

Article Arrival Date

19.04.2023

Article Type

Research Article

Article Published Date

20.06.2023

MİKROBİYAL YOLLA DÜŞÜK ALKOLLÜ-ALKOLSÜZ BİRA ÜRETİMİ LOW ALCOHOL-NON ALCOHOLIC BEER PRODUCTION BY MICROBIAL WAY

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.

Son yıllarda gelişen teknoloji, teknikler ve sağlık kaygıları nedeniyle alkolsüz bira üretiminde bir artış gözlemlenmektedir. Alkolsüz ve Düşük Alkollü bira üretim süreçleri üretilen etanolü uzaklaştıranlar (fiziksel) ve etanol üretimini kısıtlayanlar (biyolojik) olarak iki kategoriye ayrılmaktadır. Etanol üretimini kısıtlayan üretimler kesintili fermantasyon ,soğuk maya teması, özel maya kullanımı ve immobilize maya kullanımındır. Bu alanda yapılan son çalışmalar,

Saccharomyces olmayan maya suşlarının yeni tat profillerine sahip düşük alkollü-alkolsüz bira üretimine uygunluğunun araştırılması yönünde olmuştur. Genellikle düşük fermantasyon yeteneklerine sahip maya suşları kullanılarak geleneksel bira fabrikası ekipmanında gerçekleştirilen bu üretimlerde farklı aroma ve alkol düzeyinde üretimler yapılmıştır. Bu çalışmalarda maya kombinasyonlarının yanı sıra maya ve laktik asit bakterileri kullanılarak düşük alkollü-alkolsüz fonksiyonel bira üretimleri mümkün kılınmıştır. Düşük alkollü-alkolsüz bira üretiminde organoleptik bazı sorunlar vardır. Bu nedenle duyuşsal özellikleri açısından kabul edilebilir ürünlerin elde edilmesi çalışmaların yoğunlaştığı alan olmuştur.

Düşük alkollü-alkolsüz bira üretiminde karışık kültür teknolojisi, bira üretimi için önemli bir biyoteknolojik yenilik olup çok farklı karakterde 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, Düşük alkollü ve alkolsüz bira

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.

In recent years, there has been an increase in the production of non-alcoholic beer due to developing technology, techniques and health concerns. Non-Alcoholic and Low-Alcohol brewing processes are divided into two categories: those that remove the ethanol produced (physical) and those that restrict the production of ethanol (biological). The productions that

restrict ethanol production are discontinuous fermentation, cold yeast contact, use of special yeast and use of immobilized yeast.

Recent studies about this topic have been in the direction of investigating the suitability of non-*Saccharomyces* yeast strains for the production of low alcohol-non-alcoholic beer with new taste profiles. In these productions, which are generally carried out in traditional brewery equipment using yeast strains with low fermentation abilities, different aroma and alcohol levels were produced. In these studies, low alcohol and non-alcoholic functional beer production was made possible by using yeast and lactic acid bacteria as well as yeast combinations. There are some organoleptic problems in the production of low alcohol-non-alcoholic beer. For this reason, obtaining acceptable products in terms of sensory properties has been the focus of studies.

Mixed culture technology in the production of low alcohol-non-alcoholic beer is an important biotechnological innovation for beer production and allows the production of beer and special flavors with many different characteristics. In addition, its contribution to the food sector 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, Low alcohol and non-alcoholic beer

1.GİRİŞ

Son yıllarda gelişen teknoloji, teknikler ve sağlık kaygıları nedeniyle alkolsüz bira üretiminde bir artış gözlemlenmektedir. Alkolsüz bira tüketimindeki artış, başta alkollü araç kullanma mevzuatı, sağlık, beslenme ve dini inançlar olmak üzere birçok faktörden kaynaklanmaktadır. Bunun yanı sıra tüketicilerin alkollü biranın aromasını ve tadını koruyan alkolsüz biralar tüketimine yönelik ilgisi artmıştır.

Biralar alkol içeriği, acılık, pH, bulanıklık, renk ve en önemlisi lezzet özelliklerine göre çeşitlendirilebilmektedir. Biralar esas olarak görsel görünümüne (renk ve bulanıklık) ve fermantasyon sürecine göre ayırt edilir. Şu anda, çok çeşitli biralar mevcuttur ve çoğu üç gruptan birine aittir: ale olarak bilinen üst fermantasyon birası; lager olarak bilinen alt fermantasyon birası; düşük alkollü biralar ($<2,5, v/v$) ve alkolsüz biralar ($\leq 1\% v/v$) bu üç grubu oluşturmaktadır (Salanța vd., 2020). Düşük alkollü biranın alkol derecesi hacme göre sınırları

farklı ülkelerdeki yasalara bağlıdır (Jackowski vd., 2018). İtalya ve Fransa alkolsüz birayı $\leq 1,2\%$ v/v alkol olarak sınıflandırır, Almanya'da alkolsüz biranın etanol içeriği $0,5\%$ v/v ile sınırlandırılır, Belçika'da alkolsüz bira $\leq 0,5\%$ v/v etanol içeren bir bira, Hollanda'da $\leq 0,1\%$ v/v etanol içeren biralara 'alkolsüz' terimi kullanılmaktadır. Alkol tüketiminin kanunen yasak olduğu Suudi Arabistan ve Birleşik Arap Emirlikleri gibi İslam ülkelerinde alkolsüz biralar $0,5\%$ v/v'den daha az alkol içerir (Horácio vd.,2020).

Alkolsüz bira “Sadece maltın veya malt ve ekstrakt maddelerinin öğütülüp, sıcak su ile belirli yöntemlerle işlenmesi sonucunda elde edilen şıranın; şerbetçi otu ile kaynatılması ve soğutulması, bira mayası ile belirlenen alkol derecesine kadar fermente edilmesi veya fermentasyon sonucu oluşan alkolün uzaklaştırılması yoluyla elde edilen, filtre edilerek veya edilmeyerek, pastörize edilerek veya edilmeyerek üretilen, içinde çözülmüş halde karbondioksit bulunan bulanık veya berrak içki” olarak tanımlanmaktadır (Anonim, 2006).

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). Özel bira çeşitlerini artırmak için; bunlar arasında en yaygın olanları düşük kalorili, düşük/alkolsüz, yeni aromalı, glütensiz, probiyotik, fonksiyonel biralardır (Basso vd., 2016).

Bira kalitesini etkileyen önemli unsurlardan biri de kullanılan mayadır (Stewart, 2016). Alkolsüz- Düşük alkollü bira üretiminde de genellikle düşük fermantasyon yeteneklerine sahip maya suşları veya maya ve bakteri karışık kültür kullanılarak üretim yapılmaktadır (Horácio vd.,2020).

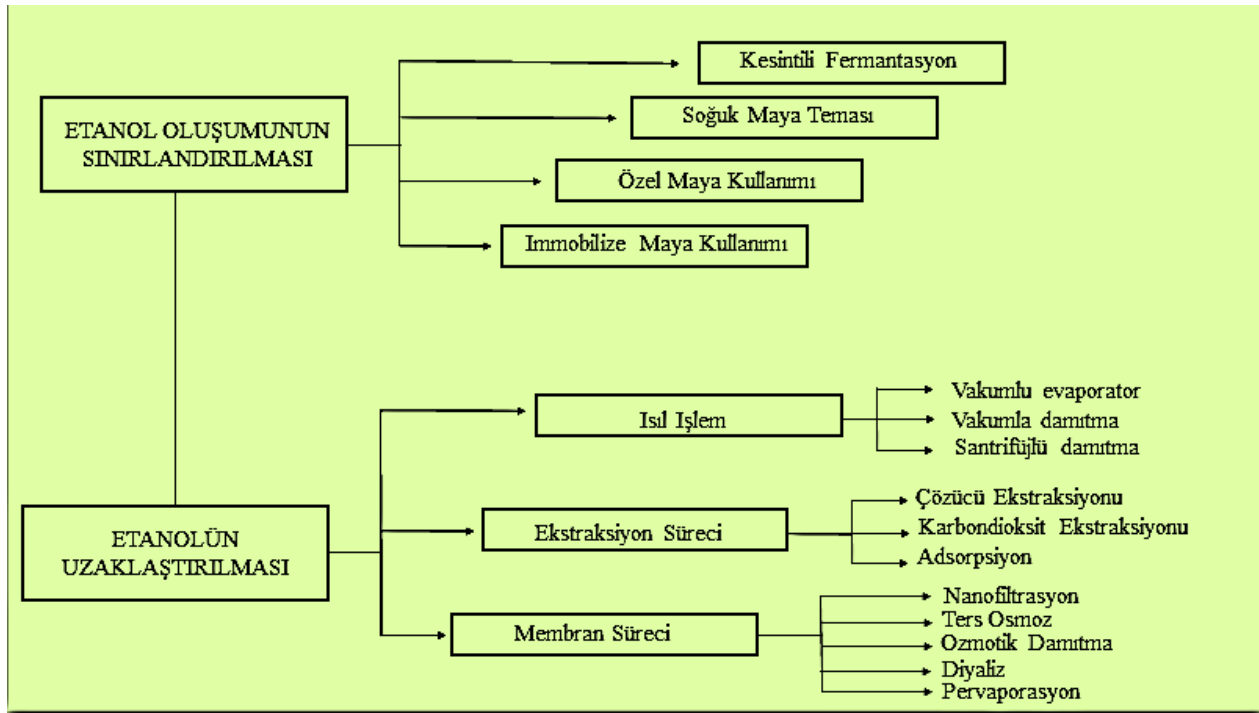
Günümüzde düşük alkollü ve alkolsüz bira üretimine ilgi oldukça fazladır. Temel olarak tüketici talebini (sporcular, anneler, sürücüler vb.) karşılamak için bu üretimlerde teknolojik gelişmeler hız kazanmıştır. Bu derlemenin amacı, düşük alkollü ve alkolsüz bira gibi özel biraların üretim tekniklerini, duyuşal özelliklerinin çekiciliğini artırmak ve tüketiciler arasındaki popülaritesini artırmak için kullanılan biyolojik yöntemlere odaklanarak değerlendirmek ve tartışmaktır.

2. Düşük Alkollü ve Alkolsüz Bira Üretiminde Kullanılan Teknikler

Alkolsüz ve düşük alkollü bira üretimi son yıllarda önemli bulunmakla birlikte, alkolsüz ve düşük alkollü biranın organoleptik sorunları vardır ve birçok tüketici tarafından kabul

görmemektedir. Alkolsüzleştirme yöntemleri, normal sertliğe sahip biralardan etanolün tattan ödün vermemesi için nazık ve mümkün olan en seçici yollara odaklanırken, biyolojik yöntemler, fermantasyon sırasında sınırlı etanol üretimine odaklanır. Genellikle düşük fermantasyon yeteneklerine sahip maya suşları kullanılarak geleneksel bira fabrikası ekipmanında gerçekleştirilirler.

Alkolsüzleştirme yöntemleri, "biyolojik" veya "fiziksel" olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. Buradaki biyolojik alt kategoriler, ön işleme yöntemlerini kullanırken, fiziksel alt kategoriler son işleme yöntemlerini kullanmaktadır (Montanari vd., 2009). Şekil 1.de kullanılan yöntemler özetlenmiştir .



Şekil 2.1. Düşük Alkollü ve Alkolsüz Bira Üretiminde Kullanılan Teknikler

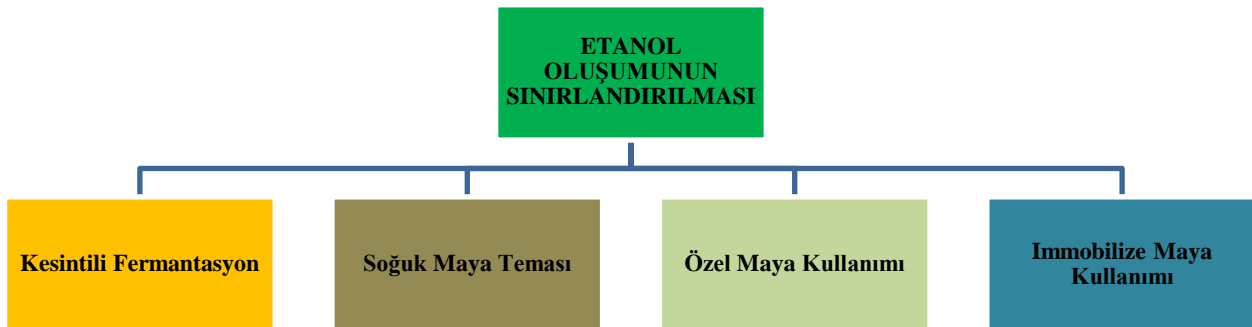
Bira tüketildiğinde, etanol gastrointestinal sistemden difüzyonla emilir ve dokulara girmeden önce hızla kanda dağılır. Etanol esas olarak mide ve karaciğerde asetaldehitte metabolize edilir. Asetaldehit oldukça toksiktir ve zararlı asetaldehit eklentileri üreten hücresel bileşenleri bağlar (Rajandram ve Preddy, 2009). Ölçülü bira içmenin koroner hastalıklar, kalp krizi, diyabet ve genel ölüm riskini azaltmada en az şarap içmek kadar etkili olduğu gösterilmiştir (Mukamal ve Rimm, 2008). Bu olumlu etkiler, yağ veya kolesterol içeriği olmaması, düşük enerji ve serbest şeker içeriği, yüksek antioksidan (örn. polifenoller, flavonoidler), magnezyum ve çözünür lif

içeriğinden kaynaklanmaktadır. Ek olarak, bira temel vitamin ve mineralleri ihtiva eder ve böylece sağlıklı ve dengeli bir diyet katkısında bulunur (Bamforth, 2002). Bununla birlikte, içerik maddeleri, fermantasyon türü ve yöntemleri açısından yenilikçi üretim yaklaşımlarıyla alkol ve enerji içeriğini azaltırken biranın biyoaktif bileşiklerini artırma potansiyeli vardır (Salaňta vd., 2020). .Alkolsüz biralarda düşük enerji alımı ve alkol tüketiminin olumsuz etkilerinin yokluğu ile eş zamanlı olarak sağlıklı bira bileşenlerinin faydalı etkilerini içermesi açısından da avantajlı olması gibi nedenlerle araştırmaya ve geliştirilmeye değer bulunmuştur.

2.1.ETANOL OLUŞUMUNUN SINIRLANDIRILMASI

Bu yaklaşım, alkolsüz ve düşük alkollü bira üretiminin belki de en popüler yoludur. Sınırlandırılmış fermantasyon işlemleri, kısmi bir işlemden sonra mayayı uzaklaştırarak düşük etanol içeriğini korumaya odaklanmaktadır. Bu yöntemde filtreleme veya santrifüjleme yoluyla fermantasyon durdurulur veya uygun koşullar (0 °C'ye hızlı soğutma yoluyla sınırlı fermantasyon, pastörizasyon) yaratılarak maya aktivitesi inhibe edilir. Bu üretim yöntemleri geleneksel bir bira fabrikasında bulunan aynı ekipmanla, ancak doğru ve hızlı analitik kontrolle sağlanmaktadır. Bu yöntemlerin sınırlı sayıda olması dezavantaj olarak görülmektedir.

Alkolsüz ve düşük alkollü bira üretiminde etanol üretimini sınırlandıran yöntemlerin temeli genel anlamda farklı maya suşları, kombinasyonları ve maya-laktik asit karışık kültür feramantasyonuna dayanmaktadır. Yapılan çalışmalarda farklı maya türleri araştırılmasının yanısıra biranın duyu özelliklerini ve sağlık açısından da de istenen özellikleri karşılayacak karışık kültürlerin belirlenmesi yönüne ağırlık verilmiştir. Etanol üretimini sınırlandıran teknikler litaretürde kesintili fermantasyon, soğuk maya teması, özel maya kullanımı ve immobilize maya kullanımı olarak karşımıza çıkmaktadır.



Bu yöntemlerden özel maya suşlarının kullanımı, diğer yöntemlere kıyasla dezavantajların

avantajlara oranı nedeniyle en avantajlı görünmektedir (Catarino, 2010).

Fermente bir içecek olarak bira, üretim için mikrobiyal metabolizmaya dayanır. *Saccharomyces cerevisiae* dünya çapında alkollü içecek üretiminde kullanılan baskın türdür. Fermantasyonda kullanılan bu türün suşları, elde edilen içeceklerin tat ve aroma özellikleri üzerinde derin bir etkiye sahiptir (Walker vd.,2016). Bira biyoteknolojilerindeki yeni trend, özellikle butik biralarda ve düşük alkollü biralarda duyuşal kalite ve farklılıklar göz önüne alındığında, fermantasyon sürecinde *Saccharomyces* olmayan mayaları içerir (Callejo vd.,2019).

Blanco vd., 2016 da alkolsüz biralara üretmek için mayşenin fermantasyonu sırasında çeşitli mayaların lezzet özelliklerini zaten araştırmıştır. Yine 2016'da Liu vd., bir *Cyberlindnera (Williopsis) saturnus var. mrakii* maya suşu, özellikle meyvemsi alkolsüz bir bira üretmeye uygunluğu açısından incelenmiş ve bunun, geleneksel bir maya ile üretilen biraya kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olan arzu edilen meyvemsi ve çiçeksi tatlarla sonuçlandığını bulmuştur. Aynı amaçla Bellut vd., 2019 da *C. misumaiensis* , *C. fabianii* , *C. subsufficiens* ve *C. mrakii* gibi birkaç farklı *Cyberlindnera* maya suşu ile çalışmışlardır *C. subsufficiens*'i özellikle en uygun olarak sınıflandırılmıştır. *C.fabianii* maya türünün, *S. cerevisiae* ile birlikte bir ortak kültür olarak alkol içeriğini azaltmak duyuşal özelliği artırmak için uygulanabilir olduğu ortaya çıkmıştır. Ek olarak Rijswijk vd., 2019 yaptıkları çalışmalarda *Torulaspota delbrueckii'nin* meyvemsi aroma özelliklerine sahip alkolsüz biralara üretmek için potansiyel bir maya türü olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, birkaç araştırma, yalnızca *S. ludwigii'nin* değil, aynı zamanda *Pichia kluyveri* ve *Kluyveromyces lactis*'in de alkolsüz bira üretimi için uygunken şıra fermantasyonları ile arzu edilen bira tatlarını artırdığını kanıtlanmıştır (Holt vd.,2018). Son yıllarda *Schizosaccharomyces pombe* kullanılarak, bu mayanın maltozu metabolize etme yeteneğine rağmen düşük alkollü biralara üretilebileceği keşfedilmiştir (Vašтік vd., 2020). *Kazachstania servazzii* alkolsüz bir bira üretmek amacıyla mayşenin fermantasyonu için de araştırılmış ve daha sonra uçucu bileşenler için analiz edilmiştir (Johansson vd.,2021).

Düşük alkollü ve alkolsüz bira üretiminde kullanılan etanol üretimini maya ve bakteriler ile çalışarak sınırlandıran biyolojik yöntemler kesintili fermantasyon, soğuk maya teması, özel maya kullanımı ve immobilize maya kullanımı olarak özetlenebilmektedir.

2.1.1. Kesintili Fermantasyon

Sınırlı fermantasyon, en yaygın kullanılan biyolojik süreçtir. Bununla birlikte, bu şekilde üretilen bira, artık şekerler, aldehitlerle ilişkili şıra benzeri kötü tatlar ve sınırlı ester üretimi nedeniyle genellikle tatlı tadı nedeniyle eleştirilmektedir. Sınırlı fermantasyonla veya *Saccharomyces* olmayan mayalarla üretilen alkolsüz biralar, asitlik düzeyindeki düşüklükten dolayı genellikle mikrobiyal bozulmaya açıktır.

Bu yöntem biranın fermantasyon sürecini kısıtlıyarak etanol oluşumunu engellemekten geçer. Bu yöntemde etanol oluşumu % 0.5 altında kalması için fermantasyon sıcaklığı normal bir fermantasyon sıcaklığından daha düşük bir sıcaklıkta tutulur. Daha sonra mayanın uzaklaştırılmasıyla (santrifüjleme veya süzme yoluyla) veya hızlı pastörizasyon yoluyla fermantasyon durdurulur. Bira daha sonra çok düşük sıcaklıkta (0 – 1 °C) olgunlaştırılır. Bu yöntemin avantajı, normal bira fermantasyonunda kullanılan ekipmanlar kullanılarak üretilmesidir. Bu yöntemin dezavantajı, aroma bileşiklerinin sınırlı oluşumuna sebep olup istenmeyen muz ve şıra aroması oluşmasıdır (Brányik vd.,2012).

Sınırlı fermantasyonla veya *Saccharomyces* olmayan mayalarla üretilen alkolsüz biralar, genellikle mikrobiyal bozulmaya yol açabilecek istenen pH düşüşünden yoksundur. LAB ve mayanın birlikte fermantasyonu böyle bir sorunu ortadan kaldırırken bira üretim sürelerini de kısaltmaktadır. Nyhan vd., 2022 alkolsüz ve düşük alkollü bira üretimi için *Saccharomyces* dışı mayaların *Lactiplantibacillus Plantarum* Fst 1.7 ile birlikte değişen tat ve aroma özelliklerine sahip alkolsüz ve düşük alkollü bira üretmek için sınırlı fermantasyon tekniğini kullanmışlardır. Bu çalışmada, *Lachancea fermentati* KBI 12.1 ve *Cyberlindnera subsufficiens* C6.1'in laboratuvar ölçekli fermantasyonlarına *Lactiplantibacillus plantarum* FST 1.7 inoküle edilmiş ve *Saccharomyces cerevisiae* WLP001 bira mayası ile karşılaştırılmıştır. *Saccharomyces* dışı mayaların maltotriozu bir enerji kaynağı olarak kullanamaması, *S. cerevisiae*'ye kıyasla daha uzun fermantasyon süreleriyle sonuçlanmıştır. *L. fermentati* KBI 12.1 ve *C. subsufficiens* C6.1'in *L. plantarum* FST 1.7 ile birlikte fermentasyonunun, alkolsüz bira (< %0.5 etanol) üretimi için umut verici bir strateji olduğu bulunmuştur. Bunun yanısıra nispeten yüksek konsantrasyonda laktik asit, daha düşük kalıntı şeker seviyeleri ve diasetil miktarında

duyusal eşiğin altına düşüren bir alkolsüz bira üretilmiş ve bira duyusal değerlendirmede kabul edilebilir bulunmuştur.

2.1.2. Soğuk Maya Teması

Bu yöntemde geleneksel bira fermantasyonunda kullanılan ekipmanların aynısını kullanılır ve tüm fermantasyonun düşük sıcaklıklarda gerçekleşir. Bu yöntemin önemli bir özelliği, mayanın şıradaki karbonil bileşiklerini azaltarak aromatik bileşiklerin üretilmesini sağlamasıdır, ancak bu mayalar şıradaki amino asitleri aldehitlere dönüştürerek kötü tatların oluşumuna sebep olur. Genel olarak, soğuk maya teması ile üretilen alkolsüz biralar, sıradan biraya benzer özelliklere sahiptir. Bu yöntemin avantajı, normal bira fermantasyonunda kullanılan ekipmanlar kullanılması ve mayanın karbonil bileşiklerini şıradan indirgeyip aroma bileşikleri üretmesidir. Bu yöntemin dezavantajı, şıradaki amino asitlerin, aldehitlere dönüşmesine ve kötü tat oluşumuna sebep olmasıdır (Sohrabvandi ve ark., 2010).

Nikulin vd., 2022 *Torulasporea delbrueckii* ile soğuk temas fermantasyonu yoluyla alkolsüz bira üretimini araştırdıkları çalışmada *Saccharomyces* olmayan dört suş (*Kazachstania servazzii*, *Kluyevoromyces marxianus*, *Pichia fermentans* ve *Torulasporea delbrueckii*) kullanmışlardır. Soğuğa duyarlı ve maltoza negatif bu suşların, alkol üretimini en aza indirmek için soğuk temaslı fermantasyon işlemlerinde kullanılabileceği varsayılmıştır. *T. delbrueckii* tarafından üretilen etanol seviyeleri alkolsüz biralar için sınırın altında kalmıştır ve mayanın soğuğa duyarlılığı, soğuk temas fermantasyonunda kontrolün daha kolay olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, düşük alkol üretimi, aldehit indirgeme etkinliği ve düşük sıcaklık hassasiyetine dayalı olarak, daha fazla çalışma için *T. delbrueckii* seçilmiştir. Geleneksel lager mayasının *T. delbrueckii* ile ikame edilmesi , önemli ölçüde daha düşük etanol verimi ile sonuçlanmıştır. *T. delbrueckii* tarafından üretilen bira, lager mayasıyla üretilen biradan daha yoğun bal aromasına sahip bulunmuştur. Kısaca *T. delbrueckii* , soğuk temas fermantasyonlarında potansiyel bir maya suşu olarak önerilmektedir. Mayanın soğuğa karşı hassasiyeti, fermantasyon sırasında kontrolü kolaylaştırması ve alkolsüz bira üretimine olanak sağlamaktadır.

2.1.3. Özel Maya Kullanımı

Alkolsüz bira üretmenin basit yolu, maltoz ve maltotrioz negatif olan düşük fermantasyonlu mayaların kullanılmasıdır. Maltoz ve maltotrioz, bira mayası içindeki toplam karbonhidratların %80'inden fazlasını oluşturur, bu nedenle mayalar bu iki mayşe şekerini metabolize edemedikçe alkolde önemli bir azalma olur. Maltoz ve maltotrioz negatif mayalar bu nedenle alkolsüz bira üretimi için uygundur. Bu iki şeker, mayalar tarafından alkol ve karbondioksite metabolize edilmediğinde, şırada değişmeden kalırlar ve tatlılık da sağlarlar. Alkolsüz biralar için bu proses teknolojisi ilk olarak *Saccharomyces ludwigii* maya türü kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan diğer mayalar: *Saccharomyces rouxii*, *Saccharomyces pastorianus* 'dır. Bu yöntemin avantajı, normal bira fermantasyonunda kullanılan ekipmanlar kullanılmasıdır. Bu yöntemin dezavantajı, birada yüksek şeker içeriği, tatlı tat oluşumu görülmesidir (Methner vd.,2022).

Metner vd., 2021 *Saccharomyces* olmayan maya suşlarının yeni tat profillerine sahip düşük alkollü bira üretimine uygunluğunun araştırılması yönünde yaptıkları çalışmada 15 farklı *Saccharomyces* olmayan maya ile çalışmışlardır. Üç *C. saturnus* maya suşu (*Cyberlindnera saturnus* 247, 4549, *CSa1*) ile üretilen alkolsüz biralar , soğuk naneli tatlar, armut ve bazı durumlarda kırmızı dut aromalarıyla özellikle etkileyici bulunmuştur. *Kluyveromyces marxianus* 653 ve *Saccharomycopsis fibuligera* Lu27 mayaları ile fermente edilen biralarda, kırmızı dut, bal, çekirdekli meyve ve elmadan oluşan geniş bir lezzet çeşitliliği sergileyen biralarda neredeyse hiç duyusal kusur bulunmamıştır. Sadece bir maya, daha az arzu edilen şıra tatlarıyla göze çarpıyordu, o da *Torulasporea delbrueckii* 'dir. Sonuçlar, 15 mayanın hepsinin şeker kullanımlarına göre düşük alkollü bira üretimi için uygun olduğunu ortaya koymaktadır. *Saccharomycopsis fibuligera* Lu27 ve iki *Cyberlindnera fabianii* 5640 ve 5650 maya suşları maltozu temel olarak metabolize etme yeteneğine sahip olduğundan , tüm maya suşları fermantasyon sırasında maltoz negatif olmasa da, 20 °C'deki aktivitesi düşük olması sebebiyle düşük alkollü bira üretimi için uygun bulunmuştur.

Tan vd., 2021 yılında yaptıkları çalışmada bira endüstrisinde kullanılan klasik üretim koşullarını korurken, yeni doğal meyveli bira üretmek için farklı aroma bileşikleri üreten *Saprochaete suaveolens* suşunun kullanımını değerlendirilmiştir. *S. Suaveolens* kullanılarak tekli fermantasyon yoluyla yüksek meyveli aroma ve düşük etanol içerikli biraların elde edildiğini göstermiştir. Ayrıca karışık fermantasyon sırasında *S. suaveolens*, yüksek metabolik aktiviteyi sürdürmüş ve meyveli aroma ile zenginleştirilmiş bira üretimine uyum sağlamıştır.

Saccharomyces cerevisiae var. *boulardii* (eşanlamlısı *S. boulardii*), probiyotik olarak yaygın olarak kullanılan ve genellikle besin takviyesi olarak bilinen tek mayadır. Capece vd., 2018 yılında yaptıkları çalışmada test edilen karışık starter kültürler, antioksidan aktivitedeki artış, polifenol içeriğindeki artış gibi ürünün sağlıklı kalitesini artırmak için umut verici olarak değerlendirilebilmektedir. Ayrıca, *Sb* ile üretilen bira probiyotik etkilerin düşük alkollü veya alkolsüz bira üretimi için avantajlı özellikler olarak görülmüştür.

2.1.4. İmmobilize Maya Kullanımı

Etanol oluşumunu önleyerek alkolsüz bira üretimi için kullanılan başka bir teknoloji de immobilize mayaların kullanılmasıdır. Mayaların immobilizasyonu mayaların kalsiyum aljinat, kalsiyum pektat gibi bir taşıyıcı malzemeye bağlanması ile sağlanır. Bu yöntemin avantajı, şıradaki aldehytlerin azalması, bira aromasını oluşturan bileşiklerin oluşumu ve hammaddenin ziyan olmadan kullanılmasıdır. Bu yöntemin dezavantajı, proses kontrolü zor ve maliyetli olması, kontaminasyon riski ve sürekli biyoreaktöre ihtiyaç duyulmasıdır (Montanari vd.,2009).

Mayaların immobilizasyonu ile fermantasyon basit bir işlemdir. Ancak bu prosesi alkolsüz bira üretirken kontrol etmek zordur. İmmobilize maya şu anda bira üreticilerinin büyük ilgisini çekmektedir. Bu üretimlerde fermantasyon çok kısa sürer, ancak maya uzun süre kullanılabilir. Mayanın makro gözenekli bir taşıyıcı malzeme üzerinde immobilizasyonu en belirleyici bir faktördür (Kunze, 2004).

Düşük sıcaklıkta immobilize maya ile sürekli alkolsüz bira üretiminde üç husus önemlidir:

- 1- Selüloz bazlı granüler bir malzeme olan Cultor taşıyıcı, dolgulu yataklı bir reaktörde kullanılır. Maya hücreleri monomoleküler yapıya bağlanarak substrat yetersizliğine maruz kalmazlar. Taşıyıcı parçacıkları bir yataklı reaktörde hapsederek ve aşağı akış altında çalışarak, esnek ve kolayca kontrol edilebilir sistem elde edilir.
- 2- Düşük bir sıcaklık (2–4°C) kullanılır. Maya büyümesi, uzun üretim dönemlerinden sonra reaktörü tıkayabilir ancak substrat dönüşümü ve ürün oluşumu hala yeterlidir. Düşük sıcaklık nedeniyle canlılık uzun süreler boyunca devam eder.
- 3- Anaerobik koşullar korunur maya büyümesini baskılayarak ve mayşe lipidlerinin oksidasyonunu önleyerek karbonil aromaları oluşur (Montanari vd.,2009).

SONUÇ

Son zamanlarda tüketicilerin düşük alkollü içeceklere olan ilgisi araştırmacıları bu ürünlerdeki araştırma ve yenilikleri yönlendirmiştir. Düşük alkollü be duyuşsal özellikleri kabul edilebilir düzeyde bir çok çalışma bulunmaktadır. Biyolojik süreçlerin çoğu, geleneksel bira fermantasyonunda kullanılan aynı ekipmanı kullanma avantajına sahiptir. Üretilen biralar tatlı ve mayhoş bir tada sahip olacak olsa da bu durum bira üreticileri tarafından farklı aromalarda biralar geliştirilerek avantaja dönüştürülebilir veya farklı teknolojik katkı maddeleri ile iyileştirilebilmektedir.

Bu özel biraların lezzet stabilitesini sağlamak, bu üretimlerin sorununu temsil eder ve ana teknolojik zorluklardan biri haline gelmektedir. Bu, mevcut süreçler, ekipman ve sistemlerin derinlemesine anlaşılmasını gerektirir. Gelecekteki çalışmaların, giderek daha talepkar bir tüketici için biranın lezzetini ve diğer duyuşsal özelliklerini modüle etmek için ham maddeleri, kimyasal bileşimi, farklı mayaları ve fermente eden bakterileri karakterize etmeye odaklanması gerekmektedir.

Bira tüketicilerinin farklı lezzetleri ve bira tarzlarını denemeye giderek daha fazla meraklı olmaları birayı yalnızca alkol içeriği için tüketmedikleri, bira içerken daha çeşitli bir deneyim yaşamak istemeleridir. Bira üretim tekniklerinden birini veya diğerini tavsiye etmek zor olduğundan, bu bira üreticilerinin nihai ilgisine kalmış ve beklenen olumlu ve olumsuz sonuçlarla birlikte bira üretim teknikleri hakkında daha derinlemesine araştırmalara acil bir ihtiyaç vardır. Seçilen bira üretim teknolojisi ne olursa olsun, bir bira üreticisinin ana faaliyet alanı tüketicilerin isteklerini karşılamak, onları güvende ve memnun tutmak olacaktır. Bununla birlikte düşük alkollü ve alkolsüz içeceklerin net bir sınıflandırması yoktur. Farklı bira, şarap ve alkollü içki kategorilerini kapsayan alkolsüz ve düşük alkollü ürünler için net standartlar ve tanımlara yönelik zorlayıcı bir ihtiyaç vardır. Tüketicilerin bilinçli karar vermesine izin vermek için tüm alkollü içecekler için etiketleme gerekliliklerinin sıkı bir şekilde uygulanması gerekmektedir.

Son olarak alkol içermeyen ve düşük alkollü ürünlerin mevcudiyetindeki artış, zararlı alkol kullanımının azaltılmasına önemli ölçüde katkıda bulunabilir. Alkolsüz bira üretiminde gelecekteki gelişmeler bu derlemede bahsedilen teknolojilerin kombinasyonundan faydalanabilir.

Örneğin özel mayalarla birlikte membran bazlı süreçler veya adsorpsiyon süreçleri geleceğin trendleri olma potansiyelini göstermektedir.

KAYNAKÇA

- 1- Bamforth, C.W. (2002) Bamforth Nutritional aspects of beer – a review
- 2- Bellut, K. & K. Arendt, E. (2019) Chance and Challenge: Non-*Saccharomyces* Yeasts in Nonalcoholic and Low Alcohol Beer Brewing – A Review, Journal of the American Society of Brewing Chemists, 77:2, 77-91, DOI: 10.1080/03610470.2019.1569452
- 3- Blanco, C.A., Cristina Andrés-Iglesias, C. and Montero, O. (2016). Low-alcohol beers: flavor compounds, defects, and improvement strategies Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 56, pp. 1379-1388, 10.1080/10408398.2012.733979
- 4- Brányik, T., Silva, D.P. Baszczyński, M. R., Lehnert and Almeida e Silva J.B. (2012). A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production J. Food Eng., 108, pp. 493-506, 10.1016/j.jfoodeng.2011.09.020
- 5- Callejo, M.J., Tesfaye, W., González, M.C., Morata, A. (2019). Craft beers: Current situation and future trends. In New Advances on Fermentation Processes; Martínez-Espinosa, R.M., Ed.; IntechOpen: London, UK, pp. 1–18.
- 6- Capece, A., Romaniello R, Pietrafesa A, Siesto G, Pietrafesa R, Zambuto M, Romano P. Use of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in co-fermentations with *S. cerevisiae* for the production of craft beers with potential healthy value-added. Int J Food Microbiol. (2018). Nov 2;284:22-30. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.06.028
- 7- Conanico, L., Agarbatı, A., Comitini, F., Cianı, M., (2016). *Torulaspota delbrueckii* in the Brewing Process: A New Approach to Enhance Bioflavour and to Reduce Ethanol Content. Food Microbiology, 56: 45-51.
- 8- Holt, S., Mukherjee, V., Lievens, B., Verstrepen, K. J., Thevelein, J. M. (2018). Bioflavoring by Non-Conventional Yeasts in Sequential Beer Fermentations. Food Microbiol. 72, 55–66. DOI: 10.1016/j.fm.2017.11.008
- 9- Horácio, P. S., Veiga, B. A., Luz, L. F., Levek, C. A., de Souza, A. R., and Scheer, A. P. (2020) Simulation of vacuum distillation to produce alcohol-free beer. J. Inst. Brew., 126: 77– 82. <https://doi.org/10.1002/jib.591>

- 10- Jackowski, M., Trusek, A. (2018). Non-alcoholic beer Production—an overview. *Pol. J. Chem. Technol.* *20*, 32–38.
- 11- Johansson, L., Nikulin, L., Juvonen, R., Krogerus, K., Magalhães, F., Mikkelsen, A., Nuppenen-Puputti, M., Sohlberg, E., de Francesco, G., Perretti, G. and Gibson, B. (2021). Sourdough cultures as reservoirs of maltose-negative yeasts for low-alcohol beer brewing, *Food Microbiology*, Volume 94, 2021, 103629, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103629>
- 12- Kunze, W. (2004). *Technology of Brewing and Malting*. VLB, Berlin
- 13- Liu, S., Ying, A., Quek, H. (2016). Evaluation of beer fermentation with a novel yeast *Williopsis saturnus*. *Food Technol. Biotechnol.* *54*, 403–412.
- 14- Methner, Y., Magalhães, F., Raihofer, L., Zarnkow, M., Jacob, F., & Hutzler, M. (2022). Beer fermentation performance and sugar uptake of *Saccharomycopsis fibuligera*—A novel option for low-alcohol beer. *Frontiers in Microbiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1011155>
- 15- Montanari, L., Marconi, O., Mayer, H., Fantozzi, P. (2009). Production of Alcohol-Free Beer. In: *Beer in Health and Disease Prevention* (ed. Preedy, R. V.), Academic Press, 61–75. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373891-2.00006-7>
- 16- Mukamal, K.J., Rimm, E.B. (2008). Alcohol consumption: Risks and benefits. *Curr Atheroscler Rep* *10*, 536–543. <https://doi.org/10.1007/s11883-008-0083-2>.
- 17- Nikulin, J., Aisala, H., and Gibson, B. (2022). Production of non-alcoholic beer via cold contact fermentation with *Torulaspora delbrueckii*. *J. Inst. Brew.*, *128*: 28–35. <https://doi.org/10.1002/jib.681>
- 18- Nyhan, L., Sahin, A.W. & Arendt, E.K. (2022). Co-fermentation of non-*Saccharomyces* yeasts with *Lactiplantibacillus plantarum* FST 1.7 for the production of non-alcoholic beer. *Eur Food Res Technol* <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04142-4>
- 19- Rajendram, R. and Preedy, V.R. (2009). Ethanol in beer: production, absorption and metabolism V.R. Preedy (Ed.), *Beer in Health and Disease Prevention*, Elsevier Inc., Burlington, Mass, pp. 431-440.
- 20- Salanță, L. C., Coldea, T. E., Ignat, M. V., Pop, C. R., Tofană, M., Mudura, E., Borșa, A., Pasqualone, A., & Zhao, H. (2020). Non-Alcoholic and Craft Beer Production and Challenges. *Processes*, *8*(11), 1382. <https://doi.org/10.3390/pr8111382>

- 21- Sohrabvandi, S., Mortazavian A.M. & Rezaei, K. (2012) Health-Related Aspects of Beer: A Review, International Journal of Food Properties, 15:2, 350-373, DOI: 10.1080/10942912.2010.487627
- 22- Sohrabvandi, S., Razavi, A.H., Mousavi, M., Mortazavian, A.M., (2011). Characteristics of different brewer's yeast strains used for non-alcoholic beverage fermentation in media containing different fermentable sugars. Iran. J. Biotechnol. 8: 178-185.
- 23- Stewart, G.G.,(2016). *Saccharomyces* Species in the Production of Beer. Beverages,2.34:1-18.
- 24- Tan, M., Caro, Y., Shum-Cheong-Sing, A., Robert, L., François, J., & Petit, T. (2021). Evaluation of mixed-fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* with *Saprochaete suaveolens* to produce natural fruity beer from industrial wort. Food Chemistry, 346, 128804. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128804>
- 25- TGK, 2006. Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliği (Tebliğ No:2006/33), (<http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2006/07/20060707-13.htm>).
- 26- Vastík, P., Šmogrovičová, D., Kafková, V., Sulo, P., Furdíková, K. ve Špánik, I. (2020). Production and characterisation of non-alcoholic beer using special yeast. *Kvasny Prumysl* , 66 (5), 336-344. <https://doi.org/10.18832/kp2019.66.336>.
- 27- Walker, G., Stewart, G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages* 2, 30.