

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Firuze KAYADELEN

BİRA ÜRETİMİNDE *Saccharomyces cerevisiae* ve *Torulaspora delbrueckii*'nin KARIŞIK KÜLTÜRÜNÜN ETİL ALKOL FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADANA-2019

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİRA ÜRETİMİNDE *Saccharomyces cerevisiae* ve *Torulaspora delbrueckii*'nin
KARIŞIK KÜLTÜRÜNÜN ETİL ALKOL FERMANTASYONU ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Firuze KAYADELEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 22/07/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
DANIŞMAN

.....
Prof. Dr. Mehmet GÜVEN
ÜYE

.....
Prof. Dr. Haşim KELEBEK
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No :

**Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü**

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından
Desteklenmiştir.**

Proje No: FYL-2018-9981

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotorafıların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİRA ÜRETİMİNDE *Saccharomyces cerevisiae* ve *Torulaspora delbrueckii*'nin KARIŞIK KÜLTÜRÜNÜN ETİL ALKOL FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Firuze KAYADELEN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
Yıl: 2019, Sayfa:51
Jüri : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
: Prof. Dr. Mehmet GÜVEN
: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

Bu çalışmada bira üretiminde *Saccharomyces cerevisiae* yanında 5 farklı *Torulaspora delbrueckii* suşu ilavesinin biranın fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri, dolayısıyla kalite üzerine etkisi araştırılmıştır. Fermantasyonlar 12 günde tamamlanmış ve genç bira aktarılarak 4°C’de yaklaşık 1,5 ay dinlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre; fermantasyon tamamlandığında en yüksek toplam maya sayısı 6,84 log kob/mL ile *T.delbrueckii* C134V4 ve Y1013 denemelerinde bulunmuştur. En düşük *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısı *T.delbrueckii* Y1018 suşu ile yapılan karışık kültür fermantasyonunda saptanmış ve en yüksek ise *T.delbrueckii* C134V4 örneğinde belirlenmiştir. Biralardaki yoğunluk tüm denemelerde 1,006-1,007 gr/cm³ aralığında ölçülmüştür. Etil alkol miktarı, %5,46-%5,93 (h/h) aralığında belirlenmiştir. Denemelerde pH değeri en yüksek *T. delbrueckii* Y1026 örneğinde saptanmıştır. Tüm karışık kültür denemelerinde toplam yüksek alkol ve ester miktarlarının kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Denemelerden *T.delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen birada asetaldehit, 2-metilbütanol, etil asetat ve izoamil alkol miktarı en yüksek bulunmuştur. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre, *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* Y1031 karışık kültürü ile üretilen bira örneğinde şerbetçiotu aroması baskın ve tam gövdeli bulunarak, panelistlerce ilk tercih edilen olmuştur. Sonuç olarak, bira fermantasyonlarında geleneksel olmayan bir maya olan *T. delbrueckii*'nin *S.cerevisiae* ile karışık kültür fermantasyonlarında kullanımının bira kalitesi üzerine etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bira, *Torulaspora delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*, aroma

ABSTRACT

MSc THESIS

THE EFFECTS of MIXED CULTURE of *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspora delbrueckii* on ETHYL ALCOHOL FERMANTATION in BEER PRODUCTION

Firuze KAYADELEN

CUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING

Supervisor : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
Year: 2019, Pages:51
Jury : Prof. Dr. Hüseyin ERTEN
: Prof. Dr. Mehmet GÜVEN
: Prof. Dr. Haşim KELEBEK

In the present work, the effects of adding 5 different *Torulaspora delbrueckii* strains along with the lager type *Saccharomyces cerevisiae* in mixed culture for the production of beer were investigated on physical, chemical, microbiological and sensory properties of beer and thus quality. Fermentation was completed on the 12th day and the green beer was transferred and matured at 4 °C for approximately 1.5 months. According to the data obtained; the highest total yeast count was measured in *T.delbrueckii* C134V4 and Y1013 trials (6.84 log cfu/mL). Moreover, the lowest non-*Saccharomyces* spp. yeast count was measured in *T. delbrueckii* Y1018 trial while the highest was in *T. delbrueckii* C134V4. The specific gravity in beers was obtained in the range of 1,006-1,007 gr/cm³. The amount of ethanol content varied from 5,46% to 5,93% (v/v). It was found that in all mixed culture samples, the total amount of higher alcohols and esters were significantly higher than that of control sample. The highest amount of acetaldehyde, 2-methylbutanol, ethyl acetate and isoamyl alcohol was observed in the beer produced with *T.delbrueckii* Y1018 strain. According to the results of sensory evaluation, beer sample produced with mixed culture of *S. cerevisiae* and *T. delbrueckii* Y1031 was found to be high in hop aroma and full-bodied and it was the most preferred trial by the panelists. In conclusion, it was determined that the use of *T. delbrueckii*, a non-conventional yeast, in mixed culture fermentations with *S.cerevisiae* was effective on beer quality.

Keywords: Beer, *Torulaspora delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*, aroma

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Son yıllarda farklı duysal özelliklere sahip biralara tüketiciler tarafından beğeni kazanmakta olup, bira üreticileri şerbetçiotu, malt, maya ve fermantasyon koşullarını değiştirerek farklı duysal özelliklere sahip biralara üzerinde çalışmaktadır (Conanico ve ark., 2017). Bira kalitesini etkileyen önemli unsurlardan biri de kullanılan mayadır (Stewart, 2016). Bira üretiminde kullanılan geleneksel olmayan mayalar arasında *Torulaspora delbrueckii* (*T. delbrueckii*), yüksek osmotik basınca dayanıklıdır. Bu maya düşük sıcaklıklarda da iyi gelişir ancak fermantasyon için oksijene ihtiyaç duymaktadır. Ayrıca, sakkarozun hidrolizi için gerekli olan invertaz aktivitesini göstererek glukoz ve fruktozu metabolize edebilir, ancak yine de şıradaki şekerlerin tüketimi ve oranı esas olarak suya bağlıdır (Michel ve ark., 2016; Conanico ve ark., 2016). *T. delbrueckii*'nin son ürüne en önemli katkılarından birisi de oluşturduğu β -fenil etanol (gül aroması), n-propanol, izo bütanol, amil alkol (solvent brendi aroması) ve etil asetat gibi farklı aroma maddeleridir (Basso ve ark.,2016).

Bu çalışmada bira üretiminde *S. cerevisiae* alt fermantasyon bira mayasının yanında 5 farklı *T. delbrueckii* suşu ilavesinin biranın fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özellikleri, dolayısıyla kalite üzerine etkisi araştırılmıştır. Ayrıca üretilen biralara aromasında etkili olan bazı bileşikler ve miktarları GC-MS analizleri ile belirlenmiş ve üretilen biralara duysal analizi de yapılmıştır.

Fermantasyonlar, 15°C de yürütölmüş ve fermantasyon gidişı yoğunluk ölçümü ile izlenmiştir. Fermantasyon 12. gününde tüm denemeler için tamamlanmış ve daha sonra genç bira aktararak 4°C'de yaklaşık 1,5 ay dinlendirilmiştir. Fermantasyon sonlandırıldığında en düşük toplam maya sayısı kontrol denemesinde saptanmıştır. En düşük *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısı 5 log kob/mL ile *T.delbrueckii* Y1018 suşu ile yapılan karışık kültür

fermantasyonunda olurken, en yüksek maya sayısı 6,79 log kob/mL ile *T.delbrueckii* C134V4 suşu ile yapılan denemede belirlenmiştir.

Fermentasyonlar sonlandırıldığında elde edilen genç biralardaki yoğunluk tüm denemelerde 1,006-1,007 gr/cm³ aralığında ölçülmüştür. Etil alkol miktarı en yüksek kontrol denemesinde elde edilirken, %5,46-%5,93 (h/h) aralığında ölçülmüştür. Denemelerde pH değeri en yüksek *T. delbrueckii* Y1026 denemesinde 4,41 olurken, en düşük değer kontrol değerinde de düşük olup *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile yapılan denemede 4,27 olarak ölçülmüştür. En yüksek kuru madde miktarı *T. delbrueckii* Y1031 suşu ile üretilen karışık kültür fermentasyonunda 43,83 g/L saptanarak, kontrol denemesi olan *S.cerevisiae* ile üretilen saf kültür fermentasyonundan yüksektir. Laktik asit cinsinden toplam asitlik miktarı ise kontrol örneğinde 0,35 g/L olarak ölçülürken, en düşük değer *T. delbrueckii* C134V4 denemesinde olup 0,30 g/L olarak hesaplanmıştır.

Tüm karışık kültür denemelerinde toplam yüksek alkol ve ester miktarının kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Yeşil elma kabuğu benzeri aroma sağlayan asetaldehit en fazla *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür fermentasyonunda 46,91 mg/L üretilmiştir. 2-metil-bütanol bir diğer adıyla aktif amil alkol en yüksek *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür denemesinde 8,22 mg/L olarak ölçülmüştür. Yapılan çalışmada etil asetat için tüm denemeler algılama eşiğinin üzerinde sonuç vermiş olup, en yüksek değer *T. delbrueckii* Y1018 suşu karışık kültür denemesinde 35,77 mg/L olarak saptanmıştır. Biraya muz aroması kazandıran izoamil asetat ise tüm denemelerde algılanma eşiğinin altında gözlemlenmiştir. Birada istenmeyen karbonil bileşiklerinden olan diasetil tüm denemelerde elde edilen sonuç algılanma eşiğinin altındadır. İstenmeyen bir başka bileşik olan 2,3-pentandion, tüm denemelerde algılama eşiğinin altında ölçülmüştür.

Duyusal analiz verilerine göre *T. delbrueckii* C134V4 suşu karışık kültür denemesi meyvemsi koku karakteri ile ön plana çıkarken, *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür denemesi panelistlerce çiçeksi aroma ve acılık

bakımından diğ er denemelere g ore daha baskın bulunmuştur. *T. delbrueckii* Y1031 karışık kültür fermantasyonu ile üretilen bira ise şerbetçiotu aroması baskın ve en gövdeli deneme olarak bulunurken, aynı zamanda genel izlenimde panelistlerce ilk tercih edilen deneme olmuştur.

Elde edilen veriler bira fermantasyonlarında geleneksel olmayan bir maya olan *T. delbrueckii*'nin kullanımının bira kalitesi üzerinde önemli etkisi olduğunu belirlemiştir. Bu konu üzerinde yapılacak başka çalışmalar konuya açıklık kazandıracaktır.





TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan, tez konusunu seçerken isteklerimi göz önünde bulundurup bana yardımcı olan, tez çalışmasının düzenlenmesi, gerçekleştirilmesi ve değerlendirilmesinde katkılarıyla yönlendiren, bilgi ve deneyimleri ile destekleyen, danışmanım sayın Prof. Dr. Hüseyin ERTEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarına her zaman yakın ilgi gösteren değerli hocam Prof. Dr. Turgut CABAROĞLU ile birlikte çalışmanın hazırlanma sürecinin her aşamasında tecrübelerini ve değerli zamanını esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan Ar. Gör.Bilal AĞIRMAN'a teşekkür ederim.

Daima yanımda yer alarak, maddi ve manevi destek sağlayan aileme ve desteğini her zaman hissettiğim arkadaşım Özge SERT'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans çalışmaları esnasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje no: FYL-2018-9981) ve Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü'ne, teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Bira Üretimi	3
2.2. Fermantasyon Sırasında Mayanın Oluşturduğu Aroma Maddeleri.....	5
2.2.1. Yüksek Alkoller	5
2.2.2. Esterler	7
2.2.3. Organik Asitler.....	7
2.2.4. Karbonilli Bileşikler.....	8
2.2.5. Kükürtlü Bileşikler.....	9
2.2.6. Diğer Bileşikler	10
2.3. Bira Üretiminde <i>Torulaspora delbrueckii</i> Mayasının Kullanımı.....	11
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1. Materyal	15
3.1.1. Mayalar	15
3.1.2. Hammadde	15
3.1.3. Besiyerleri	15
3.1.4. Denemelerde Kullanılan Araç ve Gereçler	15
3.1.5. Analizlerde Kullanılan Araç ve Gereçler	15
3.2. Metot	16
3.2.1. Denemelerin Hazırlanması.....	16
3.2.2. İnokülasyon Kültürünün Hazırlanması	16

3.2.2.1. Fermantasyon	16
3.2.3. Analizler.....	17
3.2.3.1. Maya Sayımı	17
3.2.3.2. Şıra Üzerinde Yapılan Analizler	18
3.2.3.2.(1) Yoğunluk Tayini.....	18
3.2.3.2 (2). pH Tayini.....	18
3.2.3.2.(3) Toplam Asitlik Tayini	18
3.2.3.3. Bıralar Üzerinde Yapılan Analizler	18
3.2.3.3.(1). Yoğunluk Tayini.....	18
3.2.3.3.(2). pH Tayini.....	18
3.2.3.3.(3). Toplam Asitlik Tayini	18
3.2.3.3.(4). Etil Alkol Tayini.....	19
3.2.3.3.(5). Kuru Madde Tayini	19
3.2.3.3.(6). Aroma Maddelerinin Analizi.....	19
3.2.3.3.(7). Duyusal Analiz	20
3.2.3.3.(8). İstatiksel Analiz.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	25
4.1. Denemelerde Kullanılan Şıranın Genel Bileşimi.....	25
4.2. Alkol Fermantasyonunun Gidişi	25
4.2.1. Fermantasyon Sırasındaki Mikrobiyolojik Değişimler	29
4.2.1.1. Toplam Maya Sayısı	31
4.2.1.2. <i>Saccharomyces</i> spp. Olmayan Maya Sayısı.....	32
4.3. Bıraların Bileşimi.....	33
4.4. <i>Torulaspora delbrueckii</i> Suşlarının Aroma Bileşimleri Üzerine Etkileri	35
4.5. Duyusal Analiz.....	40
5. SONUÇ	43
KAYNAKÇA.....	47
ÖZGEÇMİŞ	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 4.1.	Malt şırasının bileşimi	25
Çizelge 4.2.	<i>S.cerevisiae</i> alt fermantasyon mayası ile 5 farklı <i>T. delbrueckii</i> suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki yoğunluk ölçümü	26
Çizelge 4.3.	<i>S.cerevisiae</i> alt fermantasyon mayası ile 5 farklı <i>T. delbrueckii</i> suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki pH ölçümü	28
Çizelge 4.4.	Fermantasyon süresince toplam maya ve <i>Saccharomyces</i> spp. olmayan maya sayıları(kob/mL) değişimi	30
Çizelge 4.5.	<i>S. cerevisiae</i> ile 5 farklı <i>T. delbrueckii</i> suşunun karışık kültür fermantasyonuyla üretilen biraların bileşimi	33
Çizelge 4.6.	<i>S. cerevisiae</i> ile 5 farklı <i>T. delbrueckii</i> suşunun karışık kültür fermantasyonuyla üretilen biraların aromasında etkili olan bazı bileşikler ve miktarları.	39
Çizelge 4.7.	<i>S. cerevisiae</i> ile 5 farklı <i>T. delbrueckii</i> suşunun karışık kültür fermantasyonuyla üretilen biraların duyusal analiz sonuçları.....	40



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	Fermantasyon denemelerinin düzenlenmesi.....	17
Şekil 3.2.	Duyusal analiz değerlendirme formu	22
Şekil 3.3.	Tercih (Sıralama) testi formu	23
Şekil 4.1.	<i>S.cerevisiae</i> alt fermantasyon mayası ile 5 farklı <i>T. delbrueckii</i> suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki yoğunluk ölçümü.....	26
Şekil 4.2.	<i>S.cerevisiae</i> alt fermantasyon mayası ile 5 farklı <i>T. delbrueckii</i> suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki pH ölçümü	28
Şekil 4.3.	Alkol fermantasyonu sırasında toplam maya sayısındaki değişim	31
Şekil 4.4.	Alkol fermantasyonu sırasında <i>Saccharomyces</i> spp. olmayan maya sayısındaki değişim.....	32
Şekil 4.5.	Duyusal analiz sonuçlarına göre aroma profili örümcek ağı diagramı.....	41
Şekil 4.6.	Duyusal analiz sonuçlarına göre lezzet profili örümcek ağı diagramı.....	42



SİMGELER VE KISALTMALAR

Ç.Ü.Z.F	: Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi
dk	: Dakika
d/d	: Devir/Dakika
FID	: Alev İyonlaşma Dedektörü
g	: Gram
GC	: Gaz Kromatografisi
L	: Litre
Log	: Logaritma
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
ö.	: Önemli
ö.d.	: Önemli değil
PDA	: Potato Dextrose Agar
S.	: <i>Saccharomyces</i>
S.c.	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Spp.	: Spicies (Tür, çoğul)
T.	: <i>Torulaspora</i>
T.d.	: <i>Torulaspora delbrueckii</i>
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
α	: Alfa
β	: Beta
μ L	: Mikrolitre



1. GİRİŞ

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).

Son yıllarda farklı duyuşal özelliklerle karakterize olabilen biralar tüketiciler tarafından beğeni kazanmaktadır. Bu nedenle bira üreticileri, şerbetçiotu, malt, maya ve fermantasyon koşullarını değiştirerek farklı duyuşal özelliklere sahip biralar elde etmektedirler (Conanico ve ark., 2017).

Mikroorganizmaların bazı aroma maddelerini sentezleyebilme yeteneğinde oldukları uzun zamandan beri bilinmektedir. Üretiminde fermentasyonun temel rol oynadığı şarap, bira, ekmek gibi birçok geleneksel gıdanın karakteristik özelliği ve aroması mayaların faaliyeti sonucunda oluşmaktadır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010).

Bira kalitesini etkileyen önemli unsurlardan biri de kullanılan mayadır. Fermantasyon sırasında şıradaki şekerler, başlıca maltoz ve maltotrioz, maya tarafından esas ürün olarak alkol ve CO₂'e dönüştürülür. Bunların yanında gliserol, organik asit, yüksek alkoller, esterler, uçucu asitler, karbonil bileşikleri, terpenler, laktonlar, pirazinler ve kükürtlü bileşikler gibi ikincil ürünler de oluşur. Bu ikincil ürünler biraya eşsiz bir aroma kazandırır. Öte yandan, fermantasyonda kullanılan maya türleri esas olarak flokülasyon, fermantasyon yeteneği ve etanol toleransı göz önünde bulundurularak seçilir (Stewart, 2016).

Yıllardır kontrollü fermantasyonlarda *Saccharomyces* suşlarının kullanılması esasen üç ana özelliğe dayanmaktadır: (a) yüksek miktarda etil alkol üretimi; (b) Crabtree pozitif etki ile birlikte fermantasyonun öncelikli metabolik yol

olarak kullanılması; (c) etanol ve diğer çevresel streslere karşı daha yüksek toleranslı olmasıdır (Steensels ve Verstrepen, 2014).

Bira üretim sürecinde mayanın seçimi, tüketicinin beklediği aroma profilini karşılamak adına önemlidir. Son zamanlarda karmaşık aroma profiline sahip biraların eldesinde geleneksel olmayan mayaların kullanımı araştırılmaktadır (Basso ve ark., 2016). Bununla birlikte, *Saccharomyces cerevisiae* (*S.cerevisiae*) ile saf ve karışık fermantasyonlarda kullanılan geleneksel olmayan mayaların diğer alkollü içkilerdeki lezzet profili de değerlendirilmektedir (Varela, 2016).

Bira üretiminde kullanılan geleneksel olmayan mayalar arasında *Torulaspora delbrueckii* (*T. delbrueckii*), yüksek osmotik basınca dayanıklı olup, düşük sıcaklıklarda da iyi gelişir ancak fermantasyon için oksijene ihtiyaç duymaktadır. *T. delbrueckii*, sakarozun hidrolizi için gerekli olan invertaz aktivitesini göstererek glukoz ve fruktozu metabolize edebilir. Bazı suşlar maltoz ve maltotrioz gibi şekerleri fermante edemezken, şıradaki şekerlerin tüketimi ve oranı esas olarak suşa bağlıdır (Conanico ve ark., 2016; Michel ve ark., 2016).

Bira üretiminde kullanılan mayada aranan bir diğer özellik de şerbetçiotunun içerdiği ve antimikrobiyal etkiye sahip olan izo α -asitlere toleranslı olmasıdır. *T. delbrueckii*'nin bazı suşları lag fazı süresini uzatsa da 90 mg/L'ye kadar toleranslıdır, ki bu oran şerbetçiotu aroması baskın biraların üretimi için umut vadedicidir (Basso ve ark.,2016; Michel ve ark., 2016).

T. delbrueckii'nin son ürüne en önemli katkılarından birisi de oluşturduğu aroma maddeleridir. *T. delbrueckii*, β -fenil etanol (gül aroması), n-propanol, izo bütanol, amil alkol (solvent brendi aroması) ve etil asetat gibi farklı meyvemsi aromalar üretebilmektedir (Basso ve ark.,2016). *T.delbrueckii* saf kültürleri ile üretilen ve *S.cerevisiae*/ *T. delbrueckii* ile karışık fermante edilen biralar meyvemsi/sitrik ve meyvemsi/ester aromaları ile karakterize edilmiştir (Conanico ve ark.,2016; Michel ve ark.,2016).

Bu çalışmada bira üretiminde *S. cerevisiae* alt fermantasyon bira mayasının yanında 5 farklı *T. delbrueckii* suşu ilavesinin biranın fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri, dolayısıyla kalite üzerine etkisi araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bira Üretimi

Bira, Fırat ile Dicle arasındaki bölge yani Mezopotamya’da ortaya çıkan, üretimi M.Ö 5000-7000’li yıllara dayanan oldukça köklü bir alkollü içecektir (Türker ve Canbaş, 1995). Bazıları tarafından bira üretiminde bilimden çok sanatın ağır bastığı düşünülse de inkâr edilemez şekilde bilim odaklı olup; pH, enzimlerin kinetik analizi, saf suşların kullanımı gibi temellere dayanmaktadır. Özellikle on dokuzuncu yüzyılın son on yıllarından beri bira üretimi, tutarlı bir bira mükemmelliğinin sağlanabileceği ve böylece belki de şarap kalitesinin değişmezlerinin aksine güven verici bir şekilde öngörülebilir ürünler sunan, iyi bir şekilde kontrol edilen bir teknoloji haline gelmiştir (Bamforth, 2017).

Bira yapımı başlıca aşamalara ayrılacak olursa bunlar; elde olunan maltın öğütülmesi, şıranın eldesi, şıranın fermentasyonu ve genç biranın dinlendirilmesi, biranın süzülmesi, şişelenmesi ve pastörize edilmesidir (Canbaş, 2010).

Bira üretiminde kullanılan hammaddeler arpa, şerbetçiotu, su ve mayadır. Arpa ve özellikle elde olunan malt, α -amilaz, β -amilaz, proteaz ve β -glukanaz gibi enzimleri içermesi ve ekstraktının daha uygun olması nedeniyle biracılık bakımından diğer tahıllara göre daha çok tercih edilir (Türker ve Canbaş, 1995). Başka tahıllardan da üretilebildiği gibi, çimlendirilip kurutulmuş arpaya malt denir. Çimlenme ve kurutma sırasında bazı parametreler değiştirilerek farklı niteliklere sahip maltlar elde edilebilir (Kunze, 1999). Daha sonra malt öğütülür ve maltın bileşimindeki maddelerin enzimlerle parçalanarak suya geçirilmesi işlemi olan mayşeleme gerçekleştirilmektedir. Mayşeleme işleminde şıranın bileşimine etki eden parametreler, enzimlerin cinsi ve miktarı, uygulanan sıcaklık ve mayşeleme süresidir. Bu safhada nişastanın maltoz, maltotrioz ve dekstrinlere parçalanması ile proteinlerin parçalanması büyük önem taşır. Mayşelemeye elde edilen ekstrakt süzme kazanlarında ya da mayşe filtrelerinde süzülür. Süzülen şıra şerbetçiotuyla (*Humulus lupulus*) kaynatma kazanına alınarak kaynatılır. Şerbetçiotunun içerdiği

reçineler (acı maddeler) ve uçucu yağlar biraya kendine has acı tadını ve aromasını kazandırır ve kalitesi biranın aromasını etkiler. Reçine bileşikleri olan α - ve β -asitler biraya acı tadını verirken laktik asit bakterilerine karşı birayı korur ve köpük stabilitesini düzenler. Ayrıca şerbetçiotunda bulunan uçucu yağlar da aromadan sorumludur. Özetle kaynatma işleminde biraya kendine özgü tat ve aromayı veren maddelerin şıraya geçmesi ve şıranın sterilizasyonu sağlanır. Maya ilavesinden önce şıra fermantasyon sıcaklığına kadar soğutulur (Türker ve Canbaş, 1995).

Günümüzde birçok farklı bira çeşidi vardır ancak ana sınıflandırma kriteri öncelikli olarak fermantasyon türüne bağlıdır. Bu kavram çeşitlilik gösterse de, biracılıkta mayalar esas olarak üst fermantasyon yani Ale mayaları (*Saccharomyces cerevisiae*) ve alt fermantasyon yani Lager mayaları (*Saccharomyces uvarum (carlsbergensis)*) olarak ayrılır. Bu türlerdeki ayırt edici biyokimyasal özellik; *S. cerevisiae* melibozu fermente edemezken, *S. uvarum* ise bu şekeri tamamen fermente ederek glikoz ve galaktoza parçalamasıdır. Bunun nedeni *S. cerevisiae*'da melibaz (-galaktozidaz) enziminin bulunmamasıdır (Back, 2009). Ancak her iki türde yeni sınıflandırmada *S. cerevisiae* olarak adlandırılmıştır. Alt fermantasyon yönteminde mayalama sıcaklığı genellikle 8 – 15 °C civarındadır. Fermantasyon sona erdikten sonra maya dibe çöker. Fermantasyon süresi üst fermantasyon yöntemine göre daha uzun süreli ve yavaş olur. Bu süre ortalama 8 – 10 gündür. Üst fermantasyon yönteminde ise fermantasyon sıcaklığı 18 – 20 °C arasında gerçekleşir ve fermantasyon sonunda maya üstte toplanır. Bu yöntemde biranın oluşumu 3 – 6 gün arasında gerçekleşir (Bamforth, 2017).

Fermantasyon sırasında maya, şıradaki şekerleri alkol ve CO₂'ye dönüştürür (Stewart, 2016). Aynı zamanda yüksek alkoller, esterler, uçucu asitler, karbonil bileşikler, terpenler, laktonlar, pirazinler ve kükürtlü bileşikler gibi biranın aromasına önemli derecede katkı sağlayan ikincil metabolitler de oluşur (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010). Fermantasyon işlemi tamamlandığında

bira, maya ve diğer maddelerden ayrılması için filtre edilir. Daha sonra genç bira dinlendirme mahzenlerine alınarak alt fermantasyon biraları için 1°C’de birkaç ay, üst fermantasyon biraları ise birkaç hafta dinlendirilir. Bu işleme, ikinci fermantasyon da denir. Dinlendirilen bira isteğe göre filtre edilir, şişelenir ve pastörize (60°C’de 20 dakika) edildikten sonra tüketime sunulur (Türker ve Canbaş, 1995).

2.2. Fermantasyon Sırasında Mayanın Oluşturduğu Aroma Maddeleri

Aroma maddeleri; burun yoluyla ve ürün ağızdayken geniz yoluyla algılanan, uçucu ve koku veren özellikteki alifatik ve aromatik yapılı kimyasal bileşiklerdir. Gıdanın tüketici tarafından tercih edilmesinde birinci derecede rol oynamakta olup, biranın en önemli kalite kriterlerinden birini oluşturmaktadır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010; Tangüler ve ark, 2010). Bir bileşiğin aromaya olan katkısını belirleyen etmenler; o bileşiğin ortamdaki miktarı, algılanma eşiği ve diğer uçucu olmayan maddelerle olan etkileşimidir (Tangüler ve ark., 2010).

Mikroorganizmaların bazı aroma maddelerini sentezleyebilme yeteneği uzun zamandan beri bilinmektedir. Üretiminde fermentasyonun temel rol oynadığı şarap, bira, ekmek gibi bir çok geleneksel gıdanın karakteristik özelliği ve aroması mayaların faaliyeti sonucunda oluşmaktadır. Mayaların fermentasyon sırasında oluşturduğu başlıca aroma maddeleri yüksek alkoller, esterler, uçucu asitler, karbonil bileşikler, kükürtlü bileşiklerdir (Tangüler ve ark, 2010; Padilla ve ark, 2016).

2.2.1. Yüksek Alkoller

Alkollü içkilerde oransal olarak en fazla bulunan aroma maddesi yüksek alkollerdir. Fuzel yağları olarak da adlandırılır. Yüksek alkollerin algılanma eşikleri değişken olup, aroma üzerinde önemli etkilere sahiptir (Tangüler ve ark., 2010). Yüksek alkoller, diğer lezzet aktif bileşiklerle sinerjistik etkilerine bağlı

olarak, çiçek, meyveli veya bitkisel aromalara katkıda bulunur (Michel ve ark., 2016b).

Alkol fermentasyonu sırasında yüksek alkollerin oluşumu katabolik ve anabolik yol olmak üzere iki yolla oluşturulmaktadır. Katabolik yolda (Ehrlich yolu), fermentasyon ortamında bulunan amino asitler maya tarafından hücre içine alınır. Hücre içinde transaminasyon sonucu amino asitlerden keto asit oluşur. Daha sonra keto asitler dekarboksile olarak aldehitlere ve aldehitler de NAD bağlı dehidrogenaz vasıtasıyla alkollere indirgenir. Bu yol ile valin'den izobütanol, lösin'den 3-metil-1-bütanol ve izolösin'den 2-metil-1-bütanol oluşmaktadır. Anabolik yolda ise yüksek alkol üretimi hücre içine alınan karbohidratlardan yararlanır. Karbohidrat metabolizmasında pirüvat yolu ile önce keto asitler oluşur ve daha sonra yüksek alkoller meydana gelir (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010; Michel ve ark., 2016b).

Biradaki en önemli yüksek alkoller arasında n-propanol, izobutanol, izoamil alkol ve 2-feniletanol bulunur. N-propanolun algılanma eşiği yüksek olup (600mg/L), tatlımsı bir alkollü aroma sağlar. İzo-bütanol ve amil alkol çözücü benzeri aromalara sahiptir ve algılanma eşikleri sırasıyla 100 ve 50-70 mg/L arasında değişir. İzoamil alkol ve 2-feniletanol daha meyveli aromalara sahipken, izoamil alkol 50-65 mg / L algılanma eşiğinde daha fazla muz, alkol aroması sergiler. 2-feniletanol bileşiği işe jelibon ve gül benzeri bir aromaya sahiptir ve algılanma eşiği 40mg/L civarındadır. Öte yandan, yüksek alkollerin birada fazla miktarda olması kalite açısından istenmez (Engan, 1972; Pires ve ark., 2014).

Yüksek alkol oluşumunu etkileyen başlıca faktörler; fermantasyonda kullanılan maya suşu, ortamın bileşimi ve fermantasyon koşullarıdır. Ayrıca fermantasyon derecesinin artışı, şıraya oksijen verilmesi, karıştırma ve immobilize hücre kullanımı da yüksek alkol oluşumunu arttırmaktadır (Tangüler ve ark., 2010).

2.2.2. Esterler

Diğer aroma aktif bileşiklere göre düşük konsantrasyonlarda olmalarına rağmen, yüksek alkol grubundaki en önemli aroma aktif bileşikler esterlerdir. Alkollü içeceklere meyvemsi bir koku verirler ve nispeten düşük algılanma eşiğine sahiptirler (Michel ve ark., 2016b). Bununla birlikte, maya tarafından fazla üretildiğinde birada acımsı bir aroma profiline sebep olabilmektedir. Bu nedenle, bira üreticisinin, ester profili açısından dengeli bir bira elde etmek için en iyi koşulları sağlaması çok önemlidir (Pires ve ark., 2014).

Esterler, maya tarafından ilgili alkol ve asetil-CoA arasında meydana gelen ve özellikle alkol asetil transferaz gibi çeşitli enzimlerce katalizlenen biyokimyasal reaksiyonlar sonucunda üretilirler. Fermantasyon sırasında oluşan ester miktarını etkileyen bazı faktörler; kullanılan maya suşu, sıcaklık, aşılama oranı ve basınç gibi fermantasyon koşulları, şiranın bileşimidir. Depolama esnasında esterlerin konsantrasyonunda azalma görülebilir (Tangüler ve ark., 2010).

Birada bulunan önemli esterlerden bazıları; etil asetat (Algılanma eşiği: 33 mg/L, solvent aroma verir), izoamil asetat (Algılanma eşiği: 1,6 mg /L, muz aroması verir), izobütil asetat (Algılanma eşiği: 1,6 mg/L, meyvemsi aroma verir) ve fenil etil asetat (Algılanma eşiği: 3,8 mg/L, gül, elma ve bal aroması verir) (Engan, 1972; Pires ve ark., 2014).

2.2.3. Organik Asitler

İnorganik asitlerin yanında geniş bir organik asit grubu biranın toplam asiditesine etki etmektedir (Michel ve ark., 2016b). Organik asitler, alkol fermantasyonu sırasında maya metabolizması sonucu oluşmaktadır. Asetik, süksinik, malik ve sitrik asit vb. gibi organik asitler şekerlerin parçalanması sırasında, trikarboksilik asit döngüsü aracılığıyla, pürivattan oluşur. Bunun yanı sıra izo-bütirik ve izovalerik asitler hücre oluşumu ve yüksek alkole dönüşecek amino asitlerin kullanımı sırasında meydana gelirler. Ancak, asitlerin çoğu yağ asitlerinin sentezi sırasında melanil-CoA'dan oluşurlar (Tangüler ve ark., 2010).

Organik asitler uçucu ve uçucu olmayan olmak üzere iki ana gruba ayrılır. Birada bulunan başlıca uçucu organik asitler; asetik, propiyonik, izobütirik, bütirik, izvalerik, valerik, kaproik, kaprilik, kaprik ve laurik asittir. Yüksek konsantrasyonlarda bulunduklarında biraya ekşi ve tuzlu bir aroma sağlarken, peynirimsi ve ter kokusu gibi istenmeyen duyuşal özellikler kazandırdığı da bildirilmiştir. Kantitatif olarak, tadı en çok etkileyen uçucu asitler asetik, kaprilik, kaprik ve laurik asitlerdir. Sirke içindeki baskın asit olan asetik asit, 175 mg/L algılanma eşik değerine sahipken, kaprilik asit, 15 mg/L algılanma eşik değerine sahiptir ve keçi kokusu olarak tanımlanmaktadır. Lezzet ve aromayı etkileyen mayaların ürettiği biradaki uçucu olmayan asitler ise şunlardır (eşik değeri parantez içinde belirtilmiştir) : oksalik asit (500 mg/L, tuzlu, oksitlenmiş), sitrik asit (400 mg/L, ekşi), malik asit (700 mg/L, elma), fumarik asit (400 mg/L, ekşi, asidik), süksinik asit (220 mg / L, asidik), laktik asit (400 mg/L, ekşi, asidik) ve piruvik asit (300 mg/L, tuzlu, yem). Bu bileşiklerin üretimi, bu tür asitlerin çoğu glikolizin yan ürünleri, sitrik asit döngüsü, amino asitler ve yağ asidi metabolizması ürünleri ile maya suşuna bağlıdır (Coote ve Kirsop, 1974; Michel ve ark., 2016).

2.2.4. Karbonilli Bileşikler

Alkollü içeceklerde belirli miktarlarda bulunan karbonilli bileşiklerin aroma üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. Birada 200'den fazla karbonilli bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan bu bileşikler çeşitli aldehit ve ketonları içermekte olup, bunların birada bulunması istenmez (Tangüler ve ark., 2010).

Birada istenmeyen karbonilli bileşiklerden en önemlileri asetaldehit ve visinal diketonlardır. Bunlardan diasetil, 0.1-0.15 mg/L civarında çok düşük algılanma eşğine sahiptir. Bu miktarın üzerindeki konsantrasyonlarda biraya tereyağ aroması verdiği için istenmez ve biranın aroma profilinde belirleyici bir rol oynamaktadır. Ayrıca, diasetil istenmeyen bir başka bileşik olan 2,3-pentanediona da dönüşür (Krogerus ve Gibson, 2013). Fermantasyon ve olgunlaşma işlemi sırasında diasetil, ön maddesi olan α -asetolaktattan oluşur ve daha sonra mayanın

diasetili absorbe etmesiyle azalır. Bu durumda ilk olarak diasetil aromaca aktif olmayan asetoine ve daha sonra 2,3-bütanediol'e dönüşmektedir. Çoğunlukla üst fermantasyon biralarda belirli bir miktara kadar tolere edilebilirken, alt fermantasyon biralarda istenmemektedir (Tangüler ve ark., 2010). 2,3-pentanedion bileşiği ise, yaklaşık 0.9 mg/L algılanma eşiğine sahip olup, şeker benzeri aromasıyla bilinmektedir. Maya hücrelerinin mitokondrilerinde izolösin amino asitinin sentezinde yan ürün olarak üretilir (Krogerus ve Gibson, 2013).

Asetaldehit, karbonil bileşikler arasında en önemli bileşik olup, toplam aldehitin %60-90'ını oluşturmaktadır (Tangüler ve ark., 2010). Alkol fermantasyonu sırasında maya tarafından şeker metabolizmasının bir sonucu olarak üretilir ve daha sonra çoğu etanole dönüştürülür. 10 mg /L algılanma eşiğine sahip olup, çoğunlukla istenmeyen yeşil elma benzeri veya çimensi bir aroma profiline sahiptir (Michel ve ark., 2016b).

2.2.5. Kükürtlü Bileşikler

Bira fermantasyonu sırasında maya tarafından üretilen sülfürik bileşikler arasında kükürt dioksit ve hidrojen sülfid önemlidir (Padilla ve ark., 2016). Ancak düşük algılanma eşiklerine sahip bu bileşiklerin kontrolü zordur. Çok düşük miktarlarda birada istenmesine rağmen aşırı miktarları biraya hoş gitmeyen bir aroma verirler (Tangüler ve ark., 2010).

Kükürt dioksit son üründe antioksidan olarak davranıp raf ömrünü önemli ölçüde arttırdığından, bira üreticileri tarafından belirli konsantrasyonlarda istenen bir bileşiktir. Fermantasyon sırasında kükürt dioksit, genellikle 10g/L'den düşük miktarlarda yan ürün olarak ya da aminoasit metabolizmasında inhibisyon ürünü olarak üretilir. Ayrıca, 2.5 mg/L algılanma eşiğine sahip olup, bazı alt fermantasyon biralarda istenen sülfürsü aroma profiline katkıda bulunur (Anderson ve Howard, 1974; Michel ve ark., 2016b).

Buna karşılık, hidrojen sülfid birada istenmeyen bir bileşiktir. Bunun nedeni, çok düşük algılanma eşiğine (0,005 mg/L) sahiptir ve çürük yumurta

kokusu olarak algılandığından diğer pozitif aromaları maskeleye potansiyeli çok yüksektir (Anderson ve Howard, 1974; Michel ve ark., 2016b).

2.2.6. Diğer Bileşikler

Birada monoterpen alkoller, uçucu fenoller ve laktonlar gibi bileşikler de bulunmaktadır (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010). Monoterpen alkoller çoğunlukla şerbetçiotundan elde edilip, şıra ve biraya yüksek yoğunlukta çiçeksi aroma kazandırır. Birada bulunan ve aroma için kritik öneme sahip monoterpen alkoller şunlardır (algılanma eşikleri ve tanımlanması belirtilmiştir) ; linalool (5µg/L, lavanta), a-terpineol (2mg/L, leylak), β-sitronellol (8µg/L, limon, lime), geraniol (6 µg / L, gül) ve nerol (0.5 mg / L, gül, narenciye) (Michel ve ark, 2016b). Maya bu bileşikleri dönüştürerek birada bulunan 5 ana monoterpen alkolün oranlarını değiştirebilir. Bu da fermantasyon sonunda biradaki şerbetçiotu aromasında değişime yol açabilir. Ayrıca, bu bileşikler şırada glikozidik bağlarla bağlı şekilde de bulunabilirler. Bazı maya türleri bu monoterpenlerin salınmasını sağlayacak glikozit hidrolaz enzimine sahiptir ve biradaki şerbetçiotu aromasının artırılmasını sağlar (Takoi ve ark., 2010).

Mayaların ürettiği uçucu fenoller biraya karanfil benzeri, isli, baharatlı ve yanık duyuşal karakterler kazandırdığından genellikle istenmese de Belçika Lambik ve Alman buğday birası gibi bazı bira türlerinde istenmektedir (Steensels ve Verstrepen, 2014). Bu uçucu fenollerden en yaygın olanları; 4-vinilguakol, 4-vinilfenol, 4-etilguakol, 4-etilfenol, 4-vinilsiringol, stiren, öjenol ve vanilindir. *S.cerevisiae* ile fermente edilmiş biralarda çoğunlukla 4-vinilguakol ve 4-vinilfenol bulunur, çünkü bunlar yalnızca fenolik asitlerin dekarboksilasyonunu yapabilir (Michel ve ark, 2016b).

Laktonlar; şeftali, hindistan cevizi, kayısı gibi karakteristik aromalara sahip oldukları için gıda maddelerinde önemli bir yere sahiptir. Biraya meyvemsi bir duyuşal karakter kazandırır. Laktonlar bir oksijen atomuna sahip bir karbon halkasından oluşur. Hidroksil ve karboksilik grup arasında moleküller arası

esterleşme ile meydana gelirler. Bu bileşikler, şerbetçiotu yağından biraya geçebileceği gibi fermantasyon sırasında da oluşabilirler (Cabaroğlu ve Yılmaztekin, 2010; Tangüler ve ark., 2010).

2.3. Bira Üretiminde *Torulaspora delbrueckii* Mayasının Kullanımı

Birçok maya türü, özgün son ürünlerin eldesi için uygun özellikler taşımaktadır. Bu mikroorganizmaların gıda sektörüne katkısı yalnızca daha kompleks aroma ve tat karakterine sahip ürünler vermesi değil aynı zamanda büyüyen piyasada farklı son ürünler elde edilerek ürün çeşitliliğini arttırmasıdır (Pires ve ark., 2014). Biracılıkta mayanın seçimi, tüketicilerin beklediği farklı duyuşsal özellikte olan bir ürün elde etmek için önemlidir. Maya fermantasyon sırasında şıradaki öncülleri aroma aktif bileşiklere dönüştürür, bu da biranın nihai aromasına ayırt edici bir katkıda bulunur. Öte yandan, fermantasyonda kullanılan maya türleri, topaklaşma, şırayı fermantasyon kabiliyeti ve etanol toleransı esas alınarak seçilir (Stewart, 2016).

Son yıllarda, daha karmaşık aroma profillerine sahip biralar elde etmek amacıyla araştırmacılar geleneksel olmayan mayaların önemini vurgulamışlardır. Nitekim, *S. cerevisiae* ile saf ve karışık fermentasyonlarda kullanılan geleneksel olmayan mayaların, diğer fermente ve damıtılmış içeceklerin aroma profili üzerindeki etkisi değer kazanmıştır (Basso ve ark., 2016; Varela, 2016). Bu nedenle, bira yapımında kullanılan geleneksel olmayan mayalar arasında, *Torulaspora delbrueckii*, maltozu fermente etme yeteneği, ester bileşikleri üretme ve şerbetçiotu monoterpenoid aroma bileşiklerinin biyotransformasyonunu sağlayabilmesi nedeniyle dikkat çekmiştir (Tartaridis ve ark., 2013; Conanico ve ark., 2016). Özellikle, *T. delbrueckii*, □-feniletanol (gül aroması), n-propanol, izo-bütanol, amil alkol (çözücü-brandy aroması) ve etil asetat gibi farklı meyvemsi aromalar üretebilmektedir (Pires ve ark., 2014; Basso ve ark., 2016). *T. delbrueckii*'nin saf kültürleri ve *S. cerevisiae* ile *T. delbrueckii*'nin karışık kültür fermentasyonları ile üretilen biralar meyvemsi, sitrik karakterli olarak

değerlendirilerek tam gövdeli olarak nitelendirilmiştir (Conanico ve ark., 2016; Michel ve ark., 2016a).

Valera ve Borneman (2017) yaptıkları derlemede; beyaz, kırmızı ve köpüklü şaraplarda *T. delbrueckii*'nin uçucu bileşim ve duyuşal profili etkilediğini belirtmişlerdir. *T. delbrueckii* ve *S. cerevisiae* karışık kültür fermantasyonu ile üretilmiş beyaz şaraplardan Malvar çeşidinde asetat esterleri ve orta zincirli yağ asitleri yoğunluğunda artış görülürken, Sauvignon blanc'da çeşitli tiyollerin, Gewurztraminer'de terpenler, α -terpineol ve linalool yoğunluğunun arttığı belirtilmiştir. Soave ve Chardonnay çeşitlerinde ise aroma yoğunluğu ve devamlılığını sağlamasıyla öne çıkmıştır. Kırmızı şaraplarda ise; *T. delbrueckii* ile üretilen şaraplar *S. cerevisiae* ile üretilenlerle karşılaştırıldığında Tempranillo çeşidinde renk yoğunluğu, genel izlenim ve aroma kalitesinde artış gözlemlenirken, Merlot çeşidinde duyuşal özelliklerin karmaşıklığı ve meyvemsiliğin artışı ile beğeni kazanmıştır. Köpüklü şaraplarda, *T. delbrueckii* ve *S. cerevisiae* karışık kültürü ile üretilen Macabeo şarabı *S. cerevisiae* ile üretilenlere kıyasla artan köpürme kabiliyeti ve köpük kalıcılığı göstermiş olup, panelistler tarafından tercih edilmiştir.

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.

Michel ve ark. (2016a), farklı ortamlardan 10 farklı *T. delbrueckii* suşunu izole ederek şeker kullanımı, şerbetçiotu ve etanol direnci, çoğalma kabiliyeti, aminoasit metabolizma, anabolizma ve istenmeyen fenolik bileşikler oluşturma kapasitesini incelemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar, 12°P yoğunluklu malt sırasında

27°C’de deneme fermantasyonu gerçekleştirerek pH düşüşü ve fermantasyon yan ürünlerini analiz etmişlerdir. Denemelerden yalnızca bir suş şırayı %4 (h/h) etanol konsantrasyonuna kadar fermente edip istenen meyvemsi ve çiçeksi aromayı verebilmiş olup, yüksek miktarda 2-fenil etanol (23.7 mg/L) ve amil alkol (64.83 mg/L) üretmiştir. Ayrıca denemelerdeki bir başka iki suşun da, şıradaki maltoz ve maltotriozu fermente edememesi sebebiyle düşük alkollü bira üretimi için uygun bulunarak iyi aroma ürettikleri belirtilmiştir.

Conanico ve ark. (2016), bira fermantasyonunda olası kullanımını araştırmak üzere 28 *T. delbrueckii* suşu belirlemişlerdir. İlk olarak şeker kullanımını analiz ederek ilerideki fermantasyonlarda kullanılmak üzere Kamerun’daki papaya yapraklarından izole edilen suşu seçmişlerdir. Bu fermantasyonlarda 12.7°P yoğunluklu pH 5.47 olan Amerikan amber ale şırası kullanılmıştır. Deneme fermantasyonları 1.5 L şıra ile 20°C’de 19 gün boyunca sürmüştür. İlk fermantasyon bitiminde, bira 500 mL’lik şişelere aktarılıp 5 gr şeker eklenerek 18-20°C’de 7-10 gün sürecek olan ikinci fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyon süresi sonunda birada uçar asit, pH değeri, ester, yüksek alkol ve etanol konsantrasyonu analiz edilmiştir. Ayrıca 6 eğitimli panelist ile duyu analizi gerçekleştirilmiştir. *T. delbrueckii*’nin saf kültürü kullanılarak üretilen biralarda şıradaki toplam şekerin yalnızca %37’si kullanılmış olup bu değer karışık kültür kullanılan denemelere göre oldukça düşük bulunmuştur. Ayrıca saf kültür ile üretilen biralar yüksek miktarda asetaldehit (7,5 mg/L) içerirken, düşük miktarda etil alkol (%2,66 h/h) ve amil alkol (7,98 mg/L) bulunmuştur. Panelistler biraları meyveli, sitrik ve tam gövdeli olarak tanımlamışlardır. Bu nedenle araştırmacılar, *T. delbrueckii*’nin aromatik düşük alkollü biraların üretiminde kullanılmasını önermiştir.

Tartaridis ve ark. (2013), şarap ve birada *T. delbrueckii*’nin kullanımını incelemiştir. Bu çalışmada 3,5 L 11°P yoğunluklu şıraya 25 g kuru formda *T. delbrueckii* eklenerek, 20°C’de 204 saat boyunca fermantasyona bırakılmıştır. Sonuçlar aynı koşullardaki *S.cerevisiae*’nin üst fermantasyon suşu ile

karşılaştırılmıştır. Fermantasyon adımından sonra bira 25°C’de 7gün, ardından 10°C’de 14 gün boyunca olgunlaşmaya bırakılmıştır. Üretilen biraya yoğunluk, türbidite ve aroma analizleri uygulanmış olup, duyu analizi uzman panelistler tarafından gerçekleştirilmiştir. Çalışmada seçilen Td28 suşunun sıradaki 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.

Pozippe ve ark. (2015), 28 °C’de 16 °P yoğunluklu malt sırasında *T. delbrueckii* LTQB7 suşunun uçucu profilini ve farklı stres koşulları altında gelişimini incelemişlerdir. Tartaridis ve arkadaşlarının aksine (2013), yaklaşık 10 gün süren fermentasyonu yavaş olarak tanımlamışlardır. Üretilen biralarda yüksek konsantrasyonlarda asetaldehit, fuzel alkol (114,8 mg/L), asetik asit (93,4 mg/L) ve %5 (v/v) etanol konsantrasyonu gözlemlenmiştir.

Genel olarak, *T. delbrueckii*’nin fermentasyon performansının kuvvetli bir şekilde suşa bağlı olduğu söylenebilir. Fermantasyon hızı ticari *S. cerevisiae* suşundan yavaş olsa da *T. delbrueckii* orta ve yüksek yoğunluklu sırayı fermente edebilirken, yüksek konsantrasyonlarda fuzel alkol ve ester üretebilmektedir. Üretilen biralarda etil alkol oluşumu, bazı suşların sıradaki tüm şekerini fermente etmemesi gerçeğinden dolayı % 0,8 ila % 4 (h/h) arasında değişmiştir (Tartaridis ve ark., 2013; Conanico ve ark., 2016, Michel ve ark., 2016a). Yukarıda bahsedilen çalışmalarda *T. delbrueckii*’nin biraya meyvemsi bir duyu profili kazandırdığı bahsedilerek, bazı suşlarının bira üretiminde ticari kullanım potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Mayalar

Bu çalışmada kontrol ve karışık kültür fermentasyonlarda kullanılmak üzere Lallemand (Danimarka) markalı kurutulmuş *S. cerevisiae* alt fermentasyon mayası kullanılmıştır. 5 farklı *T. delbrueckii* mayası ise CBS/ARC INFRUITECH-NIETVOORBIJ (Hollanda) şirketinden temin edilmiştir.

3.1.2. Hammadde

Denemelerde kullanılan şerbetçiotu ilave edilmiş malt şırası Adana Efes Pilsen Bira Üretim Tesisinden temin edilmiştir.

3.1.3. Besiyerleri

Denemelerde Potato Dextrose Agar (Merck) ve Lysine Agar (Sigma) kullanılmıştır.

3.1.4. Denemelerde Kullanılan Araç ve Gereçler

Denemelerde kullanılan araç ve gereçlerin sterilizasyonunda “Hirayama (Japonya)” marka otoklav kullanılmıştır. Mayaların çoğaltılması “Edmund Buhler” marka orbital karıştırıcıda gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemleri için “Hettich Universal 320R” marka santrifüj kullanılmıştır. Fermentasyonlar sıcaklığı ayarlanabilen “Sanyo” marka inkübatörde gerçekleştirilmiştir.

3.1.5. Analizlerde Kullanılan Araç ve Gereçler

Örneklerin pH tayininde “Mettler Toledo S220 Seven Compact pH/Ion Benchtop Meter” marka pH metre kullanılmıştır. Yoğunluk ölçümleri “Mettler Toledo Densito 30PX Density Meter” marka yoğunluk ölçer ile yapılmıştır. Etil alkolün tayininde “Anton Paar DMA 4500 M ve Alcoyzer ME” ve aroma

maddelerinin tayininde “Agilent Technologies 7890A” marka gaz kromatografisi kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Denemelerin Hazırlanması

Denemeler Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Endüstriyel Mikrobiyoloji Laboratuvarı’nda gerçekleştirilmiştir.

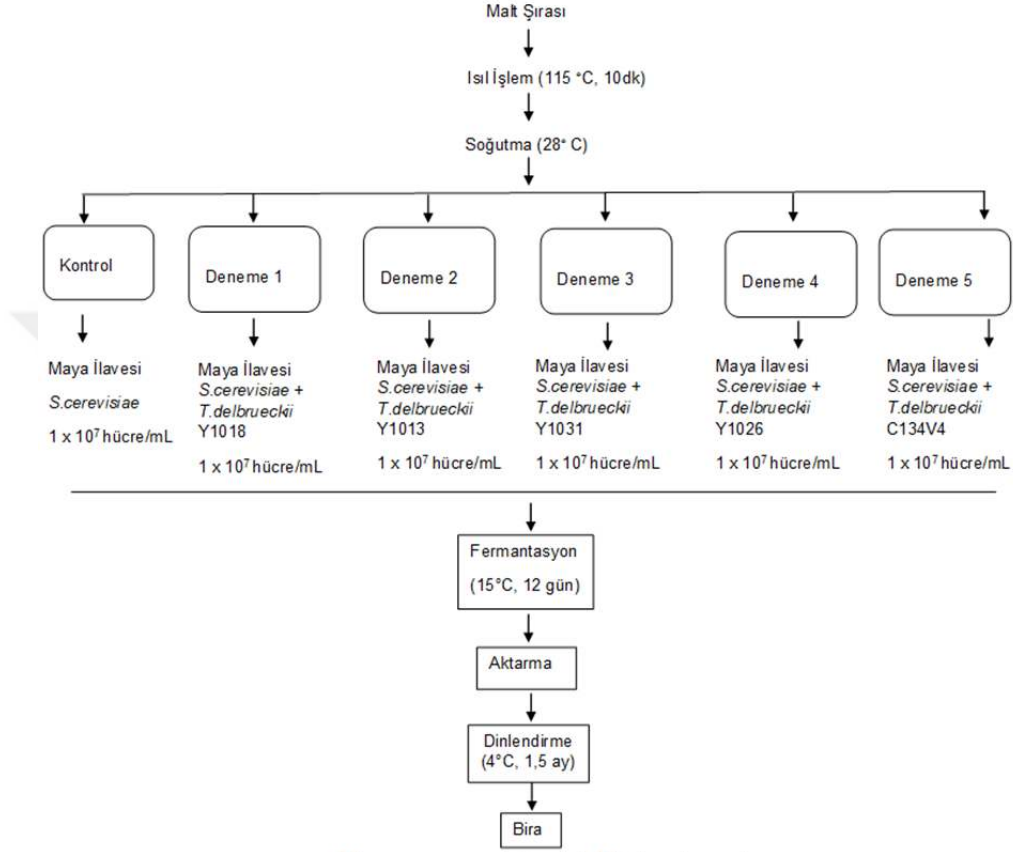
3.2.2. İnokülasyon Kültürünün Hazırlanması

S. cerevisiae ve *T. delbrueckii* mayaları steril malt şirasında ayrı ayrı çoğaltılmıştır. Bu amaçla 250 mL’lik erlenlere 100 mL malt şırası konulup, 115°C’de 10 dakika sterilize edilip soğutulmuştur. Daha sonra Malt Ekstrakt Agar’da geliştirilen mayalardan bir koloni, steril erlenmayer içerisinde bulunan steril şıraya aşılanmış ve daha sonra erlenmayerler orbital karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Şıra orbital karıştırıcıda, 30°C ve 160 d/d’da 48 saat bırakılmış ve bu süre sonunda steril tüpler içerisinde 6000 d/d 6 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Daha sonra üst faz atılıp mayalar ultra saf su ile yıkanmıştır. Thoma lamında sayımı yapıldıktan sonra 1×10^7 hücre/mL oranında olacak şekilde şıraya aşılanmıştır (Gürgün ve Halkman, 1995).

3.2.2.1. Fermantasyon

Denemelerin düzenlenmesi Şekil 3.1’de verilmiştir. Fermantasyonlar 1 litrelik cam şişelerde gerçekleştirilmiştir. Şişelere 800 mL şıra konulup ve şıra 115°C’de 10 dakika sterilize edilip soğutulmuştur. Fermantasyonlar paralelli olarak 15°C de yürütülmüştür. Karışık kültür fermantasyon denemelerinde aşılama miktarı her bir maya için 0.5×10^7 hücre/mL’dir. Kontrol olarak kullanılan *S. cerevisiae* alt fermantasyon bira mayası için de aşılama miktarı 1×10^7 hücre/mL’dir.

Fermantasyon gidişi yoğunluk ölçümü ile izlenmiştir. Fermantasyon bitince genç bira aktarılıp ve 4°C’de yaklaşık 1.5 ay dinlendirilmiştir.



Şekil 3.1. Fermantasyon denemelerinin düzenlenmesi

3.2.3. Analizler

3.2.3.1. Maya Sayımı

Maya sayımı için örnekler aseptik koşullarda alınmıştır. Gerekliği kadar seyreltilip ve yayma yöntemi ile Potato Dextrose Agar ve L-lisin Agar üzerine yayılmıştır. L-lisin Agar *Saccharomyces* spp. dışındaki mayaların sayımında kullanılmıştır. Potato Dextrose Agar ile L-lisin Agar üzerine yayılmış olan mayalar 30°C’de 2-3 gün inkübe edilip, süre sonunda sayılmıştır (Anon., 1997; Campbell, 1988).

3.2.3.2. Şıra Üzerinde Yapılan Analizler**3.2.3.2.(1) Yoğunluk Tayini**

Yoğunluk tayini Densito 30px. Mettler Toledo Portable Lab™ marka otomatik yoğunluk ölçerle yapılmıştır (Anon., 1997).

3.2.3.2 (2). pH Tayini

pH, doğrudan pHmetre kullanılarak ölçülmüştür (Anon., 1997).

3.2.3.2.(3) Toplam Asitlik Tayini

Toplam asit miktarı, şıranın belirteç olarak fenolfitalein eşliğinde N/10'luk NaOH ile titre edilmesi suretiyle belirlenmiştir. Sonuçlar laktik asit cinsinden verilmiştir (Anon., 1997).

3.2.3.3. Biralalar Üzerinde Yapılan Analizler**3.2.3.3.(1). Yoğunluk Tayini**

Yoğunluk tayini Densito 30px. Mettler Toledo Portable Lab™ marka otomatik yoğunluk ölçerle yapılmıştır (Anon., 1997).

3.2.3.3.(2). pH Tayini

pH, doğrudan pHmetre kullanılarak ölçülmüştür (Anon., 1997).

3.2.3.3.(3). Toplam Asitlik Tayini

Toplam asit miktarı, şıranın belirteç olarak fenolfitalein eşliğinde N/10'luk NaOH ile titre edilmesi suretiyle belirlenmiştir. Sonuçlar laktik asit cinsinden verilmiştir (Anon., 1997).

3.2.3.3.(4). Etil Alkol Tayini

Bira örnekleri filtre kâğıdı yardımı ile süzildükten sonra Anton Paar DMA 4500 M cihazına enjekte edilmiştir.

3.2.3.3.(5). Kuru Madde Tayini

Kuru madde tayininde, 1 mL bira örneği kurutma kaplarına alınarak 100°C’de etüvde kurutulmuştur. Yapılan tartımların sonucu g/L olarak verilmiştir (Anon, 1997).

3.2.3.3.(6). Aroma Maddelerinin Analizi

Aroma maddelerinin tayininde Agilent Technologies 7890A gaz kromatografisi kullanılmıştır. Kullanılan gaz kromatografisinde alev iyonlaşma dedektörü (FID) vardır. Alkol fermentasyonundan sonra bialar santrifüj edilerek maya hücreleri uzaklaştırılmıştır. Daha sonra örneğin hazırlanması için 40 mL örnek üzerine 20 mL ultrasaf su ilave edilerek 320°C’de damıtılmıştır. Damıtıktan 0,9 mL vial e alınıp üzerine 3-pentanol iç standart maddesinden 0,1mL eklenmiştir. 1µl örnek otomatik örnek verme sistemi ile kromatografiye verilmiştir. Enjektör sıcaklığı 160°C’dir. Kolon sıcaklığı 40°C’de 4 dakika beklemeden sonra, dakikada 30°C artarak 180°C’ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 4 dakika bekletilmiştir. Taşıyıcı gaz helyum ve akış oranı dakikada 1,3 mL’dir. Enjektör tipi splitdir. Aroma maddeleri tayini sonuçları iç standart yardımıyla salınma sürelerinden bilgisayar yardımıyla otomatik olarak yapılmıştır (Erten ve Campbell, 2001).

Aroma maddelerinin tanısında gaz kromatografisine bağlı “Agilent 5975B VL MSD” marka kütle spektrometresi kullanılmıştır. Enjektör tipi ve sıcaklık programı gaz kromatografisi ile aynı koşulları taşımaktadır. Taşıyıcı gaz olarak kullanılan helyumun hızı 1,5 mL/dk’dır. Kütle spektrometresinin iyonlaşma enerjisi 70 eV, iyon kaynağı sıcaklığı 250 °C, kuadropol sıcaklığı 120 °C tutularak, 1 saniye aralıklarla 29-350 kütle/yük (m/e) arasında tarama yapılmıştır. Piklerin tanısı, standardı bulunan bileşikler için standart çözelti enjekte edilerek, standardı

olmayan bileşikler için kütle spektrumunun bilgisayar hafızasındaki aroma maddeler kütüphanelerindeki (Wiley 7.0, NIST-98, ve Flavor, 2L) kütle spektrumlarıyla karşılaştırılması yoluyla yapılmıştır. Piklerin tanısından sonra, aroma maddelerinin konsantrasyonları iç standart yöntemiyle hesaplanmıştır (Schneider ve ark., 2001). Her bir analiz 2'şer tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Aroma maddeleri miktarlarının hesaplanması piklerin tanısından sonra aroma maddelerinin miktarlarını hesaplamak için, standart bileşiklerden kalibrasyon eğrileri elde edilmiş ve iç standart yöntemiyle aşağıdaki formül kullanılarak miktarlar hesaplanmıştır.

$$C = (A / A_{st}) \times C_{st} \times RF \times HF$$

C : Bileşiğin konsantrasyonu

A : Bileşiğin pik alanı

A_{st} : İç standardın pik alanı

C_{st} : İç standardın konsantrasyonu (40 µg/100 g)

RF : Cevap faktörü

HF : Hesaplama faktörü (örnek miktarının mg'a çevrilmesi için faktör).

3.2.3.3.(7). Duyusal Analiz

Gerçekleştirilen denemelerden elde edilen örneklerin duyusal değerlendirmesi, Barillerle ve Benard (1986)'a göre puanlama ve sıralama (tercih) testleri kullanılarak yapılmıştır. Puanlama testi meyve, bal, sülfür, çiçeksi, şerbetçiotu, malt şırası gibi koku karakterleri ve tatlılık, acılık, ekşilik, gövde, genel izlenim gibi tat karakterlerini gösteren 15'lik puanlama skalasına göre yapılmıştır. Daha sonra sıralama testi ile panelistler biraları en çok beğenilenden en az beğenilene doğru sıralamıştır (Onoğur ve Elmacı, 2015). Duyusal analiz 8 kişilik panelist grubun katılımıyla gerçekleştirilmiştir.

Kullanılan duyusal analiz formu ve sıralama testi formu Şekil 3.2. ve Şekil 3.3’de verilmiştir.

Ad-Soyad:

Ömek No :

Lütfen bira örneğini koklayınız ve aromasını değerlendiriniz.

Meyve (Armut, Elma)

Zayıf

Kuvvetli



Bal

Zayıf

Kuvvetli



Çiçeksi

Zayıf

Kuvvetli



Şerbetçiotu

Zayıf

Kuvvetli



Sülfürlümsü

Zayıf

Kuvvetli



Malt şırası

Zayıf

Kuvvetli



Lütfen bira örneğini tadınız ve tadını değerlendiriniz.

Tatlılık

Zayıf

Kuvvetli



Ekşilik

Zayıf

Kuvvetli



Acılık

Zayıf

Kuvvetli



Gövde (Body)

Zayıf

Kuvvetli



Genel izlemim/Beğeni

Az

Çok



Şekil 3.2. Duyusal analiz değerlendirme formu

Sıralama Testi

AD SOYAD:

ÖRNEK NO:

Tatmış olduğunuz bira örneklerini en çok beğendiğinizden en az beğendiğinize doğru sıralayınız.

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____

TEŞEKKÜRLER

Şekil 3.3. Tercih (Sıralama) testi formu

3.2.3.3.(8). İstatiksel Analiz

Kimyasal ve duyuşsal analizlerin sonuçları varyans analizi ile değerdendirilmiş ve önemli bulunan farklılıklara Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Bu amaçla “IBM SPSS 22” programı kullanılmıştır (Özdamar, 2011). Önem düzeyi olarak % 95 güven aralığı belirlenmiş ve veriler arasındaki

farklılıklar $p<0.05$ seviyesinde anlamlı veya $p>0.05$ seviyesinde anlamsız olarak kabul edilmiştir. Ayrıca kimyasal analiz sonuçlarının ortalamaları, standart sapmaları ve farklılıkları anlamlı bulunan sonuçların hangi düzeyde önemli olduğu hesaplanmış ve elde edilen tüm sonuçlar Çizelge 4.5 ve 4.6’da verilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Denemelerde Kullanılan Şıranın Genel Bileşimi

Denemelerde kullanılan şıranın genel bileşimi aşağıdaki çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4.1. Malt şırasının bileşimi

Yoğunluk (g/cm ³)	: 1,05193
pH	:4,85
Toplam Asitlik (Laktik Asit cinsinden) (g/L)	: 0,18

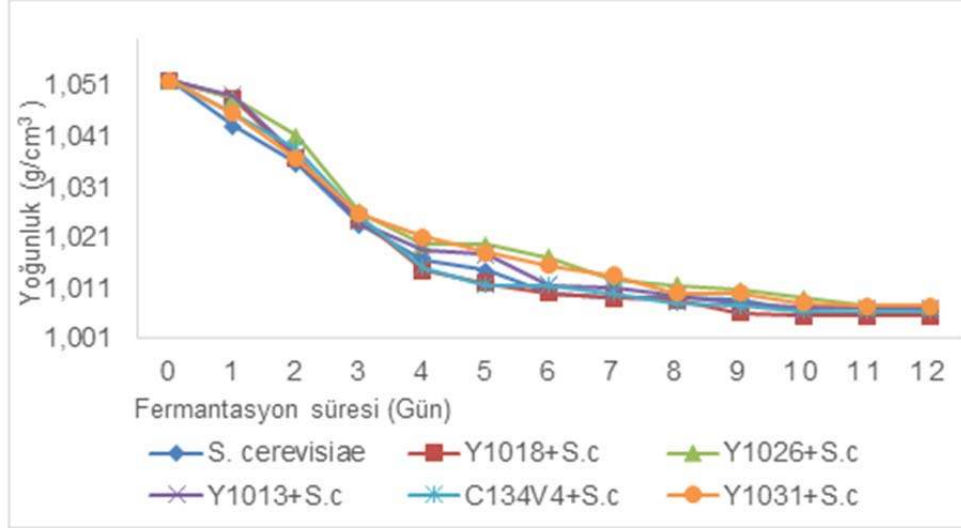
Çizelgede de görüldüğü gibi bira üretiminde kullanılan şırada yoğunluk 1,05193 g/cm³ olarak belirlenmiştir. Pozippe ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada 1,065 gr/cm³ Belçika Blond Ale şırası kullanmışlardır. Tartaridis ve ark. (2016), çalışmalarına 1,049 gr/cm³ yoğunluklu şıra ile başlamışlardır. Conanico ve ark. (2016) ise çalışmalarında 1,051 gr/cm³ yoğunluklu Amerikan Amber Ale kullanmışlardır. Literatürde yer alan verilere bakıldığında şıranın yoğunluğunun normal olduğu görülmüştür.

Denemelerde kullanılan şıranın pH değeri 4,85 olarak ölçülmüştür. Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliği'nde (No: 2006/33), bira üretiminde kullanıcak şıranın pH değeri $3,8 \leq 4,8$ olarak belirtilmiştir. Bu tanımlamaya göre kullanılan şıra TGK sınırlarına uygundur.

Şıranın toplam asitlik miktarı, laktik asit cinsinden, litrede 0,18 g olarak belirlenmiştir.

4.2. Alkol Fermantasyonunun Gidişi

Kontrol olarak kullanılan *S.cerevisiae* alt fermantasyon mayası ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı yoğunluk ölçümü yapılarak takip edilmiştir. Ölçüm sonuçları Şekil 4.1 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1. *S.cerevisiae* alt fermantasyon mayası ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki yoğunluk ölçümü

Çizelge 4.2. *S.cerevisiae* alt fermantasyon mayası ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki yoğunluk ölçümü

Gün	Kontrol	S.c. + T.d. Y1018	S.c. + T.d. Y1026	S.c. + T.d. Y1013	S.c. + T.d. C134V4	S.c. + T.d. Y1031
1	1,043±0,002	1,048±0	1,048±0	1,049±0	1,045±0,002	1,045±0,002
2	1,035±0,002	1,036±0	1,041±0,001	1,037±0	1,038±0,002	1,036±0
3	1,023±0,002	1,024±0,003	1,026±0	1,024±0,002	1,025±0,001	1,025±0,002
4	1,016±0,002	1,014±0,006	1,019±0	1,018±0,002	1,015±0,009	1,021±0,001
5	1,014±0,002	1,012±0,004	1,019±0	1,017±0,003	1,011±0,007	1,018±0,001
6	1,010±0,001	1,010±0,004	1,017±0	1,011±0,003	1,011±0,007	1,015±0,002
7	1,009±0,001	1,009±0,002	1,012±0	1,011±0,002	1,010±0,005	1,013±0,002
8	1,009±0,001	1,008±0,002	1,011±0	1,009±0,003	1,008±0,004	1,010±0
9	1,008±0	1,006±0,001	1,010±0	1,008±0,001	1,007±0,003	1,010±0
10	1,006±0	1,005±0	1,009±0,001	1,007±0,001	1,006±0,002	1,008±0
11	1,006±0	1,005±0	1,007±0	1,007±0,001	1,006±0,002	1,007±0
12	1,006±0	1,005±0	1,007±0 ¹	1,007±0,001	1,006±0,002	1,007±0

S.c. : *Saccharomyces cerevisiae* , T.d. : *Torulaspora delbrueckii*

Paralelli olarak yürütülen denemelerde kontrol olarak kullanılan *S.cerevisiae* alt fermantasyon bira mayasının aşılama miktarı 1×10^7 hücre/mL olup, karışık kültür fermantasyon denemelerinde ise aşılama miktarı her bir maya için 5×10^6 hücre/mL'dir. $1,051 \text{ g/cm}^3$ yoğunluklu şıra ile kurulan denemelerde ilk 5 gün hızlı bir yoğunluk düşüşü gözlemlenirken, 8. günden itibaren yoğunluktaki azalma yavaşlamış ve fermantasyon 12 günde tamamlanmıştır. Fermantasyon sonunda kontrol örneği olan *S. cerevisiae*'de yoğunluk 1,006 olarak ölçülmüştür. Karışık kültür denemelerinde ise 12. günün sonunda *T.delbrueckii* Y1018, Y1026, Y1013, C134V4 ve Y1031 suşları için yoğunluk sırasıyla; 1,005; 1,007; 1,007; 1,006 ve 1,007 olarak ölçülmüştür.

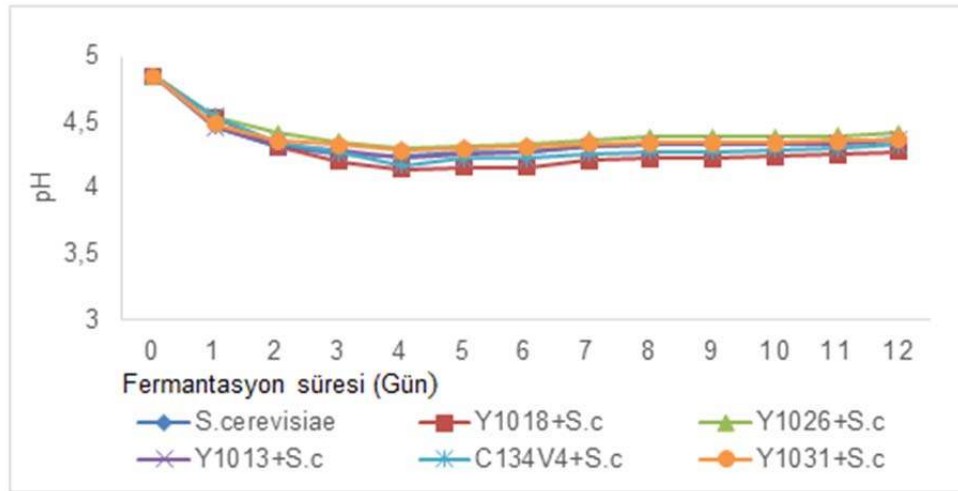
Tartaridis ve ark. (2013), yapmış oldukları çalışmada fermantasyonu sonlandırdıktan sonra biraların yoğunluğunu $1,011 \text{ gr/cm}^3$ olarak ölçmüşlerdir. Conanico ve ark. (2016), yapmış olduğu çalışmada, fermantasyon bitimindeki yoğunluk $1,029 \text{ gr/cm}^3$ olarak belirtilmiştir. Bu veriler göz önüne alındığında denemelerde yoğunluğun oldukça düştüğü, yani şekerlerin fermente edildiği gözlemlenmektedir.

Şekil 4.2 ve Çizelge 4.3'te, kontrol olarak kullanılan *S.cerevisiae* alt fermantasyon mayası ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki pH ölçümü verilmiştir.

Çizelge 4.3. *S.cerevisiae* alt fermantasyon mayası ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki pH ölçümü

Gün	Kontrol	S.c. + T.d. Y1018	S.c. + T.d. Y1026	S.c. + T.d. Y1013	S.c. + T.d. C134V4	S.c. + T.d. Y1031
1	4,5±0,01	4,5±0,03	4,4±0,01	4,5±0	4,5±0,01	4,5±0,02
2	4,3±0,02	4,3±0,02	4,4±0,01	4,3±0,01	4,4±0,03	4,4±0,01
3	4,3±0,03	4,2±0,07	4,4±0	4,3±0,03	4,3±0,10	4,3±0,03
4	4,2±0,02	4,1±0,06	4,3±0	4,2±0,03	4,2±0,11	4,3±0,04
5	4,3±0,02	4,2±0,08	4,3±0,01	4,3±0,06	4,2±0,11	4,3±0,10
6	4,3±0,04	4,2±0,11	4,3±0	4,3±0,03	4,2±0,11	4,3±0,01
7	4,3±0,01	4,2±0,11	4,4±0,01	4,3±0,03	4,3±0,01	4,3±0,01
8	4,3±0,02	4,2±0,10	4,4±0	4,3±0,02	4,3±0,09	4,3±0
9	4,3±0,02	4,2±0,10	4,4±0,01	4,3±0,02	4,3±0,09	4,3±0
10	4,3±0,02	4,2±0,09	4,4±0,01	4,3±0,03	4,3±0,08	4,3±0
11	4,3±0,03	4,3±0,08	4,4±0,01	4,3±0,02	4,3±0,09	4,4±0
12	4,4±0,01	4,3±0,09	4,4±0,01	4,3±0,08	4,3±0,08	4,4±0

S.c. : *Saccharomyces cerevisiae* , T.d. : *Torulaspora delbrueckii*



Şekil 4.2. *S.cerevisiae* alt fermantasyon mayası ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonlarının gidişatı sırasındaki pH ölçümü

4,85 pH değerine sahip malt şırası ile kurulan denemelerin pH değerlerinde ilk 3 gün hızlı bir düşüş gözlemlenmiştir. 4. günden itibaren pH değerindeki azalma yavaşlarken, 6. günden sonra azalarak artmıştır. Fermantasyon sonunda, kontrol örneği olan *S. cerevisiae* denemesinin pH değeri 4,37 olarak belirlenmiştir. 12. günün sonunda *T.delbrueckii* Y1018, Y1026, Y1013, C134V4 ve Y1031 suşları ile kurulan karışık kültür denemelerinin pH değerleri sırasıyla 4,27; 4,41; 4,36; 4,32; 4,36 olarak ölçülmüştür.

Tartaridis ve ark. (2016), iki farklı *T. delbrueckii* suşu kullanarak yapmış oldukları çalışmalarında son ürünlerdeki pH değerlerini 4,43 ve 4,85 olarak belirtmişlerdir. Conanico ve ark.(2016), çalışmalarında son ürünün pH değerini 4,56 olarak belirtmişlerdir. Araştırmacıların 2017 yılındaki çalışmasında, 3 farklı *S.cerevisiae* suşu ve *T.delbrueckii* DiSVA 254 suşu ile gerçekleştirdikleri karışık kültür fermantasyonları sonucunda pH değerini sırasıyla 4,32; 4,41 ve 4,57 olarak belirtmişlerdir. Michel ve ark. (2016b) ise çalışmalarında son ürünlerdeki pH değerini 4,2'den küçük olarak belirtmişlerdir. Tüm veriler düşünüldüğünde literatür ile uyumlu olduğu saptanmıştır.

4.2.1. Fermantasyon Sırasındaki Mikrobiyolojik Değişimler

Alkol fermantasyonu sırasında *S.cerevisiae* alt fermantasyon mayası ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonu ile üretilen biralardan ilk günden başlanarak fermantasyonun tamamlandığı güne kadar gün aşırı örnekler alınmış ve biraların toplam maya sayıları (PDA), *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayıları (L-Lysine) belirlenmiştir. Fermantasyon boyunca tüm denemelerde belirlenen toplam maya, *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayıları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

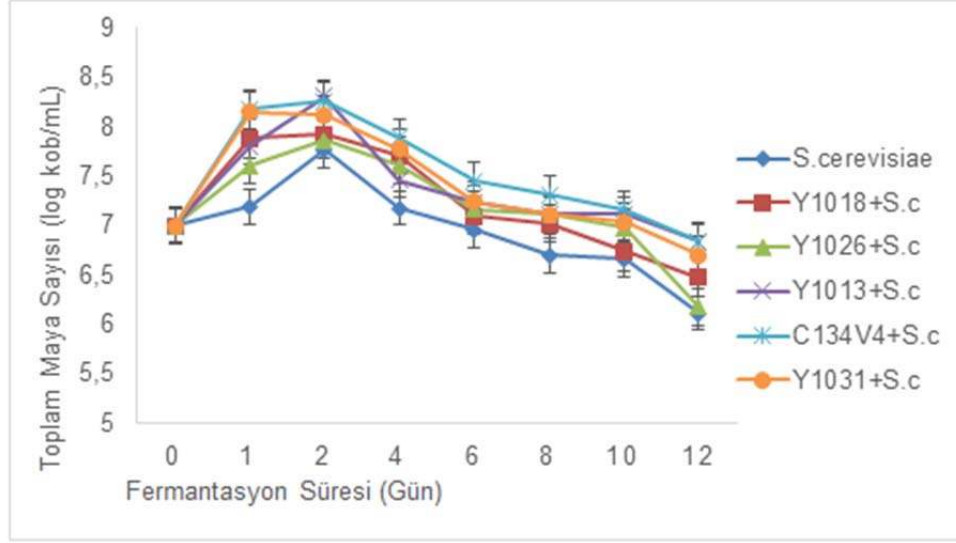
Çizelge 4.4. Fermentasyon süresince toplam maya ve *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayıları(kob/mL) değişimi

		1. Gün	2. Gün	4. Gün	6. Gün	8. Gün	10. Gün	12. Gün
<i>S. cerevisiae</i>	Toplam Maya	$1,6 \times 10^7$	4×10^7	2×10^7	9×10^6	5×10^6	$4,6 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$
	Non- Sac.*	$1,2 \times 10^7$	3×10^7	$8,5 \times 10^6$	5×10^6	$4,5 \times 10^6$	8×10^5	$5,5 \times 10^5$
Y1018 + S.c	Toplam Maya	8×10^7	9×10^7	5×10^7	$1,2 \times 10^7$	1×10^7	$5,5 \times 10^6$	3×10^6
	Non- Sac.*	3×10^7	7×10^7	2×10^7	6×10^6	$3,5 \times 10^6$	2×10^6	1×10^5
Y1026 + S.c	Toplam Maya	4×10^7	7×10^7	4×10^7	$1,5 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$9,5 \times 10^6$	$1,5 \times 10^6$
	Non- Sac.*	$9,5 \times 10^6$	7×10^7	$3,4 \times 10^7$	$9,5 \times 10^6$	3×10^6	3×10^6	$7,5 \times 10^5$
Y1013 + S.c	Toplam Maya	$6,4 \times 10^7$	2×10^8	3×10^7	2×10^7	$1,3 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	7×10^6
	Non- Sac.*	$1,4 \times 10^7$	$1,4 \times 10^8$	$1,9 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	1×10^7	6×10^5
C134V4 + S.c	Toplam Maya	$1,5 \times 10^8$	2×10^8	$7,9 \times 10^7$	3×10^7	2×10^7	$1,4 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$
	Non- Sac.*	2×10^7	$1,4 \times 10^8$	$5,5 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	1×10^7	$6,2 \times 10^6$
Y1031 + S.c	Toplam Maya	$1,5 \times 10^8$	$1,3 \times 10^8$	6×10^7	2×10^7	$1,3 \times 10^7$	$1,1 \times 10^7$	5×10^6
	Non- Sac.*	$1,3 \times 10^7$	$1,3 \times 10^8$	$5,2 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$9,5 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	2×10^6

**Saccharomyces* spp. olmayan maya

4.2.1.1. Toplam Maya Sayısı

Alkol fermantasyonu sırasında toplam maya sayısındaki değişim Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Alkol fermantasyonu sırasında toplam maya sayısındaki değişim S.c. : *Saccharomyces cerevisiae*

Şekil 4.3'te görüldüğü gibi alkol fermantasyonu başlangıcında toplam maya sayısı karışık kültür fermantasyon denemelerinde her bir maya için 5×10^6 hücre/mL'dir. Kontrol olarak kullanılan *S. cerevisiae* alt fermantasyon bira mayası için de aşılama miktarı 1×10^7 hücre/mL'dir. Toplam maya sayısı her denemede ikinci gün en yüksek değerini almış olup sonrasında fermantasyonun sonlandırıldığı gün olan onikinci güne kadar düşüş göstermiştir. 2.gün analizlerinde elde edilen en yüksek maya sayısı *S. cerevisiae* ile *T. delbrueckii* Y10131 karışık kültür fermantasyonunda 8,30 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla 8,25 log kob/mL ve 8,11 log kob/mL ile *T. delbrueckii* C134V4 ve *T. delbrueckii* Y1031 suşlarının *S. cerevisiae* ile karışık kültür fermantasyonları izlemiştir.

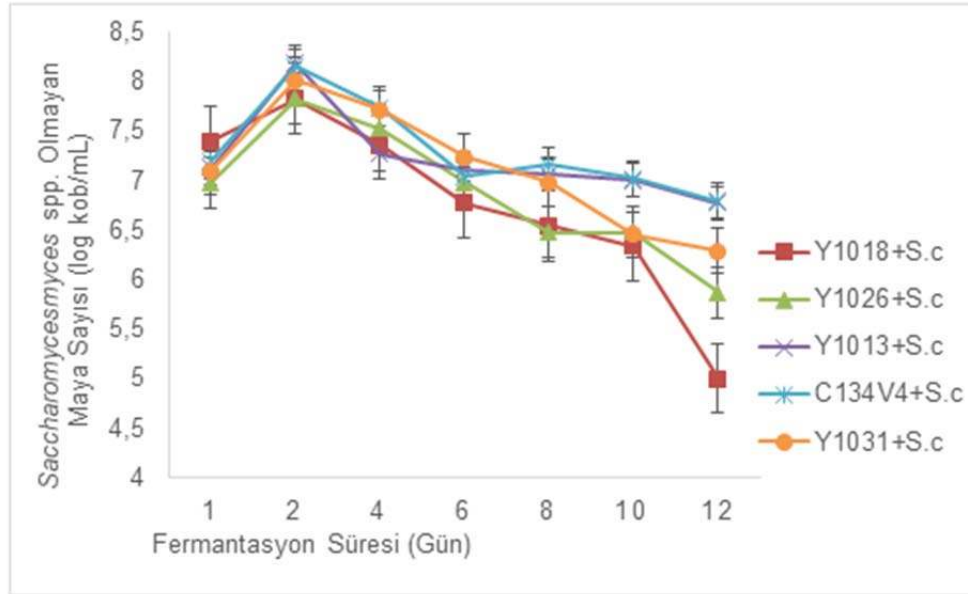
Fermantasyon sonlandırıldığında en düşük maya sayısı kontrol denemesinde görülürken en yüksek maya sayısı 6,84 log kob/mL olup *T.*

delbrueckii C134V4 ve Y1013 suşu ile yapılan denemelerde ölçülmüştür. Fermantasyon boyunca en düşük maya sayısı fermantasyonun son günü olan 12. günde kontrol örneğinde 6,11 log kob/mL olarak gözlemlenmiştir. Buna en yakın *T. delbrueckii* Y1016 suşunun karışık kültür fermantasyonunda 6,17 log kob/mL olarak ölçülmüştür.

Pozippe ve ark. (2015), yapmış oldukları çalışmada fermantasyonu sonlandırdıkları 10. günün sonunda toplam maya sayısını 5 log kob/mL olarak saptamışlardır. Conanico ve arkadaşları 2017 yılında *S. cerevisiae* WB-06 ile *T. delbrueckii* DiSVA 254 karışık kültür fermantasyonu ile gerçekleştirdikleri denemede toplam maya sayısının 6,4-6,8 log kob/mL arasında olduğunu belirtmişlerdir.

4.2.1.2. *Saccharomyces* spp. Olmayan Maya Sayısı

Alkol fermantasyonu esnasında *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısındaki değişim Şekil 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.4. Alkol fermantasyonu sırasında *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısındaki değişim

Şekil 4.4’de görüldüğü üzere alkol fermantasyonunun ilk gününde *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısının en düşük olarak belirlendiği değer 6,97 log kob/mL ile *T. delbrueckii* Y1026 suşu ile yapılan deneme olurken, en yüksek bulunduğu değer ise *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile yapılan karışık kültür fermantasyonunda 7,39 log kob/mL olarak belirlenmiştir. Fermantasyon süresince en yüksek *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısına 8,18 log kob/mL olarak *T. delbrueckii* Y1013 suşu ile yapılan karışık kültür fermantasyonunun ikinci gününde ulaşılmıştır.

Fermantasyonun sonlandırıldığı 12.günde düşük maya sayısı 5 log kob/mL ile *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile yapılan karışık kültür fermantasyonunda olurken, en yüksek maya sayısı 6,79 log kob/mL ile *T. delbrueckii* C134V4 suşu ile yapılan denemede belirlenmiştir.

4.3. Biralardan Bileşimi

Çizelge 4.5’te kontrol olarak kullanılan lager tipi bira mayası *S. cerevisiae* ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonuyla üretilen biralardan bileşimi verilmiştir.

Çizelge 4.5. *S. cerevisiae* ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonuyla üretilen biralardan bileşimi

Bileşim	<i>S.cerevisiae</i>	<i>S.c. + T.d.</i> Y1018	<i>S.c. + T.d.</i> Y1026	<i>S.c. + T.d.</i> Y1013	<i>S.c. + T.d.</i> C134V4	<i>S.c. + T.d.</i> Y1031
Yoğunluk (gr/cm ³)	1,006±0	1,005±0	1,007±0	1,007±0,001	1,006±0,002	1,007±0
pH	4,37±0,01	4,27±0,09	4,41±0,01	4,36±0,02	4,32±0,08	4,36±0,01
Etil Alkol % (h/h)	5,93±0,04	5,84±0,02	5,66± 0,06	5,68±0,22	5,46±0,23	5,68±0,09
Kuru Madde (g/L)	41,87±0,83	41,18±0,94	41,56±2,08	42,49±1,78	42,91±3,26	43,82±0,05
Toplam Asitlik (g/L)*	0,34±0,01	0,31±0,04	0,33±0,03	0,34±0,02	0,30±0,03	0,33±0,012

*Laktik asit cinsinden

S.c. : *Saccharomyces cerevisiae* , *T.d.* : *Torulaspora delbrueckii*

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi *S. cerevisiae* ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonuyla üretilen biralarda en yüksek yoğunluk *T. delbrueckii* Y1031 ve Y1026 suşlarında 1,007 olarak ölçülürken, en düşük yoğunluk kontrolden de düşük olarak Y1018 suşu ile üretilen denemede 1,005 gr/cm³ olarak belirlenmiştir.

Denemelerde pH değeri en yüksek *T. delbrueckii* Y1026 suşu ile üretilen birada 4,41 olurken, en düşük değer kontrol değerinde de düşük olup Y1018 suşu ile üretilen birada 4,27 olarak ölçülmüştür. Diğer denemelerde kontrol ile yakın sonuçlar gözlemlenmiştir. Öte yandan, pH değeri bakımından denemeler arasındaki farklılık istatistiksel olarak % 5 önem seviyesinde önemli bulunmuştur.

Etil alkol miktarı en yüksek kontrol olarak kullanılan alt fermantasyon bira mayası *S. cerevisiae* ile üretilen saf kültür denemesinde hacim olarak % 5,93 (h/h) olarak hesaplanmıştır. En düşük değer ise *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür fermantasyonunda hacim olarak % 5,66 (h/h) olarak ölçülmüştür.

Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliği'ne (No: 2006/33) göre, bira hacmen alkol miktarına göre dörde ayrılmaktadır. Alkolsüz bira hacmen % 0,5 (h/h) olarak tanımlanırken; düşük alkollü bira % 0,5-3 (h/h), bira % 3-6 (h/h) ve yüksek alkollü bira % 6-10 (h/h) olarak tanımlanmıştır. Buna göre üretilen tüm biralar Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliğinde belirtilen hacmen alkol miktarlarına göre bira sınıfına girmektedir.

Pozippe ve arkadaşları 2015 yılında *T. delbrueckii* LTQB30 suşu ile yapmış oldukları çalışmada son üründe etil alkol miktarını %5 (h/h) olarak saptamışlardır.

Tartaridis ve ark. (2013), şaraptan izole ettikleri 2 farklı *T. delbrueckii* suşu ile gerçekleştirmiş oldukları bira fermantasyonunda etil alkol miktarının % 4,2 (h/h) ve %2,34 (h/h) olduğunu belirtmişlerdir. Conanico ve arkadaşlarının 2016 yılında yapmış olduğu çalışmada son ürünlerdeki etil alkol miktarını %2,66 (h/h) olarak belirtirken, araştırmacıların 2017 yılında yaptığı bir başka çalışmada ise bu miktarın %4,65-4,89 (h/h) arasında olduğunu belirtmişlerdir. Bu bilgiler ışığında

çalışmada elde edilen etil alkol miktarının her deneme için literatürden yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Gerçekleştirilen denemelerde en yüksek kuru madde miktarı *T. delbrueckii* Y1031 suşu ile üretilen karışık kültür fermantasyonunda 43,8295 g/L olarak ölçülmüştür. Bu değer kontrol denemesi olan *S. cerevisiae* ile üretilen saf kültür fermantasyonundan yüksek olup, bu örnekte 41,8785 g/L olarak ölçülmüştür.

Laktik asit cinsinden toplam asitlik miktarı kontrol örneğinde 0,35 g/L olarak ölçülmüştür. *T. delbrueckii* Y1013 ve Y1031 suşları ile üretilen denemelerdeki sonuçlar kontrol örneği ile benzerlik gösterirken, en düşük değer C134V4 suşu ile üretilen denemede 0,30 g/L olarak hesaplanmıştır. Tangüler ve arkadaşları 2010 yılında yapmış oldukları derlemede biradaki laktik asit miktarının 0,28-0,4 g/L arasında olabileceğini ve algılanma eşiğini 0,4 gr/L olarak belirtmişlerdir.

4.4. *Torulaspora delbrueckii* Suşlarının Aroma Bileşimleri Üzerine Etkileri

S. cerevisiae ile karışık kültürü kullanılan *Torulaspora delbrueckii* suşlarının biraların aroma bileşimleri üzerine etkileri Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi biraların aroma maddeleri arasında öne çıkan bileşikler asetaldehit, n-propanol, 3-metil-1-bütanol, 2-metil-1-bütanol, etil asetat, izoamil asetat, serbest 2,3-bütandion ve serbest 2,3-pentandion olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.6'da görüldüğü gibi, yüksek alkollerden asetaldehit bileşiğinde örnekler arasında istatistiksel olarak fark ($P < 0.05$ seviyesinde) bulunmuştur. Yeşil elma kabuğu benzeri aroma sağlayan asetaldehit en fazla *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür fermantasyonunda 46,91 mg/L üretilmiştir. Pozippe ve ark. (2015), *T. delbrueckii* LTQB7 suşu ile yapmış oldukları bira denemesinde 47,9 mg/L asetaldehit oluşumu gözlemlemişlerdir. Conanico ve arkadaşları, 2017 yılında 3 farklı *S. cerevisiae* kullanarak *T. delbrueckii* DiSVA 254 ile karışık kültür fermantasyon denemelerinde sırasıyla 43,69 mg/L, 29 mg/L ve 17 mg/L asetaldehit ölçümlemişlerdir. Literatür verileri göz önüne

alındığında elde edilen değerlerin algılama eşik değerinin üzerinde ve literatürle uyumlu olduğu görülmüştür.

Biraya tatlımsı alkollü bir aroma kazandıran n-propanol ise denemeler arasında önemli istatistiksel bir fark gözlemlenmemiş olup elde edilen değerler algılanma eşığının altında kalmıştır. Conanico ve ark. (2016), *S. cerevisiae* ve *T. delbrueckii* karışık kültür fermantasyonunda n-propanol değerini 15,41 mg/L olarak gözlemlerken; 2017 yılında çalışmada ise sırasıyla 24,63 mg/L, 40,42 mg/L, 15,26 mg/L olarak belirtmişlerdir. Michel ve ark., (2016a) 10 farklı *T. delbrueckii* suşu ile yapmış oldukları araştırmada n-propanol miktarını 2,93-17,06 mg/L arasında bulmuşlardır. Literatürdeki değerlere göre, bu çalışmada elde edilen kontrol ve *T. delbrueckii* Y1018 suşu karışık kültür denemesindeki n-propanol değerleri literatürle uyumlu bulunmuştur. Diğer denemelerde literatürün altında n-propanol değerleri gözlemlenmiştir.

Bir diğer yüksek alkol olan ve biraya şarabımsı, tatlı bir alkol kokusu kazandıran 3-metil bütanol bir diğer adıyla izoamil alkol miktarı tüm denemelerde algılanma eşığının altında gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada en yüksek miktar 48,32 mg/L olup, *T. delbrueckii* Y1026 suşu karışık kültür denemesinde gözlemlenmiştir. Tangüler ve arkadaşları (2010), yapmış oldukları derlemede isoamil alkolün biradaki miktarını 25-122,5 mg/L arasında belirtmişlerdir. Conanico ve ark. (2016) çalışmasında isoamil alkol miktarını 32,79 olarak saptamışlardır. Araştırmacının 2017 yılındaki çalışmasında *S. cerevisiae* Belgian Wheat 3942 ve *T. delbrueckii* DiSVA 254 suşu ile gerçekleştirdiği karışık kültür fermantasyonunda isoamil alkol miktarını 49,14 mg/L olarak belirlemiştir. Pozippe ve ark. (2015), *T. delbrueckii* LTQB7 suşu ile yapmış oldukları bira denemesinde isoamil alkol miktarını 69 mg/L olarak ölçmüşlerdir.

2-metil-bütanol bir diğer adıyla aktif amil alkol en yüksek *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür denemesinde 8,22 mg/L olarak ölçülmüştür. Tangüler ve arkadaşları (2010), derlemelerinde 2-metil bütanolün biradaki miktarını 7-33,9 mg/L arasında belirtmişlerdir. Conanico ve ark. (2017) ise *S.*

cerevisiae WB-06 ve *T. delbrueckii* DiSVA 254 suşu ile gerçekleştirdiği karışık kültür fermantasyonunda amil alkol miktarını 18,65 mg/L olarak belirlemişlerdir. Michel ve arkadaşları (2016b) çalışmalarında 10 farklı ve *T. delbrueckii* suşu kullanmışlar ve 15- 64,83 mg/L aralığında 2-metil-bütanol oluşumu gözlemlemişlerdir.

Etil asetat, biraya meyvemsi tatlı bir aroma kazandırır ve birada bulunma miktarı 8-47,6 mg/L arasındadır (Tangüler ve ark., 2010). Yapılan çalışmada tüm denemeler algılama eşiğinin üzerinde sonuç vermiş olup, en yüksek değer *T. delbrueckii* Y1018 suşu karışık kültür denemesinde 35,77 mg/L olarak saptanmıştır. Pozippe ve ark., 2015 yılında yapmış oldukları çalışmalarında etil asetat miktarını 16,2 mg/L olarak ölçmüşlerdir. Holt ve arkadaşları 2018 yılında *S.cerevisiae* Ale 514 ve *T. delbrueckii* ST1312/167 suşları ile yapmış oldukları çalışmalarında 71,5 mg/L değeri ile oldukça yüksek etil asetat oluşumu gözlemlemişlerdir. Michel ve arkadaşları (2016b) 10 farklı ve *T. delbrueckii* suşu ile yapmış oldukları çalışmalarında 2,23-23,4 mg/L arasında etil asetat değerleri elde etmişlerdir. Conanico ve arkadaşlarının 2017 yılında yaptıkları çalışmada elde ettikleri etil asetat değerleri 18,15-24,87 mg/L arasındadır. Literatür verileri düşünüldüğünde, bu çalışmada elde edilen etil asetat değerleri ortalamanın üstünde olup literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Biraya muz aroması kazandıran izoamil asetat ise tüm denemelerde algılanma eşiğinin altında gözlemlenmiş olup, bu eşiğe yaklaşan en yüksek değer 1,45 mg/L ile *T. delbrueckii* Y1018 suşu karışık kültür denemesinde gözlemlenmiştir. Tartaridis ve ark. (2016), *T. delbrueckii* A01 ve B03 suşları ile yapmış oldukları çalışmalarında sırasıyla 15,6 mg/L ve 3,1 mg/L ile algılama eşiğinin üzerinde ve oldukça yüksek değerler elde etmişlerdir. Conanico ve arkadaşları 2016 yılındaki çalışmalarında izoamil asetat değerini 0,134 mg/L olarak saptarken, 2017 yılındaki çalışmalarında ise 0,163- 0,482 mg/L değerleri arasında olduğunu belirtmişlerdir. Tüm veriler düşünüldüğünde bu çalışmada elde edilen izoamil asetat değerlerinin ortalama olduğu görülmüştür.

Birada istenmeyen karbonil bileşiklerinden en önemlileri visinal diketonlardır. Bunlardan diasetil, 0,07-0.2 mg/L civarında çok düşük algılanma eşiğine sahiptir (Tangüler ve ark., 2010). Bu miktarın üzerindeki konsantrasyonlarda biraya tereyağ aroması verdiği için istenmez ve biranın aroma profilinde belirleyici bir rol oynamaktadır (Krogerus ve Gibson, 2013). Yapılan çalışmada tüm denemelerde elde edilen sonuç algılanma eşiğinin altında olup 0,03 mg/L olarak saptanmıştır. Michel ve ark. (2016b), çalışmalarında diasetil miktarını 0,1- 0,43mg/L arasında gözlemlemişlerdir.

Diasetil, istenmeyen bir başka bileşik olan 2,3-pentanediona benzemektedir. 2,3-pentandion bileşiği ise, yaklaşık 0.9 mg/L algılanma eşiğine sahip olup, yumuşak şeker benzeri tadıyla bilinmektedir (Tangüler ve ark., 2010; Krogerus ve Gibson, 2013). Bu çalışmada tüm denemeler için algılama eşiğinin altında değerler elde edilmiş olup, bu değerler 0-0,02 mg/L arasında değişmektedir.

Çizelge 4.6. *S. cerevisiae* ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermentasyonu ile üretilen biraların aromasında etkili olan bazı bileşikler ve miktarları.

Bileşim	Algılanma Eşik Değerleri (mg/L)	<i>S. cerevisiae</i>	S.c. + T.d. Y1018	S.c. + T.d. Y1026	S.c. + T.d. Y1013	S.c. + T.d. C134V4	S.c. + T.d. Y1031	Koku	Önem Seviyesi
Yüksek Alkoller (mg/L)									
Asetaldehit	15-25*	38,84±1,63 ^{ab}	46,91±8,78 ^a	36,06±2,28 ^{abc}	33,05±0,12 ^{bc}	41,96±5,41 ^{ab}	25,90±5,75 ^c	Elma kabuğu benzeri	ö.
n-propanol	600**	16,40±4,81	15,25±5,09	13±0,14	9,30±0,28	13,42±3,08	12,60±0,21	Tatlımsı alkolü	ö.d.
3-metil-bütanol	70*	47,65±6,22	43,30±6,43	48,32±3,43	37,20±3,96	47,12±0,39	45,60±0,71	Şarabımsı tatlı, alkol kokusu	ö.d.
2-metil-bütanol	65*	7,55±2,55	8,22±4,99	7,17±0,46	4,40±1,06	7,37±0,88	5,87±0,53	lyot benzeri, muzumsu, alkol kokusu	ö.d.
Esterler (mg/L)									
Etil asetat	21-30*	28,12±4,35	35,77±1,17	28,80±0,85	29,77±0,95	29,58±5,73	32,02±0,11	Meyvemsi, tatlı	ö.d.
İzoamil asetat	1,6**	0,40±0,07	1,45±0,92	0,37±0,04	0,15±0,07	0,60±0,28	0,35±0	Muzumsu	ö.d.
Serbest VDK (mg/L)									
Serbest 2,3-bütandion	0,07-0,2*	0,02±0	0,03±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	0,03±0,01	Diasetli benzeri, tereyağımsı	ö.d.
Serbest 2,3-pentandion	0,9*	0,00±0	0,01±0,01	0,02±0,02	0,01±0,01	0,01±0,01	0,02±0,01	Diasetli benzeri, meyvemsi	ö.d.

Ö. : Önemli. Aynı satırda farklı harflerle verilen ifadeler Duncan testine göre istatistiksel olarak önemli (p<0,05 seviyesinde) bulunmuştur. ö.d. : Önemli değil (p>0,05 seviyesinde). Çizelgede aynı satırda harflendirme yapılmayan değerler istatistiksel açıdan önemsizdir.

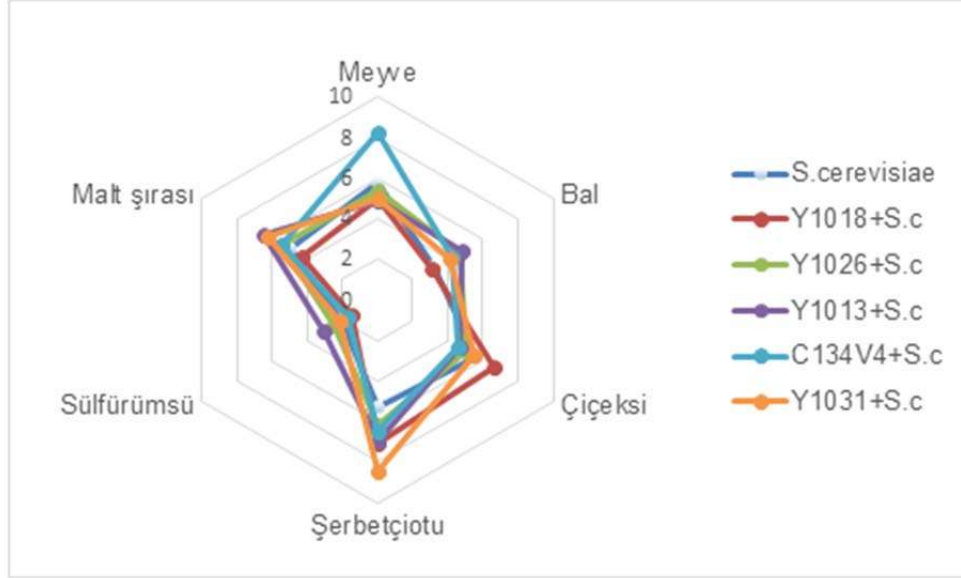
*Tangul ve ark., (2010) **Michel ve ark., (2016)

4.5. Duyusal Analiz

Dinlenme sonrası elde edilen biralar 15'lik puanlama skalası kullanılarak meyve, bal, sülfür, çiçeksi, şerbetçiotu, malt şırası gibi koku karakterleri ve tatlılık, acılık, ekşilik, gövde, genel izlenim gibi tat karakterleri yönünden 8 kişilik panelist grubu tarafından analiz edilmiştir. Kullanılan duyusal analiz formları Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'de verilmiştir. Duyusal analiz sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Bu sonuçlara göre elde edilen örümcek ağı grafikleri Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da verilmiştir.

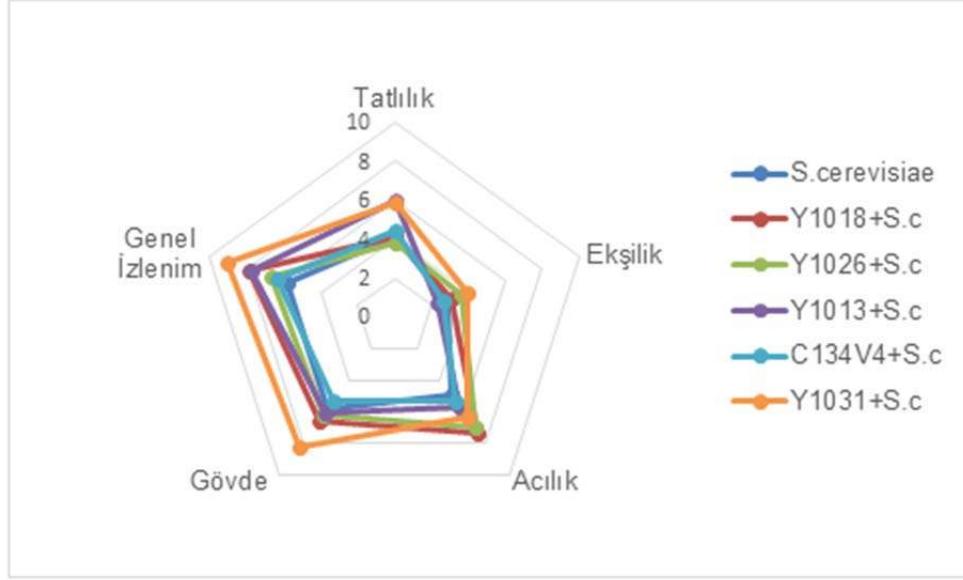
Çizelge 4.7. *S. cerevisiae* ile 5 farklı *T. delbrueckii* suşunun karışık kültür fermantasyonuyla üretilen biraların duyusal analiz sonuçları

Bileşim	<i>S.cerevisiae</i>	S.c. +	S.c. +	S.c. +	S.c. +	S.c. +
		<i>T.d.</i>	<i>T.d.</i>	<i>T.d.</i>	<i>T.d.</i>	<i>T.d.</i>
		Y1018	Y1026	Y1013	C134V4	Y1031
Meyve	5,78±3,25	5±3,55	5,41±2,85	4,87±2,70	8,22±3,40	5,02±2,89
Bal	3,22±3,25	3,12±3,69	4,73±3,69	4,76±3,33	4,28±4,13	4,08±3,03
Çiçeksi	5,58±5,58	6,62±4,08	5,07±1,91	4,66±2,42	4,60±4,01	5,45±2,79
Şerbetçiotu	5,26±2,65	7,11±3,49	6,21±2,84	6,95±3,30	6,45±3,97	8,45±2,54
Sülfürümsü	2,01±2,21	1,48±1,12	2,48±2,20	3,02±3,21	1,75±1,96	2,15±2,06
Malt şırası	4,98±2,31	4,28±2,76	5,43±2,72	6,43±3,13	5,42±3,69	6,26±3,52
Tatlılık	4,13±2,40	4,17±2,37	3,82±2,59	6,01±3,60	4,42±3,99	5,90±3,44
Ekşilik	2,82±2,06	3,12±2,45	3,65±3,25	2,28±1,35	2,63±1,90	3,98±3,50
Acılık	4,97±3,86	7,33±3,74	7,03±4,13	5,72±1,24	5,36±3,31	6,37±3,39
Gövde	5,82±2,40	6,65±2,92	6,26±3,32	6,13±3,22	5,30±1,25	8,26±1,86
Genel izlenim	5,81±2,63	7,83±3,13	6,63±2,87	7,71±3,45	6,35±1,91	9,05±3,03



Şekil 4.5. Duyusal analiz sonuçlarına göre aroma profili örümcek ağı diagramı

Şekil 4.5'te görüldüğü üzere bira örneklerinde meyvemsi aroma karakteri açısından en yüksek puan olan 8,2 ile *T. delbrueckii* C134V4 suşu ile yapılan denemede belirlenmiştir. Bu değere en yakın 5,7 puan ile kontrol örneği izlemiştir. Meyvemsi aroma karakteri olarak en düşük bulunan deneme ise 4,8 ile *T. delbrueckii* Y1013 suşu olmuştur. Denemelerde bal aroması 4,7 puan ile en fazla *T. delbrueckii* Y1013 ve Y1026 suşlarında belirlenirken en az Y1018 suşu ile yapılan denemede gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra çiçeksi aromada denemeler birbirine yakın puan almış olup, en fazla *T. delbrueckii* Y1018 denemesinde belirlenmiştir. Ayrıca *T. delbrueckii* Y1018 denemesinde kontrolden daha yüksek olarak 7,1 puan ile en yüksek şerbetçiotu aroması gözlemlenmiştir. Sülfürümsü aroma tüm denemelerde 3'ün altında puan almıştır. *T. delbrueckii* Y1013 suşunda 6,4 puan ile en yüksek malt şırası aroması gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6. Duyusal analiz sonuçlarına göre lezzet profili örümcek ağı diagramı

Şekil 4.6'da verilen lezzet profil diagramına göre denemelerde tatlılık 6 puan ile en fazla *T. delbrueckii* Y1013 suşunda gözlemlenmiş olup en az 3,8 puanla *T. delbrueckii* Y1026 ile yapılan denemede gözlemlenmiştir. Ekşilik tüm denemelerde 4 puanın altında gözlemlenerek en yüksek 3,9 puan alan *T. delbrueckii* Y1031 suşu ile yapılan deneme olmuştur. Bunun yanında *T. delbrueckii* Y1031 suşu ile yapılan deneme 8,2 puan alarak en gövdeli lezzete sahip olmuştur. *T. delbrueckii* Y1018 ve *T. delbrueckii* Y1026 suşları ile yapılan denemeler sırasıyla 7,3 ve 7 puan alarak acılık lezzet profilinin en yüksek gözlemlendiği denemeler olurken, en düşük gözlemlenen 4,9 puan ile kontrol denemesi olmuştur.

Biraların aroma ve lezzet profili göz önüne alınarak en beğenilen deneme 9 puanla *T. delbrueckii* Y1031 suşu ile yapılan deneme olmuştur. Bunu sırasıyla 7,8 ve 7,7 puanlarını alan *T. delbrueckii* Y1018 ve *T. delbrueckii* Y1013 suşları ile yapılan denemeler izlemiştir. Denemeler arasında en az beğenilen 6,3 puanla *T. delbrueckii* C134V4 suşu ile yapılan deneme olmuştur.

5. SONUÇ

Bu çalışmada bira üretiminde *S. cerevisiae* alt fermantasyon bira mayası yanında 5 farklı *T. delbrueckii* suşu ilavesinin biranın fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri, dolayısıyla kalite üzerine etkisi araştırılmıştır. Ayrıca üretilen biraların aromasında etkili olan bazı bileşikler ve miktarları GC-MS analizleri ile belirlenmiştir ve biralara duyuşsal analiz uygulanmıştır.

Fermantasyonlar 800 mL hacminde olup, 15°C de yürütülmüştür. Her deneme için ikişer paralel yapılmıştır. Karışık kültür fermantasyon denemelerinde aşılama miktarı her bir maya için $0,5 \times 10^7$ hücre/mL'dir. Kontrol olarak kullanılan *S. cerevisiae* alt fermantasyon bira mayası için de aşılama miktarı 1×10^7 hücre/mL'dir. Fermantasyon gidişi yoğunluk ölçümü ile izlenmiştir. Fermantasyon 12. gününde her deneme için tamamlanmış olup, genç bira aktarılarak 4°C'de yaklaşık 1,5 ay dinlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre fermantasyon sonlandırıldığında en düşük toplam maya sayısı kontrol denemesinde görülürken en yüksek maya sayısı 6,84 log kob/mL olup *T. delbrueckii* C134V4 ve Y1013 suşu ile yapılan denemelerde ölçülmüştür. En düşük *Saccharomyces* spp. olmayan maya sayısı 5 log kob/mL ile *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile yapılan karışık kültür fermantasyonunda olurken, en yüksek maya sayısı 6,79 log kob/mL ile *T. delbrueckii* C134V4 suşu ile yapılan denemede belirlenmiştir.

Fermantasyonlar sonlandırıldığında elde edilen biralardaki yoğunluk tüm denemelerde 1,006-1,007 gr/cm³ aralığında ölçülmüştür. Yoğunluk bakımından örnekler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0.05$). Etil alkol miktarı en yüksek kontrol denemesinde elde edilirken, %5,46-%5,93 (h/h) aralığında ölçülmüştür. Buna göre üretilen tüm biralar Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliğinde belirtilen hacmen alkol miktarlarına göre bira sınıfına girmektedir.

Örnekler arasında pH değeri en yüksek *T. delbrueckii* Y1026 denemesinde 4,41 olurken, en düşük değer *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile yapılan denemede 4,27

olarak ölçülmüştür. Öte yandan, pH değeri bakımından denemeler arasındaki farklılık istatistiksel olarak % 5 önem seviyesinde önemli bulunmuştur. En yüksek kuru madde miktarı *T. delbrueckii* Y1031 suşu ile üretilen karışık kültür fermantasyonunda 43,8295 g/L saptanarak, kontrol denemesi olan *S. cerevisiae* ile üretilen saf kültür fermantasyonundan yüksektir. Laktik asit cinsinden toplam asitlik miktarı ise kontrol örneğinde 0,35 g/L olarak ölçülürken, en düşük değer *T. delbrueckii* C134V4 denemesinde olup 0,30 g/L olarak hesaplanmıştır.

Biraların aromasında etkili olan bazı bileşikler ve miktarları Çizelge 4.6'da verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi biraların aroma maddeleri arasında öne çıkan bileşikler asetaldehit, n-propanol, 3-metil-1-bütanol, 2-metil-1-bütanol, etil asetat, izoamil asetat, serbest 2,3-bütandion ve serbest 2,3-pentandion olarak belirlenmiştir. Tüm karışık kültür denemelerinde toplam yüksek alkol ve ester miktarının kontrolden yüksek olduğu görülmüştür. Yeşil elma kabuğu benzeri aroma sağlayan asetaldehit en fazla *S.cerevisiae* ve *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür fermantasyonunda 46,91 mg/L üretilmiştir. 2-metil-bütanol bir diğer adıyla aktif amil alkol en yüksek *T. delbrueckii* Y1018 suşu ile üretilen karışık kültür denemesinde 8,22 mg/L olarak ölçülmüştür. Etil asetat, biraya meyvemsi tatlı bir aroma kazandırır. Yapılan çalışmada tüm denemeler algılama eşiğinin üzerinde sonuç vermiş olup, en yüksek değer *T. delbrueckii* Y1018 suşu karışık kültür denemesinde 35,77 mg/L olarak saptanmıştır. Literatür verileri düşünüldüğünde, bu çalışmada elde edilen etil asetat değerleri ortalamanın üstünde olmuştur. Biraya muz aroması kazandıran izoamil asetat ise tüm denemelerde algılanma eşiğinin altında gözlemlenmiş olup, bu eşiğe yaklaşan en yüksek değer 1,45 mg/L ile *T. delbrueckii* Y1018 suşu karışık kültür denemesinde gözlemlenmiştir. Birada istenmeyen karbonil bileşiklerinden olan diasetil, çok düşük algılanma eşiğine sahiptir ve biraya tereyağ aroması verdiği için istenmez. Bu nedenle biranın aroma profilinde belirleyici bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmada tüm denemelerde elde edilen sonuç algılanma eşiğinin

altındadır. İstenmeyen bir başka bileşik olan 2,3-pentandion, tüm denemelerde algılama eşiğinin altında değerler gözlemlenmiştir.

Dinlenme sonrası elde edilen biralar; meyve, bal, sülfür, çiçeksi, şerbetçiotu, malt şırası gibi koku karakterleri ve tatlılık, acılık, ekşilik, gövde, genel izlenim gibi tat karakterleri yönünden 8 kişilik panelist grubu tarafından analiz edilmiştir. *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. Bu konu üzerinde yapılacak başka çalışmalar konuya açıklık kazandıracaktır.



KAYNAKÇA

- Anderson, R. J., Howard, G. A., 1974. The Origin And Occurrence Of Volatile Sulphur Compounds In British Ales And Lagers, J. Inst. Brew., 80:357–370.
- Anonymous, 1997. Methods of Analysis. The Institute of Brewing, London.
- Back, W., 2009, Microbiology, H.M. Eßlinger, Handbook of Brewing Processes: Technology, Markets, Wiley-VCH, Almany, 477- 490.
- Bamforth, C.W., 2017. Progress in Brewing Science and Beer Production. Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, 8.8: 1-16.
- Barillere, J.M. and Bernard, P., 1986. Exemples D'interpretation de Résultats de Dégustation. Conn. Vigne Vin, 20(3):137-154.
- Basso, R.F., Alcarde, A.R., Portugal, C.B., 2016. Could non-*Saccharomyces* Yeasts Contribute on Innovative Brewing Fermentations?. Food Research International, 86:112-120.
- Cabaroğlu, T., Yılmaztekin, M., 2010, Aroma Biyoteknolojisi, N., ARAN, Gıda Biyoteknolojisi, Nobel, Ankara, 375-392.
- Campbell, L., 1988. Culture, Storage, Isolation and Identification of Yeasts. Yeast- A Practical Approach, Campbell, I. & Priest, F. G., 1-11, Chapman and Hall, London.
- Canbaş, A., 2010, Fermente Alkollü İçecekler, N. ARAN, Gıda Biyoteknolojisi, Nobel, Ankara, 279-307.
- Conanico, L., Agarbatı, A., Comitini, F., Ciani, M., 2016. *Torulaspora delbrueckii* in the Brewing Process: A New Approach to Enhance Bioflavour and to Reduce Ethanol Content. Food Microbiology, 56: 45-51.
- Conanico, L., Comitini, F., Ciani, M., 2017. *Torulaspora delbrueckii* Contribution in Mixed Brewing Fermentations with Different *Saccharomyces cerevisiae* Strains. International Journal of Food Microbiology, 259: 7-13.

- Coote, N., and Kirsop, B. H., 1974. The Content of Some Organic Acids in Beer and Other Fermented Media, J. Inst. Brew., 80: 474–483.
- Engan, S., 1972. Organoleptic Threshold Values Of Some Alcohols And Esters İn Beer, J. Inst. Brew., 78: 33–36.
- Erten, H., Campbell, I., 2001. The Production Of Low-Alcohol Wines By Aerobic Yeasts. Journal of The Institute of Brewing, 107 (4): 207–217.
- Gürgün, V., Halkman, K., 1995. Mikroskopik Sayım Yöntemleri. Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği, 2. Baskı, Ankara.
- Holt, S., Mukherjee, V., Lievens, B., Verstrepen, K.J., Thevelein, J.M., 2018. Bioflavoring By Non-Conventional Yeasts İn Sequential Beer Fermentations, Food Microbiology, 72: 55-66.
- Krogerus, K., Gibson, B. R., 2013. 125th Anniversary Review: Diacetyl and Its Control During Brewery Fermentation, J. Inst. Brew, 119: 86–97.
- Kunze, W., 1999 , Technology Brewing and Malting, VLB Berlin, Almanya, 726.
- Michel, M., Kopecká, J., Meier- Dörnberg, T., Zarnkow, M., Jacob, F., Hutzler, M., 2016a. Screening for New Brewing Yeasts in the non-*Saccharomyces* Sector with *Torulaspora delbrueckii* as Model. Yeast, 32:129-144s.
- Michel, M., Meier- Dörnberg, T., Jacob, F., Methner, F.J., Wagner, R.S., Hutzler, M., 2016b. Review: Pure Non-*Saccharomyces* Starter Cultures for Beer Fermentation with A Focus on Secondary Metabolites and Practical Applications. J. Inst. Brew., 122: 569- 587.
- Onoğur, T.A., Elmacı, Y., 2015, Gıdalarda Duyusal Değerlendirme, Sidas Medya Ltd. Şti., 2015, 134s.
- Özdamar, K., 2011. Paket Programlar İle İstatistiksel Veri Analizi. Kaan Kitabevi, Eskişehir, 535 s.
- Padilla, B., Gıl, J.V., Manzanares, P., 2016. Past and Future of Non-*Saccharomyces* Yeasts: From Spoilage Microorganisms to Biotechnological Tools for Improving Wine Aroma Complexity, Front. Microbiol., 7:141.

- Pires, E. J., Teixeira, J. A., Brányik, T., Vicente, A. A. ,2014. Yeast: The Soul of Beer's Aroma – A Review of Flavour-Active Esters and Higher Alcohols Produced By The Brewing Yeast, Appl. Microbiol. Biotechnol. 98:1937–1949.
- Pozippe, T., Portugal, C., Poletto, L., Bortoletto, A., And Alcarde, A., 2015. Non-*Saccharomyces* For Improving The Sensorial Richness in Speciality Beers,VII Simpósio de Microbiologia Aplicada, https://www.researchgate.net/profile/Caure_Portugal/publication/276921644_NonSaccharomyces_for_improving_the_sensorial_richness_in_specialty_beers/links/555bed5108ae91e75e76a0e0/Non-Saccharomyces-for-improving-the-sensorial-richness-in-specialty-beers.pdf), Alıntı tarihi: 20/03/2019.
- Schneider, R., Rauzungs, A., Augier, C., And Baumes,R. 2001. Monoterpenic and Norisoprenoid Glycoconjugates of *Vitis vinifera* L. Cv. Melon B. As Precursors of Odorants in Muscadet Wines, Journal of Chromatography A, 936:145-157.
- Steensels, J., Verstrepen, K.J., 2014. Taming Wild Yeast: Potential of Conventional and Nonconventional Yeasts in Industrial Fermentations. Annual Review of Microbiology, 68: 61-80s.
- Stewart, G.G., 2016. *Saccharomyces* Species in the Production of Beer. Beverages, 2.34: 1-18.
- Takoi, K., Koie, K., Itoga, Y., Katayama, Y., Shimase, M., Nakayama, Y., Watari, J., 2010. Biotransformation of Hop-Derived Monoterpene Alcohols By Lager Yeast and Their Contribution To The Flavor of Hopped Beer, J. Agric. Food Chem., 58: 5050–5058.
- Tangüler, H., Erten, H., Cabaroğlu, T., 2010. Birada Bulunan Aroma Maddeleri, Gıda, 35(6): 453-460.

- 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>), Alıntı tarihi: 12/01/2019.
- Türker, İ., Canbaş, A., 1995. Malt ve Bira Teknolojisi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi, Genel Yayın No: 4 Ders Kitapları Yayın No: 2, Adana.
- Valera, C., Borneman, A.R., 2017. Yeasts Found in Vineyards and Wineries. Yeast, 34: 111-128.
- Varela, C., 2016. The Impact of Non-*Saccharomyces* Yeasts in the Production of Alcoholic Beverages. Appl. Microbiol. Biotechnol., 100: 9861- 9874.
- Wright, J., 2010, A.J, Taylor, R.S.T, Linfoth, Creating and Formulating Flavors, Food Flavor Technology, John Wiley and Sons Ltd., Birleşik Krallık, 1-23.

ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında Adana’da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Adana’da, lise öğrenimini İstanbul’da tamamladı. 2011 yılında Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünü kazandı ve 2016 yılında bölüm 2.si olarak mezun oldu. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı.

