. Maya ve bakterinin aynı anda eklendiği örneklerde (Y+B), bakterilerin bir gecikmeden sonra eklendiği örneklerle kıyasla ağırlık kaybı daha fazla bulunmuştur. Buna göre, bakterilerin varlığı, maya tarafından etanol fermantasyonunu arttırdığı belirtilmiştir. LAB ve mayalar karbon kaynağı ile ilgili olarak rekabet etmediği , ikisi arasında sembiyoz ilişki olduğu bulunmuştur. Fermantasyon performansı, pH ve laktik asit içeriğine dayalı olarak, maya ve LAB kullanılarak ekşi bira üretiminde etkisini incelendiği bu çalışmada mayayı aşılama öncesi bakterileri aşılamanın, uygun bir laktik asit verimini ve pH'ta istenen düşüşü sağladığı gösterilmiştir. Bakterilerden önce maya eklendiğinde, biranın pH'ı ekşi tip biralar için gerekenden daha yüksek ve biranın laktik asit içeriği daha düşürmüştür (yaklaşık 2-3 g/L).

3.4 Bira üretiminde karışık kültür kullanımı

Geleneksel olarak, *Saccharomyces pastorianus* (sin. *Saccharomyces carlsbergensis*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces eubayanus* arasında bir melez) bira üretiminin neredeyse %90'ını temsil eden lager tarzı bira fermantasyonları için kullanılan maya olmuştur. Diğer baskın üretim şekli ise ale birasıdır ve bu bira şeklinde yaygın olarak kullanılan maya *Saccharomyces cerevisiae'dir*. Bira pazarının %5'ini temsil etmektedir .Kalan yüzde, doğal mayalar ve bakterilerle spontan fermantasyon veya karışık fermantasyonlarla üretilen biralara aittir (Larroque ve diğerleri,2021).

Starter kültürler genellikle tek suş olarak kullanılmaktadır. Ancak birden fazla suşun kombinasyonları halinde ya da ardarda kullanımıyla, tek suş kullanımına oranla daha olumlu etki elde edilebilmektedir. Bu etkiler kompleks metabolik aktiviteler ve sinerjizm sayesinde fermantasyon ortamına daha iyi adaptasyon, suşlar arasında daha iyi iletişim, değişen şartlara uyum sağlama yeteneğinde ve hayatta kalma gücünde artış, asitliğin geliştirilmesi ve daha kısa fermantasyon süresi, artan biyoçeşitliliğe bağlı olarak duyu niteliklerinde gelişme ve son üründe fonksiyonelliğin ve besinsel kalitenin artması şeklinde özetlenebilmektedir (Panda ve Shetty, 2018).

San Francisco'daki Woods Beer Co.'daki bira üreticileri, Bohemian Pilsner'larının bir partisinin beklenmedik bir şekilde, geleneksel bira mayasına ek olarak sahte bir *Brettanomyces C suşu* ile enfekte olduğunu keşfetmişlerdir. Bira üreticileri, ortamdaki veya yabancı mayaların bira içinde çoğalmasına izin verdiğinde meydana gelen spontan fermantasyondan farklı olarak karma kültür fermantasyonu, bira üreticilerinin kasıtlı olarak farklı maya ve mayaların bir kombinasyonunu seçmesi bakımından biraz farklıdır. Bu da çok farklı lezzet ve karakteristik bir yapı oluşturduğunu bildirmişlerdir. (Janzen,2017).

Bira endüstrisinde, konvansiyonel olmayan maya ile karışık kültürlerden çalışmaları:

Pichia kluyveri ve *Brettanomyces* (Holt ve arkadaşları, 2018'i), *Pichia kluyveri* ve *Saccharomyces cerevisiae* (. Holt ve arkadaşları, 2018'i ; Saerens ve Swiegers, 2014a , Saerens ve Swiegers,2014b), *Zygorulaspora florentina* ve *Saccharomyces cerevisiae* (Holt ve diğerleri, 2018), *Lachancea thermotolerans* ve *Saccharomyces cerevisiae* (Holt ve diğerleri, 2018), *Torulaspora delbrueckii* ve *Saccharomyces cerevisiae* (Canonico ve diğerleri, 2016 ; Michel ve diğerleri, 2016b), *Saccharomyces cerevisiae* , *Zygoascus meyeri* ve *Pichia anomala* (Larroque ve diğerleri,2021) *Kazachstania servazzi* ve *Saccharomyces cerevisiae* (Gibson ve diğerleri, 2015) ve *Naumovia dairenensis* ve *Saccharomyces cerevisiae* (Gibson ve diğerleri, 2015) şeklinde literatürde yapılan çalışmalarda kullanılan karışık kültür fermantasyonundaki mayalar özetlenmiştir.

Conanico ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, bira üretiminde *T. delbrueckii*'nin üç ticari *S. cerevisiae* suşu ile etkileşimleri ve aroma profillerini incelemişlerdir. *S. cerevisiae* ile *T. delbrueckii* karışık kültür fermantasyonunda, aşılama oranı 1:20 olduğunda, *T. delbrueckii* fermantasyon ortamında baskın olmuştur. Araştırmacılar, fermantasyon sonunda biraların β -fenil etanol dışında, yüksek alkoller, etil asetat ve izoamil asetat miktarlarının arttığını, öte yandan etil heksanoat ve etil oktanoat miktarlarının azaldığını ve bira üretiminde *T. delbrueckii* ilavesinin bira fermantasyonu üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Tartaridis ve ark. (2013), şarap ve birada *T. delbrueckii*'nin kullanımını incelemiştir. Bu çalışmada şıraya kuru formda *T. delbrueckii* eklenerek, 20°C'de 24 saat boyunca fermantasyona bırakılmıştır. Sonuçlar aynı koşullardaki *S.cerevisiae*'nin üst fermantasyon suşu ile karşılaştırılmıştır. Fermantasyon adımıdan sonra bira olgunlaşmaya bırakılmıştır. Çalışmada seçilen Td28 suşunun şıradaki ana şeker olan maltozu ticari *S. cerevisiae* suşu WB-06'ya göre daha yavaş tükettiği gözlemlenirken, Td28'in daha belirgin ester karakteri ve yoğunluk sağladığı, ancak düşük fenol karakteri sunduğu belirtilmiştir.

Kayadelen (2019), bira üretiminde *S. cerevisiae* alt fermantasyon bira mayası yanında 5 farklı *T. delbrueckii* suşu ilavesinin biranın fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri, dolayısıyla kalite üzerine etkisi araştırılmıştır. *T. delbrueckii* C134V4 suşu karışık kültür denemesi meyvemsi aroma karakteri ile ön plana çıkarken, *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür denemesi panelistlerce çiçeksi aroma ve acılık bakımından diğer denemelere göre daha baskın bulunmuştur. *T. delbrueckii* Y1031 karışık kültür fermantasyonu ile üretilen bira şerbetçiotu aroması en baskın ve en gövdeli deneme olarak bulunurken aynı

zamanda genel izlenimde panelistlerce ilk tercih edilen deneme olmuştur. Genel olarak değerlendirildiğinde, bira fermantasyonlarında geleneksel olmayan bir maya olan *T. delbrueckii*'nin *S. cerevisiae* ile karışık kültür fermantasyonlarında kullanımının bira kalitesi üzerinde önemli etkisi olduğunu belirlenmiştir.

Genel anlamda çalışmalarda *T. delbrueckii*'nin biraya meyvemsi bir duyuşal profil kazandırdığı bahsedilerek, bazı suşlarının bira üretiminde ticari kullanım potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir.

(Bourbon-Melo ve ark. (2021) *H. guilliermondii* ve *H. opuntiae*'nin , *S. cerevisiae* ile hem tek hem de karma kültür fermentasyonlarında biranın uçucu bileşimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Karışık fermentasyonlarda hem Hg hem de Ho, biranın aroma profiline pozitif özellikler kazandırarak asetat ester miktarını artırmıştır. Hg, özellikle sıralı olarak aşılandığında etil asetat ve feniletıl asetat konsantrasyonlarını büyük ölçüde artırmıştır ve panelistler tarafından iyi kabul edilen hoş bir "bal" aromasına sahip bir bira üretmişlerdir. Üç fermentasyon için ortak olan yüksek kalıntı konsantrasyonları maltoz ve maltotrioz olarak bulunmuştur.

Kompleks metabolik aktiviteler ve sinerjizm sayesinde fermantasyon ortamına daha iyi adaptasyon, suşlar arasında daha iyi iletişim, değışen şartlara uyum sağlama yeteneğinde ve hayatta kalma gücünde artış, asitliğin geliştirilmesi ve daha kısa fermantasyon süresi, artan biyoçeşitliliğe bağılı olarak duyuşal niteliklerde gelişme ve son üründe fonksiyonelliğin ve besinsel kalitenin artması avantajlarının sağlandığı karışık fermantasyon teknolojisi önemli bir yeniliktir. Bu sebeple bir çok duyuşal özellik kazandırılmış farklı bira üretiminin yanı sıra sağlık açısından olumlu etkilere sahip bira üretiminde bu teknolojinin kullanılması umut verici bulunmaktadır.

4. SONUÇLAR

Karışık kültür teknolojisi, bira üretimi için önemli bir biyoteknolojik yeniliktir. Karışık kültür kullanımı çok farklı karakterde bira ve özel tatlar üretilmesine olanak sağlamaktadır.

Karışık kültür kullanımı biraya düşük alkol içeriğı, düşük kalorili, yüksek antioksidan, fenolik bileşik ve probiyotik içermesi bakımından son ürünün potansiyel sağlık yararları üzerinde önemli bir etkisi olduğu görülmektedir.

Polifenoller, esas olarak gövde, lezzet, dolgunluk ve burukluk olmak üzere biranın özelliklerine doğrudan katkıda bulunabilir . Bu bileşiklerin bazıları çok ilginç sağlığı geliştirici özelliklere sahiptir.

Antioksidanlar, birayı tüm üretim süreci boyunca oksidatif bozulmadan koruyabilmektedir. Yüksek antioksidan aktivite ve yüksek polifenol içeriğı nedeniyle, üretilen alkolsüz biralar fonksiyonel bir içecek olarak da üretilebilirler.

Karışık kültür teknolojisinin, gıda sektörüne katkısı yalnızca daha kompleks aroma ve tat karakterine sahip sağlıklı ürünler vermesi değil aynı zamanda büyüyen piyasada farklı son ürünler elde edilerek ürün çeşitliliğini arttırmasıdır.

KAYNAKÇA

T. Brányik, D.P. Silva, M. Baszczyński, R. Lehnert, J.B. Almeida e Silva. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production J. Food Eng., (2012), 108 pp. 493-506.

G. De Francesco, G. Freeman, E. Lee, O. Marconi, G. Perretti Effects of operating conditions during low-alcohol beer production by osmotic distillation J. Agric. Food Chem., 62 (14) (2014).

C.A. Blanco, C. Cristina Andrés-Iglesias, O. Montero Low-alcohol beers: flavor compounds, defects, and improvement strategies Crit. Rev. Food Sci. Nutr., (2016), 56pp. 1379-1388.

M. Catallo, J. Nikulin, L. Johansson, K. Krogerus, M. Laitinen, F. Magalhães, M. Piironen, A. Mikkelsen, C.L. Randazzo, S. Solieri, B. Gibson Sourdough-derived strains of *Saccharomyces cerevisiae* and their potential for farmhouse ale brewing J. Inst. Brew., (2020), 126pp. 168-175.

M.N. Larroque, F. Carrau, L. Fariña, E. Boido, E. Dellacassa, K. Medina, Effect of *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* native yeasts on beer aroma compounds, International Journal of Food Microbiology, Volume 337, (2021).

Holt et al., S. Holt, V. Mukherjee, B. Lievens, K.J. Verstrepen, J.M. Thevelein Bioflavoring by non-conventional yeasts in sequential beer fermentations Food Microbiol., 72 (2018), pp. 55-66.

B. Gibson, K. Krogerus, J. Ekberg, A. Mikkelsen, S. Pentikäinen, A. Wilpola, V. Vidgren Non-conventional yeast as a new tool for beer flavour modification <http://beer.suregork.com/wp-content/uploads/2015/06/Poster-89.pdf> (2015).

Canonico, A. Agarbati, F. Comitini, M. Ciano. *Torulaspota delbrueckii* in the brewing process: a new approach to enhance bioflavour and to reduce ethanol content Food Microbiol., (2016), 56pp. 45-51.

Panda, S. K., & Shetty, P. H. (Eds.). (2018). Innovations in Technologies for Fermented Food and Beverage Industries. Springer.

Heperkan, D. (2013). Microbiota of table olive fermentations and criteria of selection for their use as starters. Frontiers in microbiology, 4, 143.

Bevilacqua, A., de Stefano, F., Augello, S., Pignatiello, S., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2015). Biotechnological innovations for table olives. International journal of food sciences and nutrition, 66(2), 127-131.

Varela, (2016), The impact of non-*Saccharomyces* yeasts in the production of alcoholic beverages Appl. Microbiol. Biotechnol., 100 pp. 9861-9874.

Capece, A., Romaniello, R., Pietrafesa, A., Siesto, G., Pietrafesa, R., Zambuto, M., and Romano, P. (2018). Use of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in co-fermentations with *S. cerevisiae* for the production of craft beers with potential healthy value-added, International Journal of Food Microbiology, (2018).Pages 22-30.

Bourbon-Melo N, Palma M, Rocha MP, Ferreira A, Bronze MR, Elias H, Sá-Correia I. Use of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Hanseniaspora opuntiae* to enhance the aromatic profile of beer in mixed-culture fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. Food Microbiol. (2021).

Kim, M., Choi, E., Kim, J., Ahn, H., Han, J. and Kim, V.J. Effect of bacteriocin-producing *Pediococcus acidilactici* K10 on beer fermentation. (2016).

Kayadelen, F. 2019. bira üretiminde *saccharomyces cerevisiae* ve *torulaspora delbrueckii* 'nin karışık kültürünün etil alkol fermantasyonu üzerine etkileri.

Tangüler, H., Erten, H., Cabaroğlu, T., 2010. Birada Bulunan Aroma Maddeleri, Gıda, 35(6): 453-460.

Stewart, G.G., 2016. *Saccharomyces* Species in the Production of Beer. Beverages, 2.34: 1-18.

Tartaridis, P., Kanellis, A., Logothetis, S., Nerantzis, E., 2013. Use of Non-*Saccharomyces* *Torulaspora delbrueckii* Yeast in Winemaking and Brewing. Zb. Mat. Srp. Prir. Nauk., 124: 415-426

TGK, 2006. Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliği (Tebliğ No:2006/33), (<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2006/07/20060707-13.htm>).

Türker, İ., Canbaş, A., 1995. Malt ve Bira Teknolojisi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No: 4 Ders Kitapları Yayın No: 2, Adana.

Meb Gıda Teknolojisi, Fermentasyon Teknolojisi Modülü. 2016.file:///C:/Users/GIDA/Downloads/Fermantasyon%20Teknolojisi.pdf.

Basso, R.F., Alcarde, A.R., Portugal, C.B. (2016). Could non-*Saccharomyces* yeasts contribute on innovative brewing fermentations?, Food Research International, Volume 86, Pages 112-120.

Ambra, R.; Pastore, G.; Lucchetti, S. The Role of Bioactive Phenolic Compounds on the Impact of Beer on Health. *Molecules* 2021, 26, 486..

Puligundla, P., Smogrovicova, D. & Mok, C. Recent innovations in the production of selected specialty (non-traditional) beers. *Folia Microbiol* 66, 525–541 (2021).

Adamenko, Joanna Kawa-Rygielska, Alicja Z. Kucharska, Characteristics of Cornelian cherry sour non-alcoholic beers brewed with the special yeast *Saccharomyces ludwigii*, Food Chemistry, Volume 312, 2020, 125968, ISSN 0308-8146.

Ciosek, A., Rusiecka, I., and Poreda, A. (2020). Sour beer production: impact of pitching sequence of yeast and lactic acid bacteria. J. Inst. Brew., 126: 53– 58.

GA (2019) *Lactobacillus delbrueckii* ve *Saccharomyces cerevisiae* ile fermente edilmiş Batı Afrika sorgum birası : fermantasyon yan ürünleri . J. Enst.Fer.. , 125 : 326 – 332 .

Anna, D., Leanti, L.R.S., Hovde, L.K., Kristine S.M., Marit, Q.H., Gert, D.R.,Elling-Olav, R., Bjørge, W. and Trude, W. (2020). Co-fermentation Involving *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* Species Tolerant to Brewing-Related Stress Factors for Controlled and Rapid Production of Sour Beer,Frontiers in Microbiology.

Mellor, D.D; Hanna-Khalil, B.; Carson, R. Düşük Alkollü ve Alkolsüz Biranın Potansiyel Sağlık Faydalarına Bir Gözden Geçirme: Bileşenlerin ve Craft Bira İşlemlerinin Potansiyel Biyoaktif Metabolitler Üzerindeki Etkileri. İçecekler, (2020) , 6 , 25.

Zdaniewicz, M.; Satora, P.; Pater, A.; Bogacz, S. Bira Üretimi için Yeni Bir Başlangıç Olarak *Lachancea termotoleransların* Düşük Laktik Asit Üreten Suşu (2020). Biyomoleküller , 10 , 256.