

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**FARKLI BİRALARDA PROSES AŞAMALARININ FENOLİK BİLEŞİM  
VE ANTİOKSİDAN AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**Özlem YALÇINÇIRAY**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2016**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Özlem YALÇINÇIRAY tarafından hazırlanan “**Farklı Biralarda Proses Aşamalarının Fenolik Bileşim ve Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. R. Ertan ANLI

Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Nevzat ARTIK

Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. R. Ertan ANLI

Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Hami ALPAS

Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Üye : Prof. Dr. Recai Ercan

Ankara Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Alev BAYINDIRLI

Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim DEMİR**

**Enstitü Müdür V.**

## ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

26/12/2016

Özlem YALÇINÇIRAY

## ÖZET

Doktora Tezi

### FARKLI BİRALARDA PROSES AŞAMALARININ FENOLİK BİLEŞİM VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTE ÜZERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Özlem YALÇINÇIRAY

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. R. Ertan ANLI

Bu çalışmada, arpadan üretilen klasik malt, %100 malt, düşük alkollü, yüksek alkollü, aromatik ve ithal malt biralarının çeşitli kimyasal özellikleri, antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik madde içerikleri ve fenolik dağılımları gibi parametrelerin, bira üretim prosesi aşamalarından olan kaynatma, filtrasyon ve pastörizasyon sürecinden ne düzeyde etkilendikleri araştırılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre; prosesin her aşamasında en yüksek fenolik madde miktarının yüksek alkollü malt bira örneğinde, en düşük miktarının ithal malt bira örneğinde olduğu saptanmıştır. Kaynatma işlemi boyunca toplam fenolik madde miktarında en fazla oranda artışın %10.46 ile aromalı malt bira sırası örneğinde, en az artışın %1.99 ile düşük alkollü malt bira sırasında olduğu belirlenmiştir. Filtrasyon aşaması incelendiğinde ise en fazla azalmanın %28.41 ile ithal malt birasında, en az azalmanın %8.30 ile yüksek alkollü birada olduğu saptanmıştır. Pastörizasyon işlem basamağı incelendiğinde tüm çeşitlerde istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir. Çalışmada kullanılan bütün şıra ve bira örneklerinde; kaynatma başlangıç basamağından trap-filtre sonuna kadar en fazla bulunan fenolik bileşiğin (+)-kateşin; trap-filtre çıkışından pastörizasyon işlem sonuna kadar ise gallik asit olduğu belirlenmiştir. Bira üretim prosesi genelinde gallik asit ve (+)-kateşinden sonra en fazla bulunan fenolik bileşiklerin; şirincik asit, (-)-epikateşin, protokateşik asit ve ferulik asit olduğu saptanmıştır. Biralarda Trolox eşdeğeri olarak belirlenen antioksidan aktivitenin, kaynatma işleminde %4.17 - %24.16 oranında artış, filtrasyon basamağında %4.16 - %20.72 arasında değişim ve pastörizasyon işleminde ise % 0.36 - %5.40 arasında azalma gösterdiği belirlenmiştir.

**Şubat 2016, 254 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Bira, Fenolik Bileşenler, Antioksidan Aktivite, Proses Aşamaları

## **ABSTRACT**

Ph. D. Thesis

### **DETERMINATION OF THE EFFECT OF PROCESSING STAGES ON THE PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT KINDS OF BEERS.**

Özlem YALÇINÇIRAY

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. R. Ertan ANLI

Effects of processing steps of boiling, filtration and pasteurisation on parameters such as various chemical characteristics, antioxidant activity, total phenolic content and phenolic distribution of different types of beer produced from barley (classical malt beer, 100% malt beer, overproof malt beer, underproof malt beer, aromatic malt beer and imported malt beer) were investigated in this study.

Results showed that; when beer samples were compared, the highest total phenolic content was in overproof malt beer; whereas the lowest total phenolic content was in imported malt beer as determined in each processing step. During the boiling step, the highest increase in total phenolic content was in aromatic malt beer with a ratio of 10.46%. The minimum increase was determined in underproof malt beer as a ratio of 1.99 % in the boiling step. During the filtration step, the highest increase in total phenolic content was identified to be in imported malt beer with a ratio of 28.41%, while the minimum increase was in overproof malt beer with the ratio of 8.30 %. No statistically significant differences were determined in the pasteurization step, all beer types. The initial step of boiling, until the end of the trap-filter, (+)-catechin; after trap-filter to the end, gallic acid were the most abundant phenolic compounds in all kinds of beer used in the study. Besides (+)-catechin and gallic acid, syringic acid, (-)-epicatechin, protocatechuic acid and ferulic acid were the most abundant phenolic compounds. Antioxidant activities of all beer samples were determined to increase between 4.17%-24.16% during the boiling step, variation between 4.16%-20.72% during filtration and decrease between 0.36%- 5.40% in pasteurization step.

**February 2016, 254 pages**

**Key Words:** Beer, Phenolic Compounds, Antioxidant Activity, Processing Stages

## TEŞEKKÜR

Her şeyden önce gerek maddi gerekse manevi anlamda benden hiçbir desteğini esirgemeyen biricik annem, babam ve aileme tüm kalbimle sonsuz teşekkürler. Tezimin gerçekleştirilmesi ve örneklerimin temini sırasında desteklerini esirgemeyen Anadolu Efes Bira ve Malt San. A.Ş.'ye, Efes Pilsen Kalite Yöneticisi Gülsen HANEDAR ÇOPUROĞLU'na, Efes Pilsen Üretim Mühendisi Emre YAKAN'a, Efes Pilsen Bira Üretim Yöneticisi Mehmet ERHAN'a ve Efes Pilsen Fabrika Müdürü Cengiz YAĞMUR'a ve laboratuvar kimyageri Koray GÜZEL'e teşekkürü borç bilirim. Ayrıca desteklerini sürekli hissettiğim sevgili ANT Teknik ailesine; her kapısını çaldığımda desteğini esirgemeyen Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZKAN'a; moral ve motivasyon konusunda ellerinden geleni yapan Berrak ÖZİŞİK'a, Gönül PAÇACI'ya ve benden desteklerini esirgemeyen tüm dostlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca bu doktora tezinin planlanması, hazırlanması ve yürütülmesi sırasında değerli bilgi ve katkılarıyla bana yol gösteren sevgili hocam Nilüfer VURAL'a, danışman hocam Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. R. Ertan ANLI'ya, tezin yürütülmesi sırasında yapmış oldukları katkılardan dolayı Tez İzleme Komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. Nevzat ARTIK ve Sayın Prof. Dr. Hami ALPAS'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, “Farklı biralarda proses aşamalarının fenolik bileşim ve antioksidan aktivite üzerine etkisinin belirlenmesi (13B4343010)” konulu proje Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörü-BAP tarafından desteklenmiştir.

Özlem YALÇINÇIRAY

Ankara, Aralık 2016

## İÇİNDEKİLER

### TEZ ONAY SAYFASI

|                                                                            |      |
|----------------------------------------------------------------------------|------|
| ETİK .....                                                                 | i    |
| ÖZET .....                                                                 | ii   |
| ABSTRACT .....                                                             | iii  |
| TEŞEKKÜR .....                                                             | iv   |
| SİMGELER DİZİNİ .....                                                      | ix   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                      | x    |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                    | xiii |
| 1. GİRİŞ .....                                                             | 1    |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ .....                                                   | 3    |
| 2.1 Bira Tanımı ve Tarihçesi .....                                         | 3    |
| 2.2 Bira Hammaddeleri .....                                                | 7    |
| 2.2.1 Su .....                                                             | 7    |
| 2.2.2 Malt ve Malt katkıları.....                                          | 8    |
| 2.2.3 Şerbetçi Otu .....                                                   | 10   |
| 2.2.4 Maya .....                                                           | 12   |
| 2.3 Bira Üretimi.....                                                      | 13   |
| 2.4 Fenolik Bileşikler ve Oluşumları .....                                 | 26   |
| 2.5 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması.....                            | 30   |
| 2.5.1 Fenolik asitler .....                                                | 32   |
| 2.5.2 Flavonoidler (Flavan türevleri).....                                 | 33   |
| 2.5.2.1 Antosiyanidinler .....                                             | 34   |
| 2.5.2.2 Flavonlar ve flavonoller .....                                     | 35   |
| 2.5.2.3 Flavanonlar .....                                                  | 36   |
| 2.5.2.4 Flavan-3-oller (kateşinler), proantosiyanidinler ve tanenler ..... | 37   |
| 2.5.2.5 İzoflavonlar .....                                                 | 39   |

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6 Birada Fenolik Bileşikler .....                                               | 40 |
| 2.7 Bira Üretim Prosesinin Biradaki Fenolik Bileşiklere Etkisi .....              | 47 |
| 2.8 Antioksidan Aktivite .....                                                    | 56 |
| 2.9 Birada Antioksidan Aktivite .....                                             | 61 |
| 2.10 Bira Üretim Prosesinin Biranın Antioksidan Aktivitesine Etkisi.....          | 65 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM.....                                                        | 70 |
| 3.1 Materyal .....                                                                | 70 |
| 3.2 Yöntem .....                                                                  | 72 |
| 3.2.1 Örneklerin üretimi.....                                                     | 72 |
| 3.2.2 Şıra ve bira analizleri.....                                                | 74 |
| 3.2.2.1 Toplam kuru madde tayini.....                                             | 74 |
| 3.2.2.2 Suda çözünür kuru madde tayini .....                                      | 74 |
| 3.2.2.3 Özgül ağırlık (yoğunluk) tayini.....                                      | 74 |
| 3.2.2.4 Genel (toplam) asitlik tayini.....                                        | 74 |
| 3.2.2.5 pH değeri tayini.....                                                     | 75 |
| 3.2.2.6 İndirgen şeker tayini .....                                               | 75 |
| 3.2.2.7 Alkol tayini.....                                                         | 75 |
| 3.2.2.8 Renk (bulanıklık) tayini.....                                             | 75 |
| 3.2.2.9 Antioksidan aktivite belirlenmesi (DPPH radikal scavenging activity)..... | 76 |
| 3.2.2.10 Toplam fenol bileşikleri tayini .....                                    | 77 |
| 3.2.2.11 Fenolik bileşenlerin dağılımı .....                                      | 77 |
| 3.2.2.11.1 Standartların hazırlanması .....                                       | 78 |
| 3.2.2.11.2 Örneklerin hazırlanması .....                                          | 78 |
| 3.2.2.12 İstatistiksel analiz.....                                                | 80 |
| 4. BULGULAR .....                                                                 | 81 |
| 4.1 Şıra ve Biralarda Genel Kimyasal Analizleri .....                             | 81 |
| 4.1.1 Kaynatma işlem basamağında şıraların genel kimyasal analizleri .....        | 84 |
| 4.1.2 Filtrasyon işlem basamağında biralarda genel kimyasal analizleri .....      | 97 |

|                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.1.3 Pastörizasyon işlem basamağında biraların genel kimyasal analizleri.....                                           | 111 |
| 4.2 Toplam Fenolik Madde Tayini .....                                                                                    | 122 |
| 4.3 Bazı Fenolik Bileşiklerin Dağılımının Tayini .....                                                                   | 137 |
| 4.4 Antioksidan Aktivite tayini .....                                                                                    | 181 |
| 5. SONUÇ.....                                                                                                            | 202 |
| KAYNAKLAR .....                                                                                                          | 205 |
| EKLER.....                                                                                                               | 222 |
| EK 1 Gallik asit standart kurvesi .....                                                                                  | 224 |
| EK 2 (+) – kateşin standart kurvesi.....                                                                                 | 225 |
| EK 3 Vanilik asit standart kurvesi .....                                                                                 | 226 |
| EK 4 Şirincik asit standart kurvesi .....                                                                                | 227 |
| EK 5 (-)- epikateşin standart kurvesi .....                                                                              | 228 |
| EK 6 Protokateşuik asit standart kurvesi.....                                                                            | 229 |
| EK 7 Kafeik asit standart kurvesi .....                                                                                  | 230 |
| EK 8 p-kumaric asit standart kurvesi .....                                                                               | 231 |
| EK 9 Ferulik asit standart kurvesi .....                                                                                 | 232 |
| EK 10 Kuersetin standart kurvesi .....                                                                                   | 233 |
| EK 11 Toplam fenol tayininde kullanılan gallik asit standart kurvesi .....                                               | 234 |
| EK 12 Antioksidan aktivite belirlemede kullanılan Trolox standart kurvesi .....                                          | 235 |
| EK 13 Klasik malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi ....                                          | 236 |
| EK 14 %100 malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi .....                                           | 237 |
| EK 15 Yüksek alkollü malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde<br>değişimi.....                               | 238 |
| EK 16 Düşük alkollü malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde<br>değişimi.....                                | 239 |
| EK 17 Aromalı malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi .                                            | 240 |
| EK 18 İthal malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi .....                                          | 241 |
| EK 19 Klasik malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan<br>aktivite %inhibisyon sonuçları değişimi ..... | 242 |

|                                                                                                                                                  |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>EK 20 %100 malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite %inhibisyon sonuçları değişimi .....</b>                       | <b>243</b> |
| <b>EK 21 Yüksek alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları değişimi .....</b>            | <b>244</b> |
| <b>EK 22 Düşük alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları değişimi .....</b>             | <b>245</b> |
| <b>EK 23 Aromalı malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite %inhibisyon sonuçları değişimi .....</b>                    | <b>246</b> |
| <b>EK 24 İthal malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite %inhibisyon sonuçları değişimi .....</b>                      | <b>247</b> |
| <b>EK 25 Klasik malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim.....</b>         | <b>248</b> |
| <b>EK 26 %100 malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim.....</b>           | <b>249</b> |
| <b>EK 27 Yüksek alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim.....</b> | <b>250</b> |
| <b>EK 28 Düşük alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim.....</b>  | <b>251</b> |
| <b>EK 29 Aromalı malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim.....</b>        | <b>252</b> |
| <b>EK 30 İthal malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim.....</b>          | <b>253</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                                                                                                             | <b>254</b> |

## SİMGELER DİZİNİ

|                   |               |
|-------------------|---------------|
| -OH               | Hidroksil     |
| -OCH <sub>3</sub> | Metil         |
| CO <sub>2</sub>   | Karbondioksit |

### **Kısaltmalar**

|        |                                                          |
|--------|----------------------------------------------------------|
| COMT   | Kaffeic/5-hidroksiferulik asit <i>O</i> -metiltransferaz |
| DPPH   | 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil                             |
| ESI-MS | Elektrosprey iyonisasyon - kütle spektrometrisi          |
| FRAP   | Demir (III) indirgeyici antioksidan güç                  |
| GAE    | Gallik asit eşdeğeri                                     |
| PAL    | Fenilalanin amonyaliaz                                   |
| HPLC   | Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi                      |
| TAL    | Tirozin amonyaliaz                                       |
| PVPP   | Polivinilpolipirrolidon                                  |
| ROS    | Reaktif oksijen türleri                                  |
| TEAC   | Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite                    |
| TROLOX | 6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametil-chroman-2-karboksilik asit |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 2.1 Bira üretimi akış diagramı .....                                                   | 16  |
| Şekil 2.2 Biradaki başlıca şerbetçi otu acılık bileşenleri.....                              | 20  |
| Şekil 2.3 Fenol Halkası .....                                                                | 26  |
| Şekil 2.4 Fenolik bileşiklerin sentezi .....                                                 | 27  |
| Şekil 2.5 Basit fenolik bileşiklerin ikame modellerinin terminolojisi .....                  | 28  |
| Şekil 2.6 Bitkilerdeki temel fenolik bileşik grupları.....                                   | 31  |
| Şekil 2.7 Fenolik asitlerin genel yapısı .....                                               | 32  |
| Şekil 2.8 flavonoidlerin genel yapısı.....                                                   | 33  |
| Şekil 2.9 Flavonoid gruplarının yapısal özellikleri .....                                    | 34  |
| Şekil 2.10 Antosiyanidinler ve antosiyanin pigmentlerinin yapısı .....                       | 35  |
| Şekil 2.11 Flavonoller ve flavonların kimyasal yapıları .....                                | 36  |
| Şekil 2.12 Flavanon yapısı .....                                                             | 36  |
| Şekil 2.13 Kateşinlerin yapıları.....                                                        | 37  |
| Şekil 2.14 Tanen çeşitleri.....                                                              | 39  |
| Şekil 2.15 İzoflavonoidlerin yapısal formülleri .....                                        | 39  |
| Şekil 2.16 Birada önem arz eden temel polifenoller .....                                     | 42  |
| Şekil 2.17 Proses basamakları sırasında fenolik bileşenlerin değişimi.....                   | 52  |
| Şekil 2.18 Fenolik antioksidanların sınıflanması .....                                       | 60  |
| Şekil 3.1 Bira üretimi için uygulanan akım şeması .....                                      | 73  |
| Şekil 3.2 DPPH serbest radikali ile antioksidan molekülü tepkimesi ve DPPH oluşumu .....     | 76  |
| Şekil 4.1 Bira örneklerinin kaynatma işlem basamağında toplam fenolik madde değişimi .....   | 125 |
| Şekil 4.2 Bira örneklerinin filtrasyon işlem basamağında toplam fenolik madde değişimi ..... | 130 |

|                                                                                                                                       |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 4.3 Bira örneklerinin pastörizasyon işlem basamağında toplam fenolik madde değişimi .....                                       | 134 |
| Şekil 4.4 Fenolik Standartların 260 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramı .....                                                        | 138 |
| Şekil 4.5 Fenolik Standartların 280 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramı .....                                                        | 138 |
| Şekil 4.6 Fenolik Standartların 320 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramı .....                                                        | 139 |
| Şekil 4.7 Fenolik Standartların 360 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramı .....                                                        | 139 |
| Şekil 4.8 %100 malt bira şirasının kaynatma başında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları .....                           | 140 |
| Şekil 4.9 %100 malt bira şirasının kaynatma sonunda 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları .....                           | 140 |
| Şekil 4.10 %100 malt bira şirasının soğutma basamağında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları.....                        | 141 |
| Şekil 4.11 Klasik, %100 ve yüksek alkollü malt bira şirası örnekleri için kaynatma işlem basamaklarında fenolik madde dağılımı .....  | 152 |
| Şekil 4.12 Düşük alkollü, aromalı ve ithal malt bira şirası örnekleri için kaynatma işlem basamaklarında fenolik madde dağılımı ..... | 152 |
| Şekil 4.13 %100 malt birasının Kieselguhr filtre girişinde 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları.....                     | 154 |
| Şekil 4.14 %100 malt birasının Kieselguhr filtre çıkışında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları.....                     | 155 |
| Şekil 4.15 %100 malt birasının PVPP filtre çıkışında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları.....                           | 155 |
| Şekil 4.16 %100 malt birasının çekme tankında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları .....                                 | 156 |
| Şekil 4.17 Klasik, %100 ve yüksek alkollü malt birası örnekleri için filtrasyon işlem basamaklarında fenolik madde dağılımı .....     | 164 |
| Şekil 4.18 Düşük alkollü, aromalı ve ithal malt birası örnekleri için filtrasyon işlem basamaklarında fenolik madde dağılımı .....    | 164 |
| Şekil 4.19 %100 malt birasının pastörizasyon öncesinde 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları.....                         | 167 |

|                                                                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 4.20 %100 malt birasının pastörizasyon sonrasında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları .....                           | 167 |
| Şekil 4.21 Klasik, %100 ve yüksek alkollü malt birası örnekleri için pastörizasyon işlem basamağında fenolik madde dağılımı .....         | 176 |
| Şekil 4.22 Düşük alkollü, aromalı ve ithal malt birası örnekleri için pastörizasyon işlem basamağında fenolik madde dağılımı .....        | 177 |
| Şekil 4.23 Şıra örneklerinin kaynatma işlem işlem basamağında DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite .....   | 187 |
| Şekil 4.24 Bira örneklerinin filtrasyon işlem işlem basamağında DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite ..... | 194 |
| Şekil 4.25 Bira örneklerinin pastörizasyon işlem basamağında DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite .....    | 199 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                    |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Çizelge 3.1 Örneklerin üretiminde kullanılan arpaların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....                  | 70  |
| Çizelge 3.2 Fenolik bileşikler için gradient sistem çözücü akış konsantrasyonu .....                               | 79  |
| Çizelge 3.3 Fenolik asit standartlarına ait alıkonma zamanı, maksimum absorbans ve $R^2$ değerleri .....           | 80  |
| Çizelge 4.1 Bira çeşitlerinin son ürünlerinin genel kimyasal özellikleri .....                                     | 82  |
| Çizelge 4.2 Kaynatma işlem basamağında klasik malt bira sırası örneğine ait genel kimyasal özellikler .....        | 86  |
| Çizelge 4.3 Kaynatma işlem basamağında %100 malt bira sırası örneğine ait genel kimyasal özellikler .....          | 87  |
| Çizelge 4.4 Kaynatma işlem basamağında yüksek alkollü malt bira sırası örneğine ait genel kimyasal özellikler..... | 89  |
| Çizelge 4.5 Kaynatma işlem basamağında düşük alkollü malt bira sırası örneğine ait genel kimyasal özellikler.....  | 90  |
| Çizelge 4.6 Kaynatma işlem basamağında aromalı malt bira sırası örneğine ait genel kimyasal özellikler.....        | 91  |
| Çizelge 4.7 Kaynatma işlem basamağında ithal malt bira sırası örneğine ait genel kimyasal özellikler .....         | 92  |
| Çizelge 4.8 Filtrasyon işlem basamağında klasik malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....             | 99  |
| Çizelge 4.9 Filtrasyon işlem basamağında %100 malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....               | 101 |
| Çizelge 4.10 Filtrasyon işlem basamağında yüksek alkollü malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler.....     | 103 |
| Çizelge 4.11 Filtrasyon işlem basamağında düşük alkollü malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler.....      | 104 |
| Çizelge 4.12 Filtrasyon işlem basamağında aromalı malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....           | 106 |
| Çizelge 4.13 Filtrasyon işlem basamağında ithal malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....             | 108 |

|                                                                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Çizelge 4.14 Pastörizasyon işlem basamağında klasik malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....                           | 112 |
| Çizelge 4.15 Pastörizasyon işlem basamağında %100 malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....                             | 114 |
| Çizelge 4.16 Pastörizasyon işlem basamağında yüksek alkollü malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....                   | 115 |
| Çizelge 4.17 Pastörizasyon işlem basamağında düşük alkollü malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....                    | 116 |
| Çizelge 4.18 Pastörizasyon işlem basamağında aromalı malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....                          | 117 |
| Çizelge 4.19 Pastörizasyon işlem basamağında ithal malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler .....                            | 119 |
| Çizelge 4.20 Kaynatma işlem basamağında bira sırası örneklerinde toplam fenolik madde analiz sonuçları.....                          | 122 |
| Çizelge 4.21 Filtrasyon işlem basamağında bira örneklerinde toplam fenolik madde analiz sonuçları .....                              | 127 |
| Çizelge 4.22 Pastörizasyon işlem basamağında bira örneklerinde toplam fenolik madde analiz sonuçları.....                            | 132 |
| Çizelge 4.23 Kaynatma işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi.....                                                      | 143 |
| Çizelge 4.24 Filtrasyon işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi .....                                                   | 157 |
| Çizelge 4.25 Pastörizasyon işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi .....                                                | 168 |
| Çizelge 4.26 Kaynatma işlem basamağında sıra örneklerinde DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan aktivite.....   | 183 |
| Çizelge 4.27 Filtrasyon işlem basamağında bira örneklerinde DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite..... | 189 |
| Çizelge 4.28 Pastörizasyon işlem basamağında bira DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite.....           | 196 |

## 1. GİRİŞ

İnsanoğlunun ürettiği en eski içeceklerden biri olan bira, en yaygın, en ucuz ve en sevilen içeceklerden birisidir. Dünya’da alkollü içecek tüketiminin oldukça önemli bir kısmını oluşturmaktadır. 2012 yılı itibariyle Avrupa’da yıllık bira tüketimi yaklaşık 400 milyon hektolitreye civarındayken, ülkemizde bu değer yaklaşık yıllık 9.3 milyon hektolitreye civarında olmaktadır (Anonim 2011, Lichota 2012).

Bira, arpanın çimlendirilip kurutulması ile elde edilen maltın, su ile belli koşullar altında mayşelenmesi ve elde edilen şıranın, şerbetçiotu ile kaynatıldıktan sonra, alkol fermentasyonuna bırakılması sonucu oluşan, alkol ve CO<sub>2</sub> içeren bir içkidir (Türker ve Canbaş 1991).

Genel olarak bira üretimi üç aşamada gerçekleştirilmektedir. Bu aşamalar sırası ile malt üretimi, mayşeleme ve fermentasyon aşamalarıdır. Bu aşamaların her bir basamağında gerçekleşen reaksiyonlar sonucunda bira ham maddesi olan arpadan, son ürün olan biraya dönüşüm gerçekleşmekte ve bu sırada fiziksel yapı, kimyasal yapı, fenolik ve antioksidan içerikte pek çok değişim görülmektedir (Hough vd. 1982, Türker ve Canbaş 1991, Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003). Bu şekilde üretilen biralarda alkol oranı genellikle hacmen %3-5.5 düzeyinde olmakla birlikte, bazı özel üretim proseslerine bağlı olarak hacmen %12-13 alkol düzeyine çıkılabilmektedir (Nelson 2005).

Orijinal ekstraktı ağırlıkça %12 olan bir bira içeriğinin ağırlıkça %4.0- 4.5 kadarını ekstrakt (%80-85 karbonhidrat, %4.5 - 5.2 protein, %3.5 gliserin, %3-4 mineraller, %2-3 tanenler, acılık bileşenleri ve renk maddeleri, %0.7-1 organik asitler ve çok az miktarda da vitamin), ağırlıkça %3.8-4.2 (hacmen % 4.7-5.2)’sini alkol, ağırlıkça %0.42 – 40.55’ini CO<sub>2</sub> ve %90-92 kadarını da su oluşturmaktadır. Ayrıca, bira içeriğinde yüksek alkoller (60-120 mg/L), uçucu organik asitler olan asetik asit (120-200 mg/L), formik asit (20 mg/L) ve esterler (20-50 mg/L), aldehitler (5-10 mg/L), toplam diasetil

(0.10 mg/L'den daha az) ve asetoin (3.0 mg/L'den daha az) de bulunmaktadır (Akman ve Yazıcıoğlu 1962, Gresser 2009, Gerhäuser ve Becker 2009).

Fenolik bileşikler; yapılarında aromatik halka ve işlevsel bir hidroksil grubu içeren, bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitlerdir (Saldamlı 2007). Bira üretim aşamalarında; arpa, malt ve şerbetçiotu kaynaklı fenolik bileşenler polimerize olarak, biranın aroma, gövde, doygunluk, burukluk ve renk yapısına katkıda bulunurlar (Shahidi ve Nacz 2004). Bununla birlikte birada bulunan polifenoller, bira içerisinde proteinler ile olan etkileşimleri sonucu koloidal stabilite üzerine etkili olurlar. Ayrıca, oksidasyona karşı olan koruyucu etkileri ile de flavor stabilitesi üzerine etkilidir (Leiper ve Miedl 2009).

Antioksidant maddeler serbest radikaller ile reaksiyona girerek otooksidasyonu önleyen bileşiklerdir. Bazı fenolik bileşikler yapısal polimerler olup aynı zamanda antioksidant gibi işlev gösterebilmekte, enzimleri inhibe edebilmekte, serbest radikalleri süpürmekte ve yeni radikallerin oluşumunu baskılayabilmektedir (Engert 2011).

Bira; zengin fenolik içeriğinden dolayı antioksidan özellik gösteren içecekler sınıfındadır. İçerdiği önemli miktardaki proantosiyanidinler, epikateşin ve ferulik asit nedeniyle yüksek düzeyde antioksidan aktivite gösterebilmektedir. Ancak, birada bulunan fenolik bileşikler aynı zamanda bulanıklığa neden olarak biranın stabilitesini bozmaları nedeniyle, üretim prosesi sırasında bira içeriğinden ayrılmaktadır (Szwajgier vd. 2005, Munroe 2006b). Fenolik bileşiklerin biradan hangi oranda ayrılacağına ayarlanması ve dengenin sağlanması önem taşımaktadır.

Bu çalışmada malttan üretilen altı farklı bira tipinde bira üretim aşamalarının, özellikle kaynatma, filtrasyon ve pastörizasyon aşamalarında; antioksidan kapasite ve fenolik bileşiklerdeki değişimler istatistiksel olarak belirlenerek farklı bira tiplerinde prosesin, biranın antioksidan ve fenolik içeriğine etkisini ortaya çıkarmak amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Bira Tanımı ve Tarihçesi

Günümüzde çay ve sudan sonra en çok tüketilen içecek biradır. En basit tanımı ile bira; malt, şerbetçi otu ve su karışımına mayaların eklenmesi ve fermantasyonu sonucunda oluşan, CO<sub>2</sub> içeren alkollü içecektir. Türk gıda kodeksi bira tebliğine göre ise bira; “Sadece maltın veya malt ve ekstrakt maddelerinin öğütölüp, 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 çözönmüş halde karbondioksit bulunan bulanık veya berrak içki” şeklinde tanımlanmaktadır (Anonim 2006).

Biralar genel olarak yapıllşlarına, ekstrakt miktarlarına, çeşitlerine ve tiplerine göre sınıflandırılırlar. Yapılışlarına göre biralar alt (lager) ve üst (ale) fermantasyon biraları; ekstrakt miktarına göre %2-5, %7-8, %11-14, %16 olarak sınıflanırken çeşidine göre yapılan sınıflamada biralar ticarete kullanılmalarına göre özel bira, ihraç birası, diyet birası ve besin birası şeklinde sınıflandırılırlar. Tipe göre sınıflama ise biraların üretildiğı bölgeye özgü renk, acılık, tat gibi özellikler açısından karaktere göre yapılır. Bu sınıflamaya göre biralar Münih Tipi, Dortmund Tipi, Pilsen Tipi şeklinde sınıflanır (Türker 1974, Özçelik 2008).

Bira tarihinin ne zaman başladığı hemen hemen tüm alkollü içeceklerde olduğu gibi tam olarak bilinmemekle birlikte insanlık tarihi kadar eski olduğu tahmin edilmektedir. Biracılığın, tarımın gelişmesi ile birlikte tahıllardan yan ürün olarak biranın elde edilmesi ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (Anderson 2006).

Biranın neolitik çağlarda açıkta bırakılan meyve, tahıl, bal, süt ve su karışımının yabani mayaların kontrolsüz fermantasyonuyla ortaya çıktığı varsayımına karşılık, bir diğerk görüşe göre maltlama işleminin; tahılların daha lezzetli ve besleyici olması, ekmek ya

da lapa halinde daha kolay korunabilmesi için bulunduğu ve maltlama ile elde edilen karışımın fermentasyonu sonucunda biranın keşfedildiği yönündedir (Nelson 2005).

Biracılığa ait ilk kimyasal kanıtlar İran'ın batısında Zagros dağları eteklerine kurulu Godin Tepe kasabasında bulunan M.Ö. 5500 yıllarından kalma çömlleklerin içindeki okzalot kristalleridir. Biracılığa ait ilk yazılı belgeler ise Sümerliler zamanından kalan M.Ö. 5000 yıllarında yazılmış bira üretimi ve tüketimini anlatan kil tabletler olduğundan, çoğunlukla kabul edilen biracılık tarihi; Irak'ın güneydoğusunda bulunan Mezapotamya bölgesindeki Sümerliler ile başlamaktadır (Barth 2013). Bu dönemde bira mitoloji, din ve tıp ile ilişkilendirilmiş ve bira tüketimi toplumda kendine geniş bir yer bulmuştur (Hornsey 2003).

Sümerliler döneminde bira yapılırken arpa henüz çimlendirilmeden kullanılmıştır. Arpanın çimlendirilerek kullanılması ve günümüzdekine yakın bira üretimi ise M.Ö.3700'lü yıllarda Babil ve Mısırdaki başlamıştır. Bu dönemde bira insanların yaşam kültüründe önemli bir yer tutmuştur (Bamforth 2008).

Eski Mısır ve Mezapotamya bölgesinde birbirinden bağımsız şekilde keşfedilen bira, gerek toplumların birbirleriyle etkileşimleri sayesinde, gerekse ticaret aracı olarak ülkeler arasında da kullanılmaya başlanması nedeniyle öncelikle Yunanlılara ve Romalıları onlardan da Keltlere ve Almanlara ve sonrasında da Avrupa ve Amerika'ya yayılmıştır (Nelson 2005).

Bira tarihinde en önemli dönüm noktası şerbetçi otunun biraya katılmaya başlanması olmuştur. Bira üretiminde biraya ilk şerbetçi otunun ne zaman eklendiği tam olarak bilinmemekle birlikte; birada şerbetçi otu kullanıldığına dair tarihteki ilk kanıtlar Fransa'nın kuzeyindeki St. Peter ve St. Stephen Manastır başrahibi Adalhard'a ait kurallar listesidir. Adalhard'ın listesindeki kurallara göre biraya yabancı şerbetçi otu eklenmektedir. İşlenmiş şerbetçi otu kullanımına dair ilk kanıtlar ise M.S. 859 - 875 yılları arasında Almanya'nın güneyinde yer alan Bavaria bölgesindeki Freisingen Manastır kilisesinde bulunmuştur. Manastırlarda kullanılmaya başlanan şerbetçi otu ile

yapılan bira bu iki bölgeden önce Avrupa'ya oradan da ticaret yolları ve kültürel etkileşimler ile Dünya'ya yayılarak günümüze kadar gelmiştir (Barth 2013).

Alman Bira Saflık Kanunu ile biranın standardı 1516 yılında belirlenmiş ve bira bu günkü tanım ve içeriğine kavuşmuştur. Bu yasa ile bira yapımında sadece arpa suyu, şerbetçi otu ve su kullanılacağı belirlenmiştir (Göz 2014). 17. yüzyılın sonlarına kadar Avrupa, İngiltere ve Amerika'da küçük ölçekte birahanelerde üretim yapılırken, 18. yüzyılın başlarında biranın şişelenmeye başlaması, artan endüstrileşme, kentleşme ve nüfus artışı nedeni ile ticari boyutlarda bira üretimi başlamıştır (Anderson 2006).

1880 yılına kadar soğutma sorunu nedeniyle bira sadece çok soğuk aylarda üretilmekte ve tüketilmekteydi. Ancak 19. yüzyılda James Watt'ın buhar makinesini icat etmesi ve Carl Von Linde'nin yapay serinliği bulması ve Almanya'da 1864'te metal fiçilerde fiçi bira üretimine başlanması ile 19. yüzyılın başlarında Avrupa biracılık sektöründe İngiltere, Almanya ve Belçika gelişmiş ve en fazla üretim yapan öncü ülkeler olmuştur. 20. yüzyılda ise bira üretiminin %68.5'lik kısmı Almanya, İngiltere ve ABD tarafından gerçekleştirilmiştir (Anderson 2006, Göz 2014).

2011 yılı istatistik verilerine bakıldığında; küresel bira pazarında bira üretimi 1998 yılındaki 1.3 milyar hektolitreden, yaklaşık 1.93 milyar hektolitreye düzeyine artarak yaklaşık %45 oranında büyüme göstermiştir (www.statista.com, 2015a). Kirin Beer University raporuna göre 2013 yılında Dünyada bira üretimi 2012 yılındaki değerinden yaklaşık 12.5 milyon hektolitreye artarak %0.7'lik büyüme göstermiş olup 1.93 milyar hektolitreye ulaşmıştır(www.kirinholdings.co.jp, 2014). 2014 yılında ise Dünyada bira üretimi 1.91 milyar hektolitreye ulaşarak, son 30 yılda ilk defa azalma göstermiştir. 2004 yılından 2014 yılına kadar olan 10 yıllık dönem incelendiğinde; bira pazarında son 10 yılda lider ülke Çin olurken onu ABD ve Brezilya izlemektedir(www.kirinholdings.co.jp, 2015b).

Anadolu’da bira üretiminin Hititlerden beri yapıldığına dair kanıtlar bulunmuştur. Hatta Anadolu’da arpanın mayalanıp pişirilmesiyle ekmek, suya yatırılmasıyla boza yapıldığı düşünüldüğünde bira tarihi boza tarihi ile bir tutulabilmektedir (Eren 2005).

Türkiye’de bira tarihine bakıldığında 1890 yılında Feriköy’de açılan İsviçreli Bomonti kardeşlerin kurduğu Bomonti bira fabrikası modern bira üretim tekniği ile imalata başlayan ilk bira üretim tesisi olarak ülkemizde bira endüstrisinin başlangıcı olmuştur (Özkan ve Çilingir 2012). Bomonti kardeşlerin hemen ardından Yunanlı Vasil’in İstanbul Şişli’de kurduğu küçük bir işletme bir süre faaliyet göstermiş ancak rekabet nedeniyle kısa sürede kapanmıştır. 1909 yılında İstanbul Büyükdere’de Nektar isimli bir fabrikanın daha kurulmasıyla Bomonti fabrikasının rakipsizliği kısa süreli son bulmuş ancak 1912 yılında bu iki fabrika birleşmiştir (Türker ve Canbaş, 1991).

1928 yılında kurulan “İçki Tekeli” ile içki tekelinin işletme imtiyazı Polonyalı bir şirkete verilmiş sonrasında da İçki Tekeli Türk A.Ş.’ye verilmiştir. 1933 – 1934 yıllarında Atatürk’ün emri ile Ankara Atatürk Orman Çiftliğinde bir bira fabrikası daha kurulmuş ve 1939 yılında Tekel İdaresine devredilmiştir (Türker ve Canbaş 1991).

1969 yılına kadar Tekel İdaresi adı altında bira üretimi ülkemizde tekelden yapılmıştır. 1969 yılından sonra Cumhuriyet döneminin ilk özel bira fabrikaları kurulmuştur. Bu dönemin ilk özel biraları 1967 yılında İzmir-Pınarbaşı’nda Yaşar Grubu Tarafından Danimarka Tuborg şirketi ortaklığıyla Tuborg birası ve 1969 yılında Anadolu Grubu tarafından Erciyas Biracılık (İstanbul) ve Ege Biracılık (İzmir) fabrikalarında Efes Pilsen birasıdır (Güler 2009).

Günümüzde ise Danimarka kökenli Tuborg şirketi ortaklığıyla kurulan Türk Tuborg yılda 36 bin ton malt ve 333 milyon litre bira üretim kapasitesi ve başta Carlsberg Breweries A/S ile yaptığı uluslararası ortaklıklar ile Türkiye bira pazarının en büyük bira üreticilerinden birisi olarak faaliyetini sürdürmektedir ([www.turktuborg.com.tr](http://www.turktuborg.com.tr) , 2015).

Anadolu Grubu tarafından iki fabrika ile kurulan Anadolu Efes ise kurulduğu yıllarda toplam 300 bin hektolitreye üretim kapasitesine sahipken günümüzde 16 ülkede kurulu 15 bira fabrikası, 6 malt üretim tesisi ile 2014 yıl sonu verilerine göre 38.8 milyon hektolitreye bira ve 45 bin ton malt üretim kapasitesine sahip bira pazarında dünya çapında liderlerinden birisidir. Şirketin ülkemizde 4 adet bira fabrikası ve 2 adet malt üretim tesisi ve 1 adet şerbetçiotu tesisi bulunmaktadır. Şirket ülkemizde yıllık 9.5 milyon hektolitreye bira ve 115 bin ton malt üretim potansiyeline sahiptir (www.anadoluefes.com, 2014).

## **2.2 Bira Hammaddeleri**

On sekizinci yüzyıldan beri Almanya Bavyera Safılık Kanunu tarafından dünyaya kabul ettirilen klasik tanıma göre; maltlanmış tahıl, su, maya ve şerbetçi otu ile üretilen fermente içecek şeklinde tanımlanan biranın üretiminde kullanılan temel malzemeler su, nişasta kaynağı olarak malt, maya ve şerbetçi otudur (Harrison 2009). Bu temel malzemeler dışında bira içerisine tamamlayıcı ek nişasta kaynağı olarak mısır, çavdar, pirinç gibi malt katkıları ve biranın çeşidine göre şeker, meyve ve baharat gibi aroma maddeleri de katılabilmektedir (Hui 2012). Nicelik olarak bira üretiminde kullanılan ham maddeler arasında en önemli bileşenler su ve karbonhidrat kaynağı olarak kullanılan genellikle maltlanmış arpa veya buğday ile malt katkıları olarak eklenebilen darı, mısır, yulaf ve sorgum gibi tahıllar olmasına rağmen, biraya has esas aromasını veren bileşen şerbetçi otudur (Hughes 2009).

### **2.2.1 Su**

Bira üretiminde bir hektolitreye bira üretebilmek için yaklaşık altı hektolitreye su kullanılmaktadır. Su; başta bira ham maddesi olmak üzere; üretim prosesinde yıkama ve sterilizasyon, genel ekipman temizliği, buhar oluşturma gibi amaçlarla hemen hemen her aşamada kullanılmaktadır (Taylor 2006). Biranın yaklaşık %90 kadarını su oluşturduğundan; bira üretiminde kullanılan suyun özellikleri biranın kalitesini doğrudan etkilemektedir. Biracılıkta kullanılan su, içilebilir kalitede saf ve patojen

bakterilerden arındırılmış olmalıdır (Koch ve Allyn 2011). Bu temel özelliklere ek olarak su kalitesini belirlemede dikkat edilmesi gereken yardımcı özellikler suyun pH derecesi, sertlik derecesi ve alkaliliğidir. Bira üretiminde pH derecesi 3.7 ve daha düşük su kullanıldığında son ürün acı, asidik ve metalik özellikte olurken, pH 4.4 ve üzerindeki değerlerde son üründe ağız kaplayan sabunsu ve kostik özellikler görülebilmektedir (Taylor 2006). Suyun pH derecesine etki etmesi nedeniyle suyun sertliği ve içerdiği karbonat miktarının yani alkaliliğinin de kontrol altında tutulması gerekmektedir (Wunderlich ve Back 2009, Zarnkow 2014).

Su bileşiminde bulunan nitrat, nitrit, metal iyonları, klor, sülfat ve diğer mineraller biranın tadına ve duyuşal özelliğine doğrudan etki edeceği için miktarlarının düşük olması gerekmektedir (Kesim 1995, Koch ve Allyn 2011). Bira üretiminde kullanılabilecek en iyi su pH değeri 5-5.5 aralığında, kalsiyum ve magnezyum değerleri 100-120 ppm arasında, demir ve manganez miktarı 0.2 mg/L olması ve az miktarda çinko içermesi istenmektedir (Narziss 1992). Bira üretiminde kullanılacak sularda özellikleri ve minimum kalite standartları WHO tarafından 1984 yılında belirlenen ve 1993 yılında genişletilen içme suyu kalite standartları kullanılmaktadır. Bu standartlara ek olarak İngiltere, 2000 yılında su kaynağı ve su kalitesi düzenlemeleri ve Avrupa Birliği, 1998 EU Directive (98/83/EC) gibi ek standartlar ile parametrik içerik değerleri belirlemiştir (Taylor 2006).

### **2.2.2 Malt ve Malt katkıları**

Bira, üretiminde meyve şekeri yerine nişastadan elde edilen şekerlerin kullanılması ile şarap gibi diğer alkol içeren fermente içeceklerden ayrılmaktadır. Şeker kaynağı olarak nişasta içeren tahılların kullanılması nedeniyle öncelikle enzimler ile nişastanın glikoz, maltoz veya maltotrioz gibi çözülebilir ve mikroorganizmalar tarafından kullanılabilir maddelere parçalanma zorunluluğu bulunmaktadır (Zarnkow 2014).

Arpa tanesinin kuru ağırlığının yaklaşık %63'ü nişastadan oluşmaktadır (Wunderlich ve Back 2009). Biranın ana ham maddelerinden biri ve temel nişasta kaynağı olan arpa; altı

sıralı *Hordeum vulgare* ve iki sıralı *Hordeum distichon* olup Gramineae familyasına ait bitkilerdir (Palmer 2006). Biracılıkta malt, biraya aroma, renk ve tat vermenin dışında alkole dönüşecek nişastanın temel kaynağı olması, maya gelişimi ve köpük oluşumu için biraya yeterli miktarda protein bileşenleri katması açısından önem taşımaktadır (Harrison 2009, Koch ve Allyn 2011).

Buğday, çavdar ve darı da biracılığa uygun ve hatta bazı özel biraların (Stout, Weiss birası, opak bira vb.) hammaddeleri olmasına rağmen; bira üretiminde daha çok arpa kullanılmaktadır (Palmer 2006). Bu durumun temel nedenleri arasında arpanın dayanıklı olması, malt yapımında daha yüksek randıman vermesi, yüksek nişasta içeriği, düşük protein ve kavuz miktarı içermesi ve zengin enzim sistemi bulundurması sayılmaktadır (Türker 1974, Anonim 2010). Buğday, çavdar gibi diğer tahıllar ise genellikle malt katkısı olarak arpaya belirli oranlarda katılabilmektedir (Wunderlich ve Back 2009).

Bira üretiminde, yüksek ekstrakt miktarına ve kavuzlu yapıya sahip, kuru ağırlığın %8-12'si kadar protein ve düşük miktarda yağ içeren, yüksek erime kapasitesinde ve zengin enzim içeriğine sahip iyi kalitede maltlar tercih edilmektedir (Hughes 2003, Zarnkow 2014).

Arpa tanesinde kuru ağırlığın yaklaşık %10-12'si kavuz, %2-3'ü perikarp ve testa, %4-5'i aleurone tabakası, %88-82'si nişastalı endosperm ve %2-3'ü embriyodan oluşmaktadır (Palmer 2006). Embriyo tabakası ve aleurone tabakası başta potasyum, fosfor, silikoni fitin ve nükleik asitler olmak üzere minerallerce ve çoğunluğu B vitaminleri olmak üzere vitamince zengin kısımlardır (Hough vd. 1981).

Kavuz, perikarp ve testa tabakaları ise kuru ağırlığın %0.1-%0.3'ü arasında değişen miktarlarda fenolik asitleri içermektedir. Arpa tanesinde fenolik asitlerden en fazla miktarda kateşin, kumarin, vanilik asit ve ferulik asit bulunmaktadır. Bu fenolik asitlerden bazıları proteinlerle reaksiyona girerek çökeltiler oluşturabilmekte ve polimer kondenzasyon tepkimelerine neden olarak bulanıklık oluşturmaktadır (Wunderlich ve Back 2009). Bira üretim prosesinde önemli işlevleri olan proteinler, arpa tanesinde %8 -

13.5 oranında embriyo ve endosperm kısmında bulunmakta ve yaklaşık üçte bir kadarı son ürüne taşınabilmektedir (Preece 1954, Wunderlich ve Back 2009).

### 2.2.3 Şerbetçi Otu

Dünya üzerinde tanınmış *Humulus lupulus* L. (*H. americanus*, *H. neomexicanus* ve *H. cordifolius*) ve *H. japonicus* Sieb. et Zucc. (*H. scandens* (Lour.) Merr) olmak üzere sadece iki çeşit *Humulus* cinsi vardır (Hough vd. 1982). Şerbetçi otu (*Humulus lupulus* L.) kendirgiller (cannabacez) familyasından çok yıllık tırmanıcı bir bitkidir (Güler 2009). Biracılıkta sadece döllenenmemiş dişi bitkilerin kozalakları değer taşımaktadır. Kuzey ve güney yarım kürede 33° ve 55° paralelleri arasında kalan ılıman bölgede sadece bira üretiminde kullanılmak üzere yetiştirilen şerbetçi otu (*Humulus lupulus* L.) bira üretimi sırasında biraya özgü acı tat, burukluk ve aromayı vermesi ve bunların dengesini sağlaması dışında içerdiği antibakteriyel bileşenler ile raf ömrünü uzatması amacıyla da katılmaktadır (Hughes 2003, Harrison 2009, Zarnkow 2014).

Genellikle şerbetçi otu bileşimi yaklaşık olarak %40 selüloz, %15 protein, %15 toplam reçine, %10 su, %8 kül, %4 tanin bileşikler, %2 pektin, %3 yağ ve mumsu bileşenler, %0.5 uçucu yağlardan oluşmaktadır (Hornsey 1999, Roberts ve Wilson 2006). Şerbetçi otuna biracılık değerini veren üç grup bileşik vardır. Bunlar şerbetçi otu reçineleri, aroma maddeleri ve polifenollerdir.

Şerbetçi otunun kuru ağırlığının yaklaşık % 10- 20 kadarını yumuşak ve sert reçineler oluşturmaktadır. Biracılıkta önem taşıyan yumuşak reçineler biraya acılık veren  $\alpha$ -asitleri ile  $\beta$ -asitlerini içermektedirler (Roberts ve Wilson 2006). Şerbetçi otu çiçeklerin kozalaklarında bulunan reçinelerin içerdiği  $\alpha$ -asitleri ile acılık üzerine etki gösterirken,  $\beta$ -asitleri sayesinde aromaya etki etmektedir (Zarnkow 2014).

İkinci grup olan aroma maddeleri şerbetçi otunun %0.4 – 2 kadarını oluşturmaktadır. Bu grupta, şerbetçi otunda bulunan, biraya koruyucu özellik ve acılık veren hafif reçinelerden olan humulon ve lupulin tanecikleri ve aroma ile buke veren uçucu yağlar

bulunmaktadır (Hornsey 1999, Wunderlich ve Back 2009, Anonim 2010). Son grup olan polifenoller ise bira kalitesine etki etmekte ve şerbetçi otunun % 4-14'lük kısmını oluşturmaktadır. Genellikle şerbetçi otunda glikozidik formda bulunan polifenoller; biranın fiziksel stabilitesine, burukluk, acılık, gövde ve aroma özelliklerine etki etmektedir (Roberts ve Wilson 2006).

Polifenollerin biracılık açısından bir diğer önemi ise; düşük ağırlıklı olanların gösterdiği antioksidatif etkiden kaynaklanmaktadır (Wunderlich ve Back 2009). Bira üretiminde kullanılan malt miktarı ile kıyaslandığında, şerbetçi otu çok daha az miktarda kullanılıyor olsa da; şerbetçi otundan biraya geçen polifenoller, biradaki toplam polifenollerin neredeyse %50'sini oluşturmaktadır. Polifenol grubu, içinde şerbetçi otunun içerdiği kateşin ve epikateşin, dimerler, trimerler ve daha yüksek polimerik yapıların oluşturduğu flavan-3-ol grubu, gallokateşinler ve epigallokateşinler gibi alt birimlerden oluşan proantosiyaniidinler ile flavanoidler grubundan xanthohumol ve izo xanthohumol, desmetil-xanthohumol ve xanthogalenoldan oluşmaktadır (Roberts ve Wilson 2006).

Biraya katılan şerbetçi otları iki farklı çeşitte üretilmektedir. Bunlardan ilki yoğun  $\alpha$ -asit içeriğine karşılık  $\beta$ -asitleri ve reçinesi düşük miktarda olan acılık şerbetçi otlarıdır. Bu tür şerbetçi otları uçucu yağ miktarı ve aromatik özellik açısından zayıf özellik göstermektedir. Diğer çeşit olan aroma şerbetçi otları ise yüksek miktarda  $\beta$ -asitleri ve hafif reçine ile uçucu yağ asitlerini içerirken, düşük oranda  $\alpha$ -asitleri bulundurmaktadır.

Bira üretimi sırasında oluşan iso- $\alpha$ - asitleri malt kaynaklı polipeptitlerle çapraz bağlar kurarak birada köpük stabilizasyonunu sağlamakta ve 3.9-4.5 pH değerinde gram pozitif bakterilere etki ederek antibakteriyel rol da oynamaktadır. Şerbetçi otu, içerdiği polifenolik bileşikler ile malttan ekstrakte edilen polipeptidlerin çökmesine ve bulanıklık oluşmasına neden olmaktadır (Hughes 2003).

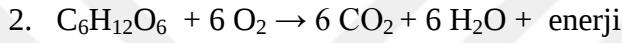
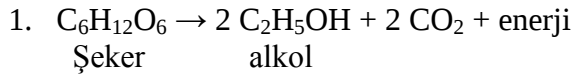
#### 2.2.4 Maya

Mayalar bira üretiminde en baskın fermentasyon mikroorganizmalarıdır. Bira üretiminde kullanılan alt fermentasyon mayası da olsa üst fermentasyon mayası da olsa biranın aromasına etkisi çok fazla olmaktadır (Zarnkow 2014). Biracılıkta, genellikle şarap ve benzeri alkollü içkilerin fermentasyonunda, ekmekçilikte ve diğer pek çok fermentasyon ürünü üretiminde de kullanılan *Saccharomyces* suşları kullanılmaktadır (Bamforth 2003). Fermentasyon mayaları için temel kriterler, mayanın fermentasyon çeşidi (alt veya üst fermentasyon), flokülasyon özelliği, fermentasyon derecesi ve oranı, kolay üretilmesi ve oluşturduğu yan ürünler (aroma geliştirmesi, diasetil miktarını azaltması) olarak belirlenmiştir (Wunderlich ve Back 2009).

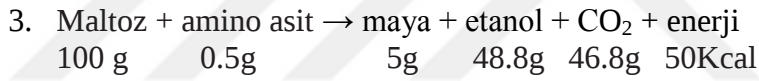
Bira üretiminde genel olarak iki farklı türde fermentasyon yapan mayalar kullanılmaktadır. Bunlar Ale tipi bira üreten üst fermentasyon mayaları ve Lager tipi bira üreten alt fermentasyon mayalarıdır (Papazian 2006). Lager tipi mayalar ile Ale tipi mayaları birbirinden ayıran en önemli özellik disakkaritlerden melibiozu ( $\alpha$ -D-galaktoz-(1→6)- $\alpha$ -D-glikoz) fermente etmeleridir. Bu iki tip maya arasındaki diğer farklar ise fermentasyonu gerçekleştirdikleri sıcaklık dereceleri ve fermentasyon sonunda topaklanma yapıp yapmamalarıdır (Boulton ve Quain 2001, Russell 2006, Wunderlich ve Back 2009).

Bira üretiminde en sık kullanılan mayalar genel olarak *Saccharomyces cerevisiae*, ve *Saccharomyces carlsbergensis* (*Saccharomyces pastorianus* veya *Saccharomyces uvarum*) türleridir. Genel olarak *Saccharomyces carlsbergensis* türü Lager tipi olmaktadır; *Saccharomyces cerevisiae* türleri Ale tipi bira mayalarıdır (Boulton ve Quain 2001). Bira mayalarının da gelişebilmeleri ve yaşamlarını sürdürebilmeleri için enerji kaynağı olarak kullanacakları şeker kaynakları dışında, temel yaşam gereksinimleri arasında vitaminler, azot kaynağı ve eser elementler bulunmaktadır (Bamforth 2003).

Mayalar ortamda bulunan şekerleri iki farklı yolla kullanabilmektedir. Bu yollar 1 nolu denklemde görülen alkol fermentasyonu ve 2 nolu denklemde görülen solunum yoludur. Maya metabolizması sırasında alkol fermentasyonu biracılıktaki temel metabolizma yoludur. Bu yolda ortamda fazla miktarda şeker mevcutsa mayalar anaerobik koşullarda fermentasyon gerçekleştirerek gelişmeleri için gereken enerji kaynağı olarak glikozu etanol, CO<sub>2</sub> ve enerjiye parçalamaktadır (Bamforth 2003, Özçelik 2008, Wunderlich ve Back 2009).



Bamforth ise bira fermentasyonunu 3 nolu denklemi kullanarak daha detaylı bir şekilde tanımlamaktadır (Bamforth 2003).



Bira fermentasyonu bira mayasının yaşayabilmesine ve canlılığına bağlıdır. Her ne kadar bira fermentasyonu anaerobik fermentasyon olsa da; mayanın canlılığı ve yaşayabilmesi için az bir miktarda oksijene de ihtiyaç duyulmaktadır. Bira mayalarının fermentasyonunda oksijen miktarı yeterli miktarda olmazsa fermentasyon başlamamakta; gereğinden fazla miktarda olursa da mayalar solunum yolunu tercih etmektedirler. (Bamforth 2003, Russell 2006, Özçelik 2008, Wunderlich ve Back 2009).

### 2.3 Bira Üretimi

Bira üretimi; öncelikle maltlanmış arpada bulunan enzimlerin; arpa içeriğini suda çözünür hale çevirdiği, daha sonra da fermentasyon sürecinde mayaların enzimleri vasıtası ile bu suda çözünür bileşikler alkol ve CO<sub>2</sub>'ye çevirdiği bir biyoteknolojik prosestir (Zarnkow 2014).

Genel olarak üretim basamakları dört aşamada yapılmaktadır (şekil 2.1). Bu aşamalar arpadan malt üretilmesi, şıra elde edilmesi (mayşeleme), fermantasyon ve olgunlaştırma aşamaları ile ilave işlemlerdir. İlave işlemler filtrasyon, stabilizasyon, şişeleme ve sonrasındaki aşamalardan oluşmaktadır (Linko vd. 1998, Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003, Bubacz vd. 2013). Bira üretiminde genellikle arpadan maltın üretilmesi ve malttan biranın üretilmesi ayrı fabrikalarda gerçekleştirilmektedir (Türker 1974, Özçelik 2008).

Arpa, bileşimi; arpanın çeşidi, yetiştirildiği iklim koşulları, yağış miktarı, hasat koşulları gibi pek çok faktöre bağlı olan, doğal bir üründür (Wunderlich ve Back 2009). Malt ise bira üretiminde ara ürün olup arpanın temizlenmesi ve belirli koşullar altında ıslatılarak çimlendirilmesi yoluyla zenginleştirilmesi ve sonrasında kavrularak kurutulması sonucunda elde edilmiş ürün olarak tanımlanmaktadır (Yazıcıoğlu 1965, Anonim 2006).

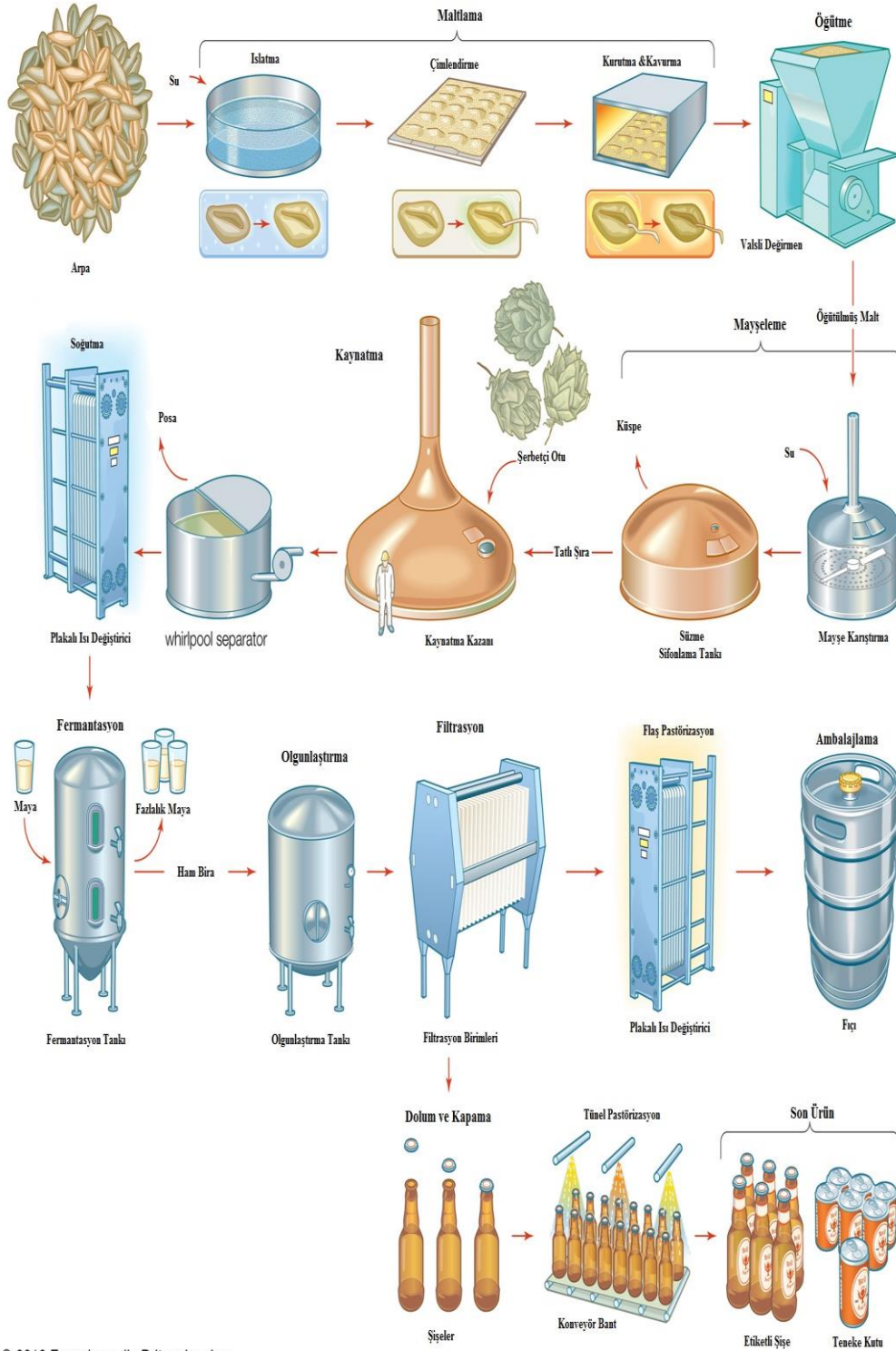
Malt üretiminde temel amaç, tane içerisindeki protein, nişasta ve diğer bileşikler fermente olabilir ekstrakta degrade edebilecek yeterli miktarda ve çeşitte enzimleri geliştirebilmektir (Harrison 2009, Stewart 2013). Malt üretimi üç basamakta gerçekleştirilmektedir. Bunlar arpa tanelerini ıslatma, çimlendirme, kurutma ve kavurma basamaklarıdır (Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003, Zarnkow 2014).

Malt fabrikasına gelen arpalar; ıslatma basamağında %12 - %14 nem içeriğinden, %42 - % 48 nem içeriğine sahip olana kadar 14-15°C sıcaklıktaki su ile kademeli olarak ıslatılmakta ve bekletilmektedir. Bu süreçte 19°C sıcaklık aşılmamalı ve uygun havalandırma sağlanmalıdır (Hornsey 1999, Steward 2013). Arpalar uygun nem içeriğine ulaştıktan sonra gerekli oksijen sağlanarak 15 – 20°C’ de 3 – 7 gün boyunca çimlenmeye bırakılmalı ve oluşan CO<sub>2</sub> uzaklaştırılmaktadır (Wunderlich ve Back 2009, Zarnkow 2014).

Çimlenme ile tane içeriği  $\alpha$  ve  $\beta$  amilaz enzimleri, proteaz ve bu enzimlerle ilişkili substratlar bakımından zenginleşmektedir (Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003, Harrison 2009). Enzim içeriği bakımından zenginleşmenin yanı sıra amiloliz ile nişasta

molekülleri, proteoliz ile proteinler ve sitoliz ile de yapısal bileşenler ile lipit ve fosfat degradasyon reaksiyonları gerçekleşmektedir (Wunderlich ve Back 2009).

Çimlendirme işlemini ve enzim faaliyetlerini durdurmak, tane bileşimini sabitlemek ve malta zengin tat ile aroma özelliklerini kazandırmak amacıyla malta kurutma ve kavurma işlemi yapılmaktadır (Özçelik 2008, Wunderlich ve Back 2009, Harrison 2009). Bunların yanı sıra maillard reaksiyonları ve diğer enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları ile maltta kavrulmuş renk oluşmakta ve ısı sebebiyle ortaya çıkan aroma bileşikleri ile malta özgü aromalar oluşturulmaktadır (Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003, Harrison 2009). Kavurma işleminin yoğunluğuna bağlı olarak; üretilecek biranın açık ya da koyu renkli olacağı kavurma işlemi sırasında belirlenmektedir (Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003).



© 2012 Encyclopædia Britannica, Inc.

Şekil 2.1 Bira üretimi akış diagramı (www.britannica.com, 2012)

Kurutma işlemi 35-40°C ile başlamakta ve 50°C'ye kadar sıcaklık artırılmaktadır. Nem içeriği %45'den %10'a düşene kadar bu sıcaklıklarda kurutma işlemi devam etmektedir

(Wunderlich ve Back 2009). Maltın nem içeriği %10'un altına düştüğü zaman kavurma işlemine başlanmaktadır. Açık renkli maltlarda 80°C, koyu renkli maltlarda 110- 115°C, özel maltlarda ise 220°C'ye kadar çıkan sıcaklıklarda kavurma işlemi gerçekleştirilmektedir (Özçelik 2008, Zarnkow 2014). Bu işlem açık renkli maltlarda malt nem içeriği % 3.5 - 4 civarına; koyu renkli maltlarda ise %1.5 – 2 nem içeriğine düşene kadar devam ettirilmektedir (Wunderlich ve Back 2009). Bu aşamadan sonra bira üretimi bira fabrikalarında gerçekleşmektedir.

Malt üretim fabrikasından bira üretim fabrikasına gelen malt, bütün ve çekirdek halinde olduğu için ürün formülasyonunda belirlenen miktarda tartılarak nemlendirilmekte ve değirmenlerde kabaca öğütülerek mayşeleme tankına alınmaktadır (Zarnkow 2014). Eğer üretilecek biraya malt katkısı olarak; mısır, pirinç, darı buğday gibi hububatlar da katılacak ise malta benzer şekilde hazırlanarak mayşeleme tankına ilave edilmektedir (Özçelik 2008).

Öğütme işlemi sayesinde, malt ve diğer hububat tanecikleri içerisindeki şeker ve diğer çözünebilir bileşiklerin çözünerek şıraya geçmesi kolaylaştırılmakta, tanecikler parçalanarak partikül boyutu küçültülmekte ve mayşeleme sırasında enzimlerin etki yüzeyi artırılmakta, endosperm ve kabuk kısmı birbirinden ayrılmaktadır (Wunderlich ve Back 2009, Zarnkow 2014).

Hazırlanan öğütülmüş malta ve diğer eklenen katı maddelere su ilave edilerek elde edilen karışımın, uygun sıcaklık derecelerine kademeli olarak ısıtılması ve bu sıcaklık derecelerinde belli süre bekletilmesi işlemine mayşeleme denilmektedir (Hough vd 1981, Leiper ve Miedl 2006). Mayşeleme işleminde suda eriyebilen maddeleri şıraya geçirmek amaçlanmaktadır. Bunun yanı sıra mayşeleme ile suda çözünmez formda bulunan büyük molekül ağırlığındaki malt bileşenlerini, fermente olabilir özellikte olmayan karbonhidratları, yağları, proteinleri ve  $\beta$ -glucan moleküllerini enzimler vasıtasıyla hidrolize ederek fermente olabilir şekerlere ve diğer çözünebilir besin öğelerine çevirerek şıraya geçirmek hedeflenmektedir (Linko vd. 1998, Harrison 2009).

Mayşeleme işleminde enzimler ile nişastanın fermente olabilir şekerlere, proteinlerin amino asitlere ve küçük peptidlere, yağların ise serbest yağ asitlerine ve sterollere dönüşmeleri için temel olarak sırasıyla amiloliz, proteoliz ve sitoliz reaksiyonları gerçekleşmektedir (Wunderlich ve Back 2009, Stewart 2013, Stewart 2016).

Mayşeleme sırasında malt öğütüldükten sonra yaklaşık dört katı kadar su ile karıştırılmakta ve mayşe, enzimlerin aktif faaliyet gösterebilecekleri uygun sıcaklıklara ısıtılmaktadır. Mayşeleme işleminde enzimlerin çalışma sırası sitaz enzimi, fosfotaz enzimi, proteaz ve glükanaaz enzimleridir. Bu enzimler ile protein molekülleri ve hemiselüloz bileşikleri parçalanarak vizkoziteyi arttırmaktadır (Hough vd. 1981, Türker ve Canbaş 1991, Wunderlich ve Back 2009, Stewart 2013).

Bir sonraki kademede mayşe hızlıca sakarifikasyon derecelerine çıkarılmaktadır. Bu dereceler  $\beta$ -amilaz enzimi için 62-65°C ve  $\alpha$ -amilaz için 65- 75 °C aralıklarıdır. Bu derecelerde nişasta molekülleri  $\alpha$ -amilaz ile amiloz ve amilopektine ve  $\beta$ -amilaz ile maltoz, maltotrioz ve limit dekstrinlere parçalanmaktadır (Stewart 2016). 70-72 °C’de işlev gösteren limit dekstrinaz enzimi ile yüksek molekül ağırlıklı dekstrin molekülleri amilopektinlere, dekstrinlere ve diğer oligosakkaritlere parçalanmaktadır (Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003, Zarnkow 2014). 30 dakika süren bu aşamaya sakarifikasyon dinlendirmesi denilmektedir.

Mayşe içerisinde aktif halde bulunan enzimlerin, enzim aktivitesini durdurmak ve mayşeleme işlemini sonlandırmak için son olarak mayşe 75°C sıcaklığın üzerinde genellikle 78°C sıcaklığa çıkarılmaktadır (Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003, Stewart 2013). Bu sıcaklıkta mayşe içerisindeki  $\beta$ -glucan ve arabinoksilan miktarına bağlı olarak vizkozite ve sıcaklık etkisiyle mikrobiyel yük azaltılmaktadır (Stewart 2016). Toplamda mayşeleme süresi maltın enzimatik potansiyeline, malt çeşidine, yapılacak bira çeşidine bağlı olarak 120 ila 180 dakika arasında değişmektedir (Zarnkow 2014).

Çözünen fermente olabilir bileşikleri ve diğer besleyici maddeleri içeren sıvı kısma şıra veya ekstrakt; süzme kazanında kalan suda çözünmeyen katı partikülleri içeren kısma ise küspe denilmektedir (Leiper ve Miedl 2006, Güler 2009). Suda çözünebilir tüm maddeler enzim faaliyetleri sonucunda şıraya geçirildiğinde mayşeleme işlemi sonlandırılmakta ve elde edilen mayşeden otomatik filtrelerle ya da sifonlama yöntemi ile şıra süzülüp küspe kısmı ayrılmaktadır (Linko vd. 1998). Sifonlama tankından ilk ayrılan şıra yaklaşık %16-%20 ekstrakt konsantrasyonunda ve yoğun şeker içeriğindedir. Bu şıraya ilk boşaltma denilmektedir. İlk boşaltma şırası güçlü biralarda üretiminde kullanılmaktadır (Zarnkow 2014).

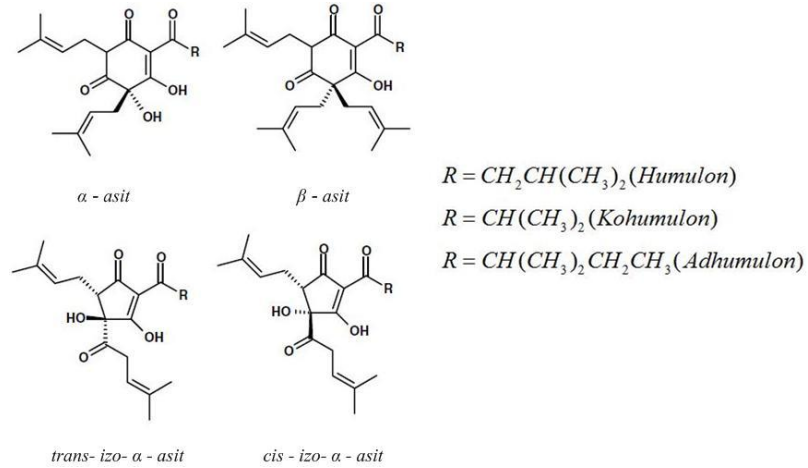
Ayrı bir kaynatma tankına alınan şıra; şerbetçi otu eklenerek kullanılan kaynatma kazanının özelliklerine, şerbetçi otunun dozlanma stiline ve üretilecek bira cinsine bağlı olarak 30 ila 120 dakika süre ile yaklaşık 100°C sıcaklıkta kaynatılmaktadır (Hornsey 1999, Leiper ve Miedl 2006, Zarnkow 2014). Bu kaynatma işlemi sırasında şıra miktarında yaklaşık %4-6 evaporasyon meydana gelmektedir (Stewart 2013). Kaynatma işleminde temel amaç; şerbetçi otundaki aroma maddelerini şıraya geçirmek, mayşeleme işleminde aktif olan enzimlerin enzim aktivitelerini durdurarak şıranın bileşimini stabil hale getirmek ve şıranın sterilizasyonunu sağlamaktır (Türker ve Canbaş 1991, Ortega-Heras ve González-Sanjósé 2003, Özçelik 2008, Wunderlich ve Back 2009).

Kaynatma işlemi sırasında oluşan buharlaşmalar sayesinde şıra yoğunluğunun istenen düzeye ayarlanabilmesi, istenmeyen aroma maddelerinin buharlaşmalar ile uzaklaştırılması, renk ve aroma gelişiminin sağlanması, proteinlerin ve polifenollerin reaksiyona girmesi sonucu çöktürülerek birada ilerleyen aşamalarda bulanıklık gibi hataların oluşmasının önlenmesi, kalsiyum fosfat bileşiklerinin çökertilmesi ve kalsiyum bikarbonatın çözünmesinin sağlanması ile pH düşmesinin önlenmesidir (Türker 1974, Hornsey 1999, Ortega-Heras ve González-Sanjósé 2003, Harrison 2009).

Kaynatma işlemi sırasında şerbetçi otu, şıraya acılık ve aroma sağlamak üzere iki farklı amaçla katılmaktadır. Acılık vermek için eklenen şerbetçi otu kaynatma işleminin

başında şıraya eklenirken; ucucu yağların birada kalması ve aroma vermek amacıyla eklenen aromatik özellikteki şerbetçi otu kaynatma bitimine yaklaşık 30 dakika kala eklenmektedir (Türker ve Canbaş 1991, Stewart 2016). Şerbetçi otundan şıraya geçen en önemli bileşenler Humulon ( $\alpha$ -asitleri), Lupulon ( $\beta$ -asitleri) ve tanin bileşikleridir. Başta bu 3 bileşik olmak üzere şerbetçi otundan biraya geçen maddeler hem biraya özgü acı tat ve aroma karakterini sağlamakta hem de birada antimikrobiyel aktivite göstermektedir (Harrison 2009).

Lupulon acı özellik göstermemektedir. Bu nedenle alfa asitleri (Humulonlar) biraya özgü acılığın temel kaynağıdır ancak bu asitlerin sudaki çözünürlüğü çok düşük olmaktadır. Kaynatma sürecinde Humulonlar (Alfa asitleri) izomerizasyona uğrayarak suda çözünebilir form olan izo-alfa asitlerine (izohumulon, izokohumulon ve izoadhumulon) dönüşmekte ve biraya özgü acı tat oluşmaktadır. Kaynatma işleminde aynı zamanda Lupulonlar da şerbetçi otundan şıraya ekstrakte olmakta ve köpük stabilizasyonu sağlanmasına yardımcı olmaktadır (Türker ve Canbaş 1991, Ortega-Heras ve González-Sanjosé 2003, Stewart 2013). Alfa ve Beta asitlerinin izomerizasyonları sonucu oluşan bileşikler şekil 2.2’de görülmektedir.



Şekil 2.2 Biradaki başlıca şerbetçi otu acılık bileşenleri (Vanderhaegen vd. 2006)

Kaynatma işleminin bir diğer önemi ise, birada ilerleyen aşamalarda fazla olmaları halinde koloidal stabiliteye olumsuz etki gösteren albümin ve globülin proteinlerinin çöktürülmesidir. Proteinlerin kuagülasyonu, öncelikle proteinin denatüre olması ve

sonrasında da bu proteinlerin kümelenerek çökmesi şeklinde olmaktadır (Türker ve Canbaş 1991). Bu kümelenme yüksek sıcaklık ve basınç nedeniyle artmaktadır (Leiper ve Miedl 2006). Şırada proteinler, şerbetçi otu ve kavuzlardan geçen tanenler ve polifenolik maddeler ile de tepkimeye girerek tortu oluşturmaktadır (Türker 1974). Şıra, yaklaşık %40'ı şerbetçi otundan ve geri kalanı da malttan gelmek üzere yüksek oranda polifenolik bileşik içermektedir. Kaynatma sırasında bu polifenollerin okside olanları polimerize olur ve proteinler ile bağ kurarak çözünmez hale geçerek çökerler. Okside olmayan polifenollerle bağ kuran proteinler ise hala şıra içerisinde çözünür halde bulunmaktadır (Leiper ve Miedl 2006).

Acılık bileşenlerinin oluşması ve proteinlerin çökmesi dışında kaynatma işlemi sırasında gerçekleşen diğer önemli reaksiyonlar ise karbonil ve amino grupları arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonları, şekerlerin karamelizasyon reaksiyonları ve taninlerin oksidasyon reaksiyonlarıdır. Bu reaksiyonlar esas olarak renk üzerine etki etmekte ve aroma bileşenlerini geliştirmektedir (Türker ve Canbaş 1991, Wunderlich ve Back 2009). Bunlara ek olarak Maillard reaksiyonları sırasında oluşan Melanoidler ve diğer indirgen bileşikler ham maddedeki bileşenlerle birleşerek üretilen birayı oksidasyona karşı korumakta ve son ürünün stabilitesini arttırmaktadır (Leiper ve Miedl 2006).

Kaynatma işlemi tamamlandıktan sonra çöken fosfatlı bileşikler, protein – polifenol kompleksleri ve artan şerbetçi otunu içeren tortunun ve askıda kalan partiküllerin şıradan ayrılmasını sağlamak için şıra whirlpool tankına alınmaktadır (Leiper ve Miedl 2006). Fermentasyon tankına şıra aktarılmadan önce gerçekleştirilen bu durultma işlemi sayesinde istenmeyen acılık bileşenleri uzaklaştırılmakta ve fiziksel stabilite ve ekstrakt verimi artırılmaktadır (Munroe 2006a).

Durultma işleminin hemen ardından şıra hızla plakalı ısı değiştiricilerden geçirilerek mayalanma işlemi için uygun sıcaklığa soğutulmaktadır. Soğutma işlemi sırasında şıra havalandırılmakta ve mayanın gelişebilmesi ve fermentasyon yapabilmesi için gerekli olan oksijene doyurulmaktadır (Türker ve Canbaş 1991, Özçelik 2008). Şıraya verilecek

oksijen; fermantasyonda kullanılacak maya çeşidi ve bu mayanın gelişme ihtiyaçları, şıranın içerdiği gliserol ve doymamış yağ asitleri miktarı, ortam sıcaklığı, şıra yoğunluğu gibi faktörlere bağlı olarak şırada yaklaşık 8 ppm düzeyinde olacak şekilde steril hava ile sağlanmaktadır (Munroe 2006a).

Uygun mayalanma sıcaklığına soğutulan steril haldeki şıra, alüminyum veya çelikten üretilmiş fermantasyon tankına alınmakta ve içerisine ayrı bir maya geliştirme tankında çoğaltılan maya dozlanmaktadır (Preece 1954). Başarılı bir fermantasyon gerçekleştirebilmek için genellikle ayrı bir tankta çoğaltılmış olan maya kütesinden 0.5-0.7 litre yani şıra mililitresi başına 10-25 milyon maya hücresi şıraya dozlanmaktadır (Eßlinger 2009a, Livens 2016). Bu dozlama işlemi sırasında şıraya yabancı maya yada bakteri kontaminasyonu olması durumunda istenmeyen aromalar meydana gelebilmekte ve kontaminasyonun boyutuna göre fermantasyon kontrolden çıkabilmekte ve hatta engellenebilmektedir (Munroe 2006a). Biraya özgü karakteristik aroma ve tat özellikleri; büyük ölçüde maya türüne ve fermantasyon sistemine bağlıdır (Türker 1974, Eßlinger 2009a).

Fermantasyon işlemi; mayaların, kendi yaşamsal aktiviteleri için gerekli olan enerjiyi elde etmek ve gelişimlerini sürdürmeleri için şıra içerisinde bulunan substratları alkol, CO<sub>2</sub> ve diğer aroma özelliklerine etki eden bileşiklere metabolize etmeleridir (Eßlinger 2009a, Harrison 2009). Şırayı fermantasyona uğratmanın amacı, şıra bileşiminde bulunan fermente olabilir özellikteki bileşenlerin maya tarafından metabolize edilmesi ve şıra içerisindeki diğer bileşenlerin ise bira içerisinde özümlemesini sağlayarak sonuçta, etil alkol, CO<sub>2</sub> ve diğer fermantasyon ürünlerine dönüştürmektir (Livens 2016). Bunun dışında fermantasyon işleminin bir diğer amacı ise birada aroma dengesini sağlayabilmek ve kullanılan mayanın çoğalmasını sağlayarak bir sonraki üretim için yeniden kullanılmak üzere hazırlamaktır (Linko vd. 1998).

Fermantasyon sonunda biradan maya ve oluşan tortuların ayrılması gerekmektedir. Hem alt hem de üst fermantasyon sisteminde mayalama işlemi, esas fermantasyon ve dinlendirme (ikinci fermantasyon) olmak üzere iki aşamada meydana gelmektedir.

Fermantasyonun tamamlanması ile elde edilen ham bira, 0-2°C sıcaklıktaki soğuk tanklarda fermantasyon türüne göre değişen sürelerde dinlendirilerek maya ve tortunun ayrılması ve biranın olgunlaşarak aroma, renk ve gövde özelliklerinin iyileşmesi sağlanmaktadır (Harrison 2009). Bu dinlendirme işleminde ayrılacak partiküller partikül boyutlarına, yoğunluk ve ağırlıklarına göre değişen sürelerde bira içinde yer çekimi etkisiyle tank dibine çöktürme yöntemiyle ayrılmaktadır (Bamforth 2003).

Çöktürülen tortu ayrıldıktan sonra, birada kalan maya kalıntıları, proteinli bileşikler, kalıntı acılık bileşikleri gibi birada bulanıklığa neden olan maddeleri ayırarak birayı mümkün olduğunca berrak hale getirmek; eğer biraya bulaştı ise şıra içerisinde birada bozulma yapabilecek mikroorganizmaları biradan ayırmak ve birayı stabil hale getirmek amacıyla filtrasyon işlemi yapılmaktadır (Munroe 2006b, Zarnkow 2014). Filtrasyon işlemi ile bira içerisinde uzun depolama koşullarında göz ile görülür renk ve bulanıklık değişimlerinin önüne geçmek ve biranın orijinal berrak halini tüketim anına kadar korumak hedeflenmektedir. Bu amaçla filtrasyon işlemi iki aşamada yapılmaktadır. Bunlar bira içinde o andaki bulanıklık yaratan etkenlerin uzaklaştırıldığı gerçek filtrasyon basamağı ve birada potansiyel bulanıklık etmenlerinin uzaklaştırıldığı stabilizasyon basamağıdır (Lindemann 2009).

Filtrasyon işleminde kullanılan filtreler, parçacıkların ayrımının yapıldığı bölgeye göre, yüzeysel süzme yapan filtreler ve derinlemesine süzme yapan filtreler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Munroe 2006b, Lindemann 2009). Uygulanan filtrasyon ile bira içerisindeki maya, bakteri ve kolloid yapıdaki parçacıklar tamamen ayrılmaktadır. Filtrasyon amacıyla Kieselguhr, perlit, selüloz lifler, sentetik lifler, reçine gibi maddeler filtre yardımcısı olarak kullanılabilir (Lindemann 2009, Wunderlich ve Back 2009).

Dinlendirme tankından alınan biraya birkaç farklı yol ile durultma sağlanabilmektedir. Bu yollar durultulacak biranın çeşidine ve uygulanan üretim tekniği gibi faktörlere bağlı olarak değişmekle birlikte Kieselguhr filtre ve tabakalı filtre uygulaması; separatör, Kieselguhr filtre, PVPP filtre ve tabakalı filtre kombinasyonu; separatör, Kieselguhr

filtre, PVPP filtre ve Trap filtre kombinasyonu veya ters akış, PVPP filtre ve Trap filtre kombinasyonu şeklinde olabilmektedir. Bu filtrelerin dışında filtrasyon öncesinde bira içerisine silika jel veya bentonit de ilave edilebilmektedir (Freeman 2006, Lindemann 2009).

Filtrasyon sırasında kullanılan Kieselguhr filtre sadece sıkıştırılmış diatome toprağından oluşmakta, izoelektrik noktaları değiştirerek çökme işlemini hızlandırmakta ve bira içerisinde askıda kalmış halde bulunan parçacıkları ayırarak kaba süzme işlemini gerçekleştirmektedir (Bamforth 2003, Zarnkow 2014). Kaba süzme işlemi için 50 - 220g/hL Kieselguhr uygulaması yeterli olmaktadır. Kieselguhr kullanılan filtre çeşitleri plaka ve çerçeveli filtreler, horizontal yaprak filtreler ve mumlu yaprak filtrelerdir. Bu filtrelerin temel çalışma prensibi selüloz ve kieselguhr ile hazırlanmış yatay, dikey veya horizontal katmanlar halinde yerleştirilmiş plaka veya tepsi şeklindeki filtrelerin içerisinden basınç yardımıyla bira geçişinin sağlanması ve süzmenin tamamlanmasıdır (Bamforth 2003, Briggs vd. 2004, Munroe 2006b, Lindemann 2009).

Biraya uygulanan filtrasyon derecesi ve stabilizasyonun yoğunluğu biranın raf ömrünü etkilemektedir. Sadece Kieselguhr uygulanan biralarda raf ömrü yaklaşık 2 ay ile sınırlı kalırken Kieselguhr filtreye ek olarak PVPP veya silika jel ile yapılan stabilizasyon işlemi ürünün raf ömrünü 6 ay ve üzerine çıkartmaktadır (Wunderlich ve Back 2009).

Biraya kaba süzme işlemi yapıldıktan sonra stabilizasyonu sağlamak amacıyla PVPP, silika jel, tannik asit ve papain kullanılmaktadır. Stabilizasyon işleminde depolama ve raf ömrü süresince bulanıklık oluşturacak proteinler ve tanenler de ayrılmaktadır (Freeman 2006). Bira içerisinde bulunan proteinler ve polipeptitler koloidal silika veya bentonit kullanımı ile adsorpsiyon yoluyla; Taninler ve polifenoller ise polivinilpolipirrolidon (PVPP) kullanımı ile adsorpsiyon yoluyla biradan ayrılmaktadır (Briggs vd. 2004, Freeman 2006, Lindemann 2009).

PVPP filtre ise su, alkol ya da asit içerisinde çözünemeyen polimerize vinilprolidone katmanlarından oluşmaktadır. PVPP filtre özellikle bira içerisinde çözünebilen ve

çözünemeyen özellikteki burukluk veren bileşiklerden olan antosiyanidinlerin ve polifenollerin ayrılmasında kullanılmaktadır. PVPP filtre partikülleri bira içerisinde çözünemez özellikte, kostik ve düşük asitlikte maddelerdir. PVPP filtre sayesinde polifenollerin konsantrasyonunda azalma ve koloidal stabilitede artma gözlemlenmektedir (Briggs vd. 2004).

Filtrasyon işleminin son aşaması olan Trap filtre ise polipropilen katmanlarından oluşmaktadır. Bu filtrede gözenek açıklığı yaklaşık 8  $\mu$  ve plaka yüksekliği ise 40 inch olmaktadır. Berrak ve stabil halde bu filtreye gelen birada bu filtrenin amacı Kieselguhr ve PVPP filtre sonrasında bu filtrelerden biraya geçebilecek olası kaçakların önlenmesidir. Bu şekilde aşamalı olarak filtrelenen birada hiç tortu kalmamakta ve koloidal stabilite sağlanmaktadır (Munroe 2006b).

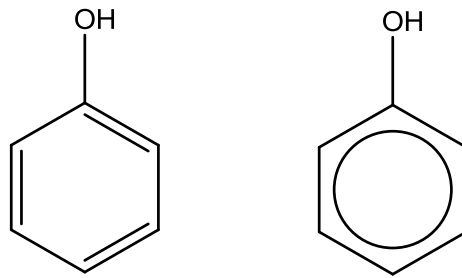
Bira üretiminde dolum öncesinde en son ekstrakt ve CO<sub>2</sub> ayarlamaları yapılmaktadır. Karbondioksit birada köpük ve ağız hissi oluşturma açısından önemli bir bileşiktir. Bu nedenle ikinci fermantasyon işleminden sonraki bütün üretim basamaklarında bira içerisinde bulunan CO<sub>2</sub> mümkün olduğu kadar çözünmüş formda korunmaya çalışılmakta ve gaz çıkışı önlenmektedir (Briggs vd. 2004). Bira içerisinde CO<sub>2</sub> miktarı %0.45 – 0.52 olarak ayarlanmaktadır (Harrison 2009). Biracılıkta karbonasyon işlemi genellikle plakalı ısı değiştirici öncesinde biraya dışarıdan karbondioksit ilavesi ile yapılmaktadır (Briggs vd. 2004, Harrison 2009).

Filtrasyon işleminin ardından bira kalitesini korumak ve tüketiciye sunulabilir şekilde ambalajlanmak için dolum hattına gönderilen bira cam şişe, pet şişe, fiçı ya da teneke kutuya doldurulmaktadır. Dolum işlemi öncesinde şişelerin ve fiçıların temizliği ve sterilizasyonu sağlanmakta ve dolum izobarik olarak gerçekleştirilmektedir. Dolum işleminde mümkün olduğunca az miktarda hava ve oksijen ile temas sağlanması, CO<sub>2</sub> kaybı olmaması için basınç altında dolum yapılması gerekmektedir (Briggs vd. 2004, Browne 2006, Wunderlich ve Back 2009).

Bira şişe ya da fiçılara doldurulduktan sonra raf ömrü kazandırılmak ve olası mikrobiyel yükü azaltmak amacıyla pastörize edilmektedir. Dolumu tamamlanarak ağzı kapatılan şişeler ürün çeşidine göre 20 dakika ile 1 saat arasında değişen sürelerde ve kademeli olarak sıcaklığı artan pastörizasyon tüneline 60-66°C sıcaklıkta pastörizasyon işlemi ya da 70 – 75°C sıcaklıkta 30-60 saniye gibi kısa sürelerde flash pastörizasyon işlemi uygulanmaktadır (Bamforth 2003, Harrison 2009). Fıçı ya da varillere dolumu yapılan biralara ise pastörizasyon işlemi uygulanmayabilmektedir. Ancak pastörizasyon işlemi gerçekleştirilmeyen fiçılar dolum öncesinde otomatik sistemlerle temizlenerek sterilize edilmekte ve sonrasında bira dolumu yapılarak fiçılar mutlaka soğutulmakta ve buzdolabı koşullarında kısa sürede tüketilmelidir (Zarnkow 2014).

## 2.4 Fenolik Bileşikler ve Oluşumları

Kimyasal olarak fenolik bileşikler; yapılarında üzerinde bir veya daha fazla sayıda hidroksil (-OH) grubu veya işlevsel türevlerini içeren en az bir adet aromatik halkaya sahip aromatik organik bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Shahidi ve Nacz 1995, 2004, Liu 2004, Taiz ve Zeiger 2008, Boulton 2013). Yapısında tek bir adet hidroksil grubu içeren benzen molekülü ( $C_6H_5OH$ ), en basit fenolik madde olup fenol olarak da adlandırılmakta ve diğer bütün fenolik maddeler benzenden türemektedir (Cemeroğlu 2004, Toprak 2011). Fenol halkasının yapısı şekil 2.3’de görülmektedir.

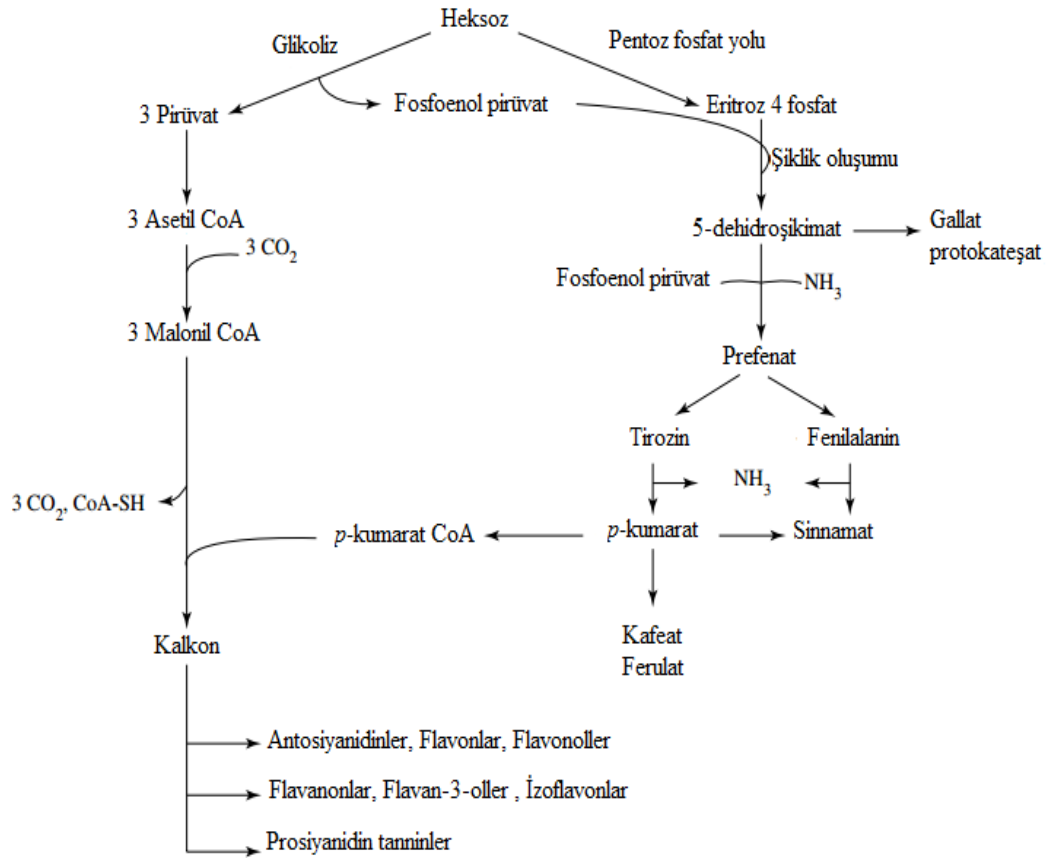


Şekil 2.3 Fenol Halkası

Fenolik bileşenler canlılarda şikimik asit yolu ve malonik asit yolu üzerinden sentezlenmektedir. Bitkisel fenolikler genel olarak şikimik asit yolu üzerinden sentezlenirken bakteri ve funguslarda sentezlenen fenolikler malonik asit yolu üzerinden

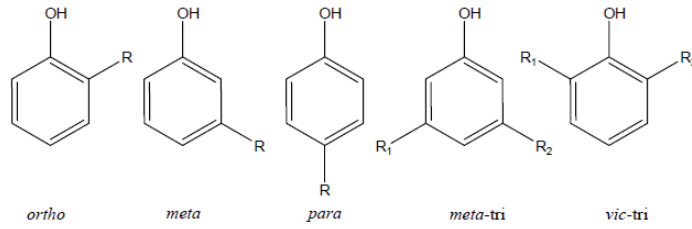
sentezlenmektedir. Bu metabolik yollarda fenolik bileşiklerin öncüleri olan aromatik amino asitlerden fenilalanin ve tirozin oluşturmaktadır (Taiz ve Zeiger 2008, Engert 2011).

Fenolik bileşikler tek benzen halkasına bağlanan basit ünitelerden türemiştir. Benzen halkasının oluştuğu şikimik asit yolu olarak bilinen bu biyosentetik yol şekil 2.4’de görülmektedir. Şikimik asit metabolik yolunda glikoliz yoluyla şekerler, parçalanarak pirüvatları oluşturmakta ve bu pirüvatlar krebs döngüsündeki reaksiyonlar sonucunda asetil koenzim A molekülüne dönüşmektedir. Üç asetil koenzim A molekülünün kondensasyonu ile benzen halkası oluşmaktadır. Oluşan aromatik halkanın tepkimeleri sonucunda “fenolik bileşikler” ortaya çıkmaktadır. Aromatik halkanın, sinamik asit molekülü ile kondanse olmasıyla flavonoidler oluşmaktadır (Ribéreau-Gayon vd. 2006a, Taiz ve Zeiger 2008).



Şekil 2.4 Fenolik bileşiklerin sentezi (Ribéreau-Gayon vd. 2006a).

Basit fenoller yapılarında sadece bir adet aromatik halka içeren fenoliklerdir. Bu fenoller de fonksiyonel grup olan hidroksil grubunun fenol halkası üzerindeki sayısına ve konumuna göre çeşitlenmektedir. Fenol halkası üzerinde iki adet hidroksil grubu 1,2- 1,3- ve 1,4- konumlarında ise *ortho*, *meta*, *para* örnekleriyle; üç hidroksil grubu mevcut ise bunlar da 1,3,5- ve 1,2,6- konumlarında *meta*-tri ve *vic*-tri örnekleri ile adlandırılmaktadır (şekil 2.5). Polifenoller ise yapılarında bir veya daha fazla sayıda benzen halkası ve bu halkaya bağlı birden fazla sayıda fenolik hidroksil grubu içermekte ya da basit fenollerin birleşmesiyle oluşmaktadır. Bu nedenle polifenoller çok daha geniş bir çeşitliliğe sahiptir (Vermerris ve Nicholson 2006).



Şekil 2.5 Basit fenolik bileşiklerin ikame modellerinin terminolojisi (Vermerris ve Nicholson 2006)

Gıdalarda bulunan fenolik bileşenlerin temel kaynağı bitkilerdir. Bitkiler büyüme ve gelişmeleri sırasında yaşamlarını ve metabolik olaylarını sürdürebilmeleri için primer ve sekonder metabolitler olarak sınıflanan yaklaşık 100.000 adet madde sentezlemektedir. Karbonhidratlar, yağlar, proteinler, organik asitler gibi büyüme, gelişme, fotosentez ve solunum gibi hayati işlevleri olan maddeler primer metabolitler olarak sınıflanırken, sekonder metabolitler basit hayati fonksiyonlar için zorunlu olmayıp bitkinin çevresel adaptasyonu ve kendini zararlılara karşı koruması için gerekli maddelerdir. Bitkilerde sekonder metabolitler biyokimyasal olarak aktif yapılar olup biyotik ve abiotik faktörlere uyum sağlama, bitkiye patojenlere ve herbivorlara karşı korunma, mikrobiyel enfeksiyonlarda ve yaralanmalarda iyileşme, kendine has tat, koku ve renk verme gibi işlevler kazandırmaktadır (Liu 2004, Treutter 2005, Engert 2011, Gómez-Caravaca vd. 2014).

Fenolik bileşikler; bitkilerin normal metabolizmaları sırasında, bakteri ya da mantar enfeksiyonu, kuş, böcek yaralanmaları gibi biyotik stres altındayken veya UV radyasyon, ısı, susuzluk, asitlik gibi abiyotik stres kaynaklarına karşı kendilerini korumak amacıyla fenilalanin ve tirosin bileşiklerinden türettikleri sekonder metabolitlerdir (Naczk ve Shahidi 2004, Acar ve Gökmen 2007, Gómez-Caravaca vd. 2014).

Fenolikler hemen hemen her sebze ve meyvede farklı miktarlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Hayvansal dokularda ve bitkisel olmayan ürünlerde ise fenolik bileşenler genel olarak bitkisel ürünlerin sindirilmesi ya da gıdaya katılması sonucunda bulunmaktadır. Gıdalarda doğal olarak bulunmanın dışında gıdadaki yağ bileşiklerini oksidasyona karşı korumak için de fenolik bileşenler sentetik olarak gıdaya eklenmektedir (Shahidi ve Naczk, 1995, 2004).

Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler genellikle şekerlere glikozidik bağ ile bağlı bulunduğu için suda veya organik çözücülerde çözünebilir yapıda olmaktadır (Shahidi ve Naczk 1995, Taiz ve Zeiger 2008, Engert 2011).

Fenolik bileşikler gıdalarda acı - buruk lezzetin ve kendine özgü rengin oluşmasını sağlaması, antioksidan özellikleri sayesinde özellikle yağ oksidasyonunu kısıtlayarak gıdanın raf ömrünü arttırmaları, polifenol oksidaz enzim aktivitesi sonucunda renk esmerleşmelerine neden olması, proteinler ile interaksiyona girerek bulanıklık ve tortu oluşturmaları nedeniyle gıda sanayinde önem taşımaktadır. Bunun yanı sıra serbest radikalleri bağlamama ve kuvvetli antioksidan özellikleri, katarakt, yaşa bağlı makula dejenerasyonu, merkezi sinir sistemi hastalıkları ve diabetes mellitus gibi kronik dejeneratif hastalıklara ve kardiovasküler sisteme olan olumlu etkileri, antimikrobiyel, antioksidatif, antimutajen ve antikarsinojen etkisinden dolayı da sağlık sektöründe de önem taşımaktadır (Karadeniz 1994, Murkovic 2003, Cemeroğlu 2004, Acar ve Gökmen 2007, Toprak 2011, Gómez-Caravaca vd. 2014).

## 2.5 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

Fenolikler genel olarak yapılarında aromatik halka ve bu halkaya bağlı bir veya daha fazla sayıda hidroksil grubu içermeleri ile karakterize olsalar da; genel yapılarının karmaşık olması, günümüzde bilinen yaklaşık 8000 çeşit fenol bileşiğinin olması ve bu sayının gelişen teknoloji ile her geçen gün daha da artması ile fenolikler teriminin çok çeşitte ve geniş bir yelpazedeki kimyasal grubu kapsamaması nedeniyle birkaç farklı fenolik madde sınıflaması mevcuttur (Vermerris ve Nicholson 2006, Gómez-Caravaca vd. 2014).

Swain ve Bate-Smith (1962) fenolleri yaygın fenoller ve daha az yaygın fenoller şeklinde kategorilerken; Harborne ve Simmonds (1964) fenolik maddeleri moleküldeki karbon atomu sayısına göre farklı sınıflarda toplamıştır.

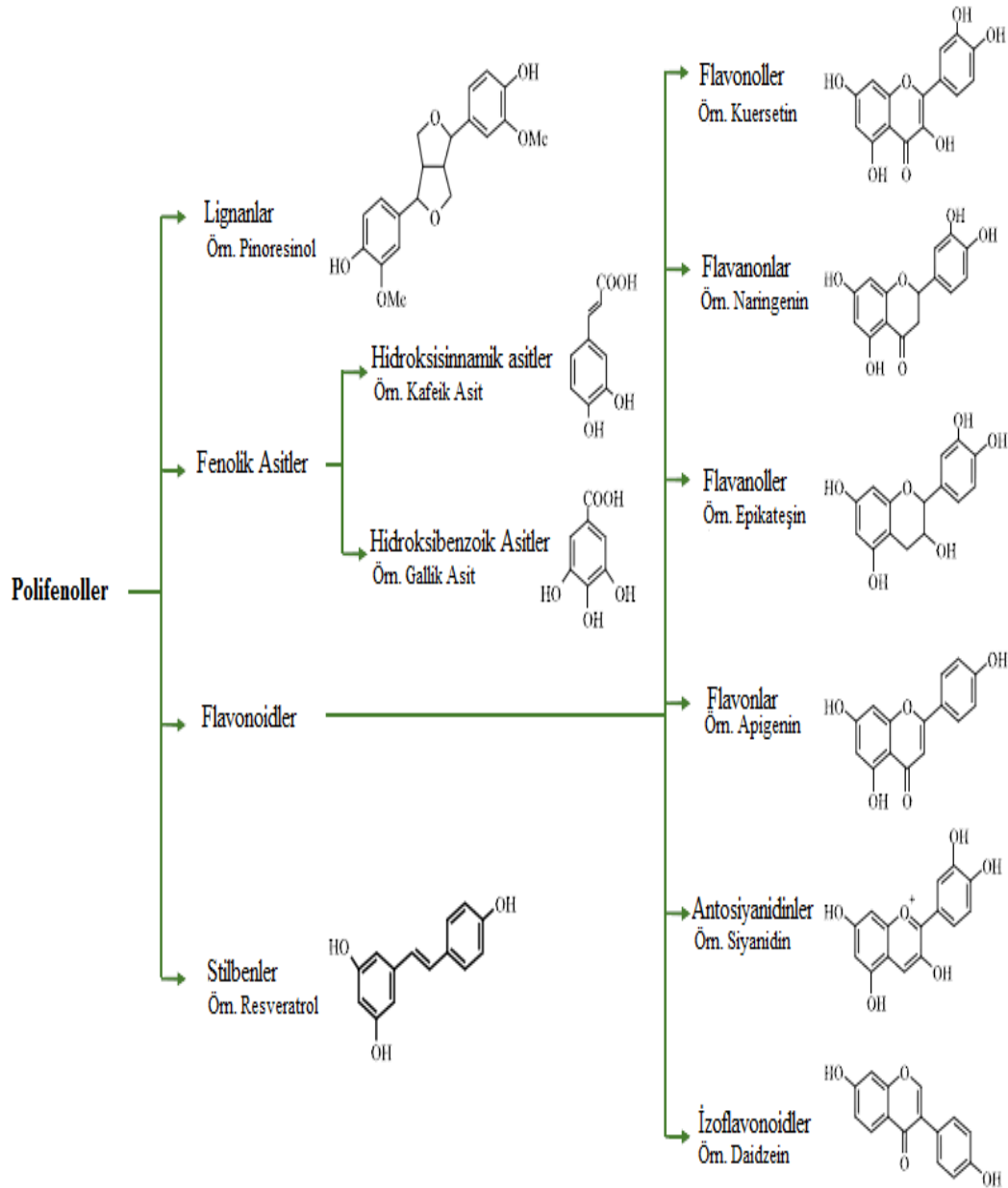
Ribéreau-Gayon (1972) ise, fenolik maddeleri her bitkide yaygın olarak bulunan yaygın dağılmış fenoller, daha az yaygın dağılan fenoller ve polimer halde bulunan fenoller olmak üzere üç sınıfta toplamıştır.

Harborne (1989) ise, fenolik bileşikleri düşük (fenolik asitler), orta (flavonoidler) ve yüksek (taninler) olmak üzere molekül ağırlıklarına göre sınıflamıştır. Bunun dışında fenolik bileşikleri basit kimyasal yapılarına göre de çeşitli şekillerde sınıflamıştır.

Yapılan çalışmalarda bitkilerde bulunan fenolikler basit fenoller, fenolik asitler, flavonoidler, kumarinler, stilbenler ve hidrolize olabilen ve kondense tanenler olarak sınıflara ayırmıştır (Shahidi ve Nacz 1995, 2004, Harborne, 1993, Nacz ve Shahidi 2004).

Engert (2011) çalışmasında fenolik bileşikleri sağlık üzerine olumlu etkilerine göre fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, kumarinler ve taninler olmak üzere beş sınıfa

ayrırken; Gómez-Caravaca vd. (2014) çalışmalarında aynı sınıflamayı şekil 2.6’de görüldüğü gibi fenolik asitler, flavonoidler, lignanlar ve stilbenler şeklinde yapmıştır. Gıdalardaki fenolik bileşikler ise fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki temel sınıf altında toplanmaktadır (Karadeniz 1994). Fenolik asitler de kendi içinde hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitler olarak ikiye, flavonoidler ise flavonoller, flavonlar, flavanoller (kateşinler), flavanonlar, antosiyanidinler ve izoflavonoidler olmak üzere altı gruba ayrılmaktadır (Engert 2011).

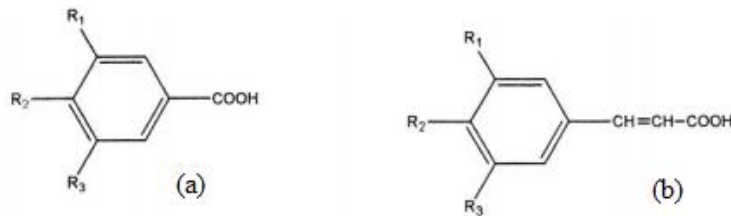


Şekil 2.6 Bitkilerdeki temel fenolik bileşik grupları (Gómez-Caravaca vd. 2014)

### 2.5.1 Fenolik asitler

Fenolik asitler; fenolik bileşenlerin yaklaşık üçte birini kapsayan ve bir adet karboksilik grup içeren temel gruplardan birisidir (Velioğlu 2010). Genel olarak serbest halde bulunmayıp çoğunlukla fenolik asitlerin karboksil grupları, karbonhidratlar, glikozitler, aminoasitler ve proteinler ile reaksiyona girerek bağlı formlarda bulunmaktadır (Cemeroğlu 2004, Acar ve Gökmen 2007, Velioğlu 2010).

Fenolik asitler hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Hidroksibenzoik asitler  $C_6 - C_1$  fenil metan yapısına sahipken hidroksisinnamik asitler ise  $C_6 - C_3$  fenilpropan yapısına sahiptir (Karadeniz 1994, Cemeroğlu 2004, Velioğlu 2010, Nizamlıoğlu ve Nas 2010). Bu yapılarda  $C_6 - C_1$  yapısı 6 karbonlu aromatik fenol halkası ve ona bağlı tek karbonlu bir grubu ve  $C_6 - C_3$  yapısı ise bir aromatik halka ve ona bağlı üç karbonlu bir zinciri ifade etmektedir (Ünsal 2007). Fenolik asitlerin genel yapısı şekil 2.7’de görülmektedir.



| Benzoik Asit                   |                   |                |                   | Sinnamik Asit          |                   |                |                   |
|--------------------------------|-------------------|----------------|-------------------|------------------------|-------------------|----------------|-------------------|
| Türevleri                      | R <sub>1</sub>    | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub>    | Türevleri              | R <sub>1</sub>    | R <sub>2</sub> | R <sub>3</sub>    |
| <i>p</i> -hidroksibenzoik asit | H                 | OH             | H                 | <i>p</i> -Kumarik Asit | H                 | OH             | H                 |
| Protokateşuik Asit             | H                 | OH             | OH                | Kafeik Asit            | OH                | OH             | H                 |
| Vanilik Asit                   | CH <sub>3</sub> O | OH             | H                 | Fenilik Asit           | CH <sub>3</sub> O | OH             | H                 |
| Şirincik Asit                  | CH <sub>3</sub> O | OH             | CH <sub>3</sub> O | Sinapik Asit           | CH <sub>3</sub> O | OH             | CH <sub>3</sub> O |
| Gallik Asit                    | OH                | OH             | OH                |                        |                   |                |                   |

Şekil 2.7 Fenolik asitlerin genel yapısı

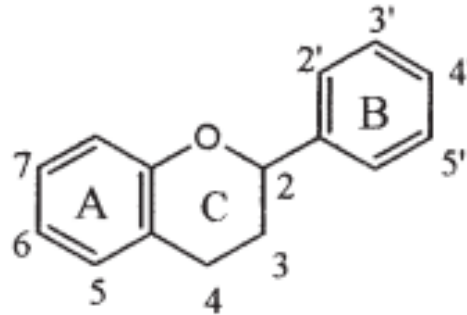
a. Hidroksibenzoik asit türevleri, b. Hidroksisinnamik asit türevleri (Liu 2004, Nizamlıoğlu ve Nas 2010)

Hidroksi benzoik asitler ve türevleri gıdalarda nadiren veya hiç bulunmazken hidroksisinnamik asitler ve türevleri ise gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır. Hidroksibenzoik asitler arasında en yaygın olanlar salisilik asit, *p*-hidroksibenzoik asit,

vanilik asit, şirincik asit, protokateşuik asit, gallik asit ve gentisik asit; hidroksisinamik asitler arasında en yaygın olanlar ferulik asit, kafeik asit, *o*-kumarik asit, *p*-kumarik asit, *m*-kumarik asit ve sinapik asittir (Karadeniz 1994, Cemeroğlu 2004, Acar ve Gökmen 2007, Velioğlu 2010).

### 2.5.2 Flavonoidler (Flavan Türevleri)

Bitkisel fenoliklerin en büyük grubunu flavonoidler oluşturmaktadır. Ayrıca gıdalarda en yaygın olarak bulunan polifenollerdir. Flavonoidlerin karbon iskeleti Şekil 2.9'de görüldüğü üzere difenilpropan (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) yapısındadır. Flavonoidlerin C<sub>6</sub> - C<sub>3</sub> - C<sub>6</sub> yapısı 15 karbon atomu içeren, üç karbonlu bir zincir (propan zinciri) tarafından bağlanmış iki aromatik halkayı (fenil halkası) ifade etmektedir (Karadeniz 1994, Acar ve Gökmen 2007, Nizamlioğlu ve Nas 2010, Fraga 2010).

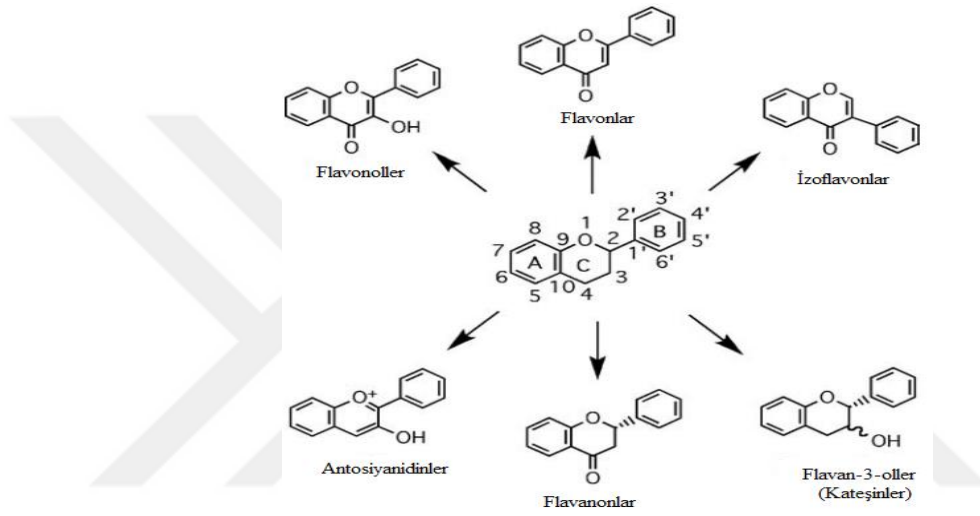


Şekil 2.8 flavonoidlerin genel yapısı (Liu 2004)

Flavonoidlerin yapısında, biri piran halkası (C) diğer ikisi aromatik halka (A ve B) olmak üzere üç halka bulunmaktadır. Flavonoidler arasındaki farklar moleküle bağlanan hidroksil gruplarının sayısından, doymamışlık derecesinden, flavonoid yapısının oksidasyon düzeyinden kaynaklandığı gibi ortada bulunan piran halkasındaki yapısal değişikliklere de bağlı olarak günümüzde 4000'den fazla sayıda olan flavonoidler altı farklı grup altında incelenmektedir (Karadeniz 1994, Liu 2004, Acar ve Gökmen 2007, Fraga 2010).

Şekil 2.9’da yapısal özellikleri görülen bu gruplar;

1. antosiyanidinler,
2. flavanonlar,
3. flavonlar,
4. flavonoller,
5. flavan-3-oller (kateşinler),
6. izoflavonlardır.



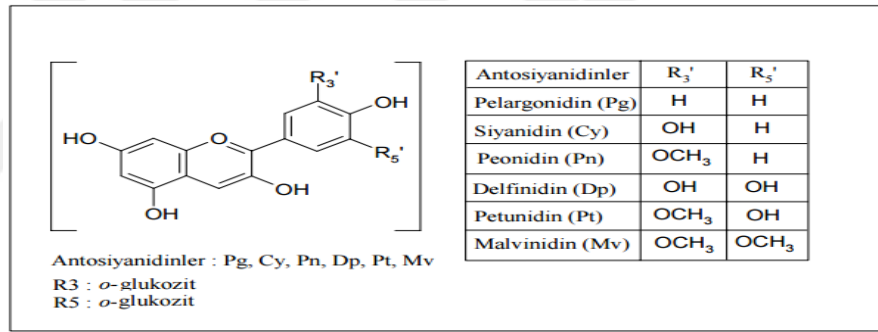
Şekil 2.9 Flavonoid gruplarının yapısal özellikleri (Fraga 2010)

### 2.5.2.1 Antosiyanidinler

Genellikle doğada serbest halde bulunmazlar ancak serbest aglikon haldeki antosiyanlara antosiyanidin denilmektedir. Antosiyaninler, genellikle bir aglikon (antosiyanidin) ile şeker molekülünü ya da çoğunlukla bir aglikon (antosiyanidin) ile bir açıl grubunu içermektedir. Antosiyanidinlere genellikle monosakkaritlerden ramnoz, glukoz, galaktoz, ksiloz ve arabinoz, disakkaritler veya trisakkaritler bağlanarak glikozit oluştururlar. Aglikonlara şeker ya da açıl bağlanmasına, bağlanan grubun sayısına ve aglikon üzerindeki konumuna göre antosiyanidinler çeşitlenmektedir. Glikozit yapıdaki antosiyan (antosiyanin), aglikon (antosiyanidin) yapıdakine göre daha stabil olmaktadır. (Harborne ve Williams 2001, Andersen ve Jordheim 2006, Acar ve Gökmen 2007, Nizamlıoğlu ve Nas 2010, Toprak 2011).

Antosiyaninler suda çözünebilir nitelikte olup pek çok çiçek, meyve ve tohumun somon pembesinden kırmızıya, eflatundan koyu maviye kadar olan geniş bir aralıktaki siyanik renklerinden sorumlu temel flavonoid gruplarından birini oluşturmaktadır (Andersen ve Jordheim 2006). Antosiyaninlerin aglikon kısmını oluşturan fenolik yapıda  $-OCH_3$  grubu sayısı arttıkça kırmızılık, aynı grupta  $-OH$  grubu sayısı arttıkça mavilik baskın olmaktadır (Acar ve Gökmen 2007).

Günümüzde doğada yaklaşık olarak 31 adet antosiyanidin tanımlanmış olmasına rağmen tanımlanmış olan 539 adet antosiyaninin yaklaşık %90'ı 6 adet aglikondan türemektedir. Bu antosiyanidinler pelargonidin (Pg), siyanidin (Cy), peonidin (Pn), delfinidin (Dp), petunidin (Pt) ve malvidin (Mv) olup yapıları Şekil 2.10'da görülmektedir (Andersen ve Jordheim 2006).



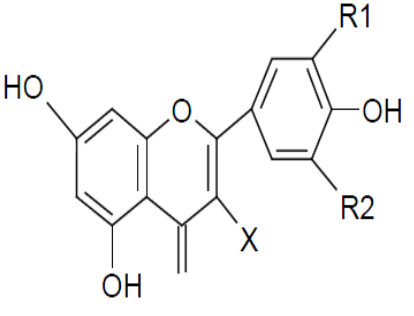
Şekil 2.10 Antosiyanidinler ve antosiyanin pigmentlerinin yapısı (Nizamlıoğlu ve Nas 2010)

### 2.5.2.2 Flavonlar ve flavonoller

Flavon ve flavonoller orta halkanın 3. pozisyonundaki (Şekil 2.13'de X ile gösterilen) karbon atomuna bağlı olan grubun hidrojen veya hidroksil olması birbirinden ayırmaktadır (Cemeroğlu 2004, Nizamlıoğlu ve Nas 2010).

Hemen her bitkide bulunan flavonoller ve flavon glikozitleri hafif sarı renktedir. Flavonoller gıdalarda glikozit formda yaygın olarak bulunmaktadır. Genellikle glukoz,

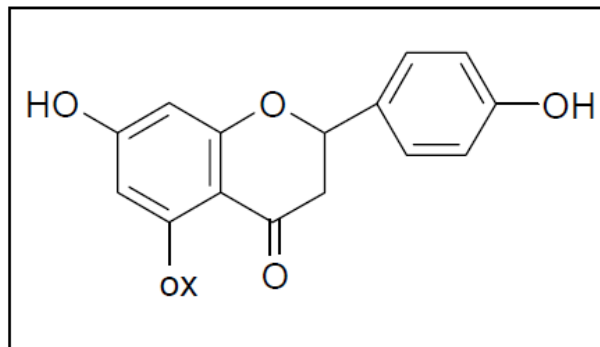
galaktoz, rutinoz gibi şekerler ve nadiren de ramnoz, arabinoz, ksiloz orta halkanın 3. karbonuna oksijen köprüsü ve glikozidik bağ ile bağlanmaktadır. (Cemeroğlu 2004, Acar ve Gökmen 2007, Murkovic 2016).

|                                                                                   |                         |                  |    |                      |                  |                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------|----|----------------------|------------------|------------------|
|  | Flavonollar<br>(X = OH) | R1               | R2 | Flavonlar<br>(X = H) | R1               | R2               |
|                                                                                   | Kamferol                | H                | H  | Apigenin             | H                | H                |
|                                                                                   | Kuersetin               | OH               | H  | Luteolin             | OH               | H                |
|                                                                                   | Mirisetin               | OH               | OH | Krisoeriol           | OCH <sub>3</sub> | H                |
|                                                                                   | isoramnetin             | OCH <sub>3</sub> | H  | Trisin               | OCH <sub>3</sub> | OCH <sub>3</sub> |

Şekil 2.11 Flavonoller ve flavonların kimyasal yapıları (Cemeroğlu 2004)

### 2.5.2.3 Flavanonlar

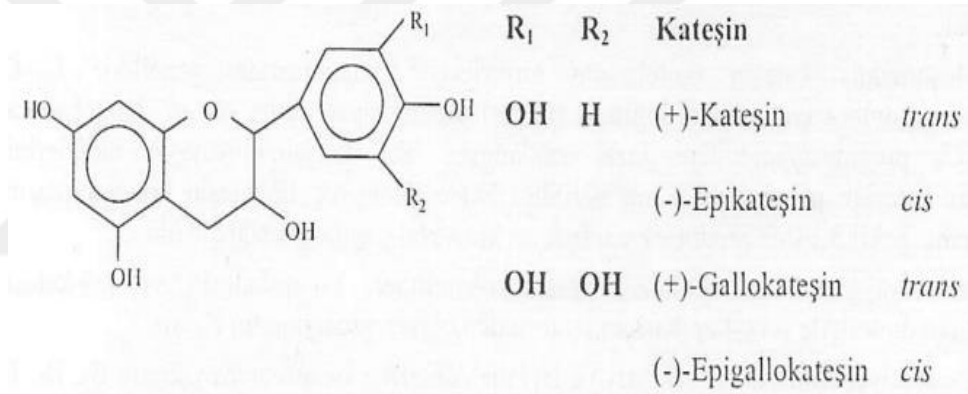
Bileşikler sınıflamada ayıran özelliği şekil 2.12’de de görüldüğü gibi ortadaki halka yapıda çift bağ içermemesidir. Gıdalara acı tadını veren yapılar olup genellikle glikozidik formda bulunmaktadır. Genellikle turunçgillerde yaygın olarak bulunan flavanonların en önemlileri naringin, hesperidin ve naringenindir.(Cemeroğlu 2004, Nizamlioğlu ve Nas 2010)



Şekil 2.12 Flavanon yapısı (Nizamlioğlu ve Nas 2010)

#### 2.5.2.4 Flavan-3-oller (kateşinler), proantosiyanidinler ve tanenler

Gıdalardaki en yaygın flavonoid grubunu kateşinler oluşturmaktadır. Hidroksil grubu içeren ve üçüncü karbonlarında doymuş bağ içeren flavonoidler, flavanoller olarak da bilinirler. Flavan-3,4-dioller ve flavan-3-oller bu gruba dâhildir. flavan-3-oller aynı zamanda kateşinler olarak da adlandırılmaktadır. Kateşinler renksizdir ve çoğunlukla serbest halde bulunurlar. Yapılarında iki adet asimetrik karbon atomu bulunduğu için bu yapılarda dört izomeri söz konusudur. Yapıdaki 2. ve 3. karbon atomundaki hidrojen trans konfigürasyonunda ise (+)-kateşin ve (+)-gallokateşin, cis konfigürasyonunda ise (-)-epikateşin ve (-)-epigallokateşin oluşmaktadır (Karadeniz 1994, Shahidi ve Nacz 1995, Cemeroğlu 2004, Acar ve Gökmen 2007, Murkovic 2003, 2016) (Şekil 2.13).



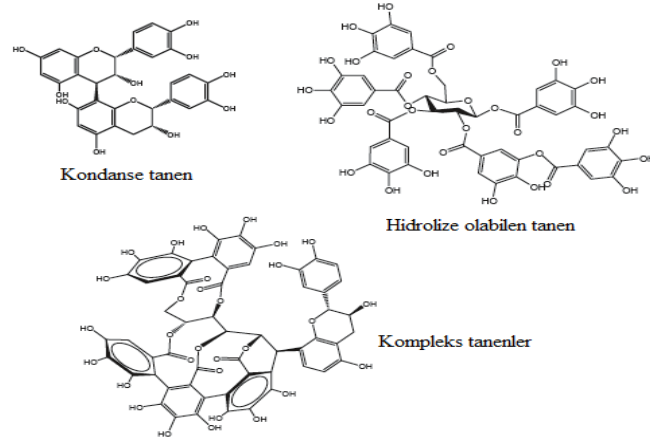
Şekil 2.13 Kateşinlerin yapıları (Acar ve Gökmen 2007)

(+)-kateşin, (-)-epikateşin, (+)-gallokateşin ve epigallokateşin bira içerisinde bulunan Flavan-3-ol grubu monomerik renksiz fenoliklerdir. Bu fenolikler atmosferik oksijen ile kolaylıkla reaksiyona girebilmekte, kimyasal veya enzimatik yollarla dimerlere, oligomerlere ve polimerlere kondanse olarak kuvvetli antioksidan özellikte ancak stabil olmayan polimerleri oluşturmaktadırlar. Bu polimerlere proantosiyanidinler denilmektedir. Proantosiyandinin molekül ağırlıkları bileşiğin buruk veya acı tadını etkilerken zincir uzunluğu ise bileşiğin rengini etkilemektedir. Kateşinler monomer haldeyken renksiz oldukları halde, proantosiyanidinlerde zincir uzunluğu uzadıkça renk sarıdan kahverengine dönüşmektedir. Ayrıca proantosiyanidinler organik çözücülerde seyreltik asit ortamında ısıtıldıklarında okside ve polimerize olarak antosiyanidin

pigmentlerini oluşturmakta ve renkleri kırmızı-mora d6nmektedir. Proantosiyanidinlerin oluşumunda, eğer polimer yapı sadece epikateşin ve kateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa prosiyanidin; kateşin ve gallokateşin kondensasyonu ile oluşuyorsa, prodelfinidin olarak adlandırılmaktadır (Karadeniz 1994, Cemeroğlu 2004, Rib6reau-Gayon vd. 2006b, Acar ve G6kmen 2007, Nizamlıoğlu ve Nas 2010, Boulton 2013).

(+)-kateşin ve proantosiyanidinlerden prodelfinidin, arpa ve maltta bulunan temel monomerik ve dimerik flavan-3-ol bileşiğidir (Jaganath ve Crozier 2010).

Tanenler, oligomerik ve polimerik yapıda olup, sulu 6zeltelerde proteinleri bağlama ve 6kt6rebilme 6zelliği g6steren polifenollerdir. Tanenler şekil 2.14’de 6rnekleri g6r6ld6ęu 6zere; hidrolize olabilen tanenler, kondanse tanenler (kateşik tanenler, proantosiyanidinler) ve kompleks (t6rev) tanenler olarak 6 gruba ayrılmaktadır. Kondanse tanenler aynı zamanda proantosiyanidinler olarak da bilinen ve flavan-3-ol veya kateşinlerin polimerizasyonu sonucu oluşan oligomerik ya da polimerik maddelerdir. Bileşiğin polimerizasyon derecesi proteinlere bağlanabilme ve 6kt6rebilme 6zelliğini etkilemektedir. Kondanse tanenler asit ortamında ısıtıldıklarında hidrolize olmakta ve kırmızı renkli antosiyanidinler oluşmaktadır. Hidrolize olabilen tanenler, gallik ve/veya ellajik asitlerin başta glikoz olmak 6zere şekerler ile oluşturduğu kopolimerlerdir. Hidrolize olabilen tanenler gallotanenler ve ellagitanenler olmak 6zere iki eşitir. Kompleks tanenler ise gallotanen ve/veya ellagitanen 6nitesine glikozidik olarak bağlanan kateşin 6nitesinin oluşturduğu tanenler olarak tanımlanmaktadır (Shahidi and Naczki 1995, 2004, Vermeris ve Nicholson 2006, Rib6reau-Gayon vd. 2006b, Fraga 2010).

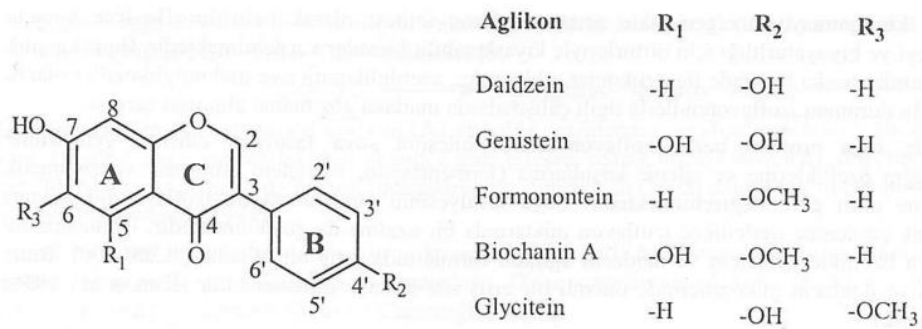


Şekil 2.14 Tanen çeşitleri

### 2.5.2.5 İzoflavonlar

İzoflavonoidler bitkisel kaynaklı fitoöstrojenler olup genellikle soya fasülyesi ve ürünleri ile nadiren de baklagillerde bulunmaktadır. Antioksidan özellik göstermelerinin yanı sıra östrojenik aktivite de göstermektedir. Bu özellikleri ile göğüs kanseri ve osteoporozu önleyici etkisi olduğu düşünülmektedir (Jaganath ve Crozier 2010, Murkovic 2016).

Kimyasal açıdan polifenol olup, izoflavonoidler, lignanlar ve kumestonlar olmak üzere üç farklı yapısal sınıfta incelenirler. Daidzein, genistein ve glycitein en yaygın izoflavonlar olup yapısı şekil 2.15’de görülmektedir (Acar ve Gökmen 2007, Jaganath ve Crozier 2010).



Şekil 2.15 İzoflavonoidlerin yapısal formülleri (Acar ve Gökmen 2007)

## 2.6 Birada Fenolik Bileşikler

Birada bulunan fenolik bileşiklerin temel kaynakları; ham madde olarak kullanılan arpa, malt katkıları ve şerbetçi otu olduğu gibi; bira üretim prosesinin de fenolik bileşim üzerine etkileri olmaktadır. Birada bulunan fenolik bileşikler temel olarak üretimde kullanılan hammaddelerden veya bu hammaddelerde bulunan fenollerin ya da mevcut bulunan fenoliklerin transformasyonu ve modifikasyonu kaynaklı olmaktadır (Fernández de Córdova ve Ruiz Medina 2014, Vinson vd.2003). Birada fenolik bileşikler biranın teknolojik ve fiziksel özelliklerini, köpük kalitesini, fiziksel ve kimyasal stabilitesini, aroma stabilitesini, renk özelliklerini, duyu özelliklerini ve raf ömrünü etkilemektedir (Fumi vd. 2006, Leiper ve Miedl 2009, Zhao 2014).

Bira üretiminde kullanılan malt, pirinç ve mısır gibi malt katkıları, şerbetçi otu ve diğer aromatik katkıları, biranın başlangıç aşamasında, fenolik ve polifenolik bileşenlerin temel kaynağını oluşturmaktadır. Arpa ve malt arasında 0.90 korelasyon sayısı bulunmaktadır. Yani arpa, malta işlenirken içerdiği fenolik ve polifenolik bileşikler ile daha üretiminin başlangıç aşamalarında biranın fenolik içeriğine katkıda bulunmaktadır. Bira üretimi sırasında ise malttan gelen fenolikler pek çok kimyasal değişime uğramaktadır. Maltlama sırasında meydana gelen küçük değişiklikler dışında asıl değişimi, şıra kaynatma, fermentasyon veya depolama aşamalarında meydana gelen fenoliklerin polimerizasyon tepkimeleri ve polifenoller oluşturmalarıdır (Bendelow ve La Berge 1979, Shahidi ve Nacz 1995, 2004, Leiper ve Miedl 2009).

Klasik malt birasında polifenollerin toplam miktarı 150 – 350 mg/L civarında olmaktadır (Baek ve Lee 2009, Boulton 2013). Ancak bira çeşidine bağlı olarak polifenol miktarı 100 – 300 mg/L aralığında da olabilmektedir (Leiper ve Miedl 2009). Bu miktarın yaklaşık %66'sı (%70- %80 arasında değişebilen oranlarda) malttan kaynaklanırken geri kalan kısmı şerbetçiotundan gelmektedir. Biradaki toplam fenollerin miktarı, kullanılan ham maddenin tabiatına, maltın hangi koşullarda kavrulduğuna ve bira proses koşullarına ve uygulanan işlemlere bağlı olarak

değişmektedir (Gerhäuser ve Becker 2009, Boulton 2013, Fernández de Córdova ve Ruiz Medina 2014).

Arpa içeriğindeki başlıca serbest haldeki fenolikler flavanollerken; başlıca bağlı haldeki fenolikler de fenolik asitlerdir. Arpa ve maltta monomerik yapıda en yüksek miktarda kateşin ve gallokateşin bulunurken, oligomerik ve polimerik yapıda ise proantosiyaniidinler öne çıkmaktadır (Dvořáková vd. 2008a). Bira üretiminde kullanılan arpa çeşidinin iki ya da altı sıralı olması fenolik profili etkilemezken; kullanılan arpanın kabuklu veya kabuksuz olması arpanın kateşin ve prosiyanidin miktarlarını etkilemektedir (Zhao 2015).

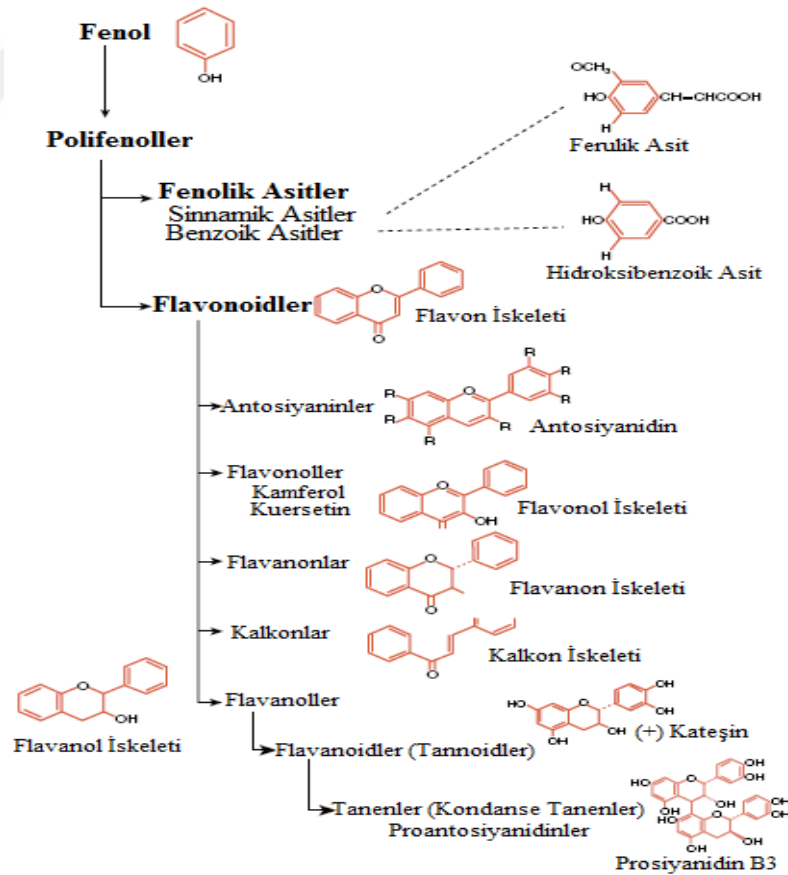
Şerbetçi otu kateşinler ve proantosiyaniidinlerce çok zengin bir kaynaktır. Malta kıyasla 100 kat daha az miktarda şerbetçi otu sıraya eklenmesine rağmen şıra içerisinde bulunan polifenollerin %20 - % 30'u şerbetçi otundan kaynaklanmaktadır. Şerbetçi otu kuru ağırlığının %2 - %4'ü kadar polifenol içermektedir. Aroma tipi şerbetçi otları acılık tipi şerbetçi otlarına göre daha fazla miktarda düşük moleküllü polifenoller içermektedir. Şerbetçi otunun acılık özelliği azaldıkça, flavonoid miktarı artmaktadır. Şerbetçi otları arasındaki farklılık yetiştirme bölgesine, çeşide ve bitki gelişimine bağlı olmaktadır (Krottenthaler 2009, Colin vd. 2013).

Birada bulunan fenolik bileşikler, bira stabilitesine ve duyuşal özelliklerine yaptıkları katkılara göre yararlı fenoller, zararlı fenoller ve ne yararlı nede zararlı nötr fenolikler olarak sınıflanmaktadır. Bira içerisinde peptidler ve proteinler ile reaksiyona giren ve biyolojik olmayan bulanıklığa neden olan fenolik bileşikler ile biranın flavor stabilitesini bozan, istenmeyen organoleptik özellikler ve off-flavorlara neden olan ve raf ömrünü düşüren fenoller, zararlı fenoller grubunda incelenmektedir. Kolloidal stabiliteyi, köpük oluşumunu ve flavoru geliştiren ve antioksidan özellik gösteren fenolik bileşikler ise yararlı fenoller sınıfında incelenmektedir (Dadic 1970, 1971).

Fenolikler; biranın aroma, burukluk, gövde ve doygunluk özellikleri üzerine olumlu ya da olumsuz etki göstermekte ve birada oluşabilecek off-flavorların bir kısmından

sorumlu olabilmektedir. Bunun dışında biranın raf ömrünü de proteinler ve polifenoller arasındaki interaksiyonlar sebebiyle kolloidal stabilitenin bozulması doğrudan etkilemektedir. Ayrıca okside olabilir özellikle oldukları için biranın rengi üzerine de etkileri vardır (Shahidi ve Nacz 1995, 2004, Boulton 2013, Colin vd. 2013,). Yine malt kaynaklı olan proantosiyanidin özellikteki fenoller ise birada protein-polifenol kaynaklı bulanıklıkların %80'ine neden olmakta ve hem bulanıklığa hem de köpük oluşumunda problemlere neden olmaktadır (Shahidi ve Nacz 1995, 2004).

Bira içinde bulunan polifenoller; hidroksibenzoik asitler ve hidroksisinnamik asitlerden oluşan fenolik asitler ile flavonoller ve türevleri olarak iki grupta toplanmıştır. Biradaki toplam fenolik madde miktarının yaklaşık %10 kadarını biranın kolloidal stabilitesi ile doğrudan ilişkili olan flavanoller oluşturmaktadır (Leiper ve Miedl 2009). Şekil 2.16'da birada önemi bulunan temel polifenoller gösterilmektedir.



Şekil 2.16 Birada önem arz eden temel polifenoller (Boulton 2013)

Bira içerisinde en fazla miktarda bulunan fenolik asitler; hidroksibenzoik asitler grubundan gallik asit, protokateşuik asit, p-hidroksibenzoik asit, vanilik asit, gentisik asit ve şirincik asit; hidroksisinamik asitler grubundan ise kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, klorojenik asit ve sinapik asittir. Bu fenolikler bira içerisinde serbest halde, ester halde ya da glikozidik halde bulunabilmektedir. (Boulton 2013, Fernández de Córdova ve Ruiz Medina 2014, Zhao 2014).

Bir başka çalışmada ise bira içeriğinde en fazla bulunan fenolik asit ferulik asit olarak belirtilmekte ve ferulik asidi sırasıyla miktar olarak sinapik, vanilik, kafeik, p-kumarik ve 4-hidroksifenilasetik asit izlediği ifade edilmektedir. Bira içerisinde ferulik asit, kafeik asit, şirincik asit ve sinapik asit genellikle bağlı formda bulunurken; vanilik asit serbest formda; p-kumarik asit ve 4-hidroksifenilasetik asit genellikle hem serbest hem de bağlı formda bulunmaktadır (Piazzon vd. 2010).

Bira içeriğinde altı farklı flavonoid sınıfından 31 spesifik bileşen, bira içerisinde 0.001-20 mg/L aralığında değişen konsantrasyonda belirlenmiştir. Bira içindeki başlıca flavonoidler isoxanthohumol, kateşin, kateşin galat, epikateşin galat, kamferol, kuersetin, prosiyanidin B3, prodelfidib B3 ve prodelfidin B9 olarak belirlenmiştir (Chen ve Blumberg 2009). Bunların dışında flavonollerden rutin, kamferol ve kuersetin glikozitleri; flavonlardan apigenin; izoflavonlardan genistein ve daidzein; flavanollerden monomerik formlarından (+)-kateşin, (-)-epikateşin, (-)-galloepikateşin, (-)-gallokateşin; proantosiyandinlerden dimer formda propelarganidin B, trimer formda prosiyanidin C ve propelarganidin C olmak üzere pek çok farklı grupta fenolik bileşik de birada bulunmaktadır (Fernández de Córdova ve Ruiz Medina 2014).

Kateşinler ve proantosiyandinler biradaki toplam fenol miktarının yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır. Malt içeriğinde sadece 10- 100 ppm (+)-kateşin bulunurken; kuru şerbetçi otunda ise (+)-kateşin ve (-)-epikateşin miktarı yaklaşık 2800 ppm ve 1485 ppm dolayında bulunmaktadır. Bira bileşiminde ise litrede 0.5 - 6.9 mg (+)-kateşin, 0.8-1.9 mg (-)-epikateşin bulunmakta ve bunun yanı sıra (-)- epikateşin gallat, (-)- kateşin gallat ve iki glikozit formu daha bulunmaktadır (Colin vd. 2013).

Birada bulunan fenollerin tanımlanması, miktarının belirlenmesi ve diğer fenolikçe zengin besinler ile kıyaslamaları üzerine yapılan pek çok çalışma mevcuttur.

Drawert ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bira içerisinde basit fenolikler, aromatik karboksilik ve fenol-karboksilik asitler, hidroksikumarinler, kateşinler, löko antosiyanidinler, antosiyanidinler, flavonoller, flavononler ve fenolik glikozitler olmak üzere 67 farklı fenolik bileşiği belirlemişlerdir. (Drawert vd. 1977)

McMurrough vd. (1984) HPLC ile yaptığı çalışmasında İrlanda biralarında toplam fenol içeriğini 5-8 mg/L, Alman, İngiliz ve Amerikan biralarında ise 16-40 mg/L aralığında belirlemiştir. Ayrıca tüm bira örneklerinde baskın fenolik asitlerin vanilik asit, *p*-kumarik asit ve ferulik asit olduğunu belirlemiştir.

Achilli vd. (1993), ikisi beyaz ikisi kırmızı dört farklı şarap, Alman, Flement ve İtalyan üç farklı bira, yedi farklı limon suyu örneği ile soya, tütün ve Forsythia bitki ekstraktlarında HPLC cihazı ve kolorimetrik dedeksiyon kombinasyonu ile basit fenoller, kompleks fenoller ve flavonoidlerden 36 farklı fenoliği incelemiştir. Çalışmada geliştirdikleri yeni kombinasyon ile bira örneklerinde kateşin, ferulik asit, vanilin, şirincik asit ve vanilik asit gibi 10 farklı fenolik bileşenin ve farklı fenol grubundaki fenoliklerin 38 dakika gibi kısa sürede ve yüksek kesinlikte belirlenmesini sağlamışlardır. Bira örneklerinde fenolik bileşimde örneklerin farklı bölgelerden gelmesinin önemli olmadığını belirlemişlerdir.

Bartolomé vd. (2000) standart biralar ve alkolsüz biralardaki bazı fenolik bileşiklerin ortalama miktarlarını kıyaslamıştır. Çalışmada; standart pek çok fenolik bileşiğin, standart biraya ve alkolsüz biraya ait ortalama değerleri arasında önemli fark olmadığı belirlenmiştir. İncelenen fenoller ve ortalama değerleri sırasıyla alkolsüz birada ve standart birada şu şekilde bulunmuştur: *p*-hidroksibenzoik asit (0.073 mg/L - 0.092mg/L), tirosol (2.78 mg/L -11.83 mg/ L), (+)- kateşin (0.641 mg/L - 0.463mg/L), vanilik asit (0.347 mg/L - 0.477 mg/L), kafek asit (0.045 mg/L - 0.074 mg/L),

*p*-kumarik asit (0.576 mg/L- 0.773 mg/L), ferulik asit (0.718 mg/L – 1.305 mg/L) ve sinapik asit (0.073 mg/L – 0.090 mg/L).

Gorinstein vd. (2000) çalışmasında beyaz şarap, kırmızı şarap ve bira örneklerini içerdikleri fenolikler bakımından kıyaslamıştır. Çalışmada bira örneklerinin toplam fenolik madde miktarı ortalama 345.1 mg/L, kırmızı şaraplarda ortalama 831.2 mg/L ve beyaz şaraplarda 436.2 mg/L olarak belirlenmiş ve bira örneklerinin en düşük fenolik miktarına sahip olduğu belirtilmiştir. Bira örneklerinde ayrı ayrı fenolik madde analizinde ise epikateşin miktarı ortalama 65.5 mg/L, kuarsetin miktarı ortalama 0.95mg/L, *p*- kumarik miktarı ortalama 2.1mg/L, gallik miktarı ortalama 2.9 mg/L, ferulik asit miktarı ortalama 6.8mg/L ve prosiyanidin miktarı ortalama 62.3 mg/L olarak bulunmuştur. Bu değerlerin hepsinde kırmızı şarap örnekleri üstünken, epikateşin, ferulik asit ve proantosiyanın miktarlarında bira örneklerinin beyaz şarap örneklerinden daha üstün olduğu, *p*-kumarik ve gallik asit örneklerinde bira ve beyaz şarap örneklerinin neredeyse denk olduğunu belirlemiştir.

Gorinstein vd. (2000) çalışmasına benzer bir çalışma da, Di Pietro ve Bamforth tarafından 2011 yılında gerçekleştirilmiştir. Di Pietro ve Bamforth (2011) ale tipi bira, lager tipi bira, kırmızı şarap ve beyaz şarapların alkol miktarlarının eşitlenmesinin ardından toplam polifenol miktarlarının kıyaslanmasını yapmışlardır. Çalışmalarının sonucunda kırmızı şaraplarda ortalama 9.88 mg/mL, ale tipi biralarda 0.56 mg/mL, lager tipi biralarda 0.44 mg/mL ve beyaz şarapta 0.20 mg/mL değerlerini bularak bira örneklerinin kırmızı şaraplardan daha az miktarda polifenol içermesine rağmen beyaz şaraplardan polifenolce daha zengin olduğunu belirlemişlerdir.

Floridi vd. (2003) kolorimetrik array dedeksiyon ile İtalyada üretilen 23 farklı malt ve bira örneklerinde 19 fenolik asidi incelemiştir. Çalışmalarında ortalama toplam fenolik asit konsantrasyonlarını sırada 22.1 mg/ L ve birada 33.8 mg/L olarak belirlemiştir. Ayrıca 23 farklı İtalyan birasında buldukları ortalama değerlerden bazıları şu şekildedir: benzoik asitler grubundan; salisilik asit 2.87 mg/ L, protokateşuik asit 0.84 mg/ L, gallik

asit 0.59 mg/ L, vanilik asit 0.74 mg/ L, şirincik asit 0.24 mg/ L; sinamik asitler grubundan *p*-kumarik asit 1.36 mg/ L, kafeik asit 0.57 mg/ L ve ferulik asit 2.4 mg/ L.

Vinson vd. (2003) 15 lager, 6 porter ve ale, 11 light ve alkolsüz bira örneğinde serbest fenol miktarını belirlemiştir. Çalışmada fenoller Folin –Ciocalteu ayracı ve kateşin bileşiği standart olarak kullanılarak oksidasyon – redüksiyon tepkimelerine göre kolorimetrik olarak belirlemiştir. Bira örneklerinin fenolik konsantrasyon sıralaması Ale tipi > Lager tipi > düşük kalorili > alkolsüz olarak yapılmıştır.

Zhao (2014) derlemesinde bira tiplerine göre fenolik içerik miktarının değiştiğini belirtmiş ve Vinson vd. (2003) yaptığı sıralamayı yeniden düzenlemiştir. Zhao (2014) ve Piazzon vd. (2010)'a göre bira çeşitlerinin fenolik içerik miktarına göre sıralaması şu şekildedir: Alkolsüz bira < lager tipi bira < Pilsner tipi bira < buğday birası < ale tipi bira < Abbey birası < siyah alman birası (bock). Biraların fenolik içeriğindeki değişim biranın üretildiği maltın yüksek ekstrakt içermesine, biranın yoğunluk miktarına ve biraların üretildikleri arpa, malt ve şerbetçi otu cinsine ve üretim prosesine bağlı olduğunu belirtmiştir.

Piazzon vd. (2010) çalışmalarında bock, abbey, ale, pilsen, lager, buğday ve alkolsüz biraları toplam fenol içeriklerine, fenolik asit profillerine ve antioksidan aktivitelerine göre kıyaslamıştır. Çalışmada toplam fenol miktarlarına göre en yüksek toplam fenol miktarı 875 mg GAE/L ile bock siyah alman birasında, en düşük toplam fenol miktarı ise 366 mg GAE/L ile alkolsüz birada bulunmuştur. Ayrı ayrı fenolik asitlerin analizi yapıldığında bu 7 farklı çeşit bira örneklerinin hepsinde en fazla miktarda ferulik asit bulunmaktadır.

Jandera vd. (2005) çalışmalarında şarap, çay ve 10 farklı bira örneğinde 32 fenolik bileşiği ve flavonoidi incelemiştir. Bira örneklerine ait bulunduğu sonuçların bazıları şu şekildedir: benzoik asitlerden *p*-hidroksibenzoik asit 0.32 mg/ L, protokateşuik asit 0.15 mg/ L, vanilik asit 0.52 mg/ L, şirincik asit 0.07 mg/ L; sinamik asitlerden *p*- kumarik

asit 0.83 mg/ L, kafeik asit 0.09 mg/ L, ferulik asit 2.9 mg/ L; flavan-3-ollerden (+)-kateşin 0.18 mg/ L, (-)-epikateşin 0.76 mg/ L.

Szwajgier (2009) çalışmasında malt, şıra ve bira örneklerinde fenolik içeriği ve bunların antiradikal aktiviteye olan katkılarını incelemiştir. Çalışmasında şıra ve bira örneklerindeki serbest fenolik miktarının malt örneklerindeki çok daha az olduğunu, maltta en yoğun bulunan fenolik bileşiklerin ferulik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit ve 4-OH- benzoik asit olduğunu belirlemiştir. Bunlara ek olarak toplam alkali ekstrakte olabilen fenolik asitlerin sadece belli bir kısmının mayşeleme sırasında şıraya geçtiğini ve proses basamaklarında fenolik konsantrasyonlarındaki değişimi belirlemiştir.

Zhao vd. (2010) 34 farklı bira örneğinde gallik asit, protokateşik asit, (+)-kateşin, vanilik asit, (-) epikateşin, kafeik asit, şirincik asit, *p*-kumarik asit ve ferulik asit miktarlarını, toplam fenolik içeriğini ve antioksidan aktivitelerini belirlemiştir. Çalışmasında antioksidan aktivite ile protokateşik asit, (+)-kateşin, kafeik asit ve şirincik asit arasında pozitif korelasyon olduğunu belirlemiştir.

Lapčík vd. (1998); 26 bira örneği ile yaptıkları çalışmaları sırasında izoflavonların temel kaynağı soya olmasına rağmen, bira içerisinde izoflavonlardan genistein (49,5,7-trihydroxyisoflavone), biochanin A (5,7-dihydroxy-49-methoxyisoflavone), daidzein (49,7-dihydroxyisoflavone) ve formononetin (7-hydroxy-49-methoxyisoflavone)'in varlığını belirlemiştir. Bira içerisinde bu dört temel izoflavonlardan formononetin miktarının 0.19–14.99 nmol/L, daidzein miktarının 0.08–2.5 nmol/L, genistein 0.169–6.74 nmol/L ve biochanin A 0.820–4.84 nmol/L aralıklarında olmak üzere toplam izoflavon miktarının 1.26 - 29 nmol/L aralığında olduğunu belirtmiştir.

## **2.7 Bira Üretim Prosesinin Biradaki Fenolik Bileşiklere Etkisi**

Biranın fenolik bileşiminde, kullanılan hammaddenin etkisi olduğu kadar bira üretim prosesinin ve depolama koşullarının da büyük etkisinin olduğu bilinmektedir (Leitao vd.

2012, Zhao 2015). Baştan sona bira üretim prosesi incelendiğinde öncelikle tanenler ve flavonoidler olmak üzere başlangıçtaki fenolik içerik yaklaşık %50 oranında azalmaktadır (Fumi vd. 2011).

Bira üretim prosesi sırasında malttan biraya aktarılan fenolik içerik bira üretim prosesi sırasında polimerize olarak renk ve biraya özgü buruk tat oluşumuna katkı sağlamakta, esmerleşme substratı olarak kullanılmakta ve bira içerisinde bulunan zayıf pıhtılaşma yeteneğindeki proteinlerin ayrılmasında rol almaktadır (Shahidi ve Nacz 1995, 2004).

Bira üretiminde fenolik bileşenlerin değişimine genel olarak bakıldığında arpada bulunan fenolik bileşenler üretim basamakları sonunda bira içerisinde hala varlıklarını göstermektedir. Genel olarak bira üretiminde azalma eğiliminde olan fenolik madde miktarı çimlenme ve mayşeleme basamaklarında artış göstermesine rağmen, fermantasyon ve depolama aşamalarında önemli derecede azalma göstermektedir (Zhao 2015).

Hidroksibenzoik asit ve hidroksisinnamik asit derivatları, flavonoidler, proantosiyantinler, tanenler, kalkonlar, kininler ve amino fenolik bileşikler de içeren pek çok fenolik bileşik arpa içeriğinde serbest veya bağlı formada bulunmaktadır. Flavanoller başlıca serbest formdaki fenolik bileşikler olurken fenolik asitler ise başlıca bağlı formdaki fenollerdir. Arpa içerisinde flavanoller özellikle kateşin ve gallokateşin olarak monomer formda ve proantosiyanidinlerden prosiyanidin B3 ve Prodelfinidin B3 dimer formu ile prosiyanidin C2, prodelfinidin C3 trimer formu olarak polimerik formda mevcuttur (Dvořáková vd. 2008a, Leitao vd. 2012, Zhao 2015).

Maltlama işleminin arpanın ıslatılması, imlendirilmesi ve kurutulması basamaklarını kapsamaktadır. Arpaların fenolik içeriği, ıslatma ve çimlendirme işleminin başlangıcı sırasında önemli miktarda azalma gösterse de çimlendirme, kurutma ve kavurma işleminin sırasında fenolik bileşik miktarları kayda değer artış göstermektedir. Lu vd. (2007) iki farklı arpa çeşidiyle yaptıkları çalışmada maltlama işleminin arpa çeşitlerinde hem toplam fenol miktarında hem de ayrı ayrı fenolik maddelerde etkisinin olduğunu

belirlemiştir. Lu vd. (2007) çalışmalarında iki arpa çeşidine ait örneklerinde başlangıçta toplam fenol miktarı 2,43 mg GAE/g kuru madde ve 2.15 mg GAE/g kuru maddeyken ıslatma işlemi sırasında %6.6 ve % 6.0 oranında kayıplar gözlemiştir. Ardından uyguladığı çimlenme işleminde toplam fenol miktarları bir arpa çeşidinde kayda değer ölçüde değişmezken diğerinde %25 artmış ve arpa çimlendirme süresinde toplam fenol miktarının arpa çeşidine bağlı olarak etkilendiğini göstermiştir. 9-16 saatlik kurutma ve kavurma işlemi sonucunda %15.2 ve %9.9 artma gözlenirken 22 saatlik kurutma ve kavurma işlemi sonucunda toplamda %28.8 ve %17.5 oranında bir artış gözlemlemiştir. Kavurma işleminin bu etkisi daha iyi ekstraksiyon sağlama ve fenolik bileşenlerin ısı etkisi ile serbest hale geçmesi olarak açıklanmıştır. Aynı ayrı 9 fenolik bileşeni incelediklerinde ise (+)- kateşin, şirincik asit, ferulik asit, (-)-epikateşin, kafeik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, gallik asit ve protokateşuik asit miktarlarında da toplam fenolik içeriğe benzer değişim gözlemlenmiştir. Buna ek olarak ıslatma ve çimlendirme işlemi başında ayrı ayrı fenolik maddelerin azalması bu işlemlerde sentezlenen enzimler nedeniyle fenolik bileşenlerin diğer flavonoidlere dönüşümü ve biyosentez reaksiyonları ile açıklanmaktadır (Lu vd. 2007).

Arpa, malt ve biranın temel fenolik asitlerinden birisi ferulik asittir. Szwajgier vd. (2005) yaptıkları çalışmalarında arpaların maltlama işlemi sırasında ferulik asit ve kumarik asit miktarının değişimini incelemiştir. Geliştirdikleri “aktive edilmiş çimlendirme maltlaması” yöntemi ile düşük pH derecelerinde yükseltilmiş sıcaklıklarda (22°C) çimlendirme işlemi yaptıklarında serbest ferulik ve kumarik asit miktarlarının maltlama işleminin başından itibaren arttığını belirlemiştir.

Islatma işlemi sırasında fenolik bileşenlerde ciddi miktarda azalma meydana gelmektedir. Bu durum ıslatma işlemi sırasında uygulanan yıkama işlemi kaynaklı olabildiği gibi fenolik bileşenlerin proteinler ile çözünmez komplekslere dönüşmesinden de kaynaklanabilmektedir (Szwajgier vd. 2005, Lu 2007, Zhao 2015).

Arpadan malt üretimi sırasında uygulanan çimlendirme işlemi ve kavurma işleminde uygulanan sıcaklığın etkisi ile arpa içerisinde bulunan bağlı fenolik bileşiklerin malta

enzimatik salınımı gerçekleşmektedir. Bunun sonucunda maltta toplam fenolik madde miktarları arpadakinden daha yüksek olmaktadır (Maillard ve Berset 1995, Dvořáková vd. 2008a).

Maillard ve Berset (1995) çalışmalarında biradaki antioksidan potansiyelin kaynağı olan çimlendirilmiş arpada hücre içerisinde bağlı halde bulunan fenolik asitleri incelemiştir. *Trans*-ferulik asit, *trans-p*-kumarik asit ve *cis*-ferulik asit external standart methodu ile incelenmiş ve sonuçta 80°C'ye kadar olan kurutma işleminde her birinin miktarı yaklaşık %130 oranında artmış ancak 90°C'ye kadar olan sıcaklıklarda ise yaklaşık %20 oranında azalma meydana gelmiştir. 80°C'ye kadar olan sıcaklıklarda PAL enzim fonksiyonu ile oluşan fenolik biyosentezler artışa neden olabilmektedir. Yüksek sıcaklık derecelerinde hidroksisanamik asitlerdeki azalma ise bağlı haldeki fenolik bileşenlerin kurutma sırasında serbest hale geçmesi, *p*-kumarik asidin bağlı olduğu lignin ve ferulik asitler ile arabinoksilanlar arasındaki bağların ısı ile kopması ile açıklanabilmektedir.

Dvořáková vd. (2008a) çalışmasında %70 metanol ve %70 aseton ekstraksiyonları arasında %70 aseton ile yapılan ekstraksiyonun daha yüksek kapasite gösterdiğini tespit etmiştir. Çalışmada arpaların toplam fenol içeriği 211-606 mg GAE/kg<sub>dw</sub> düzeyinden maltta 358-867 mg GAE/kg<sub>dw</sub> düzeyine çıktığını belirlemiştir. Aynı çalışmada yüksek sıcaklığa karşı hassas olan flavanol ve proantosyanidinlerin toplam miktarları ise arpa örneklerinde 892-2000 mg GAE/kg<sub>dw</sub> düzeyinden malt örneklerinde 764-1422 mg GAE/kg<sub>dw</sub> düzeyine düşmüştür.

Arpa ve maltharda temel flavan-3-ol grubu fenolikler kateşin ve prodelfinidin B3'tür. Çimlendirme işlemi sırasında kateşin miktarı belirgin bir şekilde azalmakta ancak epikateşin miktarında ise artış meydana gelmektedir (Dvořáková vd. 2008a).

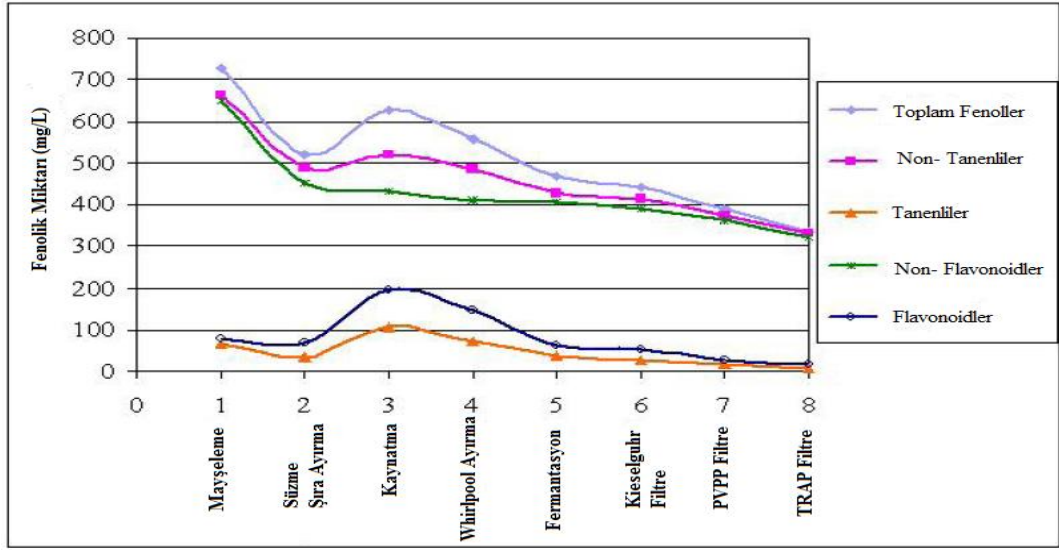
Bira üretim prosesi boyunca fenolik bileşenlerin değişimi, şekil 2.17'de görülmektedir. Kaynatma işlem basamağı hariç tüm uygulanan işlemlerde toplam fenolik içerik azalmaktadır. Kaynatma işleminde toplam fenolik içeriğin artmasının sebebi şerbetçi otu bileşiminde bulunan fenolik maddelerin şıraya geçmesidir. Bira üretimi sırasında

toplam fenol miktarında süzme, kaynatma ve fermentasyon aşamalarında keskin bir değişim gözlenmektedir (Fumi vd. 2006).

Mayşeleme işlemi çeşitli sıcaklık derecelerinde belli sürelerde şırayı bekletme işlemidir. Enfüzyon tipi ya da dekoksiyon tipi mayşeleme işlemi de fenolik içeriği kayda değer şekilde etkilemektedir. Genel olarak mayşeleme işlemi şıranın enzim aktivitesi için uygun koşullarda bekletilmesinden dolayı bağlı fenolik bileşenlerin serbest kalmasına ve fenolik içerikte ciddi ölçüde artışa neden olmaktadır (Zhao 2015).

Malt ve şerbetçi otu içerisinde bulunan pek çok fenolik asit nişasta ile esterleşmiş formda veya diğer polisakkaritler ile çapraz hidrojen bağları kurmuş, şelatlanmış ya da kovalent bağlarla bağlı halde bulunmaktadır. Mayşeleme işlemi sırasında oluşan nişastanın enzimatik hidrolizi ile bu fenolik asitler serbest forma geçmektedir (Zhao 2014).

Mayşeleme işlemi sırasında şıraya maltta bulunan toplam alkali ekstrakte olabilir özellikteki fenolik asitlerin bir kısmı geçebilmektedir. Örneğin maltta bulunan toplam fenolik asit miktarının %50'sinden daha az miktarı şıra 52°C sıcaklığa ulaştığında şıraya geçebilmektedir. Benzer durum temel fenolik asitler olan vanilik asit, p-kumarik asit ve 4-OH- benzoik asit için de geçerli olmaktadır (Szwajgier 2009).



Şekil 2.17 Proses basamakları sırasında değişimi (Fumi vd. 2006)

Tüketime hazır biranın fenolik asit içeriği; çoğunlukla mayşeleme sırasındaki ekstraksiyon derecesine bağlıdır ve mayşeleme işleminde özellikle hidrosisinamik asitlerin çok çeşitli türev bileşikler oluşturma yeteneğine bağlı olarak artmaktadır (Shahidi ve Naczki 1995, 2004). Mayşeleme işlemi sırasında maltta bulunan flavonoidler de çözünerek şıraya geçmekte ve böylece kateşin, ferulik, vanilik, klorogenik ve *p*-kumarik asit miktarları özellikle kayda değer ölçüde artmaktadır (Zhao 2015).

Zhao ve Zhao (2012) 20 farklı maltlık arpadan elde edilen şıralarda mayşeleme işleminin toplam fenol miktarına olan etkisini incelediği çalışmada mayşeleme işleminin başında toplam fenolik madde miktarının mayşe sıcaklığı 78°C'ye çıkana kadar artmaya devam ettiğini belirlemiştir. Mayşeleme işleminde sıcaklığın 45°C'den 78°C'ye çıkması ile şıralarda toplam fenol içeriğinin %8.8 oranında arttığını ve bu artışın sebebinin fenolik bileşenlerin hidrolitik enzimlerin faaliyetleri ve fenollerin sudaki ekstraksiyonları sonucunda şıra içerisinde çözünmesi ve serbest hale geçmesine bağlamıştır. Ancak mayşeleme işlemi sonucunda enzimlerin inaktif hale getirildiği yüksek sıcaklık derecelерinde toplam fenol miktarı %2.6 azalmıştır. Bu azalmaya rağmen çalışmada mayşeleme işleminin toplam fenolik içeriği %6 arttırdığı belirlenmiştir.

Mayşeleme işlemi sırasında artan fenolik içerik; mayşe filtreleme ve kaynatma işlemi sırasında meydana gelen oksidasyon tepkimeleri ve proteinlerle oluşturdıkları interaksiyonlar sebebiyle bu flavonoidlerin büyük bir çoğunluğunu kaybetmekte ve azalmaktadır. Ancak bu kayba paralel olarak kaynatma işlemi sırasında eklenen şerbetçi otundan ise şıraya fenolik madde geçişi sağlanmaktadır (Colin vd. 2013).

Mayşeleme işlemi sonunda şıra içerisinde temel fenolik bileşenler tanen olmayan fenoliklerdir ve şıradaki toplam fenol içeriğinin yaklaşık %91'ini, flavonoid olmayanlar toplam fenollerin %89'unu oluşturmaktadır. Şıra ayırma işlemi tamamlanana kadar ise tanen olmayan fenollerin %26'sı ve tanenlerin ise %47'si şıradan ayrılmaktadır (Fumi vd. 2011).

Bira içerisinde fenolik içerik ve antioksidan aktivite değişiminin görüldüğü en kritik basamaklar kaynatma, fermantasyon, olgunlaştırma, filtrasyon ve durultma basamaklarıdır (Piazzon vd. 2010).

Kaynatma işlemi sırasında polifenoller; polifenoller, proteinler ve polisakkaritler ile reaksiyona girerek kümelenmekte, çökmekte ve şıra bileşiminden ayrılmaktadır. Ancak yine kaynatma işlemi sırasında arpadan gelen polifenoller şerbetçi otundan gelenlere eklenmektedir. Kaynatma işlemi sonunda şerbetçi otundan şıraya geçen polifenoller sadece %20 oranında şırada kalırken; malttan %70 oranında polifenol şıraya geçmektedir. Meydana gelen polifenol ekstraksiyonları sonucunda kaynatma işlemi sonunda polifenol miktarında bir artış gözlemlenmektedir (Fumi vd. 2006, Leiper ve Miedl 2009).

Kaynatma işlemi sırasında şerbetçi otundan polifenol ekstraksiyonu, polifenol-polifenol ve polifenol-protein bağlarının kurulması, polifenol- polisakkarit topaklanmaları, polimerize bileşenlerin oluşması, su buharlaşması, protein ve polifenollerden degradasyon bileşiklerinin meydana gelmesi gibi eşzamanlı reaksiyonlar sonucunda flavonoid miktarındaki artış; toplam fenol miktarını da arttırmıştır. Flavonoidler dışında tanen miktarında da bir miktar artış görülmektedir. Kaynatma işleminin ardından gelen

whirlpool işleminden TRAP filtreye kadar olan tüm basamaklarda ise fenollerden flavonoidlerde %89, tanenlerde ise %92, flavonoid olmayanlarda %22 ve tanen olmayanlarda %32 oranlarında kayda değer bir azalma gözlenmektedir. (Fumi vd. 2011).

Zhao (2015) fermentasyon prosesinin kateşin, epikateşin, prodelfinidin, proantosiyonidin B3 ve fenolik asitlerin miktarında kayda değer bir etkisi olmadığını belirtmektedir.

Ancak Szwajgier (2009) çalışması sırasında bira örneklerinde serbest fenolik asit içeriklerinin üniform olmadığını, bazı örneklerinde bazı fenolik maddelerin içeriğinde ana fermentasyon sonrası pastörizasyon ve dolum aşamasına kadar azalma, bazılarında ise fenolik madde miktarının sabit kaldığını ve hatta arttığını gözlemlemiştir.

Buna ek olarak Fumi (2011) fermentasyon sürecinde toplam fenol miktarının %16 oranında azaldığını; bu azalmanın esas kaynağının da tanenler ve flavonoidler olduğunu belirtmiştir. Bu azalmanın sebebi polifenollerin özellikle de tanenlerin proteinler ve polisakkaritler ile mayaların; mannoproteinler gibi kararlı bileşikler meydana getirebilmeleri ve fermentasyon işlemi sırasında kullanılan mayaların suşuna bağlı olarak oluşturduğu mannoproteinlere ve makro moleküllere bağlı olarak, tannik polifenol miktarındaki azalma neden olmaktadır. (Fumi vd. 2006, 2011).

Filtrasyon işlemi fenolik bileşiklerde kayda değer bir azalmaya neden olmaktadır. Bira filtrasyonu sırasında bira içerisinde bulunan maya, protein-polifenol kaynaklı olan kalıcı bulanıklık ve soğuk bulanıklıkları ayrılmaktadır. Bu işlemler sırasında da fenolik madde miktarında azalma görülmektedir (Zhao 2015).

Filtrasyon işlemi sırasında genellikle Kieselguhr filtre, PVPP filtre ve trap filtre kombinasyonu kullanılmaktadır. Kieselguhr filtre ile bira içerisinde bulunan kaba tortu ayrılmaktadır. Biralarda genel olarak kolloidal stabilizasyonu sağlamak için PVPP ile filtreleme işlemi yapılmaktadır. PVPP filtre bulanıklığa neden olan polifenolik

bileşenleri, çoğunlukla tanenleri tutmayı amaçlamaktadır. Son olarak kullanılan trap filtre ise bira içerisinde kalan bulanıklığın önlenmesi ve Kieselguhr filtre ile PVPP filtreden olabilecek diatome parçacıkları ile ince PVPP kalıntı kaçaklarını önlemek için kullanılmaktadır. Trap filtre 2-5 µm boyutundaki parçacıkları tutabilmektedir. Bu filtreler ile polifenollerin tutulması sonucunda da toplam polifenollerde azalma görülmektedir (Fumi vd. 2006, 2011, Krottenthaler 2009, Aron ve Shellhammer 2010).

Filtrasyon basamağında çoğunluğu tanenlerden olmak üzere; Kieselguhr filtre toplam fenollerin %5'ini biradan ayırırken, PVPP kalan toplam fenollerin %12'sini ve trap filtre ise %14 kadarını tutmaktadır. Polifenollerden tanenler PVPP filtrede %37 oranında ve trap filtre sonucunda %66 oranında azalma göstermiştir ( Fumi vd. 2011).

Fantozzi vd. (1998) çalışmalarında İtalyada üretilen lager tipi biraları kullanmış ve üretim sırasında şırada, olgunlaştırma sonunda, filtreleme sonunda ve şişeleme ve pastörizasyon işlemi sonunda aldığı örneklerde toplam fenol miktarını, tanen miktarını, tanen olmayan flavonoid miktarını, tanen ve flavonoid olmayan fenolik miktarını ve toplam antioksidan kapasiteyi araştırmıştır. Çalışması sonucunda toplam fenol miktarı başlangıçta şırada ortalama 444 mg/L düzeyinden; son basamak olan pastörizasyon sonuna geldiğinde ortalama 322 mg/L'ye düştüğünü belirlemiştir. Toplamda fenolik madde miktarında %28 oranında azalma gözlemlenmiştir. Çalışmada tanen miktarındaki azalmanın en çok biranın olgunlaştırma aşamasında ve tanen olmayan flavonoidlerdeki esas azalmanın ise filtrasyon aşamasında olduğu belirlenmiştir.

Fenolik bileşenlerin koloidal bulanıklık oluşturmaları ya da oksidasyon ile polimerize olarak yüksek molekül ağırlıklı bileşikler oluşturmaları durumunda depolama işlemi sırasında fenolik madde miktarında azalma olmaktadır (Zhao 2015).

Siqueira vd. (2011) oda sıcaklığında 4 ay süren depolama ve zorlanmış koşullarda (42°C sıcaklık) 6 gün depolama sonucunda bira örneklerinin toplam fenol ve antioksidan aktivitelerindeki değişimi incelemiştir. Zorlanmış koşullarda 6 gün depolama toplam fenol miktarında bir değişime neden olmazken, oda sıcaklığında

depolama işleminde 16. günde toplam fenol miktarında yaklaşık %35 oranında azalma ve sonrasında 4. Ay sonuna kadar fenolik içeriğin sabit kaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalmayı depolamanın başlangıcında fenolik bileşenlerin yüksek oranda okside olması ile ilişkilendirmiştir. Bunun dışında asetaldehit varlığında mayalar tarafından ya da etanol oksidasyonu nedeniyle basit fenolik bileşenlerin polimerize olarak tanenler gibi yüksek molekül ağırlıklı bileşenlere dönüştüğü düşünülmüştür.

## 2.8 Antioksidan Aktivite

Serbest radikaller son yörüngelerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron bulunduran, elektron açığını başka bileşiklerin elektronlarını alarak kapatmaya çalışan; yüksek enerjili, kararlı halde olmayan reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen (RNS) türü bileşiklerdir (Dasgupta ve Klein 2014a, Erbaş vd. 2008, Gökpınar vd. 2006, Koca ve Karadeniz 2003). En önemli serbest radikaller; süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroksil radikali ( $OH^\cdot$ ), hidroperoksil ( $HOO^\cdot$ ) ve peroksil radikali ( $ROO^\cdot$ ) ve alkoksil ( $RO^\cdot$ ) radikali gibi oksijenden türemiş olanlardır (Kaur ve Kapoor 2001, Koca ve Karadeniz 2003, Gökpınar vd. 2006, Okcu ve Keleş 2009, Dasgupta ve Klein 2014a).

Serbest radikaller stabilite kazanmak için diğer bileşenler ile kolaylıkla reaksiyona girebilmekte ve onlardan kendilerinde eksik olan oksijeni yakalayabilmektedirler. Serbest radikaller kendilerine en yakında olan stabil haldeki molekülden elektron çalarak kendini stabil hale getirirken o molekülü serbest radikal hale dönüştürerek bir zincir başlatmaktadırlar. Bu zincir katlanarak büyümekte ve lipid peroksidasyonu ile başlayan süreç hücre membranlarının destabilizasyonu ve parçalanması ya da protein, DNA gibi diğer hücresel bileşenlerin oksidasyonu ile artarak, hücrelerin parçalanmasına neden olmaktadır (Kajur ve Kapoor 2001, Gökpınar vd. 2006). Serbest radikaller bu şekilde hücre ve dokularda hasara yol açarak çeşitli kanser türlerine, kalp damar hastalıklarına, şeker hastalığı, astım gibi kronik hastalıklara, Parkinson ve Alzheimer gibi sinir hastalıklarına, katarakt ve tümör oluşumu gibi rahatsızlıklara neden olabilmektedir (Koca ve Karadeniz 2005, Erbaş vd. 2008, Okcu ve Keleş 2009, Moon ve Shibamoto 2009).

Serbest radikallerin endojen ve eksojen olmak üzere iki farklı kaynağı vardır (Dasgupta ve Klein 2014a). Organizmada serbest radikaller normal metabolik reaksiyonlar sonucunda oluşabildiği gibi radyasyon, kirli hava, besinler, ilaçlar gibi dış faktörler ve zararlı kimyasallar etkisi ile de meydana gelmektedir (Gökpınar vd. 2006, Dasgupta ve Klein 2014a). Organizmada oksidan madde miktarı ayrıca sigara dumanı, ozon, alkol, uyuşturucu madde kullanımı gibi etkenlerle de artmaktadır (Yerer ve Aydoğan 2000, Dasgupta ve Klein 2014a).

Antioksidan, diğer moleküllerin oksidasyonunu durduran ya da yavaşlatma yeteneğinde olan molekül olarak tanımlanmaktadır. Biyolojik antioksidan ise “oksitlenebilir substrata kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, o substratın oksidasyonunu kayda değer düzeyde erteleyen ya da önleyen herhangi bir madde” olarak tanımlanmaktadır (Shahidi 2000, Wanasundara ve Shahidi 2005, Moon ve Shibamoto 2009). Çeşitli etkiler sonucu ortaya çıkan serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme yeteneği sayesinde bu radikallerin neden olduğu oksidasyonu önleyen maddelere “antioksidan” denilmektedir (Koca ve Karadeniz 2003). Hücreleri serbest radikallerin etkisinden koruyan maddeler antioksidanlardır (Demirbüker Kavak 2010).

Antioksidan maddeler, süpürme (scavenging), söndürme (quenching), zincir reaksiyonları kırma (chain breaking) ve onarma (repair) etkisi ile işlev göstermektedir. Süpürme etkisinde antioksidanlar serbest radikallere kendi elektronlarından birini vererek radikali nötralize etmektedir. Bu durumda oksidanlar daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürülürken antioksidan molekül yeni bir serbest moleküle dönüşmemektedir. Söndürme etkisinde oksidan bileşiğe bir hidrojen aktarılarak ve zincir kırma etkisinde oksidan madde antioksidana bağlanarak serbest radikali etkisiz hale getirmektedir. Antioksidanların onarma etkisinde ise oksidatif olarak hasar gören biyomolekül onarılmaktadır (Kajur ve Kapoor 2001, Gökpınar vd. 2006).

Etki mekanizmalarına göre birincil antioksidanlar ve ikincil antioksidanlar olmak üzere iki çeşit antioksidan vardır. Birincil antioksidanlar mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların yeni serbest radikallere dönüşmesini engellerken ikinci gruptaki

antioksidanlar ise oksijen radikalini yakalayarak radikal zincir reaksiyonlarını bozan bileşiklerdir. (Koca ve Karadeniz 2003, Wanasundara ve Shahidi 2005).

Büyüktuncel (2013), derleme çalışmasında antioksidanları endojen ve eksojen antioksidanlar olarak ikiye ayırmıştır. Endojen antioksidanlar organizma tarafından üretilen enzimatik kaynaklı antioksidanlar ve melatonin, ürik asit gibi non-enzimatik kaynaklı antioksidanlar olurken; eksojen antioksidanlar organizmaya gıdalar ya da bazı preparatlar yoluyla dışarıdan alınan antioksidan sistemi destekleyen moleküllerdir.

Demirbüker Kavak (2010) ise insan vücudundaki antioksidan metabolizmaları enzimatik olan ve enzimatik olmayan şeklinde ikiye ayırmakta ve gıdaları enzimatik olmayan antioksidan metabolizmada yer alan antioksidanların temel kaynağı olarak tanımlamaktadır.

Bir diğer antioksidan sınıflaması ise doğal antioksidanlar ve sentetik (yapay) antioksidanlar olarak yapılan sınıflamadır. Enzimler (süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, sitokrom -C- oksidaz vb.), melatonin gibi hormonlar, vitaminler (A, C, E), mineraller (selenyum, çinko, bakır vb.), fenolik bileşikler, lignanlar, terpenler, karotenoidler, tokoferoller, fosfolipidler, peptitler (sistin ve glutatyon) doğal antioksidanlar sınıfında sayılırken, endüstriyel üretim sırasında oluşan oksidasyonları önlemek ve raf ömrünü uzatmak için kullanılan bütillenmiş hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve propil galat (PG) sentetik antioksidanlara örnek olarak verilebilmektedir (Gökpinar vd. 2006, Erbaş vd. 2008, Shahidi ve Ambigaipalan 2015).

Doğal özellik gösteren antioksidan bileşiklerin oksijen, ışık, yüksek sıcaklık ve kurutma işlemlerine karşı direnci düşüktür. Gıdalara uygulanan ısı işlemler, kurutma, evaporasyon, fermentasyon, ekstrüzyon, mikrodalga ve infrared ısıtma, fermentasyon, dumanlama ve depolama doğal antioksidanların oksidatif stabilitesini etkilemektedir (Vardin 2008). Isıl işlemler genel olarak antioksidan kapasiteyi azaltsa da bazı gıdalarda

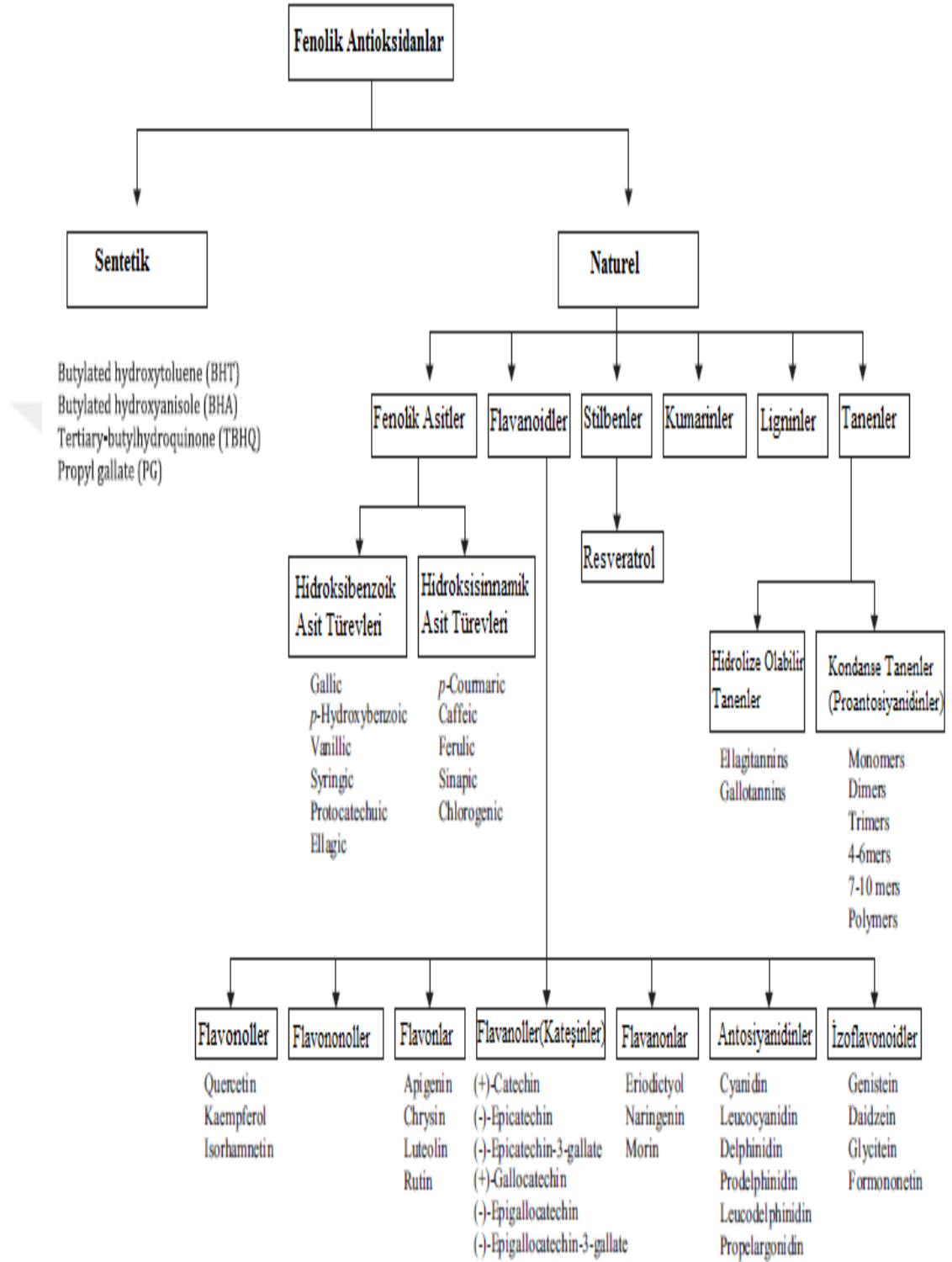
bileşiklerin diğer fitokimyasallardan ayrılmasını sağlayarak antioksidan kapasiteyi arttırabilir etki de göstermektedir (Erbaş vd. 2008).

Başlıca doğal antioksidanlar bitkilerin tamamında görülen fenolik bileşiklerdir (Shahidi 2000, Gordon 2003). Bitkilerde fenolik bileşikler yapısal polimerler olup aynı zamanda antioksidanlar gibi özellik gösterebilmektedir. Bitkilerdeki fenolik bileşenlerin antioksidan özellik göstermesinin sebebi fenolik bileşenlerin sahip olduğu redox potansiyelidir. Bu sayede fenolik bileşenler hidrojen verici, tekli oksijen yakalayıcı, metal kelatör işlev gösterebilmekte, enzimleri inhibe edebilmekte, serbest radikalleri süpürmekte ve yeni radikallerin oluşumunu baskılayabilmektedir (Kajur ve Kapoor 2001, Gordon 2003, Koca ve Karadeniz 2003, Fumi vd. 2006, Erbaş vd. 2008, Engert 2011, Leita vd. 2011). Bunun dışında fenolik antioksidan bileşenler biyolojik makromoleküler hasarlara karşı koruma, beyin ve karaciğerde yaşlanma ile oluşan antioksidan enzim aktivitesinde azalmayı önleme, beyin ve karaciğerde malondialdehit seviyesini düşürme ve organizmanın toplam antioksidan gücünü arttırma gibi işlevleri de bulunmaktadır (Leita vd. 2011).

Bir polifenol bileşiğe antioksidan diyebilmek için sağlaması gereken iki koşul vardır. Bunlardan birincisi oksitlenebilir substrata kıyasla daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, o substratın oksidasyonunu kayda değer düzeyde erteleyebilmeli veya önleyebilmeli ya da o substrata serbest radikal aracılı oksidasyon gerçekleştirebilmelidir. Diğer şart da etki gösterdiği oksidan maddenin sonuçta kararlı bir yapı kazanmasıdır (Kajur ve Kapoor 2001).

Fenolik bileşenlerin antioksidan potansiyeli yapıdaki hidroksil gruplarının sayısına ve yerleşimine bağlıdır (Fegredo vd. 2009, Shahidi ve Ambigaipalan 2015). Gıdalarda flavonoid yapısında olan kuarsetin, mirisetin, kaemferol, apigenin ve luteolin en temel antioksidan bileşiklerdir. İzoflavonlardan ise daidzain ve genistein önemli antioksidan özellikteki maddelerdir. Fenolik asitlerden ise kafeik asit, ferulik asit en önemli antioksidanlardır (Gordon 2003).

Fenolik antioksidan bileşiklerin sınıflandırılması şekil 2.18’de görülmektedir.



Şekil 2.18 Fenolik antioksidanların sınıflanması (Shahidi ve Ambigaipalan 2015)

## 2.9 Birada Antioksidan Aktivite

Biralarda flavor stabilitesi bira üreticileri ve tüketicilerinin karşılaştığı başlıca sorunlardan birisidir. Bira flavor stabilitesini bozan en önemli etkilere birisi paketlenmiş bira içerisinde bulunan oksijendir. Bira içerisine mayşeleme, sifonlama, şıra kaynatma, dolum gibi üretim basamaklarında karışan oksijen nedeniyle gerçekleşen oksidasyon tepkimeleri sonucunda birada istenmeyen off- flavor oluşumu, flavor bozulması ve oksidatif flavor gelişmesi, acı ve buruk tatta değişimler, bulanıklık oluşumu, biranın bayatlaması, renkte değişimlerin gerçekleşmesi, raf ömrünün kısılması gibi istenmeyen değişimler meydana gelmektedir. Antioksidan bileşikler ise oksijenin olumsuz etkilerinin önüne geçerek biranın flavor stabilitesine de katkıda bulunmaktadır (Samaras vd. 2005a, Stewart 2006, Dvořáková vd. 2008b, Aron ve Shellhammer 2010, Zhao ve Zhao 2012).

Gıdaların içerdiği temel flavonlar, flavonoller, antosiyanidinler ve hidroksisinamik asitler ve bu bileşenlerin antioksidan aktivitelerinin çeşitli gıdalarda incelenmesi sonucunda bu maddelere ait belirlenen oksidasyon indeksine göre 3.5 bardak (500 mL) biranın 1 bardak (150 mL) kırmızı şaraba, 12 bardak beyaz şaraba, 2 fincan çaya, 4 adet elmaya, 7 bardak portakal suyuna ve 20 bardak elma suyuna antioksidan aktiviteye denk olduğu belirlenmiştir (Bamforth 2004)

Birada antioksidan aktiviteyi oluşturan bileşenlerin de tıpkı fenolik bileşenler gibi %20 - 30 kadarı şerbetçi otundan, %70-80 kadarı malttan kaynaklanmaktadır (Dvořáková vd. 2008b, Jurková vd 2012). Fenolik madde konsantrasyonu ile toplam antioksidan aktivite arasında  $r^2 = 0.849-0.981$  aralığında korelasyon bulunduğu belirlenmiştir (Fegredo vd. 2009). Bira büyük bir kısmı malt ve daha az kısmı da şerbetçiotu kaynaklı pek çok fenolik içermektedir. Bu fenolik asitler çimlendirilmiş arpada serbest halde veya hücre duvarlarında bağlı halde bulunmakta ve bira içerisinde antioksidan aktivite göstermektedir (Floridi 2003). Bira üretiminde kullanılan malt çeşidi de biranın antioksidan aktivitesini etkilemektedir. Bu nedenle bira yapımında kullanılacak maltların üretildiği arpaların antioksidan gücü ve maltlama sırasındaki artışı önem

taşımakta ve arpaların toplam fenolik miktarı özellikle de flavan-3-ollerin miktarı ile ilişkili olmaktadır. (Maillard vd. 1996).

Bira bileşenlerinin antioksidan aktivitesi incelendiğinde, antioksidan olarak aktif bileşenler; genellikle fenolik bileşenler, sülfid ve Maillard reaksiyonu ürünleri olmaktadır. Bira içerisindeki mayaların ürettiği sülfatların sülfidlere dönüşümü biradaki sülfidlerin kaynağını oluşturmaktadır. Malt kavurma ve şıra kaynatma işlemlerinde meydana gelen Maillard reaksiyonları sırasında oluşan melanoidinler ve reduktanlar ise birada antioksidan özellik gösteren Maillard reaksiyon ürünleridir ve koyu kavruk maltlarda, açık maltlara oranla daha yüksek miktarda bulunmaktadır (Zhao ve Zhao 2012, Fernández de Córdova ve Ruiz Medina 2014, Zhao 2014).

Biraların endojen antioksidan miktarları ve antioksidan aktiviteleri bira çeşidine göre değişmektedir. Koyu ya da kahverengi biralar ile ale tipi biralar, açık renkli biralara ya da lager tipi biralara oranla daha yüksek miktarda antioksidan içermekte ve daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir. Bunun sebebi bu biraların daha yüksek ekstraktlı veya kavrulmuş maltlardan üretilmesidir (Zhao 2014).

Piazzon vd. (2010) yaptıkları çalışmada farklı bira çeşitlerinin antioksidan aktivitelerini FRAP yöntemi ile tayin etmiş ve en yüksek antioksidan aktiviteyi 4663  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$  ile bock birasında, en düşük antioksidan aktiviteyi ise 1525  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$  ile alkolsüz birada bulmuştur. Diğer bira çeşitleri ise en yüksek antioksidan aktiviteden en düşük olana doğru abbey (3558  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$ ), ale (3125  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$ ), buğday birası (2403  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$ ), pilsener (2172  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$ ) ve lager (2189  $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{L}$ ) olarak sıralanmıştır.

Piazzon vd. (2010) çalışmalarında Folin-Ciocalteu methodu ile belirlenen toplam fenol içeriği ile FRAP yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite arasında güçlü bir korelasyon ( $r=0.92$ ,  $p< 0.0001$ ) bulmuştur. Aynı çalışmada FRAP testi ile ABTS yöntemi ile antioksidan aktivite ölçümleri arasında da paralel bir korelasyon ( $r=0.95$ ,  $p< 0.0001$ ) bulunmuştur.

Birada antioksidan özellik gösteren maddeler arasında fenolik maddeler, bira üretiminde esansiyel rol oynamaları, flavor ve biranın fiziksel stabilitesini etkilemelerinin yanı sıra metal çelatlama ve serbest radikal süpürmeleri ile oksidasyon prosesini geciktirme, yavaşlatma ya da önleme özellikleri nedeniyle ilgi çekmektedir (Aron ve Shellhammer 2010, Fernández de Córdova ve Ruiz Medina 2014, Zhao 2015). Bu faydaların dışında antioksidan bileşenler biraların flavor stabilitesini geliştirmekte ve depolama sürecinde biranın stabilitesini koruma ve arttırmayı da sağlamaktadır (Zhao 2014).

Bira içerisinde bulunan bazı fenolik asitler, flavonoidler, proantosiyanidinler, tanenler ve amino fenolik bileşiklerin antioksidan ve antiradikal özellik gösterdiği belirlenmiştir (Shahidi ve Ambigaipalan 2015). Bira içerisindeki bu fenolik asitlerin biranın antioksidan aktivitesine etkisi fenoliklerin konsantrasyonuna olduğu kadar yapısına da bağlıdır. Birada antioksidan aktiviteyi oluşturan temel fenoller arasında şirincik asit, ferulik asit, kafeik asit, vanilik asit, *p*-kumarik ve sinapik asit sayılmaktadır. Bunların dışında hidroksisinamik asitler ve hidroksibenzoik asitler serbest radikal yakalayıcı ve zincir kırıcı işlevleri ile antioksidan aktivite göstermektedir (Piazzon vd. 2010).

Leitao vd. (2011) bira içerisinde bulunan fenolik bileşenlerin antioksidan aktivitelerini gallik asit > epikateşin > kafeik asit > kateşin > sinapik asit > klorogenik asit > protokateşuik asit > ferulik asit şeklinde sıralamış ve gallik asidin en iyi antioksidan tepki ile ferulik asitten yaklaşık 75 kat daha güçlü olduğunu belirlemiştir.

Şerbetçi otu ise biraya karakteristik acı tat ve bakteriyel aktiviteye karşı koruyucu etki vermenin dışında ağırlıkça %4 -14 oranında fenolik madde içeriği ile biraya katkıda bulunmaktadır. Bu fenolik maddeler içerisinde fenolik asitler, fenillenmiş kalkonlar, flavanoidler, kateşinler ve proantosiyanidinler bulunmaktadır (Fegredo vd. 2009). Şerbetçi otu aynı zamanda biradaki polifenol kaynaklarından birisidir. Birada bulunan polipeptidler ile reaksiyona girerek fazla miktarda çökelti oluşması durumunda bulanıklığa neden olan bu polifenoller aynı zamanda yüksek antioksidan özellik de göstermektedir. (Hughes 2003).

Kaynatma işlemi sırasında şerbetçi otundan şıraya geçen şerbetçi otu yağları ve şerbetçi otu  $\alpha$ - ve  $\beta$ - asitleri yüksek serbest radikal süpürme özelliğine sahiptir. İzö- $\alpha$ - asitleri ise elektron donörü olabilmesi ve hidrojen peroksit formasyonunu başlatması ile pro-oksidan özellik göstermektedir. Şerbetçi otu bileşenlerinin antioksidatif özelliklerinin fenolik içeriğine bağlı olup olmadığı henüz kesinlik kazanmamasına rağmen, şerbetçi otunun esas antioksidan kaynağının içerdiği humulon ( $\alpha$ -asitleri) ve lupulon ( $\beta$ - asitleri) tanecikleri olduğu belirtilmektedir (Wietstock vd. 2010).

Düşük molekül ağırlıklı polifenoller doğal antioksidanlar olup biranın indirgenme özelliğini yükseltmekte ve birayı oksidasyona karşı korumaktadır (Krottenthaler 2009, Fernández de Córdova ve Ruiz Medina 2014) Birada endojen antioksidanlar olarak fenolik bileşenler, melanoidinler ve bisüfitler öne çıkmakta ve biranın fiziksel ve aroma stabilitesi üzerine etki göstermektedir. Zhao vd. (2013) 40 bira örneği üzerinde toplam fenol miktarını, melanoidin miktarını ve toplam SO<sub>2</sub> miktarını inceleyerek antioksidan aktivite ve bu bileşikler arasındaki korelasyonu belirlemiştir. Buldukları sonuçlara göre toplam fenol miktarı ve melanoidin miktarı ile antioksidan aktivite arasında ( $P<0.05$ ) korelasyon mevcutken, sülfürdioksit miktarı ile antioksidan aktivite arasında bir korelasyon bulunmamaktadır.

Bira; beyaz şarap gibi yüksek fenolik madde içeren diğer içecekler ile kıyaslandığında içerdiği yüksek miktardaki proantosiyanidin, epikateşin ve ferulik asit nedeniyle daha yüksek miktarda antioksidan aktivite göstermektedir (Gorinstein vd. 2000, Szwajgier vd. 2005)

Ale tipi bira, lager tipi bira, kırmızı şarap ve beyaz şarapların antioksidan aktivitelerinin Trolox analizi, süperoksit ve hidroksil süpürme analizleri ile antioksidan potansiyellerinin kıyaslanması yapıldığında kırmızı şarapların en yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğu, ancak alkol oranlarının eşitlemesi yapıldığında beyaz şarap, ale ve lager tipi biraların düşük alkol seviyesinde benzer, alkol konsantrasyonu arttıkça ale tipi biranın daha güçlü antioksidan potansiyel göstererek lager ve beyaz şarabı aştığı görülmüştür (Di Pietro ve Bamforth 2011).

Biraların antioksidan kapasitesinin FRAP (demir iyonu indirgeyici antioksidan güç) ve TEAC (Troloks eşiti antioksidan kapasite) yöntemleri ile belirlenmesi sonucunda koyu ve yüksek alkollü bira örneklerinin, düşük alkollü veya alkolsüz bira örneklerinden daha fazla antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada biraların antioksidan kapasitesinin diğer içeceklerle kıyaslanması sonucu kırmızı şarap, kahve ve çay en yüksek kapasiteye sahip bulunurken bira örnekleri pembe şaraba yakın, beyaz şaraptan daha fazla antioksidan kapasiteye sahip bulunmuştur (Saura-Calixto vd. 2009).

Fegredo vd. (2009) yaptıkları çalışmada ale tipi, lager tipi, meyve birası, portakal suyu ve kırmızı şaraplara ait toplam antioksidant kapasiteyi belirlediği çalışmada kırmızı şaraplar en yüksek antioksidan kapasiteyi gösterirken, ortalama antioksidan aktivite olarak lager tipi biradan %16 daha yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmada meyve suyu karıştırılmış bira ve portakal suyu ise hem ale hem lager tipi biralardan daha yüksek antioksidan kapasitede bulunmuştur. Ancak tüketilen porsiyon bazında aynı çalışmada ale tipi biraların portakal suyundan daha fazla miktarda antioksidan içerdiği belirlenmiştir.

## **2.10 Bira Üretim Prosesinin Biranın Antioksidan Aktivitesine Etkisi**

Biranın ham maddesi olan malt üretiminde kullanılan arpanın çeşidi, kimyasal kompozisyonu gibi karakteristik özelliklerinin yanı sıra malt ve bira üretim prosesi sırasında uygulanan öğütme, ıslatma, çimlendirme, mayşeleme, şıra kaynatma, whirlpool, fermantasyon gibi işlemler de son ürün olan biranın fenolik bileşenlerinin çeşidi ve seviyesini etkilediği kadar antioksidan aktivitesini de etkilemektedir (Zhao ve Zhao 2012).

Bira içerisinde bulunan endojen antioksidanlar, bira ham maddelerinden kaynaklandığı gibi bira üretim prosesi sırasında özellikle malt kurutma, kaynatma ve fermantasyon işlemleri sırasında oluşabilmektedir. Özellikle malt yapımı, mayşeleme ve mayalama işlemlerinde; antioksidanların oksidasyon reaksiyonlarını ve serbest oksijen radikallerin reaksiyonlarını erteleme veya önleme yetenekleri önem taşımaktadır (Zhao 2014).

Malt ekstraktı, arpa ekstraktına göre daha fazla antioksidan aktiviteye sahiptir. Bunun nedeni arpanın maltlanması işleminde kavurma sırasında yüksek sıcaklığın etkisiyle bağlı haldeki fenolik bileşiklerin enzimatik salınımının toplam fenol miktarını arttırması, arpada bulunan proantosiyenin miktarı ve maltlama işlemi sırasında enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyon ürünlerinin oluşumu sonucunda antioksidan aktivitenin artmasıdır (Dvořáková vd. 2008c, Leita vd. 2012).

Malt üretimi sırasında meydana gelen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları sonucunda oluşan melanoidinler gibi antioksidan özellik gösteren Maillard ürünleri nedeniyle maltların antioksidan kapasitesi arpa örneklerine göre daha yüksektir. Bunun yanı sıra kurutma ve kavurma işlemindeki sıcaklıkta ferulik asit; glikoz ve prolidondan oluşan mailard reaksiyonu ara ürünleri ile reaksiyona girerek yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Samaras vd. 2005a, Dvořáková vd. 2008a).

Fumi vd. (2011) toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivite arasında bir korelasyon olduğunu belirtmiş ve araştırmasında bulduğu toplam fenol miktarında meydana gelen değişimlerin antioksidan aktiviteye de benzer şekilde yansıyabileceğini belirtmiştir.

Lu vd. (2007) maltlama işleminde iki arpa çeşidi ile yaptıkları çalışmalarında DPPH radikal süpürme aktivitesini de incelemişlerdir. Arpa ıslatma aşamasında ve çimlendirme işleminin 4. gününe kadar antioksidan aktivite, her iki arpa çeşidinde de azalma göstermiş; ancak kurutma ve kavurma işlemlerinde tekrar artış göstermiştir. Yapılan çalışma sonucunda arpa çeşitlerinden birinde maltlama işlemi son durumda antioksidan aktiviteyi etkilemezken diğer arpa çeşidinde arttırdığı bulunmuştur. Bu durumda DPPH radikal süpürme aktivitesi arpa çeşidine bağlı olarak maltlama işleminden etkilenmektedir.

Maillard ve Berset (1995) çalışmalarında çimlendirilmiş arpalarda kurutma ve kavurma işlemlerinde toplam fenol miktarını, antioksidan aktivitedeki değişimi ve antioksidan aktivitenin yaklaşık %20 -40'ından sorumlu olan *trans*-ferulik ve *trans-p*-kumarik asit

ve *cis* – ferulik asit miktarlarını incelemiştir. Çalışmasında antioksidan aktivitenin hidrolize edilmiş kekte 80°C'ye ulaşılana kadar iki katına çıktığı ancak 90°C'ye ulaşana kadar tekrar başlangıç seviyesine döndüğünü belirlemiştir. Antioksidan aktivitedeki bu değişimin grafiği, toplam bağlı çözünmez fenolik bileşiklerin aynı koşullarda verdiği grafik ile kıyaslaması yapıldığında bu iki grafiğin birbirine paralel olduğunu bildirmiştir.

Zhao ve Zhao (2012) 20 malt örneğinde antioksidan aktiviteyi ve bu aktiviteye mayşeleme işleminin etkisini, DPPH radikal süpürme aktivitesi, ABTS radikal katyon - süpürme aktivitesi, süperoksit anyon radikal süpürme aktivitesi, indirgeme gücü ve metal şelatlama aktivitesi yöntemleri ile belirlemiştir. Analiz yaptığı örneklerinde DPPH radikal süpürme aktivitesi ile başlangıçta malt örneklerinde antioksidan aktivite değerleri 9.0- 13.4  $\mu\text{mol TE g}^{-1}$  aralığında bulunurken; tüm mayşeleme işlemi sonrasında şıra örneklerinin antioksidan aktiviteleri 1.0 – 1.5 mmol TE  $\text{g}^{-1}$  aralığına artış göstermiştir.

Jurková vd. (2012) çalışmalarında infüzyon tipi ve kaynatma tipi mayşeleme metodlarını uyguladığı şerbetçi otu katılmamış şıra, şerbetçiotu katılmış şıra ve bira örneklerinde antioksidant aktiviteyi incelemiştir. Çalışması sonucunda mayşeleme yönteminin birada ve ara ürünlerinde antioksidan aktiviteyi etkilediğini ve antioksidan aktivitenin fenolik kompozisyona bağlı olduğunu belirtmiştir. Ayrıca şıra örneklerinde DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite ile şıraların kateşin ve epikateşin içerikleri arasında ve toplam fenol içeriği ile bir korelasyon olduğunu belirlemiştir.

Leitao vd. (2011) laboratuvar ölçeğinde hazırladıkları bira örneklerinde şıra ekstraktının, şerbetçi otu ilaveli ve ilavesiz olarak kaynatma işlemi uygulanmış şıra ekstraktlarının ve kaynatma sonrası şıra örneğine fermantasyon işlemi uygulanan ekstraktlarının ve elde ettiği bira ekstraktlarının toplam antioksidan aktivitesini incelemiş; fermantasyon işlemi ve şıraya şerbetçi otu eklenmesi ile yapılan kaynatma işleminin toplam antioksidan aktiviteye bir etkisi olmadığını belirlemiştir.

Bira içerisinde fenolik içeriğe olduğu kadar antioksidan aktiviteye de en çok etki eden basamaklar kaynatma, fermantasyon, olgunlaştırma, filtrasyon ve durultma basamaklarıdır (Piazzon vd. 2010).

Bira içerisinde antioksidan özellik gösteren sülfid bileşenleri biralarda fermantasyon sırasında mayalar tarafından meydana getirilmekte ve son ürüne kadar korunmaktadır (Zhao 2013).

PVPP filtre bira içerisinde bulanıklığa neden olan polifenollerin yaklaşık %50 sinin yanı sıra bulanıklık oluşturmeyen polifenoller de tutmaktadır. Basit fenolik asitler, basit flavanoidler, proantosiyandinler, prodelfidinler, polifenol- protein kompleksleri ve tanenler de PVPP filtre tarafından tutulmakta ve biranın indirgeme gücünü azaltmaktadır (Mikyška vd. 2002, Aron ve Shellhammer 2010). McMurrough vd. (1996) farklı biralara 100 g/hL PVPP uygulaması sonucunda biraların endojen indirgeme kapasitesinde %9-%38 oranında azalma olduğunu belirlemiştir.

Fantozzi vd. (1998) çalışmalarında İtalyada üretilen lager tipi biraları kullanmış ve üretim sırasında şıradan, olgunlaştırma sonunda, filtreleme sonunda ve şişeleme ve pastörizasyon işlemi sonunda aldığı örneklerde toplam antioksidan kapasiteyi de araştırmıştır. Çalışmasında incelediği dört üretim basamağında da şıra ve bira örneklerinde antioksidan aktivitenin bariz bir şekilde azaldığını belirlemiştir. Başlangıçta şıradan ortalama 1.43 mmol/L Trolox olan antioksidan aktivite miktarı proses basamakları sonucunda yaklaşık %29 azalarak ortalama 1.00 mmol/L Trolox değerine düşmüştür. Fantozzi vd. çalışmalarında antioksidan miktarındaki bu azalmayı bira içerisinde bulunan ve yüksek antioksidan aktivite gösteren tanenlerin ve tanen olmayan flavonoid miktarının da uygulanan işlemler sırasında bariz bir şekilde azalmasına bağlamıştır.

Lund vd. (2012) biraların oksidatif stabilitesi üzerine yaptıkları çalışmalarında pastörizasyon işleminin biraların oksidatif stabilitesini geliştirdiğini belirlemiştir. Pastörizasyon işlemi sırasında kalıntı oksijen serbest radikallerle reaksiyona

girmekte ve pastörize edilmiş bira örneklerinde daha az miktarda serbest radikal bulunmaktadır. Bunun yanı sıra pastörizasyon uygulaması ile Maillard reaksiyon ürünleri ortaya çıkmakta ve bunlar da biranın antioksidan kapasitesini arttırmaktadır. Pastörizasyon işlemi uygulanmış biralarda antioksidan özellik gösteren sülfid miktarının daha yüksek olduğu ve bunun da depolama sürecinde serbest radikaller ile reaksiyona girerek oksidatif stabiliteyi arttırdığı düşünülmektedir. Lund vd. (2012) çalışmalarında pastörizasyon işlemi uygulanmış bira örneklerinde depolama süresi sonunda toplam fenol miktarında azalma meydana geldiğini belirtmiş ve bunu da ısı uygulaması sonucunda fenol polimerizasyonu ve sonrasında çökelti oluşturma ya da fenollerin tamamlanmamış oksidatif mekanizmada kininlere okside olması ile açıklamıştır.

Siqueira vd. (2011) ise oda sıcaklığında 4 ay süren depolama ve zorlanmış koşullarda (42°C sıcaklık) 6 gün depolama sonucunda bira örneklerinin serbest radikal süpürme kapasitesinin, zorlanmış depolama koşullarındaki örneklerde değişmediğini, oda sıcaklığında saklanan örneklerde ise depolamanın son gününe kadar azaldığını belirlemiştir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Çalışmada analiz edilen örnekler Anadolu Efes Biracılık ve Malt Sanayi A.Ş. (Efes Pilsen) Ankara fabrikasından temin edilmiştir. Örneklerin üretiminde 2013 yılında hasat edilen Atılır, Tokak, Fırat ve yerli Sebastian ve ithal Sebastian cinsi arpalar kullanılmıştır. Arpalara ait bazı özellikler ve malta işlendikleri fabrikalar çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Örneklerin üretiminde kullanılan arpaların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

|                                         | Atılır<br>(Yüksek<br>alkollü<br>bira<br>üretimi) | Tokak<br>(Klasik<br>bira ve<br>düşük<br>alkollü<br>bira<br>üretimi) | Tokak<br>(Klasik<br>bira ve<br>düşük<br>alkollü<br>bira<br>üretimi) | Sebastian<br>yerli<br>(%100<br>malt birası<br>üretimi) | Sebastian<br>ithal<br>(ithal malt<br>birası<br>üretimi) | Fırat<br>(%100<br>malt<br>birası<br>üretimi) | Atılır<br>(Aromalı<br>bira<br>üretimi) |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------|
| Geldiği yer                             | Çumra<br>Malt<br>fabrikası                       | Çumra<br>Malt<br>fabrikası                                          | Afyon<br>Malt<br>fabrikası                                          | Çumra<br>Malt<br>fabrikası                             | Çumra<br>Malt<br>fabrikası                              | Çumra<br>Malt<br>fabrikası                   | Çumra<br>Malt<br>fabrikası             |
| Ekstrakt<br>Miktarı<br>(%kuru<br>madde) | 80.4                                             | 80.5                                                                | 80.3                                                                | 84.0                                                   | 84.0                                                    | 80.0                                         | 82.2                                   |
| Protein<br>Miktarı<br>(%kuru<br>madde)  | 11.9                                             | 10.2                                                                | 10.9                                                                | 10.3                                                   | 10.2                                                    | 11.7                                         | 11.7                                   |
| Çözünür<br>Azot<br>Miktarı<br>(mg/100g) | 767                                              | 716                                                                 | 790                                                                 | 654                                                    | 657                                                     | 775                                          | 747                                    |
| Vizkozite<br>(mPas)                     | 1.550                                            | 1.630                                                               | 1.592                                                               | 1.500                                                  | 1.508                                                   | 1.570                                        | 1.540                                  |
| Nem<br>(%)                              | 4.2                                              | 4.1                                                                 | 4.5                                                                 | 3.8                                                    | 4.0                                                     | 4.0                                          | 3.9                                    |
| Kaynama<br>rengi<br>(EBC)*              | 6.6                                              | 7.1                                                                 | 8.3                                                                 | 7.3                                                    | 7.1                                                     | 6.8                                          | 6.2                                    |

EBC: European Brewery Convention

Bira eşidi olarak çalışmada kullanılan tüm bira örnekleri lager tipi bira olarak sınıflandırılmaktadır. Çalışmada kullanılan klasik malt birası, %100 malt birası, düşük alkollü malt birası, yüksek alkollü malt birası, aromalı malt birası ve ithal malt birası Türk Gıda Kodeksi renk sınıflamasına göre açık renkli malt bira sınıfındadır. Alkol içeriklerine göre örnekler sınıflandırıldığında ise; klasik malt birası, %100 malt birası, aromalı malt birası ve ithal malt birası çeşitleri “bira” (alkol içeriğı hacimce %3-6 arasında) sınıfındayken, yüksek alkollü malt birası “yüksek alkollü bira” (Alkol içeriğı hacimce %6’dan fazla) ve düşük alkollü malt birası ise “düşük alkollü bira” (alkol içeriğı hacimce %0.5-3 aralığında) sınıfında bulunmaktadır (Anonim 2006).

Klasik malt birasının en az %60’ı malttan, geri kalanı pirinç ve şeker şurubu gibi malt katkılarından oluşurken, %100 malt birası malt dışında hiç bir malt katkısı eklenmeden üretilmiştir. Her iki biranın da alkol oranı %5’tir. Yüksek ve düşük alkollü malt birası örnekleri de sadece arpa maltı kullanılarak hazırlanmış ve alkol oranları sırasıyla %7.5 ve %3 olarak üretilmiştir. Aromalı malt birası hacmen %4.2 alkol oranına sahip olup; arpa maltının yanı sıra pirinç, şeker, limon ve agave aromaları kullanılarak üretilmiştir. İthal malt birası çeşidinde ise kullanılan arpa maltı ve maya ithaldir ve arpa maltı dışında glikoz şurubu kullanılmaktadır. İthal çeşidin alkol oranı hacmen %4.7 olarak ayarlanmıştır.

Bira üretiminde fabrikada uygulanan klasik bira üretim akış şemasına uyulmuş ve üretim yönteminde herhangi bir değışiklik yapılmayarak proses akışında belirlenen proses basamaklarından örnekler alınmıştır.

Örnek alımında, örneğın yığını tam temsil etmesine dikkat edilmiş ve örneklerin hava ile teması olmayacak şekilde kapatılması sağlanmıştır. Örnekler analiz edilinceye kadar + 4 °C sıcaklıkta buzdolabı koşullarında saklanmıştır.

## 3.2 Yöntem

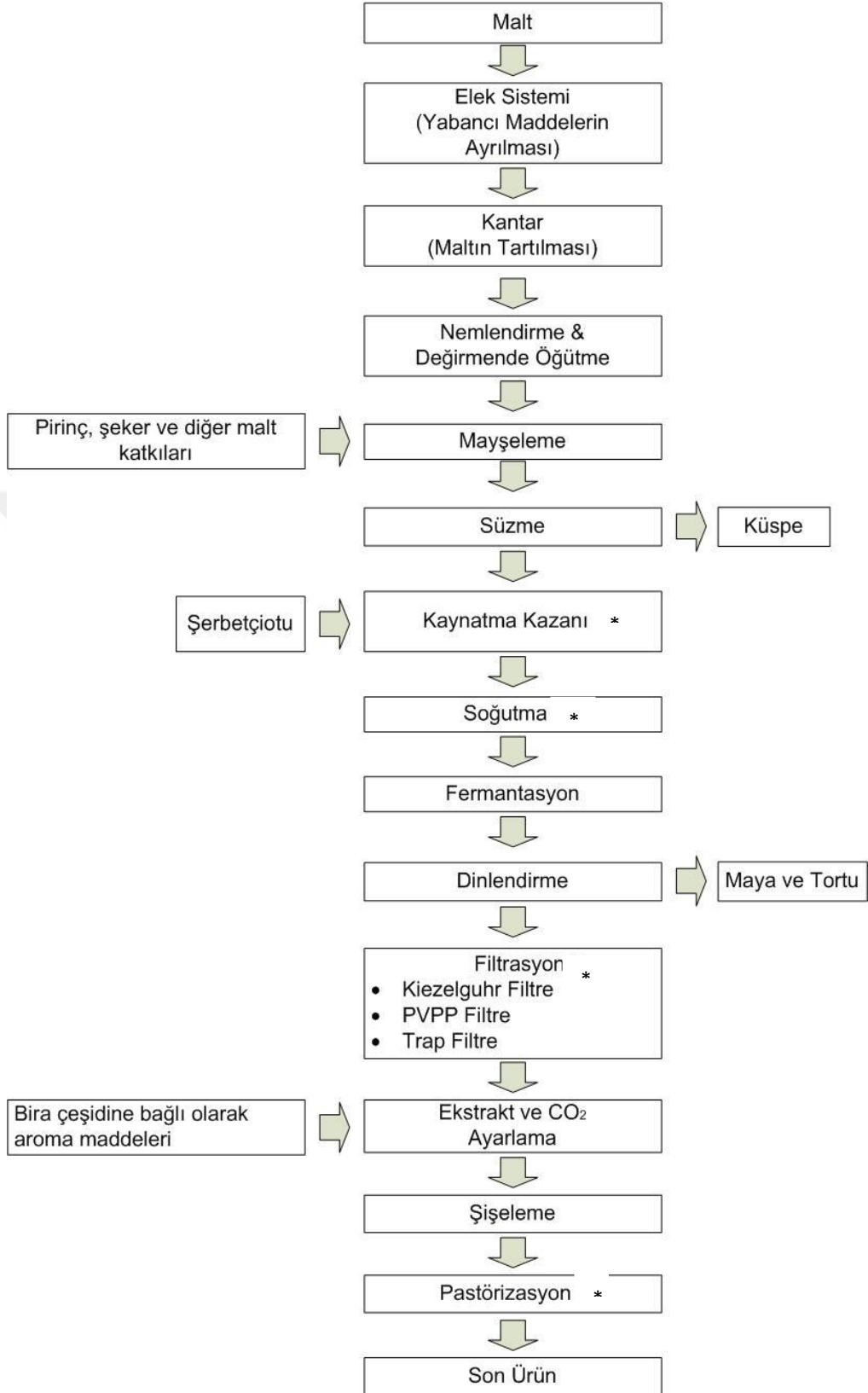
### 3.2.1 Örneklerin Üretimi

Örneklerin üretiminde kullanılan arpalar, Anadolu Efes Biracılık ve Malt Sanayi A.Ş. (Efes Pilsen)' e ait Afyon ve Çumra'daki malt fabrikalarında malta işlenmiş ve Ankara fabrikasına malt halinde gönderilmiştir. Analiz örneklerinin üretimi Anadolu Efes Biracılık ve Malt Sanayi A.Ş. (Efes Pilsen) Ankara fabrikasında gerçekleştirilmiştir. Analizlerde kullanılan biraların üretiminde Anadolu Efes Biracılık ve Malt Sanayi A.Ş. (Efes Pilsen) Ankara fabrikasında uygulanan üretim yöntem ve reçetelerinde hiçbir değişiklik yapılmamış ve ürünlerin spesifik üretimine sadık kalınmıştır.

Örneklerin üretiminde ürün çeşidine göre kullanılan malt cinsi ve miktarı, eklenen malt katkıları ve miktarları, kullanılan maya, kaynatma sıcaklık ve süreleri, fermantasyon sıcaklık ve süreleri, dinlendirme süresi, pastörizasyon sıcaklık ve süreleri değişim göstermektedir. Bu parametreler ürün çeşidine göre değişse de örneklerin genel üretim yönteminde fabrikada malt halinde depolanan arpalar formülasyonunda belirlenen miktarda tartılmış, nemlendirilmiş, öğütülmüş ve tanka alınarak belirlenen miktarlardaki malt katkıları eklenerek, uygun sıcaklık ve sürelerde mayşeleme işlemi yapılmıştır.

Mayşeleme işleminin ardından süzülen şıraya kaynatma tankında şerbetçi otu eklenerek kaynatma yapılmış ve şerbetçi otu ayrılarak şıra hızla fermantasyon sıcaklığı olan 12-14°C'ye hızla soğutulmuştur. Soğuk şıraya maya eklenerek uygun sıcaklıkta fermantasyon gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon işlemi bittikten sonra ham bira maya ve tortunun ayrılması için -1°C'ye soğutularak formülasyonda belirlenen süre kadar dinlendirilmiş ve filtrasyon işlemleri uygulanarak dolum yapılmıştır. Ambalajlanmış şişelere ürün çeşidine göre 20 dakika ile 1 saat arasında değişen sürelerde ve kademeli olarak sıcaklığı artan pastörizasyon tüneline 62-65°C sıcaklıkta pastörizasyon işlemi uygulanmıştır.

Şekil 3.1'de gösterilen analiz noktalarından örnekler alınarak analizler gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1 Bira üretimi için uygulanan akım şeması

\* Örnek alınan proses basamağı

### **3.2.2 Şıra ve bira analizleri**

Farklı aşamalardan alınan örneklerde aşağıdaki analizler gerçekleştirilmiştir.

#### **3.2.2.1 Toplam kuru madde tayini**

Toplam kuru madde tayini Cemeroğlu (2007) göre etüvde kurutularak yapılmıştır. Bunun için 25 mL örnek alınmış ve etüvde 70°C'yi geçmeden kurutulmuştur. Sonuçlar %KM olarak verilmiştir.

#### **3.2.2.2 Suda çözünür kuru madde tayini**

Şıra örneklerinde suda çözünür kuru madde tayini 20°C'de Atago RTX-5000U refraktometre kullanılarak belirlenirken, diğer örneklerde ise AOAC Official Method 945.09'a göre belirlenmiştir. Şıra örneklerinde sonuçlar % suda çözünür kuru madde °Bx cinsinden; bira örneklerinde ise gerçek ve görünür ekstrakt olarak 2 şekilde tayin edilmiş ve g ekstrakt/100 mL bira olarak verilmiştir (Aktan ve Kalkan 2000).

#### **3.2.2.3 Özgül ağırlık (yoğunluk) tayini**

Bira örneklerinin yoğunluğu, AOAC Official Method 920.50 göre tayin edilmiştir.

Analizde yoğunluk 20/20°C'de belirtilen piknometreler kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlar g/mL olarak verilmiştir.

#### **3.2.2.4 Genel (toplam) asitlik tayini**

Genel asitlik titrimetrik olarak tayin edilmiştir. Toplam asit miktarı, karbondioksiti uzaklaştırılan 10 mL örneğin, 20 mL saf su ile rengi açılarak belirteç olarak %1'lik fenoltalein eşliğinde 0.1 N NaOH ile titre edilmesi suretiyle belirlenmiştir. Sonuçlar laktik asit cinsinden g/100 mL olarak verilmiştir (Dokuzlu 2004).

#### **3.2.2.5 pH Değeri Tayini**

Örneklerin pH tayini, AOAC Official Method 945.10 ve Anonim (1986) (TS 2259) göre yapılmıştır. İnoLab Level 1 elektronik pH metre ile pH tayini yapılmıştır.

#### **3.2.2.6 İndirgen Şeker Tayini**

Karbondioksiti uzaklaştırılan bira örneklerinde indirgen şeker analizi Lane – Eynon Yöntemi kullanılarak tayin edilmiştir (Türker 1986).

#### **3.2.2.7 Alkol Tayini**

Örneklerde alkol tayini AOAC Official Method 935.21 ve Yavuzeser (1989) göre belirlenmiştir. Her iki yöntem de örnek içinde bulunan alkolün damıtılması ve elde edilen alkollü sıvının yoğunluğunun uygun piknometreler ile belirlenmesi ve tablolar yardımıyla alkol miktarının ağırlık ( g/L ) ve hacim (% V/V ) olarak ifade edilmesi prensibine dayanmaktadır.

#### **3.2.2.8 Renk (Bulanıklık) Tayini**

Bira numunelerinde bulanıklık tayini Jacob (2013) ve Anonymous (2002) göre belirlenmiştir. Bu yöntem bira analizlerinde resmi referans yöntemidir ve renk disklerinden kaynaklanan insan gözünün subjektifliğini ortadan kaldırmaktadır.

Yöntemin prensibi karbondioksiti uzaklaştırılmış bira örneklerinin membran filtreden geçirilerek bulanık olan örneklerin berrak olana kadar süzülmesi, spektrofotometrede 430nm ve 700nm'deki absorbands ölçümlerinin yapılması ve aşağıdaki formüllere göre bulanıklık olup olmadığının belirlenmesidir. Sonuç uygun faktörlerle çarpılarak renk EBC ve SRM cinsinden bulunmuştur.

$1.27 \times 10 \times A_{430} > A_{430} \times A_{700} \times 0.039 \rightarrow$  Bira berraktır.

$1.27 \times 10 \times A_{430} < A_{430} \times A_{700} \times 0.039 \rightarrow$  Bira bulanıktır.

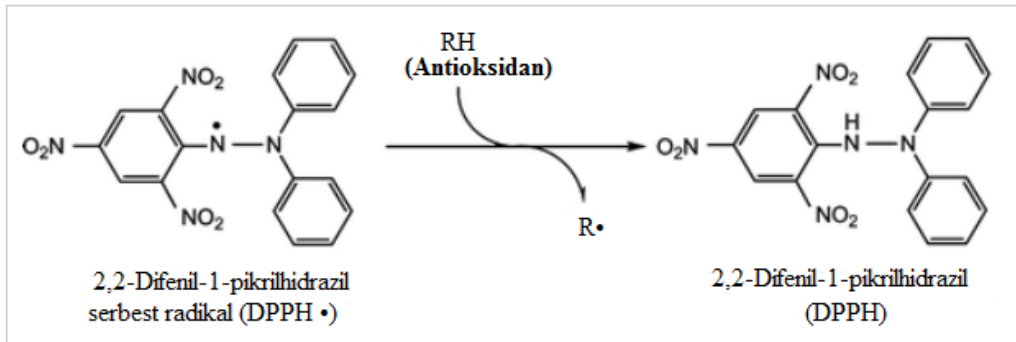
Renk, EBC =  $A_{430} \times 25 \times SF$

SF = Seyreltme faktörü

Renk, EBC=  $1.97 \times$  Renk, SRM

### 3.2.2.9 Antioksidan aktivite belirlenmesi (DPPH radikal scavenging activity)

Antioksidan kapasite belirlenmesi, fenolik bileşenlerin serbest radikalleri önleme yeteneğini ölçebilen DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) kullanılarak yapılmıştır. DPPH ile antioksidan kapasite tayini hidrojen donörünün antioksidan etki gösteren bileşik olduğu teorisine dayanmaktadır. Bu reaksiyon şekil 3.2’de görülmektedir. Bira örneklerinin antioksidan aktivitesi Marinova ve Batchvarov (2011) ve Zhao ve arkadaşları tarafından belirtilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bira örneklerinin DPPH radikali süpürme kapasitesi ise Mitić vd. (2010)’un beyaz şaraplar için belirlediği yöntemin modifikasyonu ile belirlenmiştir.



Şekil 3.2 DPPH serbest radikali ile antioksidan molekülü tepkimesi ve DPPH oluşumu (Moon ve Shibamoto 2009)

Yapılan modifikasyonlar sonucu geliştirilen yöntemde DPPH çözeltisi %50 metanol-su karışımında  $6 \times 10^{-5}$  mol/L konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Analizde 0.1mL gazı çıkarılmış bira örneği 2.9 mL DPPH çözeltisine eklenmiş, karanlıkta 1 saat bekletilmiş ve 517 nm dalga boyunda absorbans değeri belirlenmiştir. DPPH radikal süpürme

kapasitesi (RSC) aşağıdaki formül ile %inhibisyon olarak belirlenmiştir. Formülde kullanılan  $A_0$  köre ait absorbans değeriye,  $A_s$  örneğe ait absorbans değeri göstermektedir. (Mitić vd. 2010).

$$RSC (\%) = 100 \times [(A_0 - A_s) / A_0]$$

Belirlenen % inhibisyon değeri, aynı inhibisyonu gösteren DPPH radikalinin Troloks standardına ait % inhibisyon eğrisi ile kıyaslanarak toplam antioksidant aktivite sonuçları mmol TE / L bira olarak verilmiştir (Brand-Williams vd. 1995).

#### **3.2.2.10 Toplam fenol bileşikleri tayini**

Toplam fenol bileşikleri tayininde Folin – Ciocalteu spektrofotometrik yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde 0.5 mL gazı uzaklaştırılmış bira örneği üzerine 2.5 mL 0.2 N Folin – Ciocalteu çözeltisi eklenmiş ve reaksiyon vermesi beklenmiştir. Üzerine 2 mL %7.5  $Na_2CO_3$  çözeltisi ve 5 mL saf su ilave edilerek 1 saat karanlıkta bekletilmiş ve absorbans değeri 760 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Örneklerin absorbansına karşılık gelen toplam fenol bileşikleri miktarı; hazırlanan gallik asit çözeltisi kullanılarak çizilen standart grafik ile karşılaştırılarak tayin edilmiş ve toplam içerik litrede mg Gallik asit olarak verilmiştir (Slinkard vd. 1977, Zhao vd. 2010).

#### **3.2.2.11 Fenolik Bileşenlerin dağılımı**

Fenolik içeriğin belirlenmesinde Özkan ve Göktürk Baydar'ın fenolik bileşikleri belirlemek için geliştirdiği metod düzenlenerek kullanılmıştır. Çalışmada hidroksibenzoik asitlerden gallik asit, vanilik asit, şirincik asit, protokateşik asit; hidroksisinamik asitlerden p-kumaric asit, kafeik ve ferulik asit; kateşinler grubundan (+)-kateşin, (-)- epikateşin; flavanollerden kuarsetin miktarları kantitatif olarak HPLC yöntemi ile belirlenmiştir (Özkan ve Göktürk Baydar 2006).

### 3.2.2.11.1 Standartların hazırlanması

Gallik asit, vanilik asit, (+)-kateşin, (-)- epikateşin, şirincik asit, protokateşik asit, p-kumaric asit, kafeik, ferulik asit ve kuarsetin standartları “Sigma – Aldrich” firmasından sağlanmıştır. Bütün standartlar için stok çözeltiler 0.5 mg/mL olacak şekilde hazırlanarak %50 metil alkol-su karışımında çözündürülmüştür. Standartlar -18°C de saklanmıştır.

### 3.2.2.11.2 Örneklerin hazırlanması

Analizde kullanılan şıra ve bira örneklerinden 100 mL alınıp örneklerin gazı 30 dakika degazör uygulaması ile uzaklaştırılmıştır. Gazı uzaklaştırılan örnekler 0.45 µm’lik Milipore filtreden süzölmüştür. Filtratlardan 50 µL alınıp hiçbir ön işlem uygulanmadan doğrudan HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Analiz ve standartları hazırlamada kullanılan metanol G Chromasolv ve asetik asit (%100) Sigma-Aldrich (Almanya)’den sağlanmıştır.

#### HPLC Koşulları

Ekipman: Shimadzu

Degazör: DGU-20 A5 Prominence (gradient valf)

Pompa: 1C-20AT Prominence

Kontrol Ünitesi: CBM-20A Prominence

Dedektör: SPD-M10AVP DAD

Otomatik Örnek Enjeksiyon Ünitesi: SIL-10AXL

Kolon Fırını: CTO-10A

Kolon: SUPELCOSIL™ LC-18 (25cm x 4.6mm; 5 µm)

Çözücü A: %100 Metanol

Çözücü B: %2 Asetik Asit

Çözücü Akış Hızı: 1mL/dk

Çizelge 3.2 Fenolik bileşikler için gradient sistem çözücü akış konsantrasyonu

| Süre (dk) | A konsantrasyonu (%) | B konsantrasyonu (%) |
|-----------|----------------------|----------------------|
| 0.00      | 0                    | 100                  |
| 3.00      | 5                    | 95                   |
| 18.00     | 20                   | 80                   |
| 25.00     | 20                   | 80                   |
| 30.00     | 25                   | 75                   |
| 35.00     | 30                   | 70                   |
| 40.00     | 40                   | 60                   |
| 55.00     | 50                   | 50                   |
| 65.00     | 60                   | 40                   |
| 67.00     | 0                    | 100                  |
| 68.00     | 0                    | 100                  |

Kalibrasyon eğrisi çiziminde, saf fenolik bileşik standartları Sigma-Aldrich (Almanya)'dan temin edilmiş ve bu standartlardan metanol-su karışımı içerisinde, 0.1 mg/L, 0.5 mg/L, 1 mg/L, 2.5 mg/L, 5 mg/L, 7.5 mg/L, 10 mg/L, 25 mg/L olmak üzere 8 farklı konsantrasyonda standart çözelti hazırlanmıştır. Kullanılan fenolik standartları, kalibrasyon eğrisi çizimde belirlenen tutulma zamanları, maksimum absorbands değerleri ve  $R^2$  değerleri çizelge 3.3'de gösterilmiştir. Fenolik bileşiklerin kantitatif analizi, absorbandslarının maksimum olduğu dalga boylarındaki kromatogramlara göre belirlenmiştir.

Çizelge 3.3 Fenolik asit standartlarına ait alıkonma zamanı, maksimum absorbans ve R<sup>2</sup> değerleri

| Fenolik Asit Standartları | Alıkonma Zamanı (dakika) | Maksimum ABS (nm) | R <sup>2</sup> |
|---------------------------|--------------------------|-------------------|----------------|
| Gallik Asit               | 6.078                    | 260               | 0.9999         |
| (+)-kateşin               | 15.279                   | 280               | 0.9994         |
| Vanilik Asit              | 17.552                   | 280               | 0.9995         |
| Kafeik Asit               | 18.879                   | 320               | 0.9998         |
| Şirincik Asit             | 20.557                   | 280               | 0.9995         |
| (-)- epikateşin           | 21.009                   | 280               | 0.9999         |
| p-kumaric Asit            | 25.145                   | 320               | 0.9998         |
| Ferulik Asit              | 29.797                   | 320               | 0.9997         |
| Protokateşik Asit         | 35.356                   | 260               | 0.9999         |
| Kuarsetin                 | 50.132                   | 360               | 0.9985         |

#### 3.2.2.12 İstatistiksel analiz

Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilerek ifade edilmiştir. İstatistiksel analiz SPSS yazılımı (versiyon 13.0 Windows, SPSS Inc., Chiago, IL.) kullanılarak tek yönlü ANOVA ve Tukey testi ile yapılmıştır.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Şıra ve Biralarm Genel Kimyasal Analizleri

Çalışmada; bira üretimi sırasında kaynatma, filtrasyon ve pastörizasyon aşamalarından alınan örneklerin kimyasal analizleri yapılmıştır. Proses basamakları incelenen örneklerin fabrikadan temin edilen son ürün standartlarına ait genel kimyasal özellikleri çizelge 4.1’de görölmektedir.

Birada ekstrakt; kuru madde konsantrasyonunun sağlanması için biraya eklenen malt, tahıl ve tahıldan elde edilen ürünler ile bira konsantresi, malt konsantresi, şeker, maltoz ve maltodekstrini kapsamaktadır (Anonim 2006). Birada alkolün temel kaynağı malt ve tahıllardan kaynaklanan şekerler olduğuna göre ekstrakt miktarı ile yoğunluk ve alkol miktarı arasında doğrusal bir ilişki vardır.

Çizelge 4.1 incelendiğinde örneklerin orijinal ekstraktlarının  $7.30\text{--}16.25\text{g}_{\text{ekstrakt}}/100\text{ g}_{\text{bira}}$ , yoğunluklarının ise  $1.0045\text{--}1.0115\text{ g/mL}$  aralığında değiştiği görölmektedir. Örneklerin orijinal ekstrakt miktarı ile yoğunlukları ve alkol miktarları birbirlerinden etkilenmektedir. Çizelge 4.1’den göröldüğü gibi ekstrakt miktarı en az olan düşük alkollü malt birası, aynı zamanda yoğunluğu da en düşük olan örnek çeşididir. Diğer örneklerde de ekstrakt miktarı ile örnek yoğunlukları birbirine paralel şekilde artmaktadır.

Ekstrakt miktarı ve yoğunluk arasındaki ilişkiye benzer bir ilişki ekstrakt miktarı ile alkol miktarı arasında da mevcuttur. Çizelge 4.1’den de göröleceği üzere örneklerin ekstrakt miktarı arttıkça, alkol miktarı da artmaktadır. Yapılan çalışmada örneklerin alkol miktarları hacimce %3.0- 7.50 arasında değişmektedir. En yüksek alkol içeriğine sahip olan yüksek alkollü malt birası örneği, aynı zamanda en yüksek ekstrakt miktarına ve en yüksek yoğunluğa sahiptir.

Biraların aroma, renk ve alkol içerikleri kullanılan tahılların çeşidine ve harmanına, kavrulma özelliklerine, fermantasyon yöntemine, kullanılan maya cinsine ve kullanılan katkılara bağlıdır (Logan vd. 1999).

Bira çeşitlerinin hacimce alkol değerleri Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliğinde belirtilen değerlere göre sınıflandığında klasik malt birası, %100 malt birası, aromalı malt birası ve ithal malt birası “bira” sınıfındayken; yüksek alkollü bira ve düşük alkollü biraların alkol içerikleri tebliğde o sınıflar için belirlenen alkol değerleri ile uyum göstermektedir (Anonim 2006).

Çizelge 4.1 Bira çeşitlerinin son ürünlerinin genel kimyasal özellikleri

|                                               | Klasik malt birası | %100 malt birası | Yüksek alkollü malt birası |
|-----------------------------------------------|--------------------|------------------|----------------------------|
| Yoğunluk (g/mL)                               | 1.0075±0.001       | 1.0070±0.001     | 1.0115±0.001               |
| pH Değeri                                     | 4.25 ± 0.15        | 4.25 ± 0.15      | 4.45 ± 0.15                |
| Toplam Asitlik (g /100mL)*                    | 0.250 ± 0.015      | 0.245 ± 0.015    | 0.370 ± 0.015              |
| Alkol (%V/V)                                  | 5.0 ± 0.10         | 5.0 ± 0.10       | 7.5 ± 0.20                 |
| Orijinal Ekstrakt ( g ekstrakt / 100 g bira ) | 11.55 ± 0.15       | 11.40 ± 0.20     | 16.25 ± 0.25               |
| Renk (EBC)**                                  | 6.25 ± 1.25        | 6.5 ± 5.75       | 9.0 ± 1.00                 |
| Bulanıklık (EBC)**                            | Max 0.60           | Max 0.60         | Max 0.60                   |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\*EBC: European Brewery Convention

Çizelge 4.1 Bira çeşitlerinin son ürünlerinin genel kimyasal özellikleri (devam)

|                                                  | Düşük alkollü malt<br>birası | Aromalı malt birası | İthal malt birası |
|--------------------------------------------------|------------------------------|---------------------|-------------------|
| Yoğunluk (g/mL)                                  | 1.0045±0.001                 | 1.0105±0.001        | 1.0070±0.001      |
| pH Değeri                                        | 4.25 ± 0.15                  | 4.05 ± 0.15         | 4.20 ± 0.15       |
| Toplam Asitlik<br>(g /100mL)*                    | 0.195 ± 0.015                | 0.400 ± 0.015       | 0.190 ± 0.015     |
| Alkol (%V/V)                                     | 3.0 ± 0.10                   | 4.20 ± 0.20         | 4.70 ± 0.10       |
| Orijinal Ekstrakt<br>( g ekstrakt / 100 g bira ) | 7.30 ± 0.30                  | 11.20 ± 0.50        | 11.30 ± 0.20      |
| Renk (EBC)**                                     | 6.0 ± 1.00                   | 6.25 ± 0.60         | 7.0 ± 0.60        |
| Bulanıklık (EBC)**                               | Max 0.60                     | Max 0.60            | Max 0.60          |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden,

\*\*EBC: European Brewery Convention

Birada renk üzerine; üretimde kullanılan suyun alkalilik derecesi, pH, kaynatma süresi, malt tipi, şerbetçi otu tipi ve şerbetçi otunun bira içinde kalma süresi, kullanılan maya çeşidi, fermentasyon ve filtrasyon koşulları gibi faktörler etkilidir. Bira üretimi sırasında koyu renkli ve fazla kavrulmuş malt kullanmak, ekstrakt miktarını yüksek tutmak, pH ve suyun alkalilik düzeyinin artması, uzun süre mayşeleme yapılması, şerbetçi otu ile uzun süre kaynatma işlemleri rengin daha koyu olmasına neden olmaktadır. Yüksek miktarda protein ve protein benzeri madde içeren maltların kullanılması ve filtrasyon işlemleri ise rengin daha açık olmasına neden olmaktadır (Fix 2014).

Çalışmada kullanılan örneklerin renk değerleri 6 EBC ile 9 EBC aralığındadır. En yoğun ekstrakt ve şerbetçi otu içeriğine sahip olan yüksek alkollü malt birası, en koyu renk tonuna sahipken; en düşük ekstrakt ve şerbetçi otuna sahip olan düşük alkollü malt birası, en açık renkli olan bira çeşididir. Çalışmada kullanılan tüm bira örnekleri Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliğinde belirtilen açık renkli biralar için belirlenen 15 EBC değerinden daha düşük renk değerinde olup, tebliğde belirlenen sınıflamaya uygun değerdedir (Anonim 2006).

Örneklerin toplam asitlik ve etkili asitlik değerini gösteren pH derecesi ve asitlik değerleri incelendiğinde, pH değerleri 4.05 – 4.45 aralığında; toplam asitlik değerleri ise laktik asit cinsinden 0.195 g /100 mL – 0.400 g /100 mL aralığında değişmektedir. Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliğinde belirtilen değerlere göre biraların pH değerleri 3-4.8 aralığında bulunmalıdır. Örneklerin analiz edilen pH sonuçları tebliğ değerlerine uymaktadır (Anonim 2006).

Bira için kalite çok göreceli olsa da genel olarak tüketiciler içtikleri biranın temiz ve berrak olmasını istemektedir. Bu nedenle biralarda bulanıklık değerinin düşük olması istenmektedir. Çalışmada analizi yapılan biraların hepsinde bulanıklık 0.60 EBC değerinin altında ve berrak bira özelliğindedir.

#### **4.1.1 Kaynatma İşlem Basamağında Şıraların Genel Kimyasal Analizleri**

Enzimlerin inaktivasyonunu sağlayarak şıra bileşimini stabil hale getirmek, şırayı sterilize etmek, proteinlerin kuagülasyonunu sağlamak, şerbetçi otu bileşenlerinin ekstraksiyonu ve izomerizasyonu, su evaporasyonu, flavor bileşenlerinin formasyonu ve istenmeyen uçucu bileşenlerin evaporasyonunu sağlamak amacıyla şıraya kaynatma işlemi yapılmaktadır ( Russell ve Stewart 1995).

Kaynatma işlemi sonrasında yapılan soğutma işlemi ile şıra içerisinde kalan tortunun ayrılması, mayanın ihtiyaç duyduğu oksijenin sağlanması için şıranın havalandırılması ve şıranın mayalanıp fermentasyona uğrayabilmesi için gerekli fermentasyon sıcaklığına soğutulması amaçlanmaktadır (Akman ve Yazıcıoğlu 1962).

Kaynatma işlem basamağında kaynatma başlangıcı, kaynatma sonu ve soğutma aşamalarından örnek alınmıştır. Kaynatma işleminde şıraya formülasyonda belirlenen çeşit ve miktarda şerbetçi otu ilave edilmiş ve enzim aktivitelerinin gerçekleşmesi için belli sıcaklık derecelerinde belli sürelerde kaynatılmıştır. Kaynatma işlemi ile şerbetçi otundaki aroma maddeleri şıraya geçirildiği gibi şıranın stabilizasyonu ve sterilizasyonu da sağlanmaktadır (Wunderlich ve Back 2009). Kaynatma işleminin sonunda şıra,

fermantasyon için mayalar eklenmeden hızla mayaların çalışabileceği fermentasyon sıcaklığına soğutulmuş ve havalandırılmıştır.

Kaynatma işlemi sırasında bira şıralarında meydana gelmesi beklenen değişiklikler şu şekilde sıralanmıştır:

- Malt enzimlerinin inaktif hale gelmesi
- Bozulmaya neden olan mikroorganizmaların imha edilmesi ve şıranın stabilizasyonu
- Şerbetçi otundan gelen bileşenlerin ekstraksiyonu ve izomerizasyonu ile karakteristik aroma ve flavor kazandırılması
- Şıra içerisinde kuagüle olabilir azotlu bileşik miktarının azaltılması ve koloidal stabilitenin gelişmesi
- Protein-polifenol komplekslerinin oluşması
- pH düşüşü
- Renk gelişimi
- Suyun buharlaşması nedeniyle şıranın yoğunlaşması
- Mayşeleme işlemi ve şerbetçi otundan kaynaklanan uçucu bileşiklerin evoparasyonu

(Miedaner 1986, Russell ve Stewart 1995, Hornsey 1999, O'Rourke 2002a, Briggs vd. 2004, Leiper ve Miedl 2006, Wunderlich ve Back 2009).

Kaynatma işlem basamağında, şıra örneklerine ait genel kimyasal özellikler çizelge 4.2-4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 Kaynatma işlem basamağında klasik malt bira şırası örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                  | Kaynatma Başı   | Kaynatma Sonu   | Soğutma         |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Toplam kuru madde<br>(% ağırlık) | 12.783 ± 0.086  | 13.340 ± 0.073  | 13.303 ± 0.037  |
| Yoğunluk (g/mL)                  | 1.0534 ± 0.0012 | 1.0538 ± 0.0077 | 1.0468 ± 0.0051 |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*    | 0.266 ± 0.0085  | 0.261 ± 0.0073  | 0.251 ± 0.0115  |
| pH Değeri                        | 4.90 ± 0.059    | 4.91 ± 0.030    | 4.63 ± 0.052    |
| Brix (°Bx)                       | 13.37 ± 0.0886  | 13.79 ± 0.0859  | 13.76 ± 0.0716  |
| Renk (EBC)**                     | 8.38 ± 0.341    | 9.76 ± 0.195    | 10.39 ± 0.086   |
| Renk (SRM)***                    | 4.25 ± 0.075    | 4.95 ± 0.119    | 5.27 ± 0.052    |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden,

\*\* EBC: European Brewery Convention,

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Afyon ve Çumra fabrikalarında üretilen Tokak cinsi maltların karıştırılması ile elde edilen klasik malt bira şırasında, kaynatma başında toplam kuru madde ağırlıkça %12.783; kaynatma sonunda %13.340 ve soğutma sonunda ise %13.303 olarak belirlenmiştir. Kuru madde miktarına paralel değişim brix değerinde de görülmektedir. Brix değeri kaynatma başında 13.37 °Bx, kaynatma sonunda 13.79 °Bx ve soğutma sonunda 13.76°Bx olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2).

Kuru maddedeki ve brix değerlerindeki değişimle birlikte yoğunluk değeri de kaynatma başında 1.0534 g/mL'den kaynatma sonunda 1.0538 g/mL ve soğutma işlemi sonunda 1.0468 g/mL olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2).

Kaynatma prosesi sırasında pH ve asitlik değeri sırasıyla kaynatma başında 4.90 ve 0.266 g/100 mL, kaynatma sonunda 4.91 ve 0.261 g/100 mL; soğutma sonunda ise 4.63 ve 0.251 g/100 mL olarak belirlenmiştir. Klasik malt bira şırasında kaynatma işlemi

sırasında eklenen şerbetçi otu pH ve asitlik değerini kaynatma sırasında önemli ölçüde etkilemezken, soğutma işlemi sonunda önemli ölçüde düşürmüştür (Çizelge 4.2).

Kaynatma işleminin renk üzerine olan etkisi rengi koyulaştırma şeklindedir. Başlangıçta 8.38 EBC olan renk değeri kaynatma sırasında meydana gelen esmerleşme reaksiyonları ve katılan şerbetçi otunun etkisiyle kaynatma sonunda 9.76 EBC ve soğutma sonunda 10.39 EBC olmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.3 Kaynatma işlem basamağında %100 malt bira şırası örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                  | Kaynatma Başı   | Kaynatma Sonu   | Soğutma         |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Toplam kuru madde<br>(% ağırlık) | 12.855 ± 0.051  | 13.197 ± 0.089  | 13.174 ± 0.051  |
| Yoğunluk (g/mL)                  | 1.0511 ± 0.0011 | 1.0533 ± 0.0014 | 1.0533 ± 0.0022 |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*    | 0.246 ± 0.0016  | 0.239 ± 0.0016  | 0.238 ± 0.0027  |
| pH Değeri                        | 5.01 ± 0.035    | 4.98 ± 0.028    | 4.97 ± 0.028    |
| Brix (°Bx)                       | 13.23 ± 0.1025  | 13.38 ± 0.0742  | 13.34 ± 0.0318  |
| Renk (EBC)**                     | 7.37 ± 0.106    | 8.75 ± 0.212    | 9.95 ± 0.141    |
| Renk (SRM)***                    | 3.74 ± 0.054    | 4.44 ± 0.107    | 5.05 ± 0.072    |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Sadece Çumra fabrikasında üretilen Fırat ve yerli Sebastian cinsi maltların karıştırılması ile üretilen %100 malt bira şırasında; malt dışında başka hiç bir malt katkısı bulunmamaktadır. %100 malt birasında, kaynatma başında toplam kuru madde miktarı ağırlıkça %12.855 düzeyindeyken kaynatma sonunda %13.197 ve soğutma sonunda ise %13.174 olmuştur (Çizelge 4.3).

Brix değeri kaynatma başlangıcında 13.23°Bx, kaynatma sonunda 13.38 °Bx ve soğutma sonunda 13.34 °Bx olarak ölçülmüştür. Yoğunluk değeri ise kaynatma başında 1.0511g/mL'den kaynatma işlemi sonunda 1.0533 g/mL olarak belirlenmiş ve soğutma işlemi sırasında sabit kalmıştır (Çizelge 4.3).

Kaynatma prosesi sırasında pH ve asitlik değeri sırasıyla kaynatma başında 5.01 ve 0.246 g/100 mL, kaynatma sonunda 4.98 ve 0.239 g/100 mL; soğutma sonunda ise 4.97 ve 0.238 g/100 mL olarak belirlenmiştir. %100 malt bira sırasında kaynatma işlemi sırasında eklenen şerbetçi otu pH ve asitlik değerini kaynatma sırasında önemli ölçüde etkilerken, soğutma işlemi sırasında bir değişikliğe yol açmamıştır (Çizelge 4.3).

Kaynatma işleminin renk üzerine olan etkisi rengi koyulaştırma şeklindedir. Başlangıçta 7.37 EBC olan renk değeri kaynatma sırasında meydana gelen esmerleşme reaksiyonları ve katılan şerbetçi otunun etkisiyle kaynatma sonunda 8.75 EBC ve soğutma sonunda 9.95 EBC olmuştur (Çizelge 4.3).

Çumra fabrikasından gelen tek çeşit Atılır cinsi malt ile üretilen yüksek alkollü malt birasında yüksek alkol içeriğine ulaşmak için kullanılan şıraların ekstrakt ve yoğunluk miktarları diğer çeşitlere göre daha yoğun tutularak üretim yapılmaktadır. Yüksek alkollü malt bira sırasında kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma işlemlerinde toplam kuru madde değerleri sırasıyla ağırlıkça %14.838, %17.856 ve %17.406 olarak belirlenmiştir. Yüksek alkollü malt şırası örneklerinde brix değerleri kaynatma başında 15.66 °Bx, kaynatma sonunda 18.46 °Bx ve soğutma işlemi sonunda 17.89 °Bx; yoğunluk değerleri ise kaynatma başında 1.0627 g/mL'den kaynatma sonunda 1.0757 g/mL ve soğutma işlemi sonunda 1.0583 g/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Kaynatma işlem basamağında yüksek alkollü malt bira şırası örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                  | Kaynatma Başı   | Kaynatma Sonu   | Soğutma         |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Toplam kuru madde<br>(% ağırlık) | 14.838 ± 0.053  | 17.856 ± 0.042  | 17.406 ± 0.087  |
| Yoğunluk (g/mL)                  | 1.0627 ± 0.0051 | 1.0757 ± 0.0098 | 1.0583 ± 0.0033 |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*    | 0.341 ± 0.0985  | 0.344 ± 0.0932  | 0.342 ± 0.1103  |
| pH Değeri                        | 4.90 ± 0.0457   | 4.89 ± 0.0512   | 4.54± 0.0124    |
| Brix (°Bx)                       | 15.66 ± 0.1254  | 18.46 ± 0.3524  | 17.89 ± 0.1205  |
| Renk (EBC)**                     | 10.73 ± 0.499   | 12.19 ± 0.107   | 13.85 ± 0.523   |
| Renk (SRM)***                    | 5.45 ± 0.253    | 6.18 ± 0.512    | 7.03 ± 0.265    |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Kaynatma prosesi sırasında pH ve asitlik değeri sırasıyla kaynatma başında 4.90 ve 0.341 g/100 mL, kaynatma sonunda 4.89 ve 0.344 g/100 mL; soğutma sonunda ise 4.54 ve 0.342 g/100 mL olarak belirlenmiştir. Yüksek alkollü malt birasında kaynatma işlemi sırasında eklenen şerbetçi otu asitlik değerini kaynatma sırasında önemli ölçüde etkilemezken, pH değerini soğutma işlemi sonunda önemli ölçüde düşürmüştür (Çizelge 4.4).

Yoğun ekstraktı dolayısıyla koyu bir başlangıç rengine sahip olan yüksek alkollü malt bira şırası, kaynatma işleminden rengin daha da koyulaşması şeklinde etkilenmiştir. Bu fazlaca koyulaşmanın nedeni en fazla protein içeren malt çeşidinden üretilmiş olması ve en fazla esmerleşme reaksiyonuna maruz kalan örnek olmasıdır. Yüksek alkollü malt bira şırasında başlangıçta 10.73 EBC olan renk değeri, kaynatma sırasında meydana gelen esmerleşme reaksiyonları ve katılan şerbetçi otunun etkisiyle kaynatma sonunda 12.19 EBC ve soğutma sonunda 13.85 EBC olmuştur (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.5 Kaynatma işlem basamağında düşük alkollü malt bira şırası örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                  | Kaynatma Başı   | Kaynatma Sonu   | Soğutma         |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Toplam kuru madde<br>(% ağırlık) | 10.846 ± 0.324  | 11.127 ± 0.368  | 11.136 ± 0.347  |
| Yoğunluk (g/mL)                  | 1.0418 ± 0.0044 | 1.0431 ± 0.0010 | 1.0450 ± 0.0026 |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*    | 0.212 ± 0.0064  | 0.238 ± 0.0051  | 0.277 ± 0.0032  |
| pH Değeri                        | 5.06 ± 0.007    | 4.94 ± 0.011    | 4.90 ± 0.014    |
| Brix (°Bx)                       | 11.03 ± 0.014   | 11.265 ± 0.007  | 11.28 ± 0.028   |
| Renk (EBC)**                     | 9.27 ± 0.017    | 11.93 ± 0.076   | 12.30 ± 0.042   |
| Renk (SRM)***                    | 4.71 ± 0.089    | 6.05 ± 0.053    | 6.24 ± 0.026    |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Afyon ve Çumra fabrikalarında üretilen Tokak cinsi maltların karıştırılması ile elde edilen düşük alkollü malt bira şırası, en düşük ekstrakt miktarına ve en düşük yoğunluğa sahip olma özelliğindedir. Bu örnekte kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma işlemi sonucunda toplam kuru madde miktarları sırasıyla ağırlıkça %10.846, %11.127 ve %11.136 olarak ölçülmüştür. Kuru maddedeki değişimle birlikte yoğunluk değeri de kaynatma başında 1.0418 g/mL'den kaynatma sonunda 1.0431 g/mL ve soğutma işlemi sonunda 1.0450 g/mL olarak belirlenmiştir. Bunlara ek olarak brix değerleri de kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma işlemi sırasında 11.03°Bx, 11.265 °Bx ve 11.28 °Bx olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Kaynatma prosesi sırasında pH ve asitlik değeri sırasıyla kaynatma başında 5.06 ve 0.212 g/100 mL, kaynatma sonunda 4.94 ve 0.238 g/100 mL; soğutma sonunda ise 4.90 ve 0.277 g/100 mL olarak belirlenmiştir. Düşük alkollü malt bira şırasında, eklenen

şerbetçi otu miktarı en az olduğu için kaynatma işlemi sırasında pH değeri kaynatma işleminden çok fazla etkilenmezken asitlik değerinde artış gözlenmiştir (Çizelge 4.5). Kaynatma işleminin renk üzerine etkisi rengi hafif koyulaştırma şeklindedir. Başlangıçta 9.27 EBC olan renk değeri kaynatma sırasında meydana gelen esmerleşme reaksiyonları ve katılan şerbetçi otunun etkisiyle kaynatma sonunda 11.93 EBC ve soğutma sonunda 12.30 EBC olmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.6 Kaynatma işlem basamağında aromalı malt bira şırası örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                  | Kaynatma Başı   | Kaynatma Sonu   | Soğutma         |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Toplam kuru madde<br>(% ağırlık) | 14.624 ± 0.226  | 14.764 ± 0.361  | 15.138 ± 0.414  |
| Yoğunluk (g/mL)                  | 1.0608 ± 0.0046 | 1.0641 ± 0.0043 | 1.0632 ± 0.0014 |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*    | 0.254 ± 0.0095  | 0.292 ± 0.0069  | 0.311 ± 0.0063  |
| pH Değeri                        | 4.83 ± 0.025    | 4.74 ± 0.031    | 4.70 ± 0.011    |
| Brix (°Bx)                       | 15.20 ± 0.014   | 15.63 ± 0.021   | 15.55 ± 0.028   |
| Renk (EBC)**                     | 7.69 ± 0.021    | 7.81 ± 0.053    | 8.30 ± 0.072    |
| Renk (SRM)***                    | 3.90 ± 0.026    | 3.96 ± 0.076    | 4.21 ± 0.035    |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Çumradaki malt fabrikasından gelen Atılır cinsi malttan üretilen aromalı malt birası içerisinde, üretimin ilerleyen aşamalarında sonradan eklenen limon ve agave aroması bulunmaktadır. Bu bira şırasında kaynatma başında toplam kuru madde %14.624, kaynatma sonunda %14.764 ve soğutma sonunda ise %15.138 olmuştur. Kuru maddedeki değişimle birlikte yoğunluk değeri de kaynatma başında 1.0608 g/mL'den kaynatma sonunda 1.0641 g/mL ve soğutma işlemi sonunda 1.0632 g/mL olarak

belirlenmiştir. Brix değerleri ise kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma sonunda sırasıyla 15.20 °Bx, 15.63°Bx ve 15.55 °Bx olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Kaynatma prosesi sırasında pH ve asitlik değeri sırasıyla kaynatma başında 4.83 ve 0.254 g/100 mL, kaynatma sonunda 4.74 ve 0.292 g/100 mL; soğutma sonunda ise 4.70 ve 0.311 g/100 mL olarak belirlenmiştir. Bu çeşitte pH değeri kaynatma işlemi sırasında hafif bir azalma gösterirken, asitlik değerinde artış gözlenmiştir (Çizelge 4.6).

Kaynatma işleminin renk üzerine etkisi rengi hafif koyulaştırma şeklindedir. Başlangıçta 7.69 EBC olan renk değeri kaynatma sırasında meydana gelen esmerleşme reaksiyonları ve katılan şerbetçi otunun etkisiyle kaynatma sonunda 7.81 EBC ve soğutma sonunda 8.30 EBC olmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7 Kaynatma işlem basamağında ithal malt bira şırası örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                  | Kaynatma Başı   | Kaynatma Sonu   | Soğutma         |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Toplam kuru madde<br>(% ağırlık) | 12.502 ± 0.246  | 18.183 ± 0.459  | 17.573 ± 0.267  |
| Yoğunluk (g/mL)                  | 1.0448 ± 0.0013 | 1.0666 ± 0.0014 | 1.0645 ± 0.0068 |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*    | 0.213 ± 0.0032  | 0.210 ± 0.0063  | 0.215 ± 0.0127  |
| pH Değeri                        | 5.57 ± 0.014    | 5.48 ± 0.045    | 5.40 ± 0.052    |
| Brix (°Bx)                       | 11.31 ± 0.007   | 16.30 ± 0.042   | 15.77 ± 0.014   |
| Renk (EBC)**                     | 8.57 ± 0.194    | 8.95 ± 0.071    | 9.52 ± 0.035    |
| Renk (SRM)***                    | 4.349 ± 0.098   | 4.543 ± 0.036   | 4.832 ± 0.017   |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Çumra fabrikalarında yurt dışından gelen İthal Sebastian cinsi maltın kullanılması ile üretilen ithal malt birasında kullanılan maya da diğerlerinden farklı olarak ithal edilmektedir. Bu çeşit birada üretiminde yurt dışında uygulanan formülasyon hiçbir şekilde değiştirilmemektedir. Bu bira sırasında kaynatma başında toplam kuru madde %12.502, kaynatma sonunda %18.183 ve soğutma sonunda ise %17.573 olmuştur. Kuru maddedeki değişimle birlikte brix değerleri ve yoğunluk değeri de kaynatma başında 11.31 °Bx - 1.0448 g/mL'den kaynatma sonunda 16.30°Bx - 1.0666 g/mL ve soğutma işlemi sonunda 15.77 °Bx - 1.0645 g/mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Kaynatma prosesi sırasında pH ve asitlik değeri sırasıyla kaynatma başında 5.57 ve 0.213 g/100 mL, kaynatma sonunda 5.48 ve 0.210 g/100 mL; soğutma sonunda ise 5.40 ve 0.215 g/100 mL olarak belirlenmiştir. İthal malt birasında, kaynatma işlemi sırasında pH ve asitlik değeri kaynatma işleminden etkilenmemektedir (Çizelge 4.7).

Kaynatma işleminin renk üzerine etkisi rengi çok hafif koyulaştırma şeklindedir. Başlangıçta 8.57 EBC olan renk değeri, kaynatma sonunda 8.95 EBC ve soğutma sonunda 9.52 EBC olmuştur (Çizelge 4.7).

Kaynatma ve soğutma işlem basamakları incelendiğinde genel olarak tüm sıra çeşitlerinde görülen ortak değişimler şu şekilde olmuştur:

- Kaynatma işlemi sırasında buharlaşan su ve şıraya şerbetçi otundan geçen bileşenler ile birlikte yoğunluk, toplam kuru madde ve brix miktarları artmıştır.
- Kaynatma işlemi sonrasında gerçekleşen hızlı soğuma nedeniyle buharlaşan suyun bir kısmının yoğunlaşması sonucu soğutma sırasında yoğunluk, toplam kuru madde ve brix azalmış ya da sabit kalmıştır.
- Kaynatma işlemi sırasında şerbetçi otundan şıraya geçen izo alfa ve beta asitleri sayesinde asitlik değerinde artma ve pH değerinde azalma görülmüştür.
- Kaynatma işlemi sırasında meydana gelen esmerleşme reaksiyonları ve eklenen şerbetçi otu nedeniyle kaynatma ve soğutma sırasında renkte bir koyulaşma meydana gelmektedir.

Kaynatma işlemi sonunda elde edilen şıranın kompozisyonu, kullanılan ham maddeye, kullanılan suyun bileşimine ve uygulanan prosese bağlı olmaktadır. Genel olarak bakıldığında şıra yoğunluğu 1.03-1.06 g/mL aralığında olan şıralar, %7.5-15 arasında suda çözünmez katı madde içermekte ve pH değerleri de 5.0 - 5.3 arasında olmakta ve şıra renkleri ise üretilecek biraya göre oldukça koyu olmaktadır (Boulton ve Quain 2001).

Çalışmada elde edilen pH değerleri, ithal malt şırası hariç, Boulton ve Quain (2001) çalışmalarındaki pH değerlerinden düşük olsa da; yoğunluk ve suda çözünmez kuru madde analiz sonuçları Boulton ve Quain (2001) çalışmaları ile uyum göstermektedir.

Şerbetçi otundan şıraya geçen  $\alpha$  ve  $\beta$  asitleri dışında suyun sertlik derecesi ve içerdiği mineral miktarları da şıranın asitlik ve pH miktarını etkilemektedir. Kaynatma işlemi sırasında pH değerinde azalma görülmesinin esas nedeni  $\text{Ca}^{+2}$  bileşiklerinin fosfatlar ve polipeptidler ile  $\text{H}^+$  iyonları açığa çıkartarak çözünmez bileşikler meydana getirmesidir (O'Rourke 2002a,b). Kaynatma işleminde suyun oluşturduğu karbonatlar( $\text{CO}_3$ ) ve bikarbonatlar ( $\text{HCO}_3$ ) malttan gelen fosfatlı bileşikleri alkali yapıdaki sekonder fosfatlara çevirerek asiditeyi düşürmekte veya yine suda bulunan nötr kalsiyum tuzları fosfatları primer fosfatlara indirgeyerek asiditeyi yükseltebilmektedir (Türker 1974). Bunun dışında şıra içerisinde bulunan amino asitler ve polipeptitler arasındaki reaksiyonlar nedeniyle de asitlik artmaktadır (O'Rourke 2002b).

Bir diğer çalışmada ise, şıra elde edilirken kullanılan şıra kompozisyonunun ve fermantasyon koşullarının, biranın pH stabilitesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Kullanılan şıra kompozisyonunun içerdiği ham tahıl miktarı ile indirgen şekerlerin şırayı tamponlama özelliğinde olmadığı ve son ürün pH'sının 4.0 değerinin altına kadar düşebildiği; buna karşın şıra içerisindeki glutamat ve aspartatla ilişkili karboksilik asit grupları ile glutamat ve aspartat içeren peptid ve polipeptitlerin ve sitrat gibi organik asitlerin ise şırada tampon özelliği gösterdiği bilinmektedir (Kaneda vd. 1997). Çalışmada elde edilen bulgular incelendiğinde de farklı içerikteki şıralarda farklı pH değişimleri saptanmıştır.

Leiper ve Miedl (2006) kaynatma işlemi sırasında fosfatlar ve polipeptitlerle çözünmez bileşikler oluşturan  $\text{Ca}^{+2}$  iyonlarının miktarının azalması ve bu sırada açığa çıkan  $\text{H}^+$  iyonları sebebiyle pH değerinin 0.2-0.3 ünite azaldığını, kaynatma sonunda şıra pH değerinin 5.2-5.3 arasında olduğunu belirtmektedir. Briggs vd. (2004) de kaynatma işlemi sırasında asit ve mineraller ile tuzların, tanenlerin, ekstra malt ekstraktlarının, şeker ve şurupların şıraya eklenebildiğini, dışarıdan eklenen asit ve kalsiyum tuzlarının pH değerini 0.1-0.2 ünite azalttığını belirtmektedir.

Miedaner (1986) de kaynatma süresince malt modifikasyonuna ve kavurma işlemine bağlı olarak, ekstra bir asidifikasyon gerçekleşmediği takdirde, pH değerinde 0.1-0.2 ünite azalma görüldüğünü; şerbetçi otundan geçen acılık asitleri, asidik özellikteki Maillard reaksiyon ürünleri oluşumu ve su içerisinde bulunan  $\text{Ca}^{++}$  ve  $\text{Mg}^{++}$  iyonlarının asitleştirici etkisi nedeniyle bu azalma miktarının artabildiğini belirtmektedir. Bamfort (2001) ise kaynatma işlemi sırasında pH değerinde yaklaşık 0.3 ünite düşüş gözlemlendiğini ve bu azalmanın düşük yoğunluklu şıra örneklerinde daha fazla miktarda olduğunu belirtmektedir. Bunların dışında bira üretimi sırasında proteinlerin çökmesinin de doğal bir asidifikasyon olduğu belirtilmektedir (Wunderlich ve Back 2009).

Çalışmada belirlenen pH düşüşleri yukarıda belirtilen çalışmalarda bahsedilen nedenlerden kaynaklandığı öngörülebilir.

Bira üretiminde 30-120 dakika arasında süren kaynatma işlemi sırasında evaporasyon ile su kaybı son 30 yılda %12-20'den, %4-8 oranına düşmüştür. Ortalama 30 – 60 dakika süren kaynatma işlemi sırasında yaklaşık % 4-6 oranında su kaybı gerçekleşmektedir (Miedaner 1986, Russell ve Stewart 1995, O'Rourke 2002a, Leiper ve Miedl 2006, Stewart 2016). Kaynatma işlemi sırasında suyun buharlaşarak uzaklaşması ile orijinal şıra hacminde azalma meydana gelmekte ve dolayısıyla şıra konsantrasyonunda yoğunlaşma olmaktadır (Hornsey 1999). Buharlaşma dışında kaynatma sırasında şıraya eklenebilen şeker ve diğer katkıları, kaynama süresinin

uzatılması gibi nedenlerle yüksek yoğunluklu şıralar elde edilmektedir (O'Rourke 2002a).

Çalışmada kaynatma işlemi sırasında yoğunluk değerinin, kaynatma başlangıcından kaynatma sonuna kadar arttığı görülmüştür. Yoğunluk değerindeki artışa bağlı olarak, brix ve kuru madde değerlerinin de kaynatma prosesi süresince arttığı görülmektedir.

Kaynatma işlemi sırasında çalışma örneklerimizde de buharlaşma ile su kaybı oluşmuştur. Benzer şekilde, Stewart (2016) ve O'Rourke (2002a)'nin de çalışmalarında da yoğunluk ve kuru miktarlarında gözlemlenen artış buharlaşma ile oluşan su kaybı ile açıklanmıştır.

Şıra içerisinde bulunan şekerler, azotlu bileşikler, polifenoller ve diğer bileşiklerden kaynaklanan reaksiyonlar da şıra bileşimini ve özelliklerini etkilemektedir. Bu reaksiyonlar arasında, yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin kuagülasyon ile şıra bileşiminden ayrılması ve proteinlerin diğer reaksiyonları sayılabilmektedir (Miedaner 1986). Ayrıca soğutma işlemi sırasında protein ve tanenlerin çökeltileri, atık şerbetçi otu parçacıkları ve diğer çözünmez haldeki maddelerden meydana gelen tortunun oluşması da biranın fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkilemektedir (Russell ve Stewart 1995). Bunların dışında şerbetçi otu reçineleri ve yağlarından isomerizasyon ile şıra bileşimine geçen  $\alpha$ - asitleri ve diğer bileşenler, şıra içerisinde meydana gelen dönüşüm reaksiyonları, şıra içerisindeki enzimlerin denatürasyonu da şıra bileşimini etkilemektedir. Bunların yanı sıra şıra içerisindeki enzimlerin inaktive olması ise şıra bileşiminin stabl hale gelmesini sağlamaktadır (Briggs vd. 2004).

Boulton ve Quain (2001) çalışmalarında Danimarka, Almanya, Kanada'da üretilen lager tipi bira üretiminde kullanılan şıralarda, şıra şeker içeriği konsantrasyonunu 10.7-12.32°Plato olarak belirlemiştir. Çalışmada kullanılan bira şıraları ile bu değerler kıyaslandığında düşük alkollü bira şırası hariç diğer şıra örnekleri daha yoğun şeker içeriğinde bulunmuştur.

Kaynatma işlemi sırasında en fazla etkilenen fiziksel özelliklerden birisi renktir. Renk üzerine kaynatma işlemi sırasında gerçekleşen üç reaksiyon etkili olmaktadır. Bunlar karbonil ve amino grupları arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonları, şekerlerin karamelizasyon reaksiyonları ve melanoidlerin oluşması ve tanenler ile polifenollerin oksidasyon reaksiyonlarıdır. Bu reaksiyonlar renk üzerinde koyulaşmaya neden olmaktadır (Miedaner 1986, O'Rourke 2002a, Leiper ve Miedl 2006). Kaynatma işlemi sırasında meydana gelen pH azalması ise renk üzerinde azaltıcı etkide bulunmaktadır (Briggs vd. 2004).

Miedaner (1986) kavurma işlemi ile başlayan Maillard reaksiyonlarının kaynatma işlemi sırasında da önlenemediğini ve bira üretimi sırasında uygulanan her ısı işlem basamağında gerçekleştiğini belirtmiştir. Ferreira (2009) ve Hornsey (1999)'da kaynatma işlemi sırasında indirgen şekerler ile primer aminler arasında enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının meydana geldiğini belirterek, bu reaksiyonlar sonucunda polimerik pigmentlerin ve bu sırada gerçekleşen Maillard reaksiyonlarında Amadori düzenlenmeleri ve Strecker degradasyonları sonucunda melanoidinlerin meydana geldiğini; bu oluşan bileşiklerin de renk üzerine etkili olduğunu belirtmiştir. Sayılan bu nedenlerle birlikte soğutma işlemi sırasında şıranın havalandırılması ile şıra bileşimine katılan oksijen de renkte koyulaşmaya neden olabilmektedir (Akman ve Yazıcıoğlu 1962).

Çalışmada kullanılan tüm örneklerde renk değerlerinde koyulaşma meydana gelmiştir (Çizelge 4.2- 4.7). Renk değerlerinde gözlenen bu koyulaşmanın yukarıda belirtilen nedenlerden kaynaklandığı ve bu açıklamalarla uyum gösterdiği düşülebilir.

#### **4.1.2 Filtrasyon İşlem Basamağında Biralara Genel Kimyasal Analizleri**

Fermantasyon işlemini tamamlamış ve kaba tortusundan arındırılmış olan bira, ambalajlanmadan önce tüketicinin beklediği berrak görünüme kavuşması amacıyla filtre edilmektedir. Filtrasyon işlemi ile; birada depolama sırasında oluşabilecek bulanıklık ve kalite düşüklüğünün önüne geçildiği gibi, bira içerisinde kalan maya hücreleri, askıda

kalmış protein ve polifenol partikülleri ve kalan tortudan tamamen ayrılarak, biranın berrak yapıya sahip olması sağlanmaktadır (Briggs vd. 2004).

Filtrasyon işlemi bira üretim prosesinde Kieselguhr filtre, PVPP filtre ve Trap filtre olmak üzere üç basamakta yapılmaktadır. Kieselguhr Filtresi; horizontal filtre, vertikal filtre, plaka çerçeve filtresi olmak üzere üç tiptedir(Freeman 2006, Munroe 2006b, www.probrewer.com, 2015c). Kieselguhr filtre diatome toprağı ile filtrasyon yapan ve kaba tortu alındıktan sonra kalan maya ve tortu parçacıklarının da ayrılarak berrak süzüntünün alındığı ilk filtrasyonu sağlayan basamaktır (Briggs vd. 2004, Freeman 2006, Munroe 2006b, www.probrewer.com, 2015c).

PVPP; sentetik olarak üretilen, yüksek molekül ağırlıklı polimer inert bir malzemedir. Biraya acılık veren ve ilerleyen zamanlarda biranın rengini ve stabilizasyonu bozan polifenoller gibi küçük molekül ağırlıklı maddeleri uzaklaştırmada kullanılır (Dıblan ve Özkan 2013). Bu filtre bulanıklık oluşturabilecek yapıdaki duyarlı proteinleri ve tannoidleri absorbe ederek, birada depolama sırasında oluşacak protein- polifenol komplekslerini önlemekte ve depolama aşamasında bulanıklık ile tortu oluşumunu minimize etmekte ve biranın ömrünün uzamasını sağlamaktadır (Munroe 2006b).

Trap-filtre ise en son filtrasyon basamağı olan membran filtrelerdir. Bu filtre ile diğer filtrelerden süzölmüş biraya olası bir karışma var ise onların ayrılması ve olası maya veya bakterilerden oluşan mikrobiyel yükün ayrılması amaçlanmaktadır. Trap-filtre 8µ gözenek açıklığında 40 inch yüksekliğinde Polypropylene katmanlarından oluşmaktadır (Munroe 2006b).

Yapılan çalışmada fermantasyon işlemi sonrasında dinlendirme tankında kaba tortusundan ayrılan biradan, filtrasyon işleminin ilk basamağı olan Kieselguhr filtreye gönderilmeden önce ve Kieselguhr filtre çıkışında örnek alınmıştır. Kieselguhr filtre çıkışında hava ile temas etmeden doğrudan PVPP filtreye gönderilen biradan PVPP filtre çıkış basamağında ve en son trap-filtreden geçerek filtreleme işlemi tamamlanan biranın depolandığı çekme tankı çıkışından örnek alınmıştır. Filtrasyon işlem

basamağında sıra örneklerine ait genel kimyasal özellikler çizelge 4.8- 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Filtrasyon işlem basamağında klasik malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Kieselguhr<br>Filtre Giriş | Kieselguhr<br>Filtre Çıkış | PVPP Filtre<br>Çıkış | Çekme Tankı   |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|---------------|
| Toplam kuru<br>madde(% ağırlık)                                     | 4.361 ± 0.027              | 4.289 ± 0.014              | 4.262 ± 0.059        | 3.831 ± 0.082 |
| Yoğunluk (g/mL)                                                     | 1.0080±0.0021              | 1.0076±0.0064              | 1.0076±0.0098        | 1.0071±0.0102 |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*                                       | 0.283 ± 0.0191             | 0.284 ± 0.0063             | 0.252 ± 0.0095       | 0.238 ±0.0054 |
| pH                                                                  | 4.29 ± 0.009               | 4.285 ± 0.007              | 4.285 ± 0.016        | 4.29 ± 0.014  |
| İndirgen Şeker<br>(g/L)                                             | 6.83 ± 0.175               | 6.60 ± 0.205               | 6.55 ± 0.09          | 5.90 ± 0.106  |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 2.52 ± 0.098               | 2.42 ± 0.071               | 2.42 ± 0.105         | 2.24 ± 0.084  |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 4.57 ± 0.014               | 4.38 ± 0.043               | 4.37 ± 0.027         | 4.04 ± 0.064  |
| Alkol ( g / L )                                                     | 44.9 ± 0.186               | 42.8 ± 0.359               | 42.6 ± 0.401         | 39.0 ± 0.207  |
| Alkol ( %v/v)                                                       | 5.73 ± 0.0056              | 5.47 ± 0.0037              | 5.44 ± 0.0103        | 4.97 ± 0.0387 |
| Renk (EBC) **                                                       | 10.65 ± 0.414              | 8.26 ± 0.104               | 7.84 ± 0.128         | 7.71 ± 0.057  |
| Renk (SRM)***                                                       | 5.40 ± 0.255               | 4.19 ± 0.029               | 3.98 ± 0.052         | 3.66 ± 0.107  |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Klasik malt birası örneklerine filtrasyon işlemi sırasında uygulanan Kieselguhr filtre girişinde toplam kuru madde ve yoğunluk miktarları sırasıyla % 4.361 ve 1.0080 g/mL; Kieselguhr filtre çıkışında toplam kuru madde ve yoğunluk miktarları sırasıyla %4.289

ve 1.0076 g/mL'ye düşmüştür. Filtrasyon işleminin bir diğer basamağı olan PVPP filtre de yoğunluk değişmezken toplam kuru madde % 4.262'ye düşmüştür. Filtrasyon prosesi çıkış basamağı olan çekme tankından alınan örneklerde ise toplam kuru madde % 3.831 ve yoğunluk 1.0071 g/mL değerlerine düşmüştür (Çizelge 4.8).

Filtrasyon işleminde uygulanan filtreler pH değerleri üzerine bir etkide bulunmazken; PVPP filtre uygulaması ve çekme tankındaki dinlendirme işlemi biranın asitlik değerini 0.283 g/100 mL değerinden sırasıyla 0.252 g/100 mL ve 0.238 g/100 mL değerine düşürmüştür (Çizelge 4.8).

Filtrasyon işlemi sırasında indirgen şeker miktarı ve ekstrakt miktarları da azalma göstermiştir. Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında indirgen şeker miktarları sırasıyla 6.83g/L ve 6.60 g/L, hakiki ekstrakt miktarları 4.57 g ekstrakt/ 100 g bira ve 4.38 g ekstrakt/ 100 g bira; PVPP filtre çıkışında indirgen şeker 6.55 g/L ve hakiki ekstrakt 4.37 g ekstrakt/ 100 g bira olurken çekme tankı örneklerinde bu değerler sırasıyla 5.90 g/L ve 4.04 g ekstrakt/ 100 g bira değerlerine düşmüştür (Çizelge 4.8).

Filtrasyon işlemi alkol ve renk üzerinde de azaltıcı etki göstermiştir. Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında alkol miktarları sırasıyla hacimce %5.73, %5.47, %5.44 ve %4.97; renk değerleri ise sırasıyla 10.65 EBC, 8.26 EBC, 7.84 EBC ve 7.71 EBC olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.9 incelendiğinde, %100 malt birası örneklerine filtrasyon işlemi sırasında uygulanan Kieselguhr filtre girişinde toplam kuru madde ve yoğunluk miktarları sırasıyla % 4.532 ve 1.0078 g/mL düzeyindeyken, kieselguhr filtre çıkışında toplam kuru madde miktarı %4.336'ya ve yoğunluk miktarı 1.0073 g/mL'ye düştüğü görülmektedir. Filtrasyon işleminin diğer basamakları olan PVPP filtre ve çekme tankından alınan örneklerde yoğunluk değerleri 1.0071 g/mL ve 1.0069 g/mL olarak ölçülmüştür. PVPP filtre çıkışı ve çekme tankı örneklerinde toplam kuru madde miktarları ise % 4.269 ve %3.936'ya düşmüştür.

Çizelge 4.9 Filtrasyon işlem basamağında %100 malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                  | Kieselguhr<br>Filtre Giriş | Kieselguhr<br>Filtre Çıkış | PVPP Filtre<br>Çıkış | Çekme Tankı   |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|---------------|
| Toplam kuru madde(% ağırlık)                                     | 4.532 ± 0.141              | 4.336 ± 0.137              | 4.269 ± 0.137        | 3.936 ± 0.123 |
| Yoğunluk(g/mL)                                                   | 1.0078±0.0038              | 1.0073±0.0012              | 1.0071±0.0029        | 1.0069±0.0038 |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                       | 0.273 ± 0.018              | 0.296 ± 0.025              | 0.279 ± 0.012        | 0.273 ± 0.018 |
| pH                                                               | 4.40 ± 0.011               | 4.37 ± 0.021               | 4.37 ± 0.015         | 4.39 ± 0.021  |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                         | 7.45 ± 0.304               | 7.28 ± 0.202               | 7.25 ± 0.353         | 7.17 ± 0.433  |
| Görünür Ekstrakt (g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 2.47 ± 0.026               | 2.34 ± 0.031               | 2.34 ± 0.048         | 2.19 ± 0.021  |
| Hakiki Ekstrakt (g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 4.52 ± 0.018               | 4.31 ± 0.036               | 4.29 ± 0.032         | 4.02 ± 0.019  |
| Alkol ( g / L )                                                  | 44.9 ± 0.424               | 42.8 ± 0.202               | 42.4 ± 0.424         | 39.7 ± 0.778  |
| Alkol ( %v/v)                                                    | 5.74 ± 0.049               | 5.47 ± 0.021               | 5.42 ± 0.035         | 5.07 ± 0.063  |
| Renk (EBC) **                                                    | 9.05 ± 0.071               | 8.82 ± 0.132               | 7.80 ± 0.141         | 7.72 ± 0.066  |
| Renk (SRM)***                                                    | 4.59 ± 0.035               | 4.48 ± 0.067               | 3.96 ± 0.071         | 3.92 ± 0.033  |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

%100 malt birası örneğinin Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında pH değerleri 4.40 ve 4.37 olurken ve asitlik değerleri 0.273 g/100 mL ve 0.296 g/100 mL olarak belirlenmiştir. PVPP filtre uygulaması ve çekme tankındaki dinlendirme işlemi sonucunda biranın pH değerleri 4.37 ve 4.39 değerinde ve asitlik değeri 0.279 g/100 mL ve 0.273 g/100 mL olarak ölçülerek filtrasyon başlangıç değerine dönmüştür (Çizelge 4.9).

Filtrasyon işleminde indirgen şeker miktarı ve ekstrakt miktarları azalma göstermiştir. Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında indirgen şeker miktarları sırasıyla 7.45 g/L ve 7.28 g/L, hakiki ekstrakt miktarları 4.52 g ekstrakt/ 100 g bira ve 4.31 g ekstrakt/ 100 g bira; PVPP filtre çıkışında indirgen şeker 7.25 g/L ve hakiki ekstrakt 4.29 g ekstrakt/ 100 g bira olurken çekme tankı örneklerinde bu değerler sırasıyla 7.17 g/L ve 4.02 g ekstrakt / 100 g bira değerlerine düşmüştür (Çizelge 4.9).

Filtrasyon işlemi alkol ve renk üzerinde, %100 malt birası örneğinde de azaltıcı etki göstermiştir. Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında alkol miktarları sırasıyla hacimce %5.74, %5.47, %5.42 ve %5.07 düzeyindeyken, renk değerleri sırasıyla 9.05 EBC, 8.82 EBC, 7.80 EBC ve 7.72 EBC olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.9).

Yüksek alkollü malt birası örnekleri incelendiğinde ise filtrasyon işlemi sırasında uygulanan kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında toplam kuru madde miktarları sırasıyla ağırlıkça %6.016, %5.708, %5.593 ve %5.495 şeklinde azaldığı görülmektedir. Yoğunluk değerleri ise Kieselguhr filtre girişinde 1.0104 g/mL, kieselguhr filtre çıkışında 1.0099 g/mL olarak ölçülmüştür. PVPP filtre çıkışında yoğunluk miktarı 1.0096 g/mL'ye düşmüş ve çekme tankında herhangi bir değişim göstermemiştir (Çizelge 4.10).

Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında yüksek alkollü malt birası örneğinde pH değerleri 4.25 ve 4.24 olurken ve asitlik değerleri 0.409 g/100 mL ve 0.398 g/100 mL olarak belirlenmiştir. PVPP filtre uygulaması ve çekme tankındaki dinlendirme işlemi sonucunda biranın pH değerleri 4.23 değerinde sabit kalırken; asitlik değeri 0.371 g/100 mL ve 0.364 g/100 mL olarak azalmaya devam etmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 da görüldüğü üzere filtrasyon işleminde indirgen şeker miktarı ve ekstrakt miktarları azalma göstermiştir. Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında indirgen şeker miktarları sırasıyla 10.62 ve 10.45 g/L, hakiki ekstrakt miktarları 5.89 ve 5.66 g ekstrakt/ 100 g biradır. PVPP filtre çıkışında ise indirgen şeker 10.20 g/L ve hakiki

ekstrakt 5.55 g ekstrakt/ 100 g bira ölçülmüş, çekme tankı örneklerinde hakiki ekstrakt sabit kalırken, indirgen şeker miktarı ise 10.15 g/L değerlerine düşmüştür (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 Filtrasyon işlem basamağında yüksek alkollü malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Kieselguhr<br>Filtre Giriş | Kieselguhr<br>Filtre Çıkış | PVPP Filtre<br>Çıkış | Çekme Tankı    |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------|
| Toplam kuru<br>madde(%ağırlık)                                      | 6.016 ±0.0299              | 5.708 ± 0.0854             | 5.593 ± 0.0498       | 5.495 ± 0.0528 |
| Yoğunluk(g/mL)                                                      | 1.0104±0.0113              | 1.099 ± 0.0078             | 1.0096±0.0092        | 1.0096±0.0027  |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*                                       | 0.409 ± 0.0637             | 0.398 ± 0.1081             | 0.371 ± 0.1146       | 0.364 ± 0.0955 |
| pH                                                                  | 4.25 ± 0.0176              | 4.24 ± 0.0106              | 4.23 ± 0.0070        | 4.23 ± 0.0035  |
| İndirgen Şeker<br>(g/L)                                             | 10.62 ± 0.035              | 10.45 ± 0.106              | 10.20 ± 0.282        | 10.15 ± 0.141  |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 3.13 ± 0.0087              | 3.00 ± 0.065               | 2.92 ± 0.0034        | 2.92 ± 0.125   |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 5.89 ± 0.0024              | 5.66 ± 0.0043              | 5.55 ± 0.0015        | 5.55 ± 0.0067  |
| Alkol ( g / L )                                                     | 62.2 ± 0.162               | 59.7 ± 0.310               | 58.9 ± 0.201         | 58.7 ± 0.107   |
| Alkol ( %v/v)                                                       | 7.96 ± 0.0095              | 7.63 ± 0.0023              | 7.53 ± 0.0046        | 7.50 ± 0.0039  |
| Renk (EBC) **                                                       | 12.7 ± 0.166               | 11.35 ± 0.355              | 10.7 ± 0.141         | 10.39 ± 0.395  |
| Renk (SRM)***                                                       | 6.45 ± 0.592               | 5.76 ± 0.179               | 5.43 ± 0.178         | 5.27 ± 0.278   |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Filtrasyon işlemi yüksek alkollü malt birası örneğinde de diğer örneklerde olduğu gibi alkol ve renk üzerinde de azaltıcı etki göstermektedir. Kieselguhr filtre giriş ve

çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında alkol miktarları sırasıyla hacimce %7.96, %7.63, %7.53 ve %7.50 ve renk değerleri sırasıyla 12.70 EBC, 11.35 EBC, 10.70 EBC ve 10.39 EBC olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.11 Filtrasyon işlem basamağında düşük alkollü malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Kieselguhr<br>Filtre Giriş | Kieselguhr<br>Filtre Çıkış | PVPP Filtre<br>Çıkış | Çekme Tankı    |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------|
| Toplam kuru<br>madde(% ağırlık)                                     | 3.317 ± 0.165              | 3.278 ± 0.185              | 3.281 ± 0.189        | 3.004 ± 0.637  |
| Yoğunluk (g/mL)                                                     | 1.0063±0.0013              | 1.0063±0.0056              | 1.0063±0.0102        | 1.0059±0.0011  |
| Toplam asitlik<br>(g/100 mL)*                                       | 0.221 ± 0.0063             | 0.238 ± 0.0064             | 0.218 ± 0.0090       | 0.198 ± 0.0031 |
| pH                                                                  | 4.44 ± 0.011               | 4.45± 0.007                | 4.46 ± 0.014         | 4.46 ± 0.011   |
| İndirgen Şeker<br>( g / L )                                         | 4.38 ± 0.104               | 4.33 ± 0.115               | 4.26 ± 0.321         | 4.07 ± 0.132   |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 2.08 ± 0.032               | 2.08 ± 0.046               | 2.08 ± 0.023         | 1.98 ± 0.017   |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 3.31 ± 0.019               | 3.30 ± 0.053               | 3.30 ± 0.040         | 3.12 ± 0.019   |
| Alkol ( g / L )                                                     | 25.9 ± 0.477               | 25.6 ± 0.206               | 25.7 ± 0.194         | 23.9 ± 0.381   |
| Alkol ( % v/v)                                                      | 3.30 ± 0.027               | 3.27 ± 0.015               | 3.28 ± 0.071         | 3.04 ± 0.039   |
| Renk (EBC) **                                                       | 8.41 ± 0.176               | 7.96 ± 0.106               | 7.28 ± 0.053         | 6.97 ± 0.088   |
| Renk (SRM)***                                                       | 4.27 ± 0.089               | 4.04 ± 0.73                | 3.69 ± 0.045         | 3.54 ± 0.053   |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Düşük alkollü malt birası örneklerine filtrasyon işlemi sırasında uygulanan Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında

toplam kuru madde miktarları sırasıyla ağırlıkça %3.317, %3.278, %3.281 ve %3.004 şeklinde azalırken yoğunluk değerleri Kieselguhr filtre ve PVPP filtreden etkilenmemiş çekme tankında 1.0063 g/mL değerinden 1.0059 g/mL değerine azalmıştır (Çizelge 4.11).

Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında pH değerleri 4.44 ve 4.45 olurken ve asitlik değerleri 0.221 ve 0.238 g/100 mL olarak belirlenmiştir. PVPP filtre uygulaması ve çekme tankındaki dinlendirme işlemi sonucunda biranın pH değerleri 4.46 değerinde sabit kalırken; asitlik değeri 0.218 g/100 mL ve 0.198 g/100 mL olarak azalmaya devam etmiştir (Çizelge 4.11).

Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında indirgen şeker miktarları sırasıyla 4.38 ve 4.33 g/L, hakiki ekstrakt miktarları 3.31 ve 3.30 g ekstrakt/ 100 g bira; PVPP filtre çıkışında indirgen şeker 4.26 g/L ve hakiki ekstrakt 3.30 g ekstrakt/ 100 g bira ölçülmüş, çekme tankı örneklerinde hakiki ekstrakt 3.12 g ekstrakt/ 100 g bira, indirgen şeker miktarı ise 4.07 g/L değerlerine düşmüştür (Çizelge 4.11).

Filtrasyon işlemi alkol ve renk üzerinde yine azaltıcı etki göstermiştir. Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında alkol miktarları sırasıyla hacimce %3.30, %3.27, %3.28 ve %3.04 ve renk değerleri sırasıyla 8.41 EBC, 7.96 EBC, 7.28 EBC ve 6.97 EBC olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Aromalı malt birası örneklerine filtrasyon işlemi sırasında uygulanan Kieselguhr filtre girişinde ve kieselguhr filtre çıkışında toplam kuru madde miktarları sırasıyla ağırlıkça %4.246 ve %3.081, PVPP filtre çıkışında dışarıdan aroma ilave edilmeye başlanması ile toplam kuru madde miktarı %3.481'e ve çekme tankında dinlendirme işlemi sonunda aroma dozlama işlemi tamamlandığında toplam kuru madde miktarı %3.800 değerine çıkmaktadır. Filtre işlemi sırasında yoğunluk değerleri, Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında 1.0104 ve 1.0101 g/mL olarak ölçülürken, aroma dozlanmasından etkilenmeyerek PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında 1.0099 g/mL ve 1.0093 g/mL değerlerine düşmeye devam etmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12 Filtrasyon işlem basamağında aromalı malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                  | Kieselguhr<br>Filtre Giriş | Kieselguhr<br>Filtre Çıkış | PVPP Filtre<br>Çıkış | Çekme Tankı    |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------|
| Toplam kuru madde(%ağırlık)                                      | 4.246 ± 0.141              | 3.081 ± 0.225              | 3.481 ± 0.687        | 3.800 ± 0.159  |
| Yoğunluk(g/mL)                                                   | 1.0104±0.0037              | 1.0101±0.0011              | 1.0099±0.0048        | 1.0093±0.0088  |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                       | 0.328 ± 0.0154             | 0.337 ± 0.0191             | 0.348 ± 0.0088       | 0.401 ± 0.0075 |
| pH                                                               | 4.40 ± 0.007               | 4.36 ± 0.035               | 4.27 ± 0.021         | 4.04 ± 0.007   |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                         | 6.55 ± 0.071               | 5.92 ± 0.141               | 5.20 ± 0.353         | 13.45 ± 0.282  |
| Görünür Ekstrakt (g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 2.80 ± 0.0376              | 2.71 ± 0.0639              | 2.65 ± 0.0547        | 3.15 ± 0.0767  |
| Hakiki Ekstrakt (g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 4.39 ± 0.0388              | 4.25 ± 0.0282              | 4.16 ± 0.0329        | 4.85 ± 0.0571  |
| Alkol ( g / L )                                                  | 49.3 ± 0.283               | 36.8 ± 0.192               | 35.9 ± 0.114         | 33.5 ± 0.318   |
| Alkol ( %v/v)                                                    | 6.30 ± 0.0067              | 4.70 ± 0.0085              | 4.59 ± 0.0056        | 4.28 ± 0.0038  |
| Renk (EBC)                                                       | 6.52 ± 0.116               | 6.33 ± 0.265               | 6.15 ± 0.176         | 5.90 ± 0.086   |
| Renk (SRM)                                                       | 3.31 ± 0.059               | 3.21 ± 0.089               | 3.12 ± 0.043         | 2.99 ± 0.098   |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Aromalı malt birası örneklerinde Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında pH değerleri 4.40 ve 4.36 olurken ve asitlik değerleri 0.328 ve 0.337 g/100 mL olarak belirlenmiştir. PVPP filtre uygulaması, aroma dozlama ve çekme tankındaki dinlendirme işlemi sonucunda biranın pH değerleri 4.27 ve 4.04 olarak azalmaya devam ederken; asitlik değeri 0.348 g/100 mL ve 0.401 g/100 mL olarak artmıştır (Çizelge 4.12).

Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında indirgen şeker miktarları sırasıyla 6.55 ve 5.92 g/L, hakiki ekstrakt miktarları 4.39 ve 4.25 g ekstrakt/ 100 g bira; PVPP filtre çıkışında indirgen şeker 5.20 g/L ve hakiki ekstrakt 4.16 g ekstrakt/ 100 g bira ölçülmüş, çekme tankı örneklerinde ise aroma eklemenin etkisi ile hakiki ekstrakt 4.85 g ekstrakt/ 100 g bira, indirgen şeker miktarı ise 13.45 g/L değerlerine yükselmiştir (Çizelge 4.12).

Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında alkol miktarları sırasıyla hacimce %6.30, %4.70, %4.59 ve %4.28 ve renk değerleri de aroma eklenmesinden etkilenmeyerek azalma göstermiştir. Filtre basamaklarında renk değerleri sırasıyla 6.52 EBC, 6.33 EBC, 6.15 EBC ve 5.90 EBC olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Bira üretimi sırasında biraya eklenen katkı ve aroma maddeleri, eklenen şuruplar, oksijen, fazla havalandırma, suyun sertliği ve kalsiyum, magnezyum içeriği gibi faktörler biranın pH değerini düşürücü etkide bulunmaktadır (Bamforth 2001). Aromalı bira üretimi sırasında gözlemlenen pH düşüşünün filtrasyon işleminde eklenen aroma ve şuruplardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

İthal malt birası örneklerine filtrasyon işlemi sırasında uygulanan Kieselguhr filtre girişinde toplam kuru madde ve yoğunluk miktarları sırasıyla % 5.259 ve 1.0099 g/mL ve Kieselguhr filtre çıkışında toplam kuru madde % 4.481 ve yoğunluk miktarı 1.0078g/mL'ye düşmüştür. PVPP filtre, örnek yoğunluğuna herhangi bir etki göstermezken, toplam kuru madde miktarını % 4.094'e düşürmüştür. Çekme tankı örneğinde ise toplam kuru madde miktarı ağırlıkça %4.052 olurken yoğunluk 1.0072g/mL 'ye düşmüştür. (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13de görüleceği üzere ithal malt birası örneklerinde Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında pH değerleri 3.90 ve 3.91 olurken ve asitlik değerleri 0.238 g/100 mL ve 0.225 g/100 mL olarak belirlenmiştir. PVPP filtre uygulaması ve çekme tankındaki dinlendirme işlemi sonucunda biranın pH değerleri 3.92 olarak sabitlenirken, asitlik değeri 0.209 g/100 mL ve 0.202 g/100 mL olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13 Filtrasyon işlem basamağında ithal malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                  | Kieselguhr<br>Filtre Giriş | Kieselguhr<br>Filtre Çıkış | PVPP Filtre<br>Çıkış | Çekme Tankı    |
|------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------|
| Toplam kuru madde(%ağırlık)                                      | 5.259 ± 0.141              | 4.481 ± 0.687              | 4.094 ± 0.159        | 4.052 ± 0.211  |
| Yoğunluk(g/mL)                                                   | 1.0099±0.0074              | 1.0078±0.0023              | 1.0078±0.0198        | 1.0072±0.0089  |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                       | 0.238 ± 0.0076             | 0.225 ± 0.0031             | 0.209 ± 0.0063       | 0.202 ± 0.0025 |
| pH                                                               | 3.90 ± 0.007               | 3.91 ± 0.011               | 3.92 ± 0.021         | 3.92 ± 0.014   |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                         | 6.80 ± 0.282               | 5.55 ± 0.141               | 5.25 ± 0.212         | 5.25 ± 0.071   |
| Görünür Ekstrakt (g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 3.00 ± 0.0123              | 2.51 ± 0.0389              | 2.47 ± 0.0865        | 2.24 ± 0.177   |
| Hakiki Ekstrakt (g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 4.71 ± 0.049               | 4.45 ± 0.0286              | 4.41 ± 0.0423        | 3.94 ± 0.291   |
| Alkol ( g / L )                                                  | 36.9 ± 0.283               | 36.8 ± 0.192               | 36.8 ± 0.114         | 36.7 ± 0.314   |
| Alkol ( %v/v)                                                    | 4.72 ± 0.0067              | 4.70 ± 0.0085              | 4.70 ± 0.0056        | 4.68 ± 0.0038  |
| Renk (EBC)                                                       | 9.10 ± 0.176               | 7.66 ± 0.071               | 6.87 ± 0.018         | 6.51 ± 0.053   |
| Renk (SRM)                                                       | 4.61 ± 0.064               | 3.88 ± 0.091               | 3.54 ± 0.087         | 3.31 ± 0.019   |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında ithal malt birası örneklerinde indirgen şeker miktarı azalarak PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında değişmemektedir. Bu değerler sırasıyla 6.80 g/L, 5.55 g/L ve 5.25 g/L, hakiki ekstrakt miktarları kieselguhr filtre giriş ve çıkışında 4.71 ve 4.45 g ekstrakt/ 100 g bira olmaktadır. PVPP filtre çıkışında 4.41 g ekstrakt/ 100 g bira ve çekme tankı örneklerinde 3.94 g ekstrakt/ 100 g bira değerlerine düşmüştür (Çizelge 4.13).

İthal malt birası örneklerinde Kieselguhr filtre giriş ve çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankında alkol miktarları sırasıyla hacimce %4.72, %4.70, %4.70 ve %4.68 ve renk değerleri sırasıyla 9.10 EBC, 7.66 EBC, 6.87 EBC ve 6.51 EBC olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.13).

Filtrasyon işlem basamakları incelendiğinde genel olarak tüm bira çeşitlerinde görülen ortak değişimler şu şekilde olmuştur:

- Filtre işlemleri sırasında bira örneklerinde toplam kuru madde miktarları ve yoğunluk azalmış veya sabit kalmıştır. Aromalı malt birasında PVPP filtre işleminden itibaren kuru maddede gözlemlenen artış PVPP işlemi sonunda biraya eklenmeye başlanılan aroma nedeniyle olmaktadır.
- Aromalı malt birası hariç örneklerde filtrasyon işlemi sırasında pH sabit kalmıştır. Meydana gelen değişiklikler önemsiz düzeyde olmaktadır. Aromalı malt birasında gözlenen pH düşüşü ise aroma olarak agave ve limon aroması kullanılmasından kaynaklanmaktadır.
- Örneklerin hepsinde Kieselguhr filtre ve PVPP filtre basamaklarında indirgen şeker miktarı düşmektedir. Aroma eklenmesi nedeniyle aromalı bira örneğinde son filtrasyon basamağında indirgen şeker miktarının artması beklenen bir durumdur.
- Yine tüm bira örneklerinde ekstrakt ve alkol miktarında da bir düşüş gözlenmiştir.
- Bunların yanı sıra her bir filtre basamağı renkte bir miktar açılmaya neden olmuştur.

Filtrasyon işlemi sırasında pek çok maddenin absorbe edilerek biradan uzaklaştırılması, yıkama suyundan kalan tuzların birada çözünmesi gibi nedenlerden dolayı süzme işlemi sırasında bira berraklaşmakta ve bira bileşiminde çeşitli değişiklikler oluşmaktadır (Akman ve Yazıcıoğlu 1962).

Bira üretiminde fermantasyon aşaması sonrasında üretilen ham biralarda pH değerleri 4.2 - 4.4 arasında olmaktadır. Nadir de olsa bu pH değerlerinin 4.0 ve altına da

düşebildiği belirtilmektedir (Kaneda vd. 1997). Bununla birlikte fermantasyon işlemi sonrasında bira içerisinde kalan maya ve diğer kolloidal haldeki maddeler de pH üzerinde düşürücü etkiye bulunmaktadır (Bamfort 2003). Çalışmada kullanılan filtrasyon öncesi örneklerin pH değerleri, fermantasyon sonrasındaki literatür pH değerleri ile kıyaslandığında elde edilen sonuçlar yukarıda belirtilen literatürler ile uyumlu olmaktadır.

Bira bileşiminde filtrasyon aşamasında ayrılması istenen iki tür partikül vardır. Bunlar maya kalıntıları ve askıda kalan partiküllerdir (Bamfort 2003). Birada filtrasyon işlemi sırasında askıda kalan partiküllerin, çökmüş halde bulunan proteinlerin ve artık mayanın ayrılmasıyla biraya berrak bir görünüm kazandırmak ve olası bulanıklık oluşturacak polifenoller gibi partikülleri ayırarak stabilizasyon kazandırmak amaçlanmaktadır (Briggs vd. 2004, Eßlinger 2009b). Biradan ayrılması amaçlanan partiküller arasında  $\beta$ -glukanlar,  $\alpha$ -glukanlar, pentosanlar, maya kalıntıları ve oksalatlar sayılmaktadır (Briggs vd. 2004). Kieselguhr filtre ile katı partiküller bira içeriğinden ayrılırken kolloidal silika kullanılarak protein partikülleri, PVPP filtre ile tanenler ve polifenoller ayrılmaktadır (Briggs vd. 2004, Eßlinger 2009b).

Filtrasyon işlemi öncesinde alkol içeriğini ve ekstrakt miktarını degaze edilmiş su ilavesi ile ayarlama işlemi yapılmaktadır (Wunderlich ve Back 2009). Bu ayarlama işlemi sırasında eklenen su ile bira içeriği bir miktar seyrelmekte ve örneklerde alkol, ekstrakt ve indirgen şeker miktarında gözlemlenen düşme bu şekilde açıklanabilmektedir. Bunun yanı sıra bira içeriğine ilave edilen su ve ayrılan kolloidal parçacıklar nedeniyle birada kuru madde miktarı ve yoğunluk da azalmaktadır.

Fantozzi vd. (1998) yaptıkları çalışmalarında son filtre öncesinde aldıkları bira örneklerinde indirgen şeker miktarını ortalama 6 g/L, pastörizasyon öncesinde aldıkları örneklerinde ise 5 g/L olarak belirlemiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar Fantozzi vd. (1998) elde ettikleri sonuçlardan daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte çalışmada da indirgen şeker miktarında Fantozzi vd. (1998) çalışmasında görülen azalmaya benzer bir azalma meydana gelmiştir. İki çalışmada indirgen şeker

miktarlarının farklı olmasının nedeni çalışmalarda kullanılan örneklerin ekstrakt miktarlarının farklı olması ile açıklanabilir.

Filtrasyon işlemleri sırasında örneklerin, kuru madde ve yoğunluk miktarlarında, indirgen şeker, pH ve diğer fiziksel özelliklerinde meydana gelen değişimler filtrasyon işleminde bira içeriğinden ayrılan maddelere bağlı olabilmektedir.

Biranın filtrasyonu sırasında renk, ekstrakt miktarı, acılık ve köpük oluşumunda bir miktar azalma meydana gelmektedir (Briggs vd. 2004). Bira içerisinde bulunan basit, monomerik, oligomerik ya da polimerik halde bulunan polifenoller de içeren fenolik bileşenler ile biranın rengi arasında bir ilişki bulunmaktadır (Cortacero-Ramírez vd. 2003). Çalışmada kullanılan örneklerde de renk değerlerinde azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.8-4.13). Bu azalmanın filtrasyon işlemi sırasında bira filtrelerden geçerken, filtreler tarafından tutulan fenolik bileşikler nedeni ile meydana geldiği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra renkteki açılma, bira içerisine alkol ve ekstrakt değerlerini ayarlamak için eklenen sudan da kaynaklanabilmektedir. Elde edilen sonuçlar yukarıdaki literatür açıklamaları ile uyumludur.

#### **4.1.3 Pastörizasyon İşlem Basamağında Biraların Genel Kimyasal Analizleri**

Biraya dayanıklılık kazandırmak ve raf ömrünü uzatmak amacıyla pastörizasyon işlemi uygulanmaktadır. Pastörizasyon işlemi ile bira içerisine olası bir mikrobiyel kontaminasyon kalmasının da önüne geçilmektedir. Birada pastörizasyon işlemi genellikle bira dolu tank ve fiçilerde uygulanan flash pastörizasyon ile şişe ve kutu biralara uygulanan tünel pastörizasyon olmak üzere iki çeşittir (Hough vd. 1982, McKay vd. 2011).

Yapılan çalışmada, pastörizasyon işlem basamağında üretimi tamamlanmış bira örnekleri, çeşide göre değişmekle beraber 20 dakika ile 1 saat arasında değişen sürelerde; yaklaşık 62-65 °C sıcaklığa kademeli olarak artan pastörizasyon tüneline Pastörizasyon işlemine maruz kalmıştır.

Pastörizasyon işlem basamağından örnekler pastörizasyon tüneline girmeden önce (pastörizasyon öncesi) ve pastörizasyon tüneli çıkışından (Pastörizasyon sonrası) alınmıştır.

Pastörizasyon işlem basamağında sıra örneklerine ait genel kimyasal özellikler çizelge 4.14 - 4.19'da verilmiştir.

izelge 4.14 Pastörizasyon işlem basamağında klasik malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Toplam kuru madde (% ağırlık)                                       | $3.836 \pm 0.017$    | $3.886 \pm 0.022$     |
| Yoğunluk ( g / mL)                                                  | $1.0071 \pm 0.0078$  | $1.0072 \pm 0.0035$   |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                          | $0.238 \pm 0.0069$   | $0.247 \pm 0.0128$    |
| pH Değeri                                                           | $4.36 \pm 0.007$     | $4.33 \pm 0.021$      |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                            | $5.80 \pm 0.141$     | $5.75 \pm 0.120$      |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | $2.24 \pm 0.036$     | $2.31 \pm 0.138$      |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | $4.04 \pm 0.029$     | $4.10 \pm 0.018$      |
| Alkol ( g / L )                                                     | $39.0 \pm 0.576$     | $38.6 \pm 0.698$      |
| Alkol ( %V/V)                                                       | $4.97 \pm 0.0092$    | $4.93 \pm 0.0076$     |
| Renk (EBC)                                                          | $7.24 \pm 0.213$     | $7.45 \pm 0.141$      |
| Renk (SRM)                                                          | $3.67 \pm 0.065$     | $3.78 \pm 0.071$      |

(n:4), Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Pastörizasyon işlemi süresince klasik malt birasının kuru madde, yoğunluk, ekstrakt ve alkol değerlerinde önemli bir değişiklik görülmemektedir. Pastörizasyon öncesinde ve sonrasında kuru madde miktarı sırasıyla ağırlıkça %3.836 ve %3.886, yoğunluk 1.0071 ve 1.0072 g/mL, gerçek ekstrakt 4.04 ve 4.10 g ekstrakt / 100 g bira ve alkol miktarı sırasıyla hacimce % 4.97 ve %4.93 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Pastörizasyon işleminin asitlik ve pH üzerine etkisi de çok hafiftir. Pastörizasyon işlemi öncesinde pH 4.36 ve asitlik 0.238 g/100 mL, pastörizasyon sonrasında pH 4.33 ve asitlik 0.247 g/100 mL olarak ölçülmüştür. Pastörizasyon işleminden indirgen şeker miktarı da önemsiz derecede etkilenmektedir. Pastörizasyon işlemi öncesinde indirgen şeker miktarı 5.80 g/L ve pastörizasyon sonrasında indirgen şeker miktarı 5.75 g/L olmaktadır (Çizelge 4.14).

Klasik malt birasında pastörizasyon işleminin esas etkisi renk üzerinde görülmektedir. Klasik malt birası örneğinde pastörizasyon işlemi öncesinde renk 7.24 EBC, pastörizasyon ile ısı uygulaması sonucunda renk 7.45 EBC değerine yükselmiştir (Çizelge 4.14).

%100 malt birasında ise pastörizasyon işlemi süresince kuru madde miktarı işlem başında ağırlıkça % 3.931 ve işlem sonunda %3.941 olurken, yoğunluk, pH, alkol, ekstrakt değerleri işlem süresince herhangi bir değişiklik göstermemiştir. Pastörizasyon işlemi boyunca %100 malt birasında yoğunluk 1.0067 g/mL, pH 4.38, hacimce alkol %5.06 ve gerçek ekstrakt miktarı da 4.02 g ekstrakt / 100 g bira olarak sabit kalmıştır (Çizelge 4.15).

Briggs vd. (2004) %100 malt pilsener biralarında yoğunluk değerlerinin 1.00682-1.01411 g/mL, görünür ekstrakt değerlerinin 1.75-3.60 g ekstrakt / 100 g bira, gerçek ekstrakt değerlerinin ise 3.52-5.17 g ekstrakt / 100 g bira olduğunu ve pH değerlerinin 3.74 – 4.63 arasında değiştiğini belirtmiştir. Çalışmada elde edilen veriler bu değerlerle uyum göstermektedir.

Çizelge 4.15 Pastörizasyon işlem basamağında %100 malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Toplam kuru madde (% ağırlık)                                       | 3.931 ± 0.127        | 3.941 ± 0.115         |
| Yoğunluk ( g / mL)                                                  | 1.0067 ± 0.0014      | 1.0067 ± 0.0012       |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                          | 0.252 ± 0.012        | 0.248 ± 0.006         |
| pH Değeri                                                           | 4.38 ± 0.007         | 4.38 ± 0.007          |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                            | 6.65 ± 0.541         | 6.62 ± 0.115          |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 2.19 ± 0.056         | 2.19 ± 0.039          |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 4.02 ± 0.033         | 4.02 ± 0.021          |
| Alkol ( g / L )                                                     | 39.7 ± 0.331         | 39.6 ± 0.584          |
| Alkol ( %v/v)                                                       | 5.06 ± 0.015         | 5.06 ± 0.027          |
| Renk (EBC)                                                          | 7.25 ± 0.114         | 7.44 ± 0.123          |
| Renk (SRM)                                                          | 3.68 ± 0.058         | 3.77 ± 0.063          |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Pastörizasyon işlemi süresince toplam asitlik miktarı 0.252 g/100 mL'den 0.248 g/100 mL'ye ve indirgen şeker miktarı da 6.65 g/L'den 6.62 g/L düzeyine düşmüştür. Pastörizasyon işleminin asıl etkisi %100 malt birasında da renk üzerine olmaktadır. Renk değeri pastörizasyon uygulanmamış bira örneklerinde 7.25 EBC olarak ölçülürken pastörizasyon uygulanmış örneklerde 7.44 EBC olarak ölçülmektedir (Çizelge 4.15).

Yüksek alkollü malt birasında pastörizasyon işlemi başlangıcında ve bitişinde kuru madde miktarı ağırlıkça %5.500 ve %5.501, yoğunluk 1.0095 g/mL ve 1.0094 g/mL hakiki ekstrakt 5.48 g ekstrakt/100g bira ve 5.45 g ekstrakt/100g bira olurken; alkol

miktarı ise hacimce % 7.39 ve % 7.37 ile neredeyse hiç değişim göstermemektedir. (Çizelge 4.16).

Pastörizasyon işleminin pH üzerine etkisi bulunmazken asitlik üzerine etkisi de çok hafiftir. Pastörizasyon işlemi öncesinde ve sonrasında pH 4.22 olurken toplam asitlik pastörizasyon öncesinde 0.360 g/100 mL; pastörizasyon sonrasında asitlik 0.369 g/100 mL olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16 Pastörizasyon işlem basamağında yüksek alkollü malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Toplam kuru madde (% ağırlık)                                       | 5.500 ± 0.0482       | 5.501 ± 0.0266        |
| Yoğunluk ( g / mL)                                                  | 1.0095 ± 0.0041      | 1.0094 ± 0.0023       |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                          | 0.360 ± 0.1592       | 0.369 ± 0.1273        |
| pH Değeri                                                           | 4.22 ± 0.0106        | 4.22 ± 0.0212         |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                            | 9.75 ± 0.494         | 9.6 ± 0.535           |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 2.90 ± 0.0079        | 2.87 ± 0.0064         |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 5.48 ± 0.0019        | 5.45 ± 0.0036         |
| Alkol ( g / L )                                                     | 57.8 ± 0.395         | 57.6 ± 0.261          |
| Alkol ( %v/v)                                                       | 7.39 ± 0.103         | 7.37 ± 0.0067         |
| Renk (EBC)                                                          | 9.89 ± 0.112         | 10.20 ± 0.498         |
| Renk (SRM)                                                          | 5.02 ± 0.252         | 5.17 ± 0.572          |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Pastörizasyon işleminden indirgen şeker miktarı da önemsiz derecede etkilenmektedir. Pastörizasyon işlemi öncesinde indirgen şeker miktarı 9.75 g/L, pastörizasyon sonrasında indirgen şeker miktarı 9.60 g/L olmaktadır (Çizelge 4.16).

Yüksek alkollü malt birasında da pastörizasyon işleminin esas etkisi renk üzerinde görülmektedir. Yüksek alkollü malt birası örneğinde pastörizasyon işlemi öncesinde renk 9.89 EBC, pastörizasyon ile ısı uygulaması sonucunda renk 10.20 EBC değerine yükselmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.17 Pastörizasyon işlem basamağında düşük alkollü malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Toplam kuru madde (%ağırlık)                                        | 2.999 ± 0.205        | 2.953 ± 0.587         |
| Yoğunluk ( g / mL)                                                  | 1.0055 ± 0.0041      | 1.0055 ± 0.0032       |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                          | 0.195 ± 0.0095       | 0.189 ± 0.0127        |
| pH                                                                  | 4.43 ± 0.021         | 4.43 ± 0.007          |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                            | 3.57 ± 0.247         | 3.18 ± 0.152          |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 1.88 ± 0.028         | 1.88 ± 0.019          |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 3.00 ± 0.037         | 3.00 ± 0.021          |
| Alkol ( g / L )                                                     | 23.5 ± 0.239         | 23.6 ± 0.310          |
| Alkol ( %v/v)                                                       | 3.00 ± 0.025         | 3.00 ± 0.042          |
| Renk (EBC)                                                          | 6.20 ± 0.149         | 6.41 ± 0.098          |
| Renk (SRM)                                                          | 3.15 ± 0.026         | 3.25 ± 0.089          |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Düşük alkollü malt birasında da pastörizasyon işleminin etkisi diğer örneklerdeki sonuçlara benzemektedir. Pastörizasyon işlemi yoğunluk, alkol, ekstrakt ve pH değerlerini hiç etkilemezken, toplam kuru madde miktarı, asitlik ve indirgen şeker miktarı üzerine çok az etkide bulunmaktadır. Pastörizasyon işlemi süresince yoğunluk 1.0055 g/mL, alkol miktarı hacimce %3.00, gerçek ekstrakt miktarı 3.00 g ekstrakt /100g bira ve pH 4.43 olarak sabit kalmıştır. Pastörizasyon işlemi süresince toplam kuru madde miktarı ağırlıkça %2.999'dan %2.953'e; toplam asitlik miktarı 0.195 g/100 mL değerinden 0.189 g/100 mL değerine düşmüştür. (Çizelge 4.17).

Pastörizasyon işlemi sırasında renk ve indirgen şeker miktarı en fazla değişimin görüldüğü özelliklerdir. Pastörizasyon işlemi başında indirgen şeker miktarı 3.57 g/L düzeyinden pastörizasyon sonunda 3.18 g/L'ye düşerken renk ise pastörizasyon işlemi başında 6.20 EBC'den 6.41 EBC'ye yükselmiştir (Çizelge 4.17)

Aromalı malt birası örneğinde pastörizasyon işlemi tüm özelliklerde yok denecek kadar az değişime neden olmuştur. Pastörizasyon işlemi başlangıcında ve işlem bitiminde sırasıyla kuru madde miktarı ağırlıkça %3.711 ve %3.803; yoğunluk 1.0093 g/mL ve 1.0095 g/mL'ye ve indirgen şeker miktarı 13.37 g/L'den 13.40 g/L'ye artarken; gerçek ekstrakt miktarı 4.78 g ekstrakt / 100 g bira'dan 4.71 g ekstrakt / 100 g bira'ya ve alkol miktarı ise hacimce %4.28'den %4.20'ye azalmıştır (Çizelge 4.18).

Pastörizasyon işlemi başlangıcında aromalı malt birasında pH değeri 4.02 olurken pastörizasyon sonunda pH değeri 4.04 olarak bulunmuştur toplam asitlik ise 0.399 g/100 mL ve 0.400 g/100 mL düzeyinde kalmıştır. Aromalı malt birasında pastörizasyon işlemi renk üzerine çok fazla etki göstermemektedir. Pastörizasyon işlemi başlangıcında renk 5.93 EBC olurken pastörizasyon sonunda renk değeri 5.96 EBC olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18 Pastörizasyon işlem basamağında aromalı malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Toplam kuru madde (% ağırlık)                                       | $3.711 \pm 0.454$    | $3.803 \pm 0.342$     |
| Yoğunluk ( g / mL)                                                  | $1.0093 \pm 0.0065$  | $1.0095 \pm 0.0023$   |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                          | $0.399 \pm 0.0214$   | $0.400 \pm 0.0043$    |
| pH                                                                  | $4.02 \pm 0.014$     | $4.04 \pm 0.028$      |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                            | $13.37 \pm 0.212$    | $13.40 \pm 0.141$     |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | $3.07 \pm 0.0592$    | $3.00 \pm 0.0238$     |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | $4.78 \pm 0.0692$    | $4.71 \pm 0.0197$     |
| Alkol ( g / L )                                                     | $33.5 \pm 0.351$     | $32.8 \pm 0.267$      |
| Alkol ( %v/v)                                                       | $4.28 \pm 0.0073$    | $4.20 \pm 0.0049$     |
| Renk (EBC)                                                          | $5.93 \pm 0.244$     | $5.96 \pm 0.395$      |
| Renk (SRM)                                                          | $3.01 \pm 0.031$     | $3.02 \pm 0.076$      |

(n:4), Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Çizelge 4.19 Pastörizasyon işlem basamağında ithal malt bira örneğine ait genel kimyasal özellikler

|                                                                     | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Toplam kuru madde (% ağırlık)                                       | 4.067 ± 0.454        | 4.048 ± 0.623         |
| Yoğunluk ( g / mL)                                                  | 1.0072 ± 0.0076      | 1.0073 ± 0.0065       |
| Toplam asitlik (g/100 mL)*                                          | 0.193 ± 0.0019       | 0.191 ± 0.0031        |
| pH                                                                  | 3.95 ± 0.035         | 3.97 ± 0.007          |
| İndirgen Şeker ( g / L )                                            | 5.08 ± 0.106         | 5.05 ± 0.071          |
| Görünür Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> ) | 2.31 ± 0.0287        | 2.34 ± 0.215          |
| Hakiki Ekstrakt<br>(g <sub>ekstrakt</sub> /100 g <sub>bira</sub> )  | 4.02 ± 0.0356        | 4.05 ± 0.209          |
| Alkol ( g / L )                                                     | 36.7 ± 0.351         | 36.7 ± 0.267          |
| Alkol ( %v/v)                                                       | 4.68 ± 0.0073        | 4.69 ± 0.0049         |
| Renk (EBC)                                                          | 6.48 ± 0.194         | 6.49 ± 0.094          |
| Renk (SRM)                                                          | 3.29 ± 0.098         | 3.30 ± 0.048          |

(n:4), Sonuçlar ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir.

\*Laktik asit cinsinden

\*\* EBC: European Brewery Convention

\*\*\*SRM: Standard Reference Method

Pastörizasyon işlemi ithal malt birasının özellikleri üzerine de çok fazla etki göstermemektedir. Pastörizasyon başlangıcı ve sonunda toplam kuru madde miktarı ağırlıkça %4.067 ve %4.048; yoğunluk 1.0072 g/mL ve 1.0073 g/mL, hakiki ekstrakt miktarı 4.02 g ekstrakt / 100 g bira ve 4.05 g ekstrakt / 100 g bira olarak belirlenmiştir. Pastörizasyon işlemi sırasında indirgen şeker miktarı 5.08 g/L'den 5.05 g/L'ye azalmıştır (Çizelge 4.19).

Pastörizasyon işlemi boyunca toplam asitlik, alkol pH ve renk özellikleri neredeyse hiç değişmemektedir. Pastörizasyon işlemi başı ve sonunda toplam asitlik 0.193 g/100 mL

ve 0.191 g/ 100 mL, pH 3.95 ve 3.97, alkol hacimce %4.68 ve % 4.69 ve renk ise pastörizasyon başlangıcında 6.48, pastörizasyon sonunda 6.49 EBC olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.19).

Pastörizasyon işlemi ile biralara tüketime hazır hale gelmekte ve son ürün özelliklerini göstermektedir. Pastörizasyon işlemi uygulaması incelendiğinde genel olarak tüm bira çeşitlerinde özelliklerin sabitlendiği görülmektedir. Meydana gelen değişiklikler ve görülen ortak değişimler şu şekilde olmuştur:

- Pastörizasyon işleminin yoğunluk üzerine herhangi bir etkisi bulunmamaktadır. Tüm bira örneklerinde pastörizasyon işleminde yoğunluk değerleri sabittir.
- Yoğunluk gibi pH, ekstrakt ve alkol değerleri de pastörizasyon işleminden etkilenmemektedir.
- Renkte ise çok hafif bir koyulaşma görülmektedir. Bunun sebebi uygulanan ısı işlemin meydana getirdiği enzimatik olmayan esmerleşmelerdir.

Pastörizasyon işlemi öncesi ve sonrasında analiz edilen biralara son ürün ile aynı özellikleri göstermektedir. Bu nedenle pastörizasyon örnekleri tüketime hazır biralara üzerine yapılan çalışmalar ile kıyaslanmaktadır.

ABD’de standart biralara son üründe alkol derecesinin yaklaşık %5 olduğunu ancak pek çok farklı miktarlarda alkol içeren biralara da olduğu belirtilmektedir (Dasgupta ve Klein 2014b). Ale tipi ve lager tipi bira örnekleriyle yapılan çalışmalarda bira örneklerinin alkol içeriklerinin hacimce %2.92 ile %15.66 arasında değiştiği ve ale tipi biralarda alkol miktarı ortalaması %5.51 olurken lager tipi biralarda %5.32 olduğu belirtilmiştir (Logan vd. 1999, Case vd. 2000). Çalışmada kullanılan bira tiplerinin hepsi daha önce yapılan çalışmalardaki aralığın içerisinde yer almakta ve o sonuçlarla uyum göstermektedir.

Alkolsüz, düşük alkollü ya da yüksek alkollü biralara ile özel biralara hariç genellikle tüketime hazır biralarda hacimce %4.7-5.0 arasında alkol ve yaklaşık % 4 oranında fermente olmamış karbonhidratlar, proteinler, acılık bileşenleri, tanenler, vitamin ve

minerallerden oluşan gerçek ekstrakt bulunmaktadır (Zarnkow 2014). Hough vd. (1982) şişelenmiş İngiliz tipi ale ve lager biralarda gerçek ekstrakt miktarlarını %2.8- 7.5 ve görünür ekstrakt miktarlarını ise %1.5-3.1 olarak bildirmiştir. Çalışmada kullanılan örneklerde de özel biralardan olan yüksek alkollü, düşük alkollü ve aromalı örnekler hariç, bulunan alkol miktarları hacimce %4.69-5.06 aralığında ve gerçek ekstrakt miktarları ise 4.02 - 4.10  $\frac{g_{ekstrakt}}{100 g_{bira}}$  aralığında bulunarak yukarıda bahsedilen literatür değerleri ile uyum göstermektedir.

Lager tipi bira içerisinde toplamda yaklaşık 10-30 g/L karbonhidrat bulunmakta; bu miktarın 1-7 g/L kadarı şekerlerden, 10-20 g/L kadarı dekstrinlerden meydana gelmektedir (Ferreira 2009). Çalışmada analiz edilen indirgen şeker miktarları aromalı malt bira örneği hariç tutularak Ferreira (2009)'un belirlediği dekstrinler hariç şeker miktarı ile uyum sağlamaktadır. Aromalı malt birasındaki şeker miktarının yüksek olmasının sebebi ise filtrasyon basamağında bu örneğe aroma ile birlikte dışarıdan şeker ilave edilmesidir.

Fantozzi vd. (1998) yaptıkları çalışmalarında pastörizasyon işlemi öncesinde aldıkları bira örneklerinde indirgen şeker miktarını ortalama 5 g/L ve pastörizasyon işlemi sonrasında aldıkları örneklerinde de 5 g/L olarak belirleyerek değişim görülmediğini belirtmiştir. Yapılan çalışmada klasik ve ithal malt birası örneklerinden elde edilen sonuçlar Fantozzi vd. (1998) elde ettikleri sonuçlar ile uyum göstermekte; diğer örnekler ise uyum göstermemektedir. Ancak yapılan çalışmada da indirgen şeker miktarında Fantozzi vd. (1998) çalışmasında görüldüğü gibi önemli bir değişim göstermemektedir.

Bamfort (2001) bira örneklerinde pH değerinin 3.9 – 4.5 arasında değiştiğini bildirmektedir. Pastörizasyon işleminde analiz edilen örnekler Bamfort (2001) çalışmasında belirtilen değerlerle uyum göstermektedir (Çizelge 4.14- 4.19).

## 4.2 Toplam Fenolik Madde Tayini

Bira; arpa, malt ve şerbetçi otundan kaynaklanan flavonoller, isoflavonoidler, fenolik asitler, kateşinler, proantosiyanidinler, tanenler ve kalkonlar olmak üzere pek çok polifenolik bileşiğin kaynağıdır (Lapčík vd. 1998, Gorinstein vd. 2000, Nardini ve Ghiselli 2004, Rivero vd. 2005). Tüketime hazır haldeki bira içerisinde bulunan fenolik bileşenler üzerine, kullanılan ham maddelerin karakteristik özellikleri kadar, bira üretim aşamaları ve depolama koşulları da etkili olmaktadır (Zhao 2015).

Bira örneklerinde farklı proses basamaklarının toplam fenolik madde değişimi üzerine etkisi çizelge 4.20 - 4.22’de, uygulanan proses basamaklarında toplam fenolik maddedeki değişim ise grafiksel olarak şekil 4.1- 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.20 Kaynatma işlem basamağında bira sırası örneklerinde toplam fenolik madde analiz sonuçları

|                                 | Kaynatma Başı     | Kaynatma Sonu     | Soğutma           |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Klasik malt bira sırası         | 428.604 ± 2.48 Cc | 440.734 ± 1.63 Cb | 448.394 ± 2.97 Ca |
| %100 malt bira sırası           | 425.106 ± 2.87 Cb | 434.096 ± 1.90 Da | 438.213 ± 2.18 Da |
| Yüksek alkollü malt bira sırası | 523.803 ± 1.58 Ac | 537.447 ± 2.60 Ab | 543.245 ± 3.15 Aa |
| Düşük alkollü malt bira sırası  | 449.468 ± 1.60 Bb | 458.404 ± 3.58 Ba | 462.074 ± 1.76 Ba |
| Aromalı malt bira sırası        | 366.681 ± 2.68 Dc | 405.064 ± 0.98 Ea | 399.787 ± 3.02 Eb |
| İthal malt bira sırası          | 336.596 ± 2.15 Ec | 346.738 ± 2.43 Fb | 350.091 ± 1.75 Fa |

(n:4), Sonuçlar mg/L gallik asit eşdeğeri olarak ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı sütündeki büyük harfler bira çeşitleri arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. (P < 0.05)

Klasik malt bira şırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının sırasıyla 428.604 mg/L, 440.734 mg/L ve 448.394 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20). Kaynatma işleminin klasik malt birası üzerine etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi ve soğutma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önemlidir. Klasik malt bira şırasında, kaynatma işlemi süresince %2.83 ve soğutma işleminde %1.74 olmak üzere kaynatma proses basamağında toplamda %4.62 oranında toplam fenolik madde artışı görülmektedir.

%100 malt bira şırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının sırasıyla 425.106 mg/L, 434.096 mg/L ve 438.213 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20). Kaynatma işleminin %100 malt birası üzerine etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önemliyken soğutma işlemi sırasında gözlemlenen artış istatistiksel olarak bir önemli değildir. %100 malt bira şırasında toplam fenolik madde miktarında, kaynatma işlemi süresince %2.11 ve soğutma işleminde %0.95 olmak üzere kaynatma proses basamağında toplamda %3.08 oranında artış görülmektedir.

Yüksek alkollü malt bira şırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 523.803 mg/L, 537.447 mg/L ve 543.245 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.20). Yüksek alkollü malt bira şırası üzerinde kaynatma işleminin etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi ve soğutma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önem taşımaktadır. Toplam fenolik madde miktarı, yüksek alkollü malt birasında kaynatma işlemi süresince %2.60 ve soğutma işleminde %1.08 olmak üzere kaynatma proses basamağında toplamda % 3.71 oranında artış sağlamıştır.

Düşük alkollü malt bira şırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde;

toplam fenolik madde miktarlarının sırasıyla 449.468 mg/L, 458.404 mg/L ve 462.074 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20). Kaynatma işleminin düşük alkollü malt birası üzerine etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önem taşımaktadır. Buna rağmen soğutma işleminde görülen artış istatistiksel olarak bir fark yaratmamaktadır. Düşük alkollü malt bira sırasında kaynatma işlemi süresince %1.99 ve soğutma işleminde % 0.80 olmak üzere kaynatma proses basamağında toplamda %2.80 oranında artış toplam fenolik madde miktarında görülmektedir.

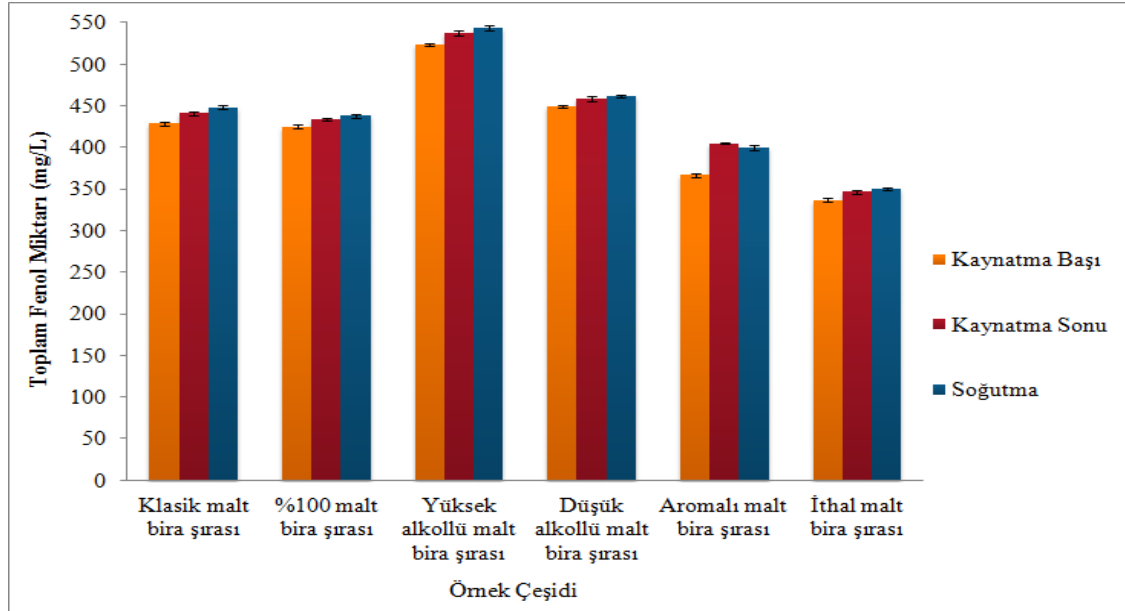
Aromalı malt bira sırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının kaynatma başında 366.681 mg/L, kaynatma sonunda 405.064 mg/L ve soğutma sonunda 399.787 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20). Aromalı malt bira sırası üzerindeki kaynatma işleminin etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi sırasında görülen artış ve soğutma işlemi sırasında gözlenen azalış istatistiksel olarak önem taşımaktadır. Aromalı malt birasında toplam fenolik madde miktarı kaynatma işlemi süresince %10.46 artarken ve soğutma işleminde %1.30 oranında azalmış ve kaynatma proses basamağında toplamda % 9.03 oranında artış sağlamıştır.

İthal malt bira sırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının kaynatma başında 336.596 mg/L, kaynatma sonunda 346.738 mg/L ve soğutma sonunda 350.091 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.20). İthal malt birası üzerindeki kaynatma işleminin etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi ve soğutma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önem taşımaktadır. İthal malt bira sırasında toplam fenolik madde miktarı kaynatma işlemi süresince %3.01 ve soğutma işleminde %0.97 olmak üzere kaynatma proses basamağında toplamda % 4.01 oranında artış sağlamıştır.

Kaynatma işlem basamağının bira sırası örneklerine olan etkisi incelendiğinde tüm örneklerde görülen ortak özellik, kaynatma başı ve kaynatma sonu arasında toplam

fenolik bileşimin hızlıca artması ve soğutma sonuna gelindiğinde artışın yavaşlayarak da olsa devam etmesidir. Kaynatma süresince toplam fenol miktarında en fazla oranda artma %10.46 ile aromalı malt bira sırasında görülmektedir. En düşük miktardaki artış ise %1.99 ile düşük alkollü malt bira sırasında görülürken soğutma prosesinde toplam fenolik madde miktarındaki en yüksek orandaki artış %1.74 ile klasik malt bira sırasında görülmektedir. Soğutma işleminde toplam fenolik içerikte tek azalma ise %1.30 oranıyla aromalı malt bira sırasında görülmüştür.

Kaynatma prosesi sırasında, şıra içerisinde eş zamanlı gerçekleşen şerbetçi otundan protein ekstraksiyonu, polifenol-polifenol ve polifenol-protein bağlarının kurulması, polifenol-polisakkarit topaklaşmaları, polimerize olan bileşiklerin çökelmeleri, su evaporasyonu ve protein-polifenol degradasyon bileşiklerinin oluşması gibi pek çok reaksiyon sebebiyle, kaynatma işlemi sırasında örnekler arasındaki fenolik bileşiklerin değişimlerdeki farklılıklar tam açıklanamamaktadır. Ancak kaynatma prosesi sonucunda flavonoid grubu fenoliklerin ve tanenlerin miktarlarında keskin bir artış gözlenmekte ve buna bağlı olarak da toplam fenol miktarında artış meydana gelmektedir (Fumi vd. 2011).



Şekil 4.1 Bira örneklerinin kaynatma işlem basamağında toplam fenolik madde değişimi

Klasik malt, %100 malt, yüksek alkollü malt, düşük alkollü malt, aromalı malt ve ithal malt bira şıraları birbirleri ile karşılaştırıldıklarında kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma işlemi sonunda en yüksek toplam fenolik madde miktarının yüksek alkollü malt bira sırasında olduğu görülmektedir. Kaynatma prosesi içerisindeki basamaklar bir arada değerlendirildiğinde bira şıralarının en yüksek toplam fenolik madde miktarları aromalı malt bira sırası hariç tutulmak üzere soğutma işlemi sonunda görülmektedir. Aromalı malt bira sırasında ise en yüksek fenolik madde miktarı kaynatma işlemi sonunda görülmekte ve diğer örneklerin aksine soğutma işlemi sırasında artmamaktadır.

Şerbetçi otu, kateşin ve proantosiyanidin grubu fenolik bileşikler için çok zengin bir kaynaktır. Kaynatma işlemi sırasında eklenen şerbetçi otunun cinsine ve eklenme aşamasına göre kaynatma işleminde şıraya flavonoid grubu fenoliklerin geçişi olmaktadır. Buna ek olarak kaynatma işlemi sırasında hem malt hem de şerbetçi otundan şıraya pek çok basit ve polimerize fenolik madde ekstrakte edilmekte ve sıra içerisindeki fenolik miktarları artmaktadır. Soğutma işlemi sırasında polifenoller ve proteinlerin etkileşmesi sonucunda, soğuk bulanıklığı ve flavonoidlerin olası oksidasyonları nedeniyle fenolik bileşik miktarında azalma meydana gelebilmektedir. (Miedaner 1986, Shahidi ve Nacz 1995, 2004, Leiper ve Miedl 2009, Collin vd. 2013).

Kaynatma işlemi sırasında şerbetçi otundan basit tanenler ve malt polifenollerinin büyük bir kısmı kaynayan şıraya geçmekte ve soğutma sonunda bir kısmı çözünmüş halde kalmaktadır. Ancak tanenler ve polifenoller okside ve polimerize olabilmekte, tanen-polifenol veya protein-polifenol komplekslerini oluşturabilmektedir. Eğer proteinler okside olmuş haldeki tanenler yada polifenollerle reaksiyona girerse çökerek sıra bileşiminden ayrılmakta; okside olmayanlar ile kompleks oluşturursa sıra içerisinde çözünür halde kalmakta, ancak ilerleyen aşamalarda bulanıklığa neden olmaktadır (O'Rourke 2002a, Cortacero-Ramírez 2003, Leiper ve Miedl 2009). Buna ek olarak şerbetçi otu kaynaklı kalkonlanmış fenoller ise kaynatma işlemi sırasında iso flavonollere indirgenebilmektedir (Shahidi ve Nacz 1995, 2004). Buna göre kaynatma işlemi sırasında toplam fenol miktarında meydana gelen artış, arpa ve şerbetçi otunda bulunan fenolik bileşiklerin şıraya geçmesi ile; soğutma işlemi sırasında meydana gelen

azalmalar ise, protein-polifenol reaksiyonları ve bunların sonucunda çökelti oluşması ile açıklanabilir. Nitekim bu bulgular yukarıda belirtilen literatür bilgileri ile uyumludur.

Bira örneklerinde polifenol içerik ve antioksidan aktivite değişimi üzerinde kaynatma, fermantasyon ve olgunlaştırma aşamalarının olduğu kadar filtrasyon aşamasının da oldukça kritik etkileri bulunmaktadır (Piazzon vd. 2010).

Filtrasyon işlemi sırasında fazla maya hücreleri, soğuk bulanıklığı ve kalıcı bulanıklıklar biradan ayrılırken, kullanılan filtrasyon materyaline bağlı olarak, fenolik madde miktarlarında kayda değer azalma da meydana gelmektedir (Zhao 2015). PVPP filtre başta tanenler olmak üzere fenolik miktarını azaltmak için ve Trap-filtre de bulanıklığın önlenmesine destek olmak ve filtre kalıntılarını arındırmak için kullanılmakta ve düşük polimerize fenollerini bile ayırmaktadır (Fumi vd. 2011).

Çizelge 4.21 Filtrasyon işlem basamağında bira örneklerinde toplam fenolik madde analiz sonuçları

|                                  | Kieselguhr Filtre<br>Giriş | Kieselguhr Filtre<br>Çıkış | PVPP Filtre Çıkış | Çekme Tankı    |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------|----------------|
| Klasik malt<br>birası            | 360.319±2.11Ca             | 346.596±1.98Cb             | 331.117±2.34Cc    | 320.904±3.29Cd |
| %100 malt<br>birası              | 378.191±2.07Ba             | 371.755±1.26Bb             | 343.670±2.34Bc    | 328.511±0.91Bd |
| Yüksek<br>alkollü malt<br>birası | 420.617±1.02Aa             | 394.298±1.92Ab             | 388.723±2.01Ac    | 385.712±1.33Ac |
| Düşük<br>alkollü malt<br>birası  | 320.106±0.99Da             | 318.351±1.59Da             | 291.383±1.08Db    | 270.904±1.44Dc |
| Aromalı<br>malt birası           | 253.489±1.75Fa             | 182.332±1.72Fd             | 198.851±0.77Ec    | 231.915±1.47Eb |
| İthal malt<br>birası             | 262.340±1.24Ea             | 231.617±1.84Eb             | 193.787±0.94Fc    | 187.811±2.24Fd |

(n:4), Sonuçlar mg/L gallik asit eşdeğeri olarak ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı sütündeki büyük harfler bira çeşitleri arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. (P < 0.05)

Filtrasyon işlemi proses basamaklarının, klasik malt birasında toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının Kieselguhr filtre girişinde 360.319 mg/L, Kieselguhr filtre çıkışında 346.596 mg/L, PVPP filtre çıkışında 331.117 mg/L ve çekme tankında 320.904 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.21). Filtrasyon işleminin klasik malt birası üzerine etkisi incelendiğinde filtre işlemleri sırasında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemlidir. Filtreleme işlemi, toplam fenolik madde miktarında, klasik malt birasında Kieselguhr filtre süresince % 3.81, PVPP filtre süresince %4.47 ve trap filtre ile dinlendirme süresince %3.08 olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda %10.94 oranında azalışa neden olmaktadır.

%100 malt birası örneğinde, filtrasyon proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının Kieselguhr filtre girişinde 378.191 mg/L, Kieselguhr filtre çıkışında 371.755 mg/L, PVPP filtre çıkışında 343.670 mg/L ve çekme tankında 328.511 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.21). Filtrasyon işleminin %100 malt birası üzerine etkisi incelendiğinde filtre işlemleri sırasında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemlidir. Filtreleme işlemi, %100 malt birasında Kieselguhr filtre süresince % 1.70, PVPP filtre süresince %7.55 ve trap filtre ile dinlendirme süresince %4.41 olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda %13.14 oranında toplam fenolik madde miktarında azalışa neden olmaktadır.

Yüksek alkollü malt birası örneğinde, Kieselguhr filtre girişi, Kieselguhr filtre çıkışı, PVPP filtre çıkışı ve çekme tankında proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının sırasıyla 420.617mg/L, 394.298 mg/L, 388.723 mg/L ve 385.712 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.21). Yüksek alkollü malt birası üzerindeki filtrasyon işleminin etkisi incelendiğinde Kieselguhr filtre ve PVPP filtre işlemi sırasında gözlenen azalış istatistiksel olarak önem taşırken, trap-filtre ve dinlendirme işleminde gözlemlenen azalma bir önem taşımamaktadır. Filtreleme işlemi, yüksek alkollü malt birasında Kieselguhr filtre süresince % 6.26, PVPP filtre süresince %1.41 ve trap-filtre ile dinlendirme süresince %0.77 olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda %8.30 oranında toplam fenolik madde miktarında azalışa neden olmaktadır.

Düşük alkollü malt birası filtrasyon proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının Kieselguhr filtre girişinde 320.106 mg/L, Kieselguhr filtre çıkışında 318.351 mg/L, PVPP filtre çıkışında 291.383 mg/L ve çekme tankında 270.904 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.21). Filtrasyon işleminin düşük alkollü malt birası üzerine etkisi incelendiğinde Kieselguhr filtre işlemi sırasında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemsizken, filtrasyon işleminin diğer basamakları sırasında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemlidir. Toplam fenolik madde miktarında filtreleme işleminde düşük alkollü malt birasında, Kieselguhr filtre süresince % 0.55, PVPP filtre süresince %8.47 ve trap filtre ile dinlendirme süresince %7.03 olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda %15.37 oranında azalış görülmektedir.

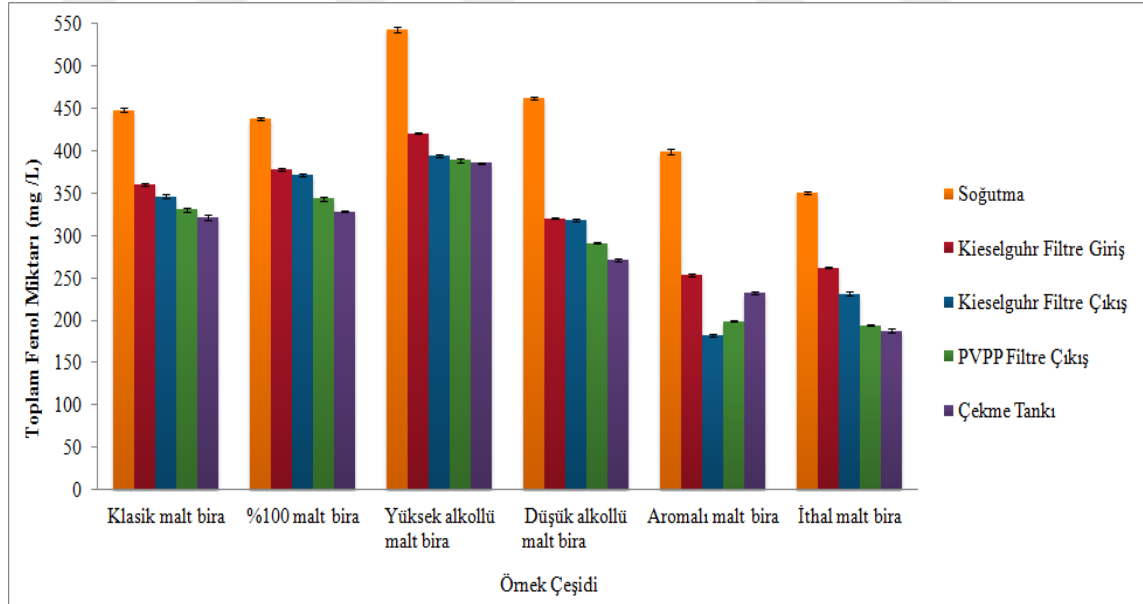
Filtrasyon işlemi proses basamaklarının aromalı malt birasında toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının Kieselguhr filtre girişinde 253.489 mg/L, Kieselguhr filtre çıkışında 182.332 mg/L, PVPP filtre çıkışında 198.851 mg/L ve çekme tankında 231.915 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.21). Filtrasyon işleminin aromalı malt birası üzerine etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde filtre işlemleri sırasında gözlenen artış ve azalışlar istatistiksel olarak önemlidir. Filtreleme işlemi klasik malt birasında Kieselguhr filtre süresince % 28.07 oranında azalırken, PVPP filtre süresince aroma ilave edilmeye başlanmasıyla %9.06 ve trap filtre ile dinlendirme süresince %16.63 oranında artmaktadır. Filtrasyon proses basamağında toplam fenolik madde miktarında filtrelerden kaynaklanan azalma ve aroma ilave edilmesinden kaynaklanan artışlar göz önüne alındığında toplamda %8.51 oranında azalma görülmektedir.

İthal malt birası örneğinde Kieselguhr filtre girişi, Kieselguhr filtre çıkışı, PVPP filtre çıkışı ve çekme tankında proses basamaklarının toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarlarının sırasıyla 262.340 mg/L, 231.617mg/L, 193.787 mg/L ve 187.811 mg/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.21). İthal malt birası üzerindeki filtrasyon işleminin etkisi incelendiğinde filtre basamakları arasında toplam fenolik madde miktarında görülen azalmalar istatistiksel olarak önem taşımaktadır. Filtrasyon işlemi, ithal malt birasında Kieselguhr filtre süresince % 11.71,

PVPP filtre süresince % 16.33 ve trap filtre ile dinlendirme süresince % 3.08 olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda %28.41 oranında toplam fenolik madde miktarında azalışa neden olmaktadır.

Fumi vd. (2011) sadece malttan üretilen bira örneklerinde soğutma işleminden trap-filtre çıkışına kadar toplam fenol miktarında keskin bir azalma gözlemlemiştir. Filtrasyon işlemi süresince toplam fenol miktarında Kieselguhr filtre sonrasında %5, PVPP filtre sonrasında %13 ve trap filtre sonrasında ise %14 oranında bir kayıp olduğunu belirtmektedir. Buna ek olarak fermantasyon işlemi sırasında toplam fenol miktarında ise %16 oranında bir kayıp olduğunu belirtmektedir.

Yapılan çalışmada kaynatma işlemi ile filtrasyon işlemleri arasında gerçekleşen fermantasyon, dinlendirme işlemleri ve maya ile tortunun ayrılması nedeniyle toplam fenol içeriğinde çok önemli ölçüde düşüş gözlemlenmiştir (Şekil 4.2). Bu sonuç Fumi vd. (2011) yaptığı çalışma ile uyum göstermektedir.



Şekil 4.2 Bira örneklerinin filtrasyon işlem basamağında toplam fenolik madde değişimi

Filtrasyon işlem basamağının bira örneklerine olan etkisi incelendiğinde tüm örneklerde görülen ortak özellik Kieselguhr filtre işleminde toplam fenolik bileşimin azalmasıdır.

Dışarıdan aroma eklenen aromalı malt birası hariç tutulmak kaydı ile her bira örneğinde filtrasyon işleminin her basamağında fenolik maddeler bira bileşiminden çeşitli oranlarda ayrılmaktadır.

Filtrasyon işleminde toplam fenol miktarının azalması, Kieselguhr filtre ve PVPP filtre ile yapılan filtrasyon işleminde çözünmez formdaki PVPP-polifenol kompleksleri oluşturmak sureti ile veya bulanıklığa neden olan polifenollerin absorbe edilerek bira içeriğinden ayrılması şeklinde açıklanabilmektedir (Briggs vd. 2004, Collin vd. 2013).

Filtrasyon süresince toplam fenol miktarında en fazla oranda azalma, %28.07 ile aromalı malt birasında Kieselguhr filtrede görülmektedir. En düşük miktardaki azalma ise %0.55 ile düşük alkollü malt birasında Kieselguhr filtre basamağında görülmektedir. Filtrasyon işleminde toplam fenolik madde miktarında tek artış PVPP filtre basamağında ve çekme tankı çıkışında aromalı malt birasından alınan örneklerde gözlemlenmektedir. Bunun nedeni de PVPP filtre işleminin sonuna doğru biraya eklenmeye başlanan aroma bileşenlerinin fenolik içeriğe katkısının filtrenin azalttığı fenolik içerikten daha fazla miktarda olmasıdır.

Kieselguhr filtre, PVPP filtre ve trap filtre arasında fenoller üzerine en fazla etkiyi bira çeşidine bağlı olarak PVPP filtre göstermektedir. Yüksek alkollü bira ve aromalı malt birasında Kieselguhr filtre en fazla miktarda azalmaya neden olurken, diğer bira çeşitlerinde PVPP filtre en yüksek etkiyi göstermektedir. Trap-filtre ve dinlendirme basamağının ise fenolik içerikte diğer filtreler kadar etkisi bulunmamaktadır.

Klasik malt, %100 malt, yüksek alkollü malt, düşük alkollü malt, aromalı malt ve ithal malt biraları birbirleri ile karşılaştırıldıklarında filtrasyon prosesinde de, kaynatma prosesinde olduğu gibi proses sonunda en yüksek toplam fenolik madde miktarının yüksek alkollü malt birasında olduğu ve en düşük toplam fenolik madde miktarının da filtre başlangıcında aromalı malt birasında ve filtrasyon sonunda ise ithal malt birasında olduğu görülmektedir. Toplam fenol miktarında en fazla miktarda azalma ise toplamda

%28.41 ile ithal malt birasında; en düşük miktardaki azalma ise %8.30 ile yüksek alkollü malt birasında görülmektedir.

Fantozzi vd. (1998) yaptıkları çalışmalarında son filtre öncesinde aldıkları bira örneklerinde toplam fenol miktarını ortalama 396 mg/L, pastörizasyon öncesinde aldıkları örneklerinde ise 337 mg/L olarak belirlemiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar Fantozzi vd. (1998) elde ettikleri sonuçlar ile kıyaslandığında düşük alkollü, aromalı ve ithal bira örneklerinden elde edilen sonuçlar düşük bulunurken, diğer örneklerden elde edilen sonuçlar daha yakın bulunmaktadır. Ancak yapılan çalışmada da toplam fenol miktarında Fantozzi vd. (1998) çalışmasında görülen azalmaya benzer bir azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.21). İki çalışmada toplam fenolik madde miktarlarının farklı olmasının sebebinin çalışmalarda kullanılan örneklerin ekstrakt miktarlarının, proses koşullarının ve arpa çeşitleri gibi faktörlerin farklı olması olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.22 Pastörizasyon işlem basamağında bira örneklerinde toplam fenolik madde analiz sonuçları

|                            | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|----------------------------|----------------------|-----------------------|
| Klasik malt birası         | 320.462 ± 2.81 Ca    | 316.053 ± 2.10 Ca     |
| %100 malt birası           | 326.436 ± 2.11 Ba    | 328.457 ± 1.98 Ba     |
| Yüksek alkollü malt birası | 381.494 ± 1.25 Aa    | 379.742 ± 1.49 Aa     |
| Düşük alkollü malt birası  | 265.899 ± 1.02 Da    | 263.931 ± 2.55 Da     |
| Aromalı malt birası        | 227.170 ± 1.83 Ea    | 225.451 ± 1.64 Ea     |
| İthal malt birası          | 187.460 ± 1.13 Fa    | 185.585 ± 0.86 Fa     |

(n:4), Sonuçlar mg/L galik asit eşdeğeri olarak ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı sütündaki büyük harfler bira çeşitleri arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. (P < 0.05)

Pastörizasyon işleminin klasik malt birasında toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarları pastörizasyon girişinde 320.462 mg/L,

pastörizasyon çıkışında 316.053 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.22). Pastörizasyon işleminin klasik malt birası üzerine etkisi incelendiğinde toplam fenolik madde miktarında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemli değildir. Pastörizasyon işlemi klasik malt birasında % 1.37 oranında azalışa neden olmuştur.

Pastörizasyon işleminin %100 malt birasında toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarları pastörizasyon girişinde ve çıkışında sırasıyla 326.436 mg/L ve 328.457 mg/L olarak görülmektedir (Çizelge 4.22). %100 malt birası üzerindeki pastörizasyon etkisi incelendiğinde toplam fenolik madde miktarında gözlenen artış istatistiksel olarak önemli değildir. Pastörizasyon işlemi %100 malt birasında % 0.62 oranında artışa neden olmuştur.

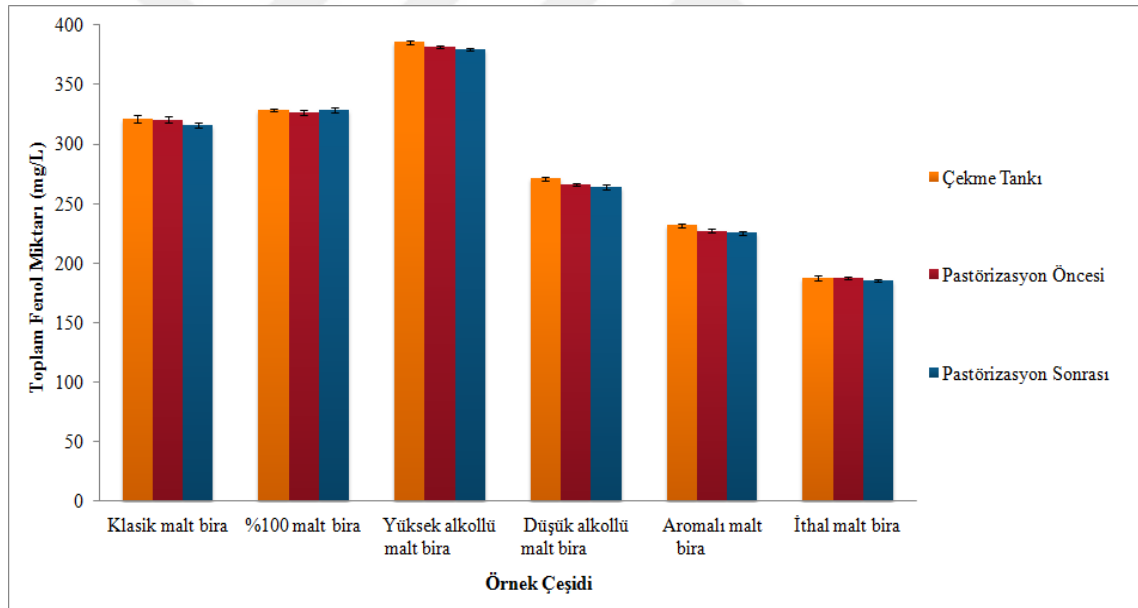
Yüksek alkollü malt birasında pastörizasyon işleminin toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarları pastörizasyon girişinde ve çıkışında sırasıyla 381.494 mg/L ve 379.742 mg/L olarak görülmektedir (Çizelge 4.22). Yüksek alkollü malt birası üzerindeki pastörizasyon etkisi incelendiğinde toplam fenolik madde miktarında gözlenen azalış istatistiksel olarak önemli değildir. Pastörizasyon işlemi yüksek alkollü malt birasında % 0.46 oranında azalmaya neden olmuştur.

Düşük alkollü malt birasında pastörizasyon işleminin toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarları pastörizasyon girişinde 265.899 mg/L ve pastörizasyon çıkışında 263.931mg/L olarak görülmektedir (Çizelge 4.22). Düşük alkollü malt birası üzerindeki pastörizasyon etkisi incelendiğinde toplam fenolik madde miktarında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemli değildir. Pastörizasyon işlemi düşük alkollü malt birasında % 0.74 oranında azalmaya neden olmuştur.

Pastörizasyon işleminin aromalı malt birasında toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarları pastörizasyon girişinde ve pastörizasyon çıkışında sırasıyla 227.170 mg/L ve 225.451 mg/L olarak belirlenmiştir

(Çizelge 4.22). Aromalı malt birası üzerinde pastörizasyon işleminin etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde pastörizasyon işlemi sırasında toplam fenolik madde miktarında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemsizdir. Pastörizasyon işlemi aromalı malt birasında % 0.76 oranında azalışa neden olmuştur.

İthal malt birasında pastörizasyon işleminin toplam fenolik madde üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam fenolik madde miktarları pastörizasyon girişinde ve çıkışında sırasıyla 187.460 mg/L ve 185.585 mg/L olarak görülmektedir (Çizelge 4.22). İthal malt birası üzerindeki pastörizasyon etkisi incelendiğinde toplam fenolik madde miktarında pastörizasyon işlemi sırasında gözlenen azalış istatistiksel olarak önemli değildir. Pastörizasyon işlemi yüksek alkollü malt birasında % 1.00 oranında azalmaya neden olmuştur.



Şekil 4.3 Bira örneklerinin pastörizasyon işlem basamağında toplam fenolik madde değişimi

Çekme tankı çıkışı ile pastörizasyon işlemi arasında gerçekleşen CO<sub>2</sub> ayarlama ve şişeleme aşamaları sırasında toplam fenolik madde miktarı çok fazla değişim göstermemektedir.

Pastörizasyon işlem basamağının bira örneklerine olan etkisi incelendiğinde, tüm örneklerde görülen ortak özellik pastörizasyon işlemi sırasında toplam fenolik madde miktarında istatistiksel olarak önem taşımayacak düzeyde azalma görülmesidir. Pastörizasyon işleminde gözlemlenen en yüksek orandaki azalma % 1.37 ile klasik malt birasında olurken pastörizasyondan en az etkilenen bira çeşidi ise %0.46 ile yüksek alkollü malt birasıdır.

Bira üretim prosesi sonunda çalışmada kullanılan tüm bira çeşitlerinin karşılaştırması yapıldığında en yüksek toplam fenolik madde miktarı 379.742 mg/L ile yüksek alkollü malt birasında olurken en düşük toplam fenolik madde miktarı ise 185.585 mg/L ile ithal malt birasında olmaktadır.

Fantozzi vd. (1998) yaptıkları çalışmalarında pastörizasyon işlemi öncesinde aldıkları bira örneklerinde toplam fenol miktarını ortalama 337 mg/L, pastörizasyon sonrasında aldıkları örneklerinde ise 322 mg/L olarak belirlemiştir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar, Fantozzi vd. (1998) elde ettikleri sonuçlar ile kıyaslandığında yüksek alkollü malt birası örneğinden elde edilen sonuç yüksek; düşük alkollü, aromalı ve ithal malt birası örneklerinden elde edilen sonuçlar düşük ve klasik malt birası ile %100 malt birası örneklerinden elde edilen sonuçlar yakın bulunmaktadır. Ancak yapılan çalışmada da toplam fenol miktarında Fantozzi vd. (1998) çalışmasında görülen azalmaya benzer bir azalma meydana gelmiştir.

Alkolsüz, klasik açık sarı renkli ve kavrulmuş malttan elde edilen koyu renkli biralarda içerdiği toplam fenol miktarları üzerine yapılan çalışmada koyu renkli biralarda 489 GAE,mg/L, açık renkli biralarda 380 GAE,mg/L ve alkolsüz biralarda ise 230 GAE,mg/L toplam fenolik madde bulunmuş ve çalışmada en fazla fenolik madde miktarı ve melanoidin içeriğinin koyu renkli biralarda en düşük miktarın ise alkolsüz bira örneklerinde bulunduğu belirtilmiştir (Rivero vd. 2005). Bira çeşitlerine göre yapılan bir başka çalışmada ise fenolik madde miktarlarına göre biralarda azdan çoğa doğru alkolsüz, lager tipi, pilsner tipi, buğday birası, ale tipi, abbey birası ve bock (siyah) birası şeklindedir. (Piazzon vd. 2010). Vinson vd. (2003) ise biralarda toplam

fenolik içeriklerine göre çoktan aza doğru ale tipi, lager tipi, düşük kalorili ve alkolsüz biralar şeklinde sıralamıştır. Koyu renkli ya da yüksek alkollü bira örneklerinde fenolik içeriğin daha fazla olmasının sebebi, düşük alkollü ya da alkolsüz biraların aksine yüksek ekstraktlı malthardan daha fazla yoğunluğa sahip olacak şekilde üretilmeleridir (Piazzon vd. 2010, Zhao 2014). Yapılan çalışmada da bira çeşitleri fenolik bileşen miktarlarına göre sıralandığında, elde edilen sıralama bahsedilen her üç çalışmada yapılan sıralamaya uygun olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada incelenen proses basamaklarının klasik malt birası, %100 malt birası, yüksek alkollü malt birası, düşük alkollü malt birası, aromalı malt birası ve ithal malt birası üzerindeki toplam fenolik madde miktarına olan etkisi toplu olarak EK 13-18’de görülmektedir.

Bu ekler incelendiğinde bira çeşitleri içerisinde toplam fenolik madde miktarının kaynatma başlangıç örneği ile pastörizasyon sonu örnekleri arasındaki değişimleri toplamda klasik malt birasında %26.26 azalma, %100 malt birasında %22.74 azalma, yüksek alkollü malt birasında %27.50 azalma, düşük alkollü malt birasında %41.28 azalma, aromalı malt birasında %38.52 azalma ve ithal malt birasında ise %44.86 azalma şeklindedir. Bu sonuçlara göre bira üretim prosesinden toplam fenolik madde miktarı açısından en fazla düzeyde etkilenen çeşit ithal malt birası olurken, en az etkilenen çeşit %100 malt birasıdır.

Fumi vd. (2011) yaptıkları çalışmalarında bütün bira üretim süreci boyunca toplam fenolik madde miktarında %54 oranında bir azalma gözlemlemiştir. Buna karşılık Fantozzi vd. (1998) bira üretim prosesi süresince fenolik içeriğin yaklaşık %28 oranında düştüğünü belirlemişlerdir. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar Fumi vd (2011) yaptıkları çalışmalarından elde ettikleri sonuçlardan daha düşük miktarda olmasına rağmen Fantozzi vd. (1998) çalışmalarından elde ettikleri sonuçlar ile neredeyse uyum içerisinde.

Zhao vd. (2013) yaptıkları çalışmalarında 40 farklı bira örneğinde toplam fenolik madde miktarını 84.64 – 238.33 mg GAE/L aralığında belirlerken bir başka çalışmalarında Zhao vd. (2010) lager tipi 34 farklı tüketime hazır bira örneklerinde toplam fenolik madde miktarlarının 152.01- 339.12 mg GAE /L aralığında olduğunu belirtmektedir.

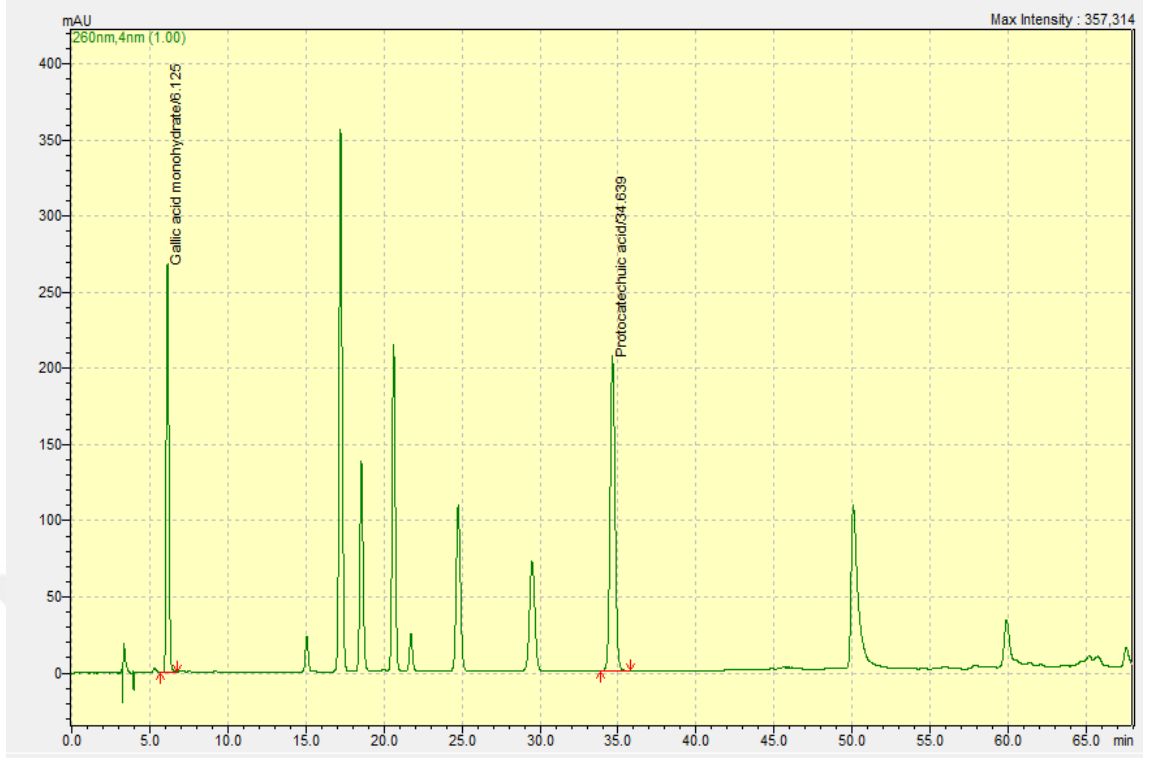
Granato vd. (2011) ise Brezilya’da üretilen ale ve lager tipi biralar üzerine yaptıkları çalışmalarında toplam fenolik içeriği 119.96-525.93 mg GAE/L olarak belirlerken, Gorinstein vd. (2000) bira örneklerinde yaptıkları çalışmada toplam fenolik madde miktarlarının 306.6- 383.6 mg GAE /L aralığında, Shahidi ve Naczki (1995) ise 60-100 GAE mg/L aralığında olduğunu belirtmiştir.

Çalışmadan elde edilen sonuçlar (pastörizasyon sonrası tüketime hazır bira örneklerinde toplam fenolik madde miktarı 185.585- 379.742 mg GAE /L aralığı) Shahidi ve Naczki (1995) çalışmasından yüksek olmakla birlikte bahsedilen diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmaktadır. Çalışmalar arasında gözlemlenen farklılıkların sebebinin kullanılan ham maddenin özelliklerinin ve üretim prosesinin farklılığı olduğu düşünülmektedir.

#### **4.3 Bazı Fenolik Bileşiklerin Dağılımının Tayini**

Bira içerisinde bulunan temel polifenolik bileşenler Dasgupta ve Klein (2014) tarafından ferulik asit, kateşin, kateşin gallat, epikateşin, epikateşin gallat, kafeik asit, gallik asit, vanilik asit, sinapik asit, 4-hidroksifenilasetik asit, 4-hidroksibenzoik asit, 2,6-dihidroksibenzoik asit, p-kumarik asit, şirincik asit, fenolik asit, kamferol, kuersetin ve ksantohumol olarak belirlenmiştir.

Çalışmada şıra ve bira örneklerinde flavanoller grubundan 2 adet ((+)-kateşin ve (-)-epikateşin), flavonollerden 1 adet (kuersetin), hidroksisünamik asitleri grubundan 3 adet (kafeik asit, ferulik asit ve p-kumarik asit) ve hidroksibenzoik asitler grubundan 4 adet (gallik asit, vanilik asit, şirincik asit ve protokateşik asit) olmak üzere 10 adet fenolik bileşik kantitatif olarak analiz edilmiştir.



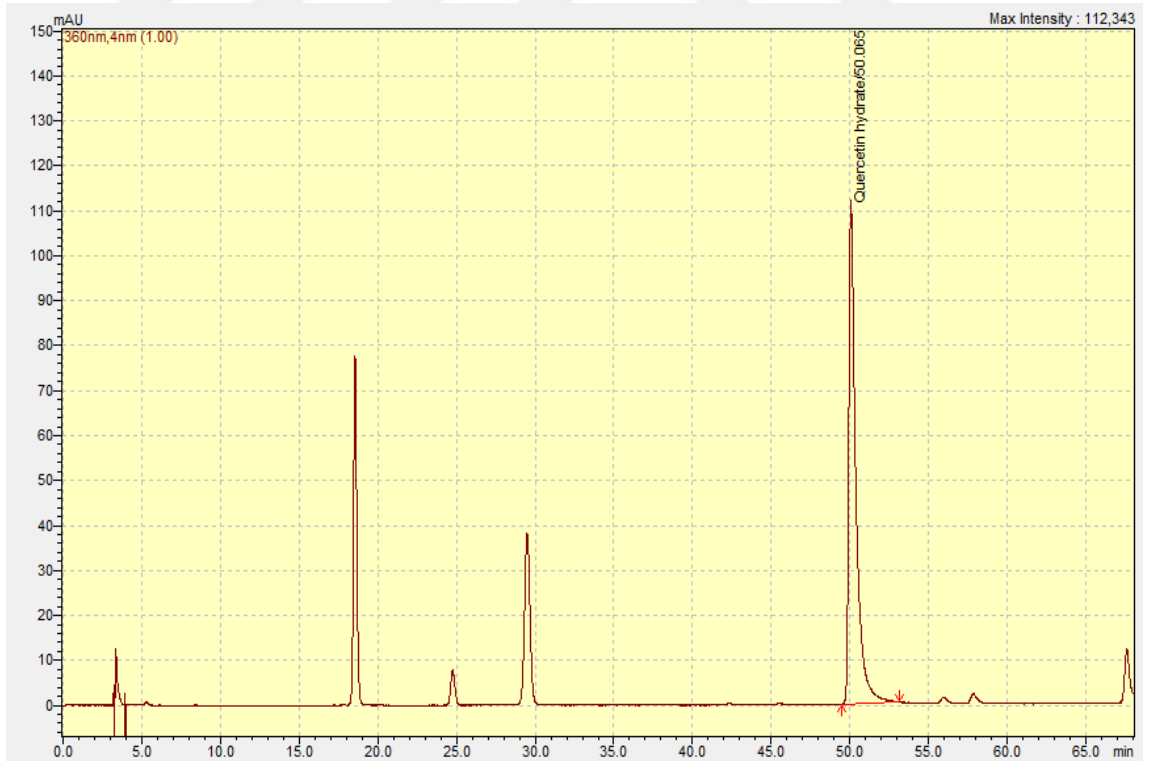
Şekil 4.4 Fenolik Standartların 260 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramı



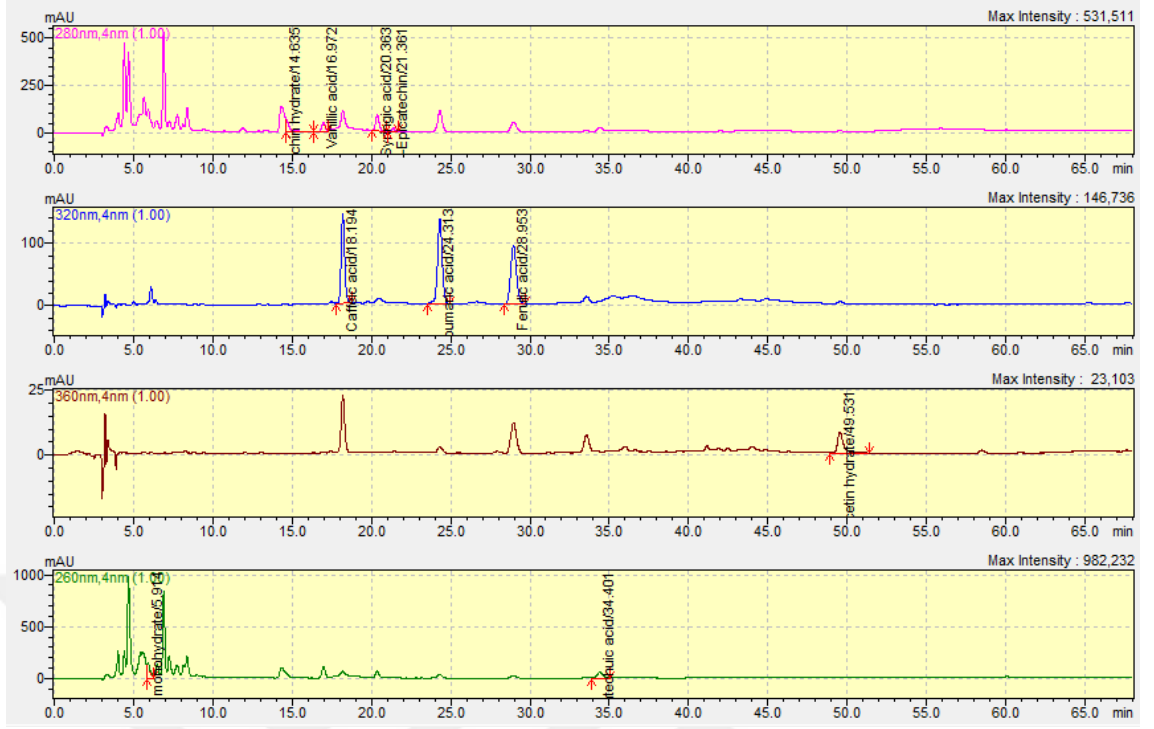
Şekil 4.5 Fenolik Standartların 280 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramı



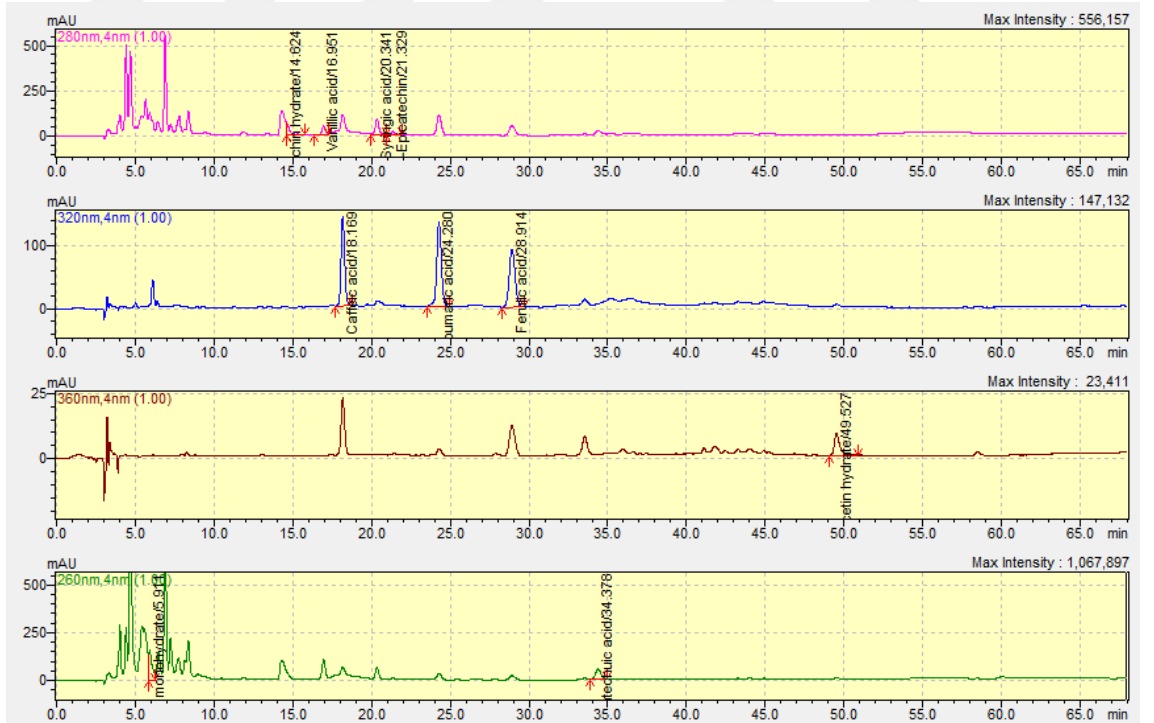
Şekil 4.6 Fenolik Standartların 320 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramı



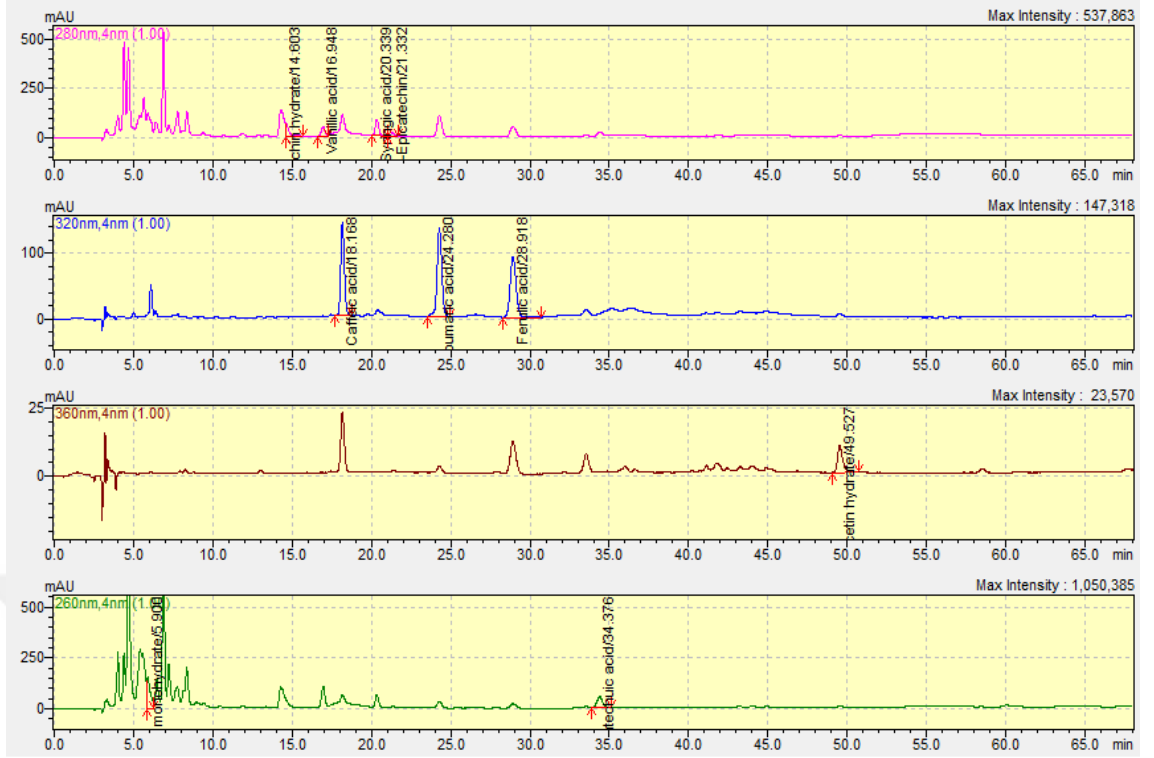
Şekil 4.7 Fenolik Standartların 360 nm dalga boyundaki HPLC kromatogramı



Şekil 4.8 %100 malt bira şirasının kaynatma başında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları



Şekil 4.9 %100 malt bira şirasının kaynatma sonunda 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları



Şekil 4.10 %100 malt bira şırasının soğutma basamağında 260, 280, 320 ve 360nm'deki HPLC kromatogramları

Leitao vd. (2011) yaptıkları çalışmalarında bira üretiminde kullanılan şıra örneklerinde mayşeleme, kaynatma ve fermantasyon aşamalarında fenolik madde dağılımlarını ve miktarlarını incelemişlerdir. Çalışmaları sonucunda kaynatma işlemi sırasında elde ettikleri kromatogramlarda şerbetçi otu kullanılmadan yapılan kaynatma işleminde kromatogramlarda çok fazla değişim gözlememişler ancak şerbetçi otu ekledikleri kaynatma işleminde analiz ettikleri piklerde artış ve 4 yeni pik oluşumu gözlemlemişlerdir.

Çalışmada kullanılan örneklerden %100 malt şırasının kromatogramlarına ait yukarıda görülen şekil 4.8 - 4.10 incelendiğinde; Leitao vd. (2011)'de yaptıkları çalışmadakine benzer artışlar kromatogram piklerinde gözlenmekte ancak elde edilen kromatogramlarda yeni pikler gözlenmemektedir. Bunun, Leitao vd. (2011) çalışmalarında ekstraksiyon yöntemleri kullanmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bira bileşiminde bulunan fenolik bileşenlerin yaklaşık %70 kadarı arpadan, %30 kadarı ise şerbetçi otundan kaynaklanmaktadır. Fenolik bileşikler bira içerisinde serbest ve bağlı formda olabildikleri gibi, hem serbest hem de bağlı formda da bulunabilmektedirler. Fenolikler, bitkilerde serbest halde çok nadir olarak bulunmakta ve genellikle ester, glikozit veya bağlı kompleksler halinde bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerden fenolik asitler genellikle monomer formda bulunmaktadır. Ferulik asit, kafeik asit, şirincik asit, sinapik asit ve vanilik asit ağırlıklı olarak bira içerisinde bağlı halde; p-kumarik asit ve 4- hidroksifenilasetik asit hem bağlı hem de serbest formda bulunabilmektedir (McMurrough vd. 1984, Montanari vd. 1999, Goupy vd. 1999, Floridi vd. 2003, Nardini ve Ghiselli 2004, Gerhäuser ve Becker 2009, Piazzon vd. 2010).

Bira üretim prosesinin polifenollere etkisini inceleyen Fumi vd. (2011) kaynatma işlemi sırasında sadece malt kullanılarak üretilen biralarda, flavonoidlerde ve tanenlerde artış gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.23 Kaynatma işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi

|                   | Kaynatma başı    | Kaynatma Sonu    | Soğutma           |
|-------------------|------------------|------------------|-------------------|
| Gallik Asit       | 2.6867 ± 0.013 c | 3.1699 ± 0.089 b | 3.4593 ± 0.099 a  |
| (+)-kateşin       | 4.2684 ± 0.026 c | 4.4613 ± 0.056 b | 4.6348 ± 0.025 a  |
| Vanilik Asit      | 0.5573 ± 0.019 a | 0.6036 ± 0.057 a | 0.5411 ± 0.025 a  |
| Kafeik Asit       | 0.8163 ± 0.021 b | 1.0451 ± 0.036 a | 1.0370 ± 0.018 a  |
| Şirincik Asit     | 2.4674 ± 0.035 b | 2.7118 ± 0.065 a | 2.8060 ± 0.034 a  |
| (-)- epikateşin   | 1.7471 ± 0.039 b | 2.1140 ± 0.069 a | 2.1779 ± 0.056 a  |
| p-kumaric Asit    | 1.3564 ± 0.060 a | 1.4305 ± 0.045 a | 1.4552 ± 0.088 a  |
| Ferulik Asit      | 1.7943 ± 0.014 b | 2.0260 ± 0.021 a | 1.9904 ± 0.034 a  |
| Protokateşik Asit | 1.6928 ± 0.018 b | 1.8755 ± 0.034 a | 1.8572 ± 0.053 a  |
| Kuersetin         | 0.2604 ± 0.007 c | 0.2868 ± 0.002 b | 0.3027 ± 0.005 a  |
| Gallik Asit       | 2.5456 ± 0.041 c | 3.1447 ± 0.016 b | 3.4664 ± 0.085 a  |
| (+)-kateşin       | 3.2726 ± 0.054 c | 4.4406 ± 0.067 b | 4.8912 ± 0.026 a  |
| Vanilik Asit      | 0.5056 ± 0.064 b | 0.5855 ± 0.009 b | 0.7380 ± 0.069 a  |
| Kafeik Asit       | 0.7173 ± 0.069 a | 0.7409 ± 0.065 a | 0.7442 ± 0.012 a  |
| Şirincik Asit     | 1.7091 ± 0.093 a | 1.8047 ± 0.095 a | 1.8012 ± 0.076 a  |
| (-)- epikateşin   | 3.1945 ± 0.058 a | 2.4796 ± 0.132 b | 2.3773 ± 0.099 b  |
| p-kumaric Asit    | 1.2281 ± 0.068 a | 1.1709 ± 0.021 a | 1.2420 ± 0.057 a  |
| Ferulik Asit      | 1.3937 ± 0.079 b | 1.4856 ± 0.058 a | 1.4374 ± 0.094 a  |
| Protokateşik Asit | 2.0736 ± 0.079 a | 1.8979 ± 0.021 b | 2.0158 ± 0.069 ab |
| Kuersetin         | 0.2561 ± 0.005 c | 0.2717 ± 0.007 b | 0.2906 ± 0.005 a  |
| Gallik Asit       | 4.1857 ± 0.037 c | 4.7671 ± 0.098 b | 5.2227 ± 0.061 a  |
| (+)-kateşin       | 4.6784 ± 0.073 c | 4.8266 ± 0.020 b | 5.6640 ± 0.048 a  |
| Vanilik Asit      | 0.4597 ± 0.022 c | 0.6323 ± 0.059 b | 1.2703 ± 0.083 a  |
| Kafeik Asit       | 0.7821 ± 0.017 b | 1.2526 ± 0.014 a | 1.2463 ± 0.030 a  |
| Şirincik Asit     | 2.6578 ± 0.012 a | 2.4754 ± 0.071 b | 2.4456 ± 0.032 b  |
| (-)- epikateşin   | 2.0589 ± 0.066 c | 2.2832 ± 0.012 b | 2.6285 ± 0.060 a  |
| p-kumaric Asit    | 1.4963 ± 0.024 b | 1.8711 ± 0.027 a | 1.9361 ± 0.048 a  |
| Ferulik Asit      | 2.8084 ± 0.026 a | 2.8123 ± 0.038 a | 2.8296 ± 0.079 a  |
| Protokateşik Asit | 3.3255 ± 0.046 a | 3.1027 ± 0.012 b | 3.4730 ± 0.096 a  |
| Kuersetin         | 0.2765 ± 0.001 c | 0.3079 ± 0.005 b | 0.3347 ± 0.011 a  |

(n:4), Sonuçlar mg/L cinsinden verilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler Tukey ikili karşılaştırma testine göre proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.23 Devam Kaynatma işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi (devam)

|                   |                               | Kaynatma başı    | Kaynatma Sonu     | Soğutma           |
|-------------------|-------------------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| Gallik Asit       | Düşük alkollü malt biraşırası | 3.2909 ± 0.016 c | 4.1276 ± 0.088 b  | 4.6586 ± 0.057 a  |
| (+)-kateşin       |                               | 4.1842 ± 0.084 b | 4.3508 ± 0.124 b  | 4.6936 ± 0.143 a  |
| Vanilik Asit      |                               | 0.5515 ± 0.057 b | 0.7306 ± 0.095 ab | 0.7641 ± 0.066 a  |
| Kafeik Asit       |                               | 0.3607 ± 0.064 c | 0.7840 ± 0.022 b  | 0.9927 ± 0.074 a  |
| Şirincik Asit     |                               | 2.7021 ± 0.027 c | 3.1791 ± 0.069 b  | 3.4413 ± 0.037 a  |
| (-)- epikateşin   |                               | 2.2385 ± 0.015 b | 2.6257 ± 0.016 a  | 2.6129 ± 0.055 a  |
| p-kumaric Asit    |                               | 2.4526 ± 0.057 a | 2.5183 ± 0.049 a  | 2.4923 ± 0.022 a  |
| Ferulik Asit      |                               | 1.3638 ± 0.048 a | 1.4467 ± 0.076 a  | 1.4732 ± 0.069 a  |
| Protokateşik Asit |                               | 2.1078 ± 0.061 a | 2.2396 ± 0.079 a  | 2.2027 ± 0.029 a  |
| Kuersetin         |                               | 0.2913 ± 0.006 c | 0.3287 ± 0.007 b  | 0.3505 ± 0.002 a  |
| Gallik Asit       | Aromalı malt bira şırası      | 2.6207 ± 0.043 b | 3.1696 ± 0.087 a  | 3.1807 ± 0.021 a  |
| (+)-kateşin       |                               | 3.7659 ± 0.089 b | 4.7729 ± 0.065 a  | 4.7634 ± 0.052 a  |
| Vanilik Asit      |                               | 0.8233 ± 0.070 b | 1.0541 ± 0.066 a  | 1.0419 ± 0.092 a  |
| Kafeik Asit       |                               | 0.5272 ± 0.056 a | 0.5481 ± 0.089 a  | 0.5146 ± 0.063 a  |
| Şirincik Asit     |                               | 2.3048 ± 0.081 b | 2.5541 ± 0.093 a  | 2.5103 ± 0.068 a  |
| (-)- epikateşin   |                               | 1.7727 ± 0.035 b | 2.1066 ± 0.097 a  | 2.1949 ± 0.038 a  |
| p-kumaric Asit    |                               | 1.6743 ± 0.059 a | 1.7390 ± 0.099 a  | 1.7689 ± 0.063 a  |
| Ferulik Asit      |                               | 2.6969 ± 0.034 a | 2.7954 ± 0.072 a  | 2.7781 ± 0.021 a  |
| Protokateşik Asit |                               | 1.7101 ± 0.071 b | 1.9719 ± 0.086 a  | 1.9067 ± 0.017 a  |
| Kuersetin         |                               | 0.2633 ± 0.007 b | 0.2999 ± 0.008 a  | 0.2860 ± 0.012 ab |
| Gallik Asit       | İthal malt bira şırası        | 4.1391 ± 0.063 c | 4.4069 ± 0.074 b  | 4.6990 ± 0.056 a  |
| (+)-kateşin       |                               | 4.6961 ± 0.020 c | 5.2409 ± 0.126 b  | 5.5170 ± 0.108 a  |
| Vanilik Asit      |                               | 0.7637 ± 0.011 a | 0.8497 ± 0.099 a  | 0.8732 ± 0.068 a  |
| Kafeik Asit       |                               | 0.4363 ± 0.019 c | 0.5804 ± 0.080 b  | 0.7559 ± 0.012 a  |
| Şirincik Asit     |                               | 0.7274 ± 0.061 a | 0.8069 ± 0.057 a  | 0.8232 ± 0.039 a  |
| (-)- epikateşin   |                               | 0.7177 ± 0.016 b | 1.1141 ± 0.081 a  | 1.1651 ± 0.095 a  |
| p-kumaric Asit    |                               | 0.7271 ± 0.014 a | 0.8142 ± 0.072 a  | 0.8324 ± 0.024 a  |
| Ferulik Asit      |                               | 3.1599 ± 0.058 b | 3.3938 ± 0.096 a  | 3.3365 ± 0.082 a  |
| Protokateşik Asit |                               | 1.6889 ± 0.024 c | 2.0807 ± 0.048 b  | 2.2594 ± 0.012 a  |
| Kuersetin         |                               | 0.2799 ± 0.009 b | 0.2904 ± 0.006 ab | 0.3056 ± 0.007 a  |

(n:4), Sonuçlar mg/L cinsinden verilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler Tukey ikili karşılaştırma testine göre proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P < 0.05$ ).

Çizelge 4.23 incelendiğinde kaynatma proses aşamalarında, kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma sonundaki gallik asit miktarları sırasıyla klasik malt bira sırasında 2.6867 mg/L, 3.1699 mg/L ve 3.4593 mg/L ; %100 malt bira sırasında 2.5456 mg/L, 3.1447 mg/L ve 3.4664 mg/L, yüksek alkollü malt bira sırasında 4.1857 mg/L, 4.7671 mg/L ve 5.2227 mg/L, düşük alkollü malt bira sırasında 3.2909 mg/L, 4.1276 mg/L ve 4.6586 mg/L, aromalı malt bira sırasında 2.6207 mg/L, 3.1696 mg/L ve 3.1807mg/L ve ithal malt birasında 4.1391 mg/L, 4.4069 mg/L ve 4.6990 mg/L olarak belirlenmiştir.

Shahidi ve Naczk (1995) kaynatma işlemi uygulanmamış şiralarda gallik asit miktarını 0.1 mg /L olarak belirlerken; Floridi vd. (2003) yaptıkları çalışmada şiralarda gallik asit miktarını ortalama 0.703 mg/L olarak belirlemiştir. Çalışmada kullanılan örneklere ait değerler Shahidi ve Naczk (1995) ve Floridi vd. (2003) yaptıkları çalışmalardan elde ettikleri değerlerden daha yüksek bulunmaktadır.

Çalışmada kullanılan örnekler içerisinde en fazla miktarda gallik asit içeren örnek kaynatma işlemi süresince yüksek alkollü malt bira sırasında, en az miktarda gallik asit aromalı malt bira sırasında görülmektedir. Kaynatma prosesi sırasında hiçbir örnekte gallik asit miktarında azalma görülmezken, en fazla artış düşük alkollü malt bira sırasında gözlenmiştir. Bira örneklerinde kaynatma işlemi ve soğutma işleminin gallik asit üzerine olan etkisi incelendiğinde aromalı malt bira sırası hariç, çalışmada kullanılan diğer tüm örneklerde her iki işlem de istatistiksel olarak önemli ölçüde fark yaratmaktadır. Aromalı malt birasında ise kaynatma işlemi istatistiksel olarak önemli bir artışa neden olurken, soğutma işlemi önemli bir fark yaratmamaktadır.

Kaynatma proses aşamalarında, kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma sonundaki (+)-kateşin miktarları sırasıyla klasik malt bira sırasında 4.2684 mg/L, 4.4613 mg/L ve 4.6348 mg/L ; %100 malt bira sırasında 3.2726 mg/L, 4.4406 mg/L ve 4.8912 mg/L, yüksek alkollü malt bira sırasında 4.6784 mg/L, 4.8266 mg/L ve 5.6640 mg/L, düşük alkollü malt bira sırasında 4.1842 mg/L, 4.3508 mg/L ve 4.6936 mg/L, aromalı malt bira sırasında 3.7659 mg/L, 4.7729 mg/L ve 4.7634 mg/L ve ithal malt

bira sırasında 4.6961 mg/L, 5.2409 mg/L ve 5.5170 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

Çalışmada kullanılan örnekler içerisinde soğutma işlemi sonunda en fazla miktarda (+)-kateşin içeren örnek %100 malt bira sırasında, soğutma işlemi sonunda en az miktarda (+)-kateşin düşük alkollü malt bira sırasında görülmektedir. Kaynatma prosesi sırasında (+)-kateşin miktarında en fazla artış %100 malt bira sırasında olurken, her bir örnekte farklı miktarlarda artış gözlenmiştir. Bira sırası örneklerinde kaynatma işlemi ve soğutma işleminin (+)-kateşin üzerine olan etkisi incelendiğinde düşük alkollü malt bira sırası ve aromalı malt bira sırası hariç çalışmada kullanılan diğer tüm örneklerde her iki işlem süresince (+)-kateşin miktarında meydana gelen artışlar istatistiksel olarak önemlidir. Düşük alkollü malt bira sırası örneğinde kaynatma işlemi istatistiksel açıdan önemli bir fark yaratmazken, aromalı malt bira sırası örneğinde soğutma sırasında görülen azalmanın istatistiksel olarak bir önemi bulunmamaktadır.

Şirincik asit üzerine kaynatma proses basamaklarının etkisi incelendiğinde kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma sonundaki miktarları sırasıyla klasik malt bira sırasında 2.4674 mg/L, 2.7118 mg/L ve 2.8060 mg/L ; %100 malt bira sırasında 1.7091mg/L, 1.8047 mg/L ve 1.8012 mg/L, yüksek alkollü malt bira sırasında 2.6578mg/L, 2.4754 mg/L ve 2.4456 mg/L, düşük alkollü malt bira sırasında 2.7021 mg/L, 3.1791 mg/L ve 3.4413 mg/L, aromalı malt bira sırasında 2.3048 mg/L, 2.5541 mg/L ve 2.5103mg/L ve ithal malt bira sırasında 0.7274 mg/L, 0.8069 mg/L ve 0.8232 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

Shahidi ve Naczk (1995) kaynatma işlemi uygulanmamış şiralarda şirincik asit miktarını 0.6 mg /L olarak belirlerken; Floridi vd. (2003) yaptıkları çalışmada şiralarda şirincik asit miktarını ortalama 0.209 mg/L olarak belirlemiştir. Çalışmada kullanılan örneklerle ait değerler Floridi vd. (2003) ve Shahidi ve Naczk (1995) 'ın yaptıkları çalışmalardan elde ettikleri değerden yüksek bulunmaktadır.

Szwajgier ve Bancarzewska (2011) yaptıkları çalışmalarında şıra örneklerinde kaynatma başlangıcında ekstrakte edilebilir toplam alkali şirincik asit miktarını 1.47- 2.83 mg/L ve kaynatma sonunda ise 1.56-3.59 mg/L arasında belirlemiştir. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar Szwajgier ve Bancarzewska (2011) yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçlar ile uyumludur.

Çalışmada kullanılan örnekler içerisinde soğutma işlemi sonunda en fazla miktarda şirincik asit içeren örnek düşük alkollü malt bira şırasıyken, soğutma işlemi sonunda en az miktarda şirincik asit ithal malt bira şırasında görülmektedir. Kaynatma prosesi sırasında şirincik miktarında en fazla artış düşük alkollü malt bira şırasında gözlenirken proses süresince şirincik asit miktarındaki tek azalma ise yüksek alkollü malt bira şırasında gözlenmiştir. Kaynatma ve soğutma işlemlerinin şirincik asit üzerine olan etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde %100 malt bira şırası ve ithal malt bira şırası örneklerinde istatistiksel olarak önemli bir etki görülmezken klasik malt bira şırası, yüksek alkollü malt bira şırası ve aromalı malt bira şırası örneklerinde soğutma işlemi istatistiksel olarak önemli bir fark yaratmazken kaynatma işlemi sırasında meydana gelen değişimler önem taşımaktadır. Düşük alkollü malt bira şırası örneğinde hem kaynatma hem de soğutma prosesinde görülen artış istatistiksel olarak önemlidir.

Kaynatma proses aşamalarında (-)-epikateşin miktarları kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma sonundaki miktarları sırasıyla klasik malt bira şırasında 1.7471 mg/L, 2.1140 mg/L ve 2.1779 mg/L ; %100 malt bira şırasında 3.1945 mg/L, 2.4796 mg/L ve 2.3773 mg/L, yüksek alkollü malt bira şırasında 2.0589 mg/L, 2.2832 mg/L ve 2.6285 mg/L, düşük alkollü malt bira şırasında 2.2385 mg/L, 2.6257 mg/L ve 2.6129 mg/L, aromalı malt bira şırasında 1.7727 mg/L, 2.1066 mg/L ve 2.1949 mg/L ve ithal malt bira şırasında 0.7177 mg/L, 1.1141 mg/L ve 1.1651 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

Çalışmada kullanılan örnekler içerisinde soğutma işlemi sonunda en fazla miktarda (-)-epikateşin içeren örnek yüksek alkollü malt bira şırasıyken, soğutma işlemi sonunda en az miktarda (-)-epikateşin ithal malt bira şırasında görülmektedir. Kaynatma prosesi

sırasında (-)-epikateşin miktarında en fazla artış yüksek alkollü malt bira sırasında gözlenirken, kaynatma prosesi sırasında tek azalma %100 malt bira sırasında gözlenmiştir. Bira örneklerinde kaynatma işlemi ve soğutma işleminin (-)-epikateşin üzerine olan etkisi incelendiğinde yüksek alkollü malt bira sırası hariç çalışmada kullanılan diğer tüm örneklerde soğutma işlem süresince (-)-epikateşin miktarında meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemli olmamakta ancak kaynatma işlemi sırasındaki değişimler önemli farka neden olmaktadır. Yüksek alkollü malt bira sırası örneğinde ise hem kaynatma işlemi hem de soğutma işlemi istatistiksel açıdan önemli bir fark yaratmaktadır.

Ferulik asit miktarı çalışmada incelenen örneklerde kaynatma başlangıcında 1.3638-3.1599 mg/L, p-kumarik asit ise 0.7271-2.4526 mg/L aralığında; kaynatma sonunda ferulik asit 1.4467-3.3938 mg/L, p- kumarik asit 0.8142-2.5183 mg/L aralığında ve soğutma sonunda ise ferulik asit 1.4374-3.3365 mg/L ve p-kumarik asit ise 0.8324-2.4923 mg/L aralığında değişmektedir (Çizelge 4.23).

Shahidi ve Naczk (1995) kaynatma işlemi uygulanmamış şıralarda ferulik asit miktarını 1.3 mg /L olarak belirlerken Floridi vd. (2003) yaptıkları çalışmada şıralarda ferulik asit miktarını ortalama 3.782 mg/L olarak belirlemiştir. Çalışmada kullanılan örneklere ait değerler Shahidi ve Naczk (1995) 'in elde ettikleri sonuçlar ile uyum gösterirken, Floridi vd. (2003) yaptıkları çalışmadan elde ettikleri değerden düşük bulunmaktadır.

Ferulik asidin kaynatma prosesi süresince en fazla miktarda bulunduğu örnek ithal malt bira sırası olurken, p-kumarik asit en fazla düşük alkollü malt bira sırasında bulunmaktadır. Ferulik asidin en az miktarda olduğu örnekler ise neredeyse aynı miktarda ferulik asit içeriği ile düşük alkollü malt bira sırası ve %100 malt bira sırasıyken, p-kumarik asidin en düşük miktarda olduğu irnek ithal malt bira sırasıdır. Ferulik asit ve p-kumarik asit üzerine kaynatma ve soğutma işlemlerinin etkisi incelendiğinde her iki fenolik bileşen de istatistiksel olarak soğutma işleminden etkilenmemekte ve kaynatma işleminden sadece ferulik asit miktarındaki değişim klasik malt, %100 malt ve ithal malt bira şıralarında önemliyen, kaynatma işlemi sırasında p-

kumarik asit miktarında yüksek alkollü malt bira sırasında meydana gelen artış istatistiksel olarak önem taşımaktadır. Bu iki fenolik madde de diğer örneklerde kaynatma işleminin de bir etkisi bulunmamaktadır.

Protokateşik asit üzerine kaynatma proses basamaklarının etkisi incelendiğinde kaynatma başında, kaynatma sonunda ve soğutma sonundaki miktarları sırasıyla klasik malt bira sırasında 1.6928 mg/L, 1.8755 mg/L ve 1.8572 mg/L ; %100 malt bira sırasında 2.0736 mg/L, 1.8979 mg/L ve 2.0158 mg/L, yüksek alkollü malt bira sırasında 3.3255 mg/L, 3.1027 mg/L ve 3.4730 mg/L, düşük alkollü malt bira sırasında 2.1078 mg/L, 2.2396 mg/L ve 2.2027 mg/L, aromalı malt bira sırasında 1.7101 mg/L, 1.9719 mg/L ve 1.9067 mg/L ve ithal malt bira sırasında 1.6889 mg/L, 2.0807 mg/L ve 2.2594 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

Shahidi ve Naczk (1995) kaynatma işlemi uygulanmamış şıralarda protokateşik asit miktarını 0.5 mg /L olarak belirlerken, Floridi vd. (2003) yaptıkları çalışmada şıralarda protokateşik asit miktarını ortalama 0.420 mg/L olarak belirlemiştir. Szwajgier ve Bancarzewska (2011) yaptıkları çalışmalarında şıra örneklerinde kaynatma başlangıcında ekstrakte edilebilir toplam alkali protokateşik asit miktarlarını 0.42-0.52 mg/L ve kaynatma sonunda ekstrakte edilebilir toplam protokateşik asit miktarlarını 0.38-0.68 mg/L arasında belirlemiştir.

Çalışmada kullanılan örnekler ait sonuçlar Shahidi ve Naczk (1995), Floridi vd. (2003) ve Szwajgier ve Bancarzewska (2011) yaptıkları çalışmalardan elde ettikleri değerden yüksek bulunmaktadır.

Çalışmada kullanılan örnekler içerisinde kaynatma ve soğutma işlemleri sonunda en fazla miktarda protokateşik asit içeren örnek yüksek alkollü malt bira sırasında, soğutma işlemi sonunda en az miktarda protokateşik asit klasik malt bira sırasında görülmektedir. Kaynatma prosesi sırasında protokateşik miktarında en fazla artış yüksek alkollü malt bira sırasında gözlenirken proses süresince protokateşik asit miktarındaki tek azalma ise %100 malt bira sırasında gözlenmiştir. Kaynatma ve soğutma

işlemlerinin protokateşik asit üzerine olan etkisi incelendiğinde; düşük alkollü malt bira sırası hariç tüm örneklerde kaynatma işlemi sırasında protokateşik asit miktarında meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemli olmaktadır. Yüksek alkollü ve ithal malt bira sırası örnekleri hariç tutulduğunda ise soğutma işleminin protokateşik asit miktarına istatistiksel olarak önemli bir etkisi bulunmamaktadır.

Kuersetin tüm bira örneklerinde kaynatma işlemi başlangıcında en düşük miktarda bulunan fenolik bileşen olup kaynatma başlangıcında örneklerde 0.2561-0.2913 mg/L aralığında, kaynatma sonunda 0.2868-0.3287 mg/L aralığında ve soğutma sonunda ise 0.2860-0.3505 mg/L aralığında bulunmaktadır. Kaynatma işlemi başlangıcında en fazla miktarda kuersetin düşük alkollü malt bira sırası örneğinde en az miktarda ise %100 malt bira sırası örneğinde bulunurken soğutma sonunda en fazla kuersetin yine düşük alkollü malt bira sırası örneğinde en az miktar ise aromalı malt bira sırası örneğinde görülmektedir. Kaynatma prosesi sırasında kuersetin miktarında en fazla değişim düşük alkollü ve yüksek alkollü malt bira sıralarında görülmüştür (Çizelge 4.23). Her ne kadar kuersetin kaynatma ve soğutma işlemi sırasında en az miktarda değişim gösteren fenolik olsa da klasik malt, %100 malt, yüksek alkollü ve düşük alkollü malt bira sıralarında kuersetin miktarında hem kaynatma işleminde hem de soğutma işleminde meydana gelen artışlar istatistiksel olarak önem taşımaktadır.

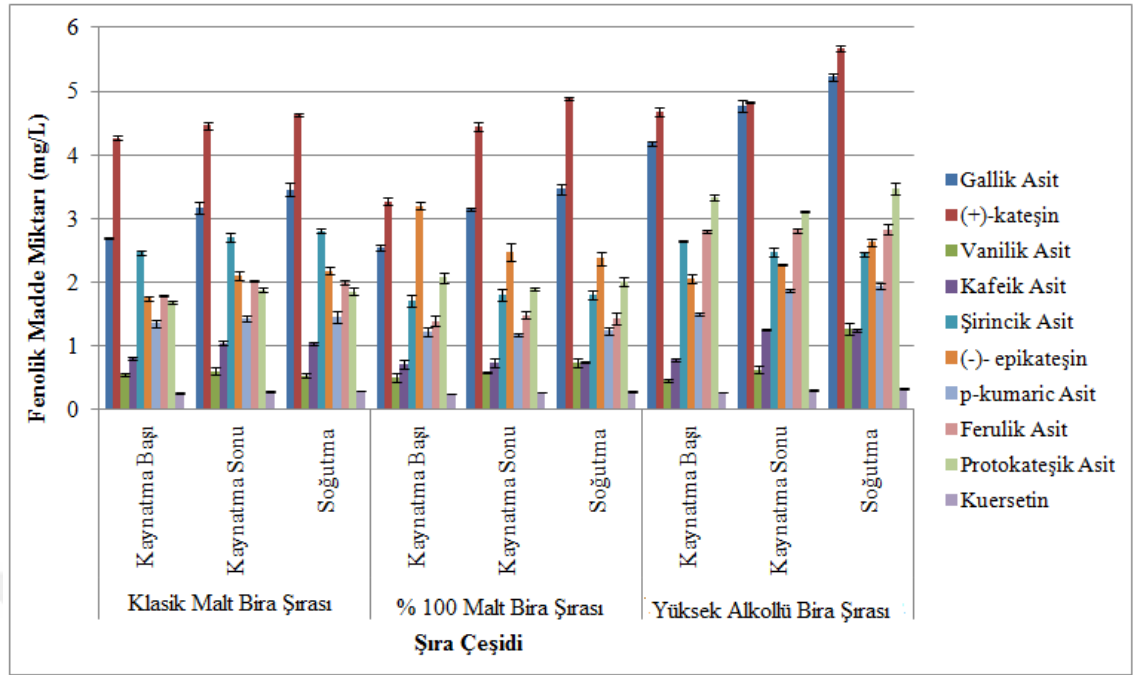
McMurrough vd. (1984) yaptıkları çalışma sırasında şerbetçi otu ile kaynatmanın fenolik bileşikler ve özellikle p-kumarik asit ve 4-hidroksibenzoik asit üzerinde arttırıcı etkisi olduğunu belirtmiştir. Çalışmaları sırasında p-kumarik asit miktarları kaynatma öncesinde ortalama 0.6 mg/L; fermantasyon işlemi sonrasında 1.7 mg/L'ye yükselmiştir.

Shahidi ve Nacz (1995) kaynatma işlemi uygulanmamış şiralarda vanilik asit miktarını 1.4 mg /L, kafeik asit miktarını 0.1 mg /L ve p-kumarik asit miktarını ise 0.6 mg /L olarak belirlemiştir.

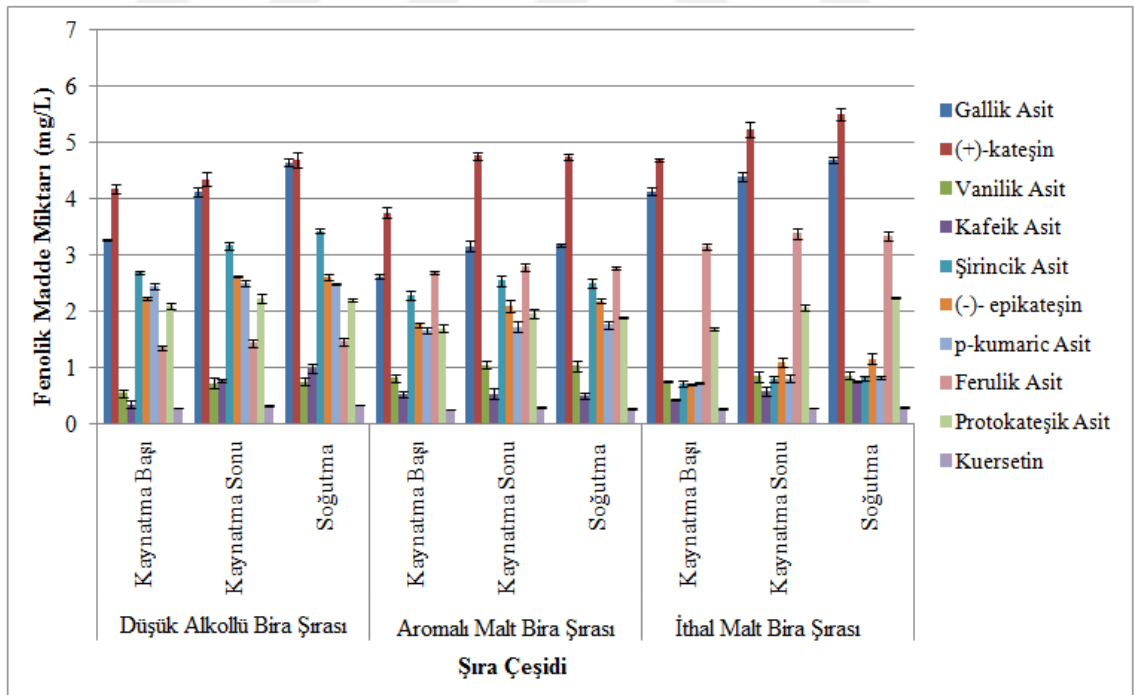
Floridi vd. (2003) yaptıkları çalışmada şıralarda vanilik asit ve kafeik asit miktarını sırasıyla ortalama 0.643 mg/L ve 0.563 mg/L olarak belirlemiştir. Szwajgier ve Bancarzewska (2011) yaptıkları çalışmalarında şıra örneklerinde kaynatma başlangıcında ekstrakte edilebilir toplam alkali p-kumarik asit ve kafeik asit miktarlarını sırasıyla 23.59-39.54 mg/L ve 3.13-21.15 mg/L arasında belirlemiştir. Aynı çalışmada kaynatma sonunda ekstrakte edilebilir toplam alkali p-kumarik asit ve kafeik asit miktarlarını ise 28.56-44.98 mg/L ve 3.23- 24.27 mg/L arasında belirlemiştir.

Yapılan çalışmadan elde edilen vanilik asite ait sonuçlar Shahidi ve Naczk (1995) çalışmasındaki sonuçlardan düşük olmasına rağmen, Floridi vd. (2003) çalışması ile uyumlu olurken; kafeik asite ait sonuçlar bahsedilen çalışmalar ile uyum göstermemektedir. Çalışmada p-kumarik asit için belirlenen sonuçlar ise McMurrough vd. (1984)'ün kaynatma öncesi için buldukları sonuçlardan ve Shahidi ve Naczk (1995)'in sonuçlarından çok daha yüksek olmasına rağmen; Szwajgier ve Bancarzewska (2011) yaptıkları çalışmalarından elde ettikleri sonuçların ise çok altında değerlerdedir.

Yapılan çalışmada elde edilen sonuçların McMurrough vd. (1984) ile Szwajgier ve Bancarzewska (2011) çalışmalarındaki gibi kaynatma süresince artış göstermesine rağmen, kıyaslama yapılan çalışmalar ile uyumlu olmamasının sebebinin kullanılan ham maddenin farklılığı, malt elde etme ve üretim prosesindeki farklılıklar ve üretilen çeşitlerin farklılığı olabileceği gibi örneklere ekstraksiyon ve saflaştırma işlemi yapılmamış olmasının da neden olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.11 Klasik, %100 ve yüksek alkollü malt bira şırası örnekleri için kaynatma işlem basamaklarında fenolik madde dağılımı



Şekil 4.12 Düşük alkollü, aromalı ve ithal malt bira şırası örnekleri için kaynatma işlem basamaklarında fenolik madde dağılımı

Kaynatma işlemi sırasında fenolik bileşikler polimerizasyona uğrayarak polifenolleri oluşturmaktadır. Genel olarak monomerik fenolikler bira içerisindeki toplam fenolik içeriğin %10-20 kadarını oluşturmaktadır (Shahidi ve Nacz 1995).

Kaynatma işlemi tüm aşamalarıyla incelendiğinde genel olarak şıra örneklerinde en fazla miktarda bulunan fenolik bileşik (+)-kateşindir. (+)- kateşinin ardından gallik asit, şirincik asit, (-)-epikateşin, protokateşik asit ve ferulik asit de şıra örneklerinde kaynatma basamağında yoğun olarak bulunan fenolik bileşenlerdir. Fenolik içerikte en fazla değişime kaynatma işlemi neden olurken soğutma işlemi baskın olan fenoller hariç tutulursa çok büyük değişikliklere neden olmamaktadır.

Genel olarak şıra örneklerindeki fenolik bileşen dağılımı incelendiğinde ise klasik malt bira sırasında kaynatma başlangıcında en yoğun fenolik bileşen (+)- kateşin olurken gallik asit ve şirincik asit de diğer fenollere kıyasla yüksek miktarda bulunmaktadır. Kaynatma ve soğutma işlemlerinin sonunda en fazla miktardaki artış gallik asit ve (-) epikateşinde, en az miktarda değişim ise vanilik asit, p-kumarik asit ve kuersetinde görülmüştür. Benzer şekilde %100 malt sırasında da kaynatma başlangıcında en yoğun miktarda bulunan fenolik bileşenler (+)-kateşin ve (-)-epikateşin olurken kaynatma başlangıcında gallik asit ve protokateşik asit de yoğun miktarda mevcuttur. Kaynatma prosesinde en yoğun değişimler (+)-kateşin ve gallik asitte görülürken, (-)-epikateşin miktarında da önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Bunun yanı sıra kaynatma işleminde hemen hemen incelenen diğer fenolik bileşenlerin hepsinde çok az miktarda değişim gözlenmiştir.

Yüksek alkollü ve düşük alkollü malt şıralarının fenolik dağılımları incelendiğinde ise bu çeşitlerde kaynatma başlangıcında gallik asit, (+)- kateşin en fazla miktardaki fenolik bileşenler olurken, bu çeşitlerde kaynatma başlangıcında kayda değer miktarda şirincik asit, (-)-epikateşin, p-kumarik asit, ferulik asit ve protokateşik asit belirlenmiştir. Her iki şıra çeşidinde de gallik asit proses sırasında en fazla miktarda değişim gösteren fenolik bileşen olmuştur. Yüksek alkollü malt sırasında gallik asitten sonra (+)- kateşin ve

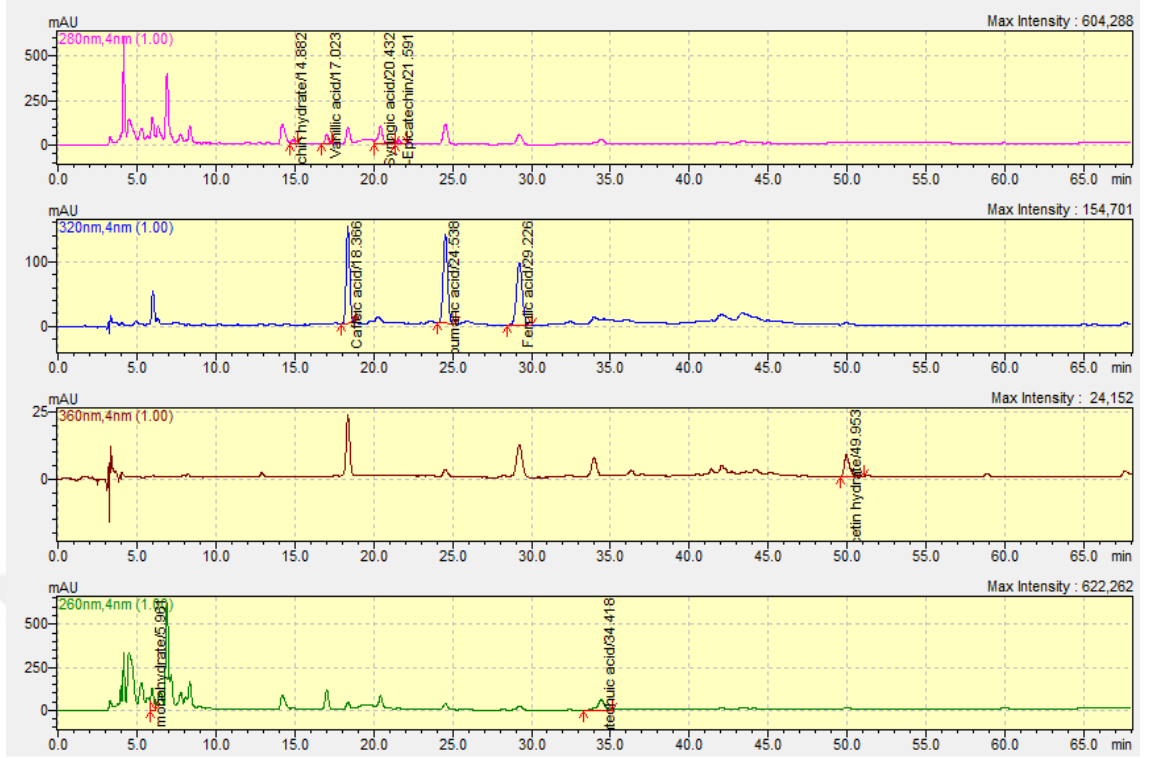
vanilik asit, düşük alkollü malt sırasında ise kafeik asit ve şirincik asit en fazla miktarda değişim gösteren fenolik bileşenlerdir.

Kaynatma işlemi başlangıcında, aromalı malt sırasında da (+)- kateşin en fazla miktardaki fenolik bileşiktir. Bunun yanı sıra gallik asit, şirincik asit ve ferulik asit de kaynatma işlemi başlangıcında fazlaca bulunmaktadır. Aromalı malt bira sırasında (+)-kateşin miktarı proses boyunca en fazla değişimi göstermektedir.

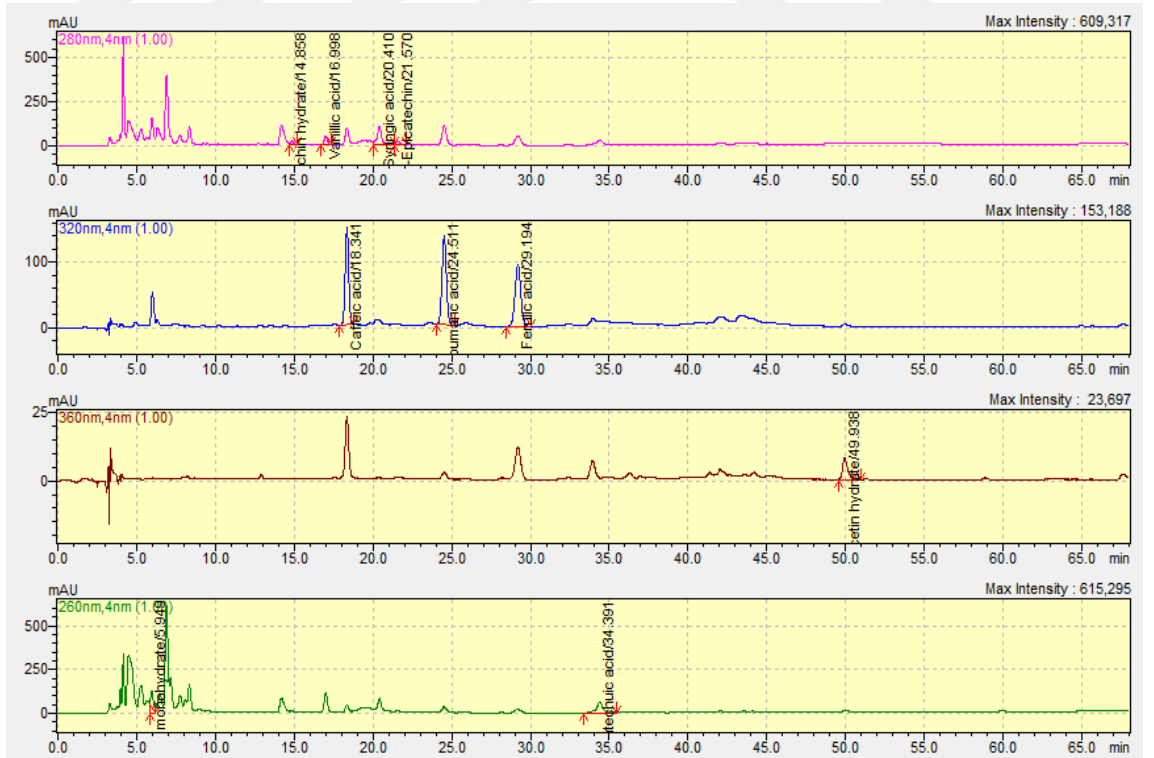
İthal malt sırasında ise kaynatma başlangıcında gallik asit, (+)-kateşin ve ferulik asit yoğun miktarda bulunurken diğer fenolik bileşikler çok az miktarda bulunmaktadır. Kaynatma prosesi sırasında en yoğun artış yine gallik asit ve (+)- kateşinde olurken protokateşik asit miktarı da kayda değer ölçüde artmaktadır. İthal malt sırasında kaynatma prosesinde miktarı en az değişen fenolikler ise kuersetin ve şirincik asittir.



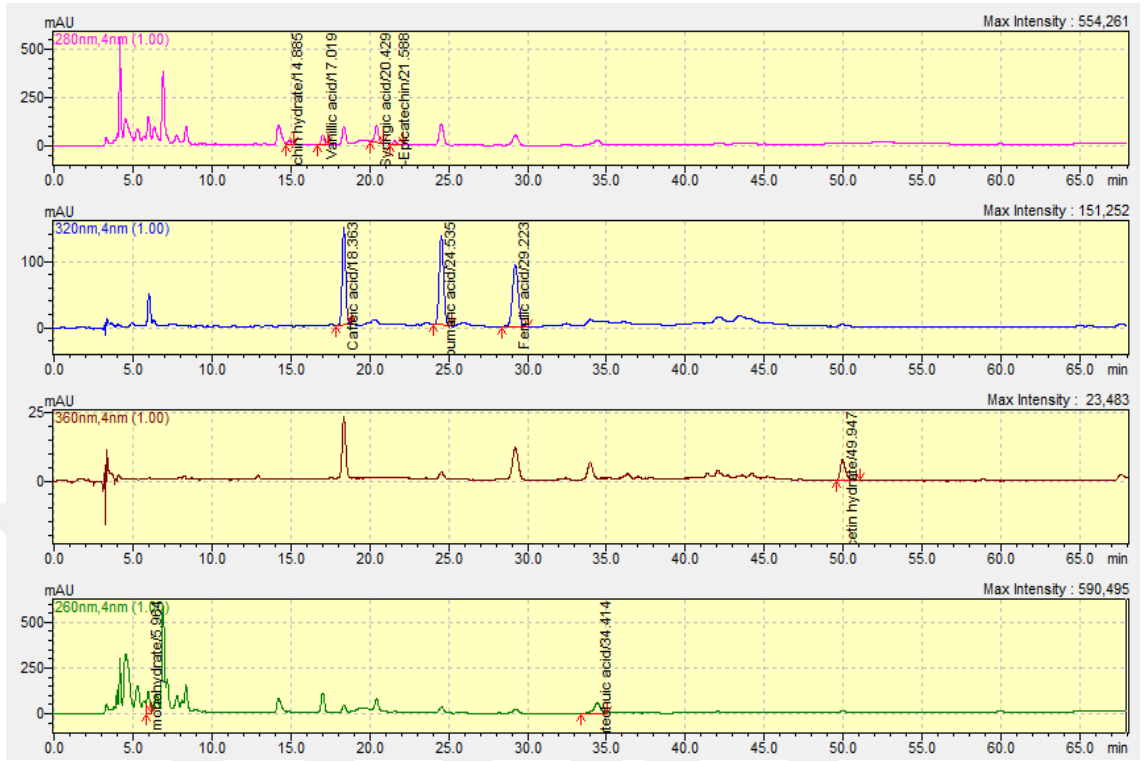
Şekil 4.13 %100 malt birasının Kieselguhr filtre girişinde 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları



Şekil 4.14 %100 malt birasınin Kieselguhr filtre çıkışında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları



Şekil 4.15 %100 malt birasınin PVPP filtre çıkışında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları



Şekil 4.16 %100 malt birasının çekme tankında 260, 280, 320 ve 360 nm’deki HPLC kromatogramları

Çizelge 4.24 Filtrasyon işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi

|                   | Kieselguhr<br>Filtre Giriş | Kieselguhr<br>Filtre Çıkış | PVPP Filtre<br>Çıkış | Çekme Tankı   |
|-------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|---------------|
| Gallik Asit       | 2.3779±0.098a              | 2.3063±0.107a              | 2.2968±0.128a        | 2.2106±0.029a |
| (+)-kateşin       | 3.9572±0.033a              | 3.6203±0.048b              | 2.6391±0.032c        | 1.6197±0.041d |
| Vanilik Asit      | 0.2517±0.015a              | 0.2164±0.022a              | 0.2073±0.048a        | 0.2063±0.026a |
| Kafeik Asit       | 0.8257±0.029a              | 0.8139±0.069a              | 0.7968±0.042a        | 0.6636±0.095b |
| Şirincik Asit     | 2.3177±0.096a              | 2.2838±0.061a              | 1.8553±0.058b        | 1.7186±0.027b |
| (-)- epikateşin   | 2.1305±0.107a              | 1.9252±0.017b              | 1.8536±0.073b        | 1.3986±0.093c |
| p-kumaric Asit    | 0.9995±0.065a              | 0.9269±0.059a              | 0.7726±0.035b        | 0.7012±0.017b |
| Ferulik Asit      | 1.5659±0.027a              | 1.5032±0.033a              | 1.4821±0.042a        | 1.3385±0.029b |
| Protokateşik Asit | 1.0824±0.083a              | 1.0284±0.068a              | 0.8657±0.048b        | 0.8238±0.010b |
| Kuersetin         | 0.2953±0.009a              | 0.2897±0.008ab             | 0.2752±0.002b        | 0.2728±0.007b |
| Gallik Asit       | 2.7654±0.035a              | 2.7598±0.062a              | 2.6474±0.034ab       | 2.6009±0.032b |
| (+)-kateşin       | 4.7808±0.037a              | 4.5875±0.096b              | 2.6514±0.032c        | 2.1873±0.041c |
| Vanilik Asit      | 0.5500±0.043a              | 0.4390±0.067b              | 0.4234±0.103b        | 0.4135±0.088b |
| Kafeik Asit       | 0.6663±0.027a              | 0.5623±0.034b              | 0.5419±0.028b        | 0.5126±0.012b |
| Şirincik Asit     | 1.7646±0.051a              | 1.6369±0.035b              | 1.6078±0.021b        | 1.5383±0.027b |
| (-)- epikateşin   | 2.3128±0.025a              | 2.1971±0.022b              | 1.9531±0.017c        | 1.7248±0.057d |
| p-kumaric Asit    | 0.7165±0.039a              | 0.6925±0.013ab             | 0.6218±0.046ab       | 0.5926±0.033b |
| Ferulik Asit      | 1.4132±0.107a              | 1.4036±0.029a              | 1.2708±0.088b        | 1.1996±0.084b |
| Protokateşik Asit | 1.9748±0.080a              | 1.9028±0.011a              | 1.8923±0.065a        | 1.7093±0.058b |
| Kuersetin         | 0.2894±0.006a              | 0.2807±0.009a              | 0.2786±0.008a        | 0.2751±0.017a |
| Gallik Asit       | 3.3945±0.053a              | 3.3074±0.083a              | 3.2366±0.102a        | 2.9337±0.049b |
| (+)-kateşin       | 3.6261±0.076a              | 3.4851±0.082b              | 3.4022±0.098b        | 3.1219±0.026c |
| Vanilik Asit      | 0.5291±0.054a              | 0.5282±0.045a              | 0.4810±0.018a        | 0.4302±0.011a |
| Kafeik Asit       | 1.1439±0.088a              | 0.9966±0.092b              | 0.9156±0.077b        | 0.6817±0.051c |
| Şirincik Asit     | 2.1672±0.074a              | 2.1013±0.092a              | 2.0755±0.034a        | 1.5986±0.019b |
| (-)- epikateşin   | 1.3635±0.083a              | 1.2282±0.068b              | 1.1532±0.027c        | 1.0756±0.062c |
| p-kumaric Asit    | 1.7574±0.029a              | 1.6661±0.019a              | 1.4732±0.0861b       | 1.3470±0.041b |
| Ferulik Asit      | 2.1641±0.053a              | 2.0456±0.096a              | 1.7762±0.0754b       | 1.7302±0.015b |
| Protokateşik Asit | 1.9171±0.015a              | 1.7590±0.072a              | 1.0800±0.1008b       | 0.7690±0.093c |
| Kuersetin         | 0.3250±0.007a              | 0.3178±0.016a              | 0.3135±0.007a        | 0.3037±0.006a |

(n:4), Sonuçlar mg/L cinsinden verilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler Tukey ikili karşılaştırma testine göre proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.24 Filtrasyon işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi (devam)

|                   | Kieselguhr<br>Filtre Giriş | Kieselguhr<br>Filtre Çıkış | PVPP Filtre<br>Çıkış | Çekme Tankı    |
|-------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------|
| Gallik Asit       | 3.0759±0.064a              | 2.9926±0.038ab             | 2.9875±0.026ab       | 2.8846±0.081b  |
| (+)-kateşin       | 4.4165±0.095a              | 4.2924±0.043a              | 3.9027±0.079b        | 2.2973±0.096c  |
| Vanilik Asit      | 0.3031±0.074a              | 0.2949±0.021a              | 0.2907±0.013a        | 0.2742±0.009b  |
| Kafeik Asit       | 0.5118±0.058a              | 0.4959±0.019a              | 0.4378±0.052a        | 0.4131±0.014a  |
| Şirincik Asit     | 2.0986±0.115a              | 2.0199±0.093ab             | 1.8790±0.069ab       | 1.8014±0.074b  |
| (-)- epikateşin   | 1.6087±0.096a              | 1.5884±0.086a              | 1.2921±0.079b        | 1.2627±0.079b  |
| p-kumaric Asit    | 0.8365±0.098a              | 0.8350±0.038a              | 0.5835±0.053b        | 0.5449±0.038b  |
| Ferulik Asit      | 1.1309±0.049a              | 1.1168±0.027a              | 0.8077±0.040b        | 0.7567±0.024b  |
| Protokateşik Asit | 1.7839±0.035a              | 1.6834±0.076a              | 1.4903±0.057b        | 1.4689±0.029b  |
| Kuersetin         | 0.3253±0.014a              | 0.3143±0.008a              | 0.2891±0.006b        | 0.2813±0.005b  |
| Gallik Asit       | 2.7132±0.085b              | 2.6899±0.081b              | 2.5732±0.099b        | 4.1233±0.093a  |
| (+)-kateşin       | 4.0027±0.074a              | 3.4777±0.069c              | 3.2561±0.069d        | 3.8157±0.036b  |
| Vanilik Asit      | 0.9031±0.067c              | 0.8229±0.072b              | 0.7810±0.036b        | 1.2348±0.064a  |
| Kafeik Asit       | 0.4502±0.035ab             | 0.4165±0.025ab             | 0.3463±0.074b        | 0.5204±0.083a  |
| Şirincik Asit     | 1.7618±0.067b              | 1.5171±0.047c              | 1.5099±0.118c        | 2.1312±0.098a  |
| (-)- epikateşin   | 1.4352±0.093a              | 1.2494±0.036b              | 1.1966±0.095b        | 1.3312±0.014ab |
| p-kumaric Asit    | 1.5466±0.073ab             | 1.4872±0.055b              | 1.4248±0.059b        | 1.6651±0.074a  |
| Ferulik Asit      | 2.5769±0.047a              | 2.3381±0.028b              | 2.2942±0.068b        | 2.5262±0.069a  |
| Protokateşik Asit | 1.0554±0.088a              | 0.8838±0.016b              | 0.8453±0.035b        | 1.1193±0.090a  |
| Kuersetin         | 0.2737±0.014a              | 0.2731±0.016a              | 0.2688±0.009a        | 0.2910±0.007a  |
| Gallik Asit       | 4.2389±0.034a              | 4.0039±0.045b              | 3.3577±0.078c        | 3.0112±0.032d  |
| (+)-kateşin       | 2.5639±0.066a              | 1.9936±0.097b              | 1.7740±0.044bc       | 1.6335±0.087c  |
| Vanilik Asit      | 0.8363±0.087a              | 0.7189±0.084b              | 0.6972±0.027b        | 0.6484±0.032b  |
| Kafeik Asit       | 0.6538±0.042ab             | 0.6136±0.073b              | 0.5647±0.026b        | 0.4307±0.035c  |
| Şirincik Asit     | 0.7016±0.016a              | 0.6406±0.030a              | 0.4649±0.042b        | 0.4104±0.013b  |
| (-)- epikateşin   | 0.8602±0.041a              | 0.7927±0.014a              | 0.5875±0.014b        | 0.4910±0.015b  |
| p-kumaric Asit    | 0.6989±0.031a              | 0.4796±0.098b              | 0.4067±0.017b        | 0.3581±0.053b  |
| Ferulik Asit      | 2.5295±0.033a              | 2.0351±0.019b              | 1.9069±0.054bc       | 1.8386±0.089c  |
| Protokateşik Asit | 1.2749±0.086a              | 0.9867±0.015b              | 0.9198±0.085b        | 0.8374±0.072b  |
| Kuersetin         | 0.2946±0.013a              | 0.2911±0.044a              | 0.2857±0.010a        | 0.2747±0.004a  |

(n:4), Sonuçlar mg/L cinsinden verilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler Tukey ikili karşılaştırma testine göre proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.24 incelendiğinde filtrasyon proses aşamalarında gallik asit miktarları Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve trap filtre ile dinlendirme basamağının sonu olan çekme tankı çıkışında sırasıyla klasik malt birasında 2.3779 mg/L, 2.3063 mg/L, 2.2968 mg/L ve 2.2106 mg/L ; %100 malt birasında 2.7654 mg/L, 2.7598 mg/L, 2.6474 mg/L ve 2.6009 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 3.3945 mg/L, 3.3074 mg/L, 3.2366 mg/L ve 2.9337 mg/L, düşük alkollü malt birasında 3.0759 mg/L, 2.9926 mg/L, 2.9875 mg/L ve 2.8846 mg/L, aromalı malt birasında 2.7132 mg/L, 2.6899 mg/L, 2.5732 mg/L ve 4.1233 mg/L ve ithal malt birasında 4.2389 mg/L, 4.0039 mg/L, 3.3577 mg/L ve 3.01112 mg/L olarak belirlenmiştir.

Çalışmada kullanılan örnekler içerisinde en fazla miktarda gallik asit içeren örnek filtrasyon işlemi başlangıcında ithal malt birası örneği iken; filtrasyon sonunda sonradan eklenen aroma maddelerinin gallik asit içeriği nedeniyle aromalı malt bira örneği olmuştur. Filtrasyon süresince en az miktarda gallik asit ise klasik malt birasında görülmektedir. Filtrasyon prosesi sırasında gallik asit miktarında en fazla azalış ithal malt birasında gözlenirken tek artış ise aromalı malt birasında gözlenmektedir. Bira örneklerinde filtrasyon işleminin gallik asit üzerine olan etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde ithal malt birası hariç çalışmada kullanılan diğer tüm örneklerde Kieselguhr filtre ve PVPP filtre istatistiksel olarak önemli ölçüde fark yaratmazken, trap filtre ve dinlendirme aşamalar klasik malt bira örneği hariç tüm örneklerde önemli bir fark yaratmaktadır. İthal malt birasında ise uygulanan her filtre basamağı istatistiksel olarak önemli fark yaratmaktadır.

Filtrasyon proses aşamalarında (+)-kateşin miktarları Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında sırasıyla klasik malt birasında 3.9572mg/L, 3.6203 mg/L, 2.6391 mg/L ve 1.6197 mg/L ; %100 malt birasında 4.7808mg/L, 4.5875 mg/L, 2.6514 mg/L ve 2.1873 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 3.6261 mg/L, 3.4851 mg/L, 3.4022 mg/L ve 3.1219 mg/L, düşük alkollü malt birasında 4.4165mg/L, 4.2924 mg/L, 3.9027 mg/L ve 2.2973 mg/L, aromalı malt birasında 4.0027mg/L, 3.4777 mg/L, 3.2561 mg/L ve 3.8157 mg/L ve ithal malt

birasında 2.5639mg/L, 1.9936 mg/L, 1.7740 mg/L ve 1.6335 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.24).

Çalışmada kullanılan örnekler içerisinde filtrasyon işlemi öncesinde ve Kieselguhr filtre sonunda %100 malt birası en fazla miktarda (+)-kateşin içeren örnekken, PVPP filtre sonunda düşük alkollü malt birası ve tüm filtrasyon işlemleri sonunda ise aromalı malt birası en fazla miktarda (+)-kateşin içeren örnek olmuştur. Kieselguhr filtre işlemi öncesinden PVPP filtre sonuna kadar, en az miktarda (+)-kateşin ithal malt birasında görülürken; filtrasyon işlemi bittiğinde ithal malt birası ile birlikte klasik malt birası da en az miktarda (+)-kateşin içeren çeşit olmuştur. Filtrasyon prosesi sırasında (+)-kateşin miktarında en fazla miktarda düşme %100 malt birasında gözlenmiştir. %100 malt birasından sonra klasik malt birası ve düşük alkollü malt birası da fazla miktarda azalma göstermiştir. Bira örneklerinde filtrasyon proses basamaklarının (+)-kateşin üzerine olan etkisi incelendiğinde düşük alkollü malt birası hariç çalışmada kullanılan diğer tüm örneklerde Kieselguhr filtre (+)-kateşin miktarında istatistiksel olarak önemli derecede azalmaya neden olmaktadır. Düşük alkollü malt birası örneğinde ise kieselguhr filtre istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunmamaktadır. Aynı durum, PVPP filtrede yüksek alkollü malt birası hariç tutulmak kaydı ile geçerliyen; çekme tankı sonuna gelindiğinde aynı durum bu sefer %100 malt birası hariç tutularak gerçekleşmektedir.

Şirincik asit üzerine filtrasyon proses basamaklarının etkisi incelendiğinde Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında sırasıyla klasik malt birasında 2.3177 mg/L, 2.2838 mg/L, 1.8553 mg/L ve 1.7186 mg/L ; %100 malt birasında 1.7646 mg/L, 1.6369 mg/L, 1.6078 mg/L ve 1.5383mg/L, yüksek alkollü malt birasında 2.1672 mg/L, 2.1013 mg/L, 2.0755 mg/L ve 1.5986 mg/L, düşük alkollü malt birasında 2.0986 mg/L, 2.0199 mg/L, 1.8790 mg/L ve 1.8014 mg/L, aromalı malt birasında 1.7618 mg/L, 1.5171 mg/L, 1.5099 mg/L ve 2.1312 mg/L ve ithal malt birasında 0.7016mg/L, 0.6406 mg/L, 0.4649 mg/L ve 0.4104mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.24).

Filtrasyon işlem başlangıcında yer alan Kieselguhr filtre öncesinde ve sonrasında çalışmada kullanılan örnekler içerisinde en fazla miktarda şirincik asit içeren örnek klasik malt birasıyken, PVPP işlemi sonunda en fazla miktarda şirincik asit yüksek alkollü birasında görülmektedir. Filtrasyon işlemi sonunda ise en fazla şirincik asit içeren örnek aromalı malt birası olmaktadır. Filtrasyon prosesi sırasında uygulanan tüm filtrelerde ve en sonda en az miktarda şirincik asit içeren örnek ise ithal malt birasıdır. Filtrasyon işleminde aromalı malt birası hariç tüm diğer çeşitlerde şirincik miktarında azalma görülürken, aromalı malt birasında PVPP filtre sonrasında şirincik asit miktarında artış gözlenmektedir. Filtrasyon işlemlerinin şirincik asit üzerine olan etkisi incelendiğinde %100 malt birası ve aromalı malt birası örneklerinde Kieselguhr filtre basamağında görülen azalma istatistiksel olarak önemliyken aynı işlem basamağında diğer örneklerdeki azalma istatistiksel olarak önemli olmamaktadır. PVPP filtre ise klasik ve aromalı malt birası çeşitlerini istatistik olarak önemli derecede etkilerken diğer örneklerde etki yaratmamaktadır. Trap filtre ve dinlendirme işlemlerinde ise yüksek alkollü ve aromalı malt biralarında istatistiksel olarak önemli bir etki görülmekte diğer çeşitlerde kayda değer etki görülmemektedir.

Filtrasyon proses aşamalarında (-)-epikateşin miktarları Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında sırasıyla klasik malt birasında 2.1305 mg/L, 1.9252 mg/L, 1.8536 mg/L ve 1.3986 mg/L ; %100 malt birasında 2.3128 mg/L, 2.1971 mg/L, 1.9531 mg/L ve 1.7248 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 1.3635 mg/L, 1.2282 mg/L, 1.1532 mg/L ve 1.0756 mg/L, düşük alkollü malt birasında 1.6087 mg/L, 1.5884 mg/L, 1.2921 mg/L ve 1.2627 mg/L, aromalı malt birasında 1.4352 mg/L, 1.2494 mg/L, 1.1966 mg/L ve 1.3312 mg/L ve ithal malt birasında 0.8602 mg/L, 0.7927 mg/L, 0.5875 mg/L ve 0.4910 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.24).

Çalışmada kullanılan örnekler içerisinde tüm filtrasyon basamakları sırasında en az miktarda (-)-epikateşin içeren örnek ithal malt birasıyken, tüm filtrasyon basamakları sırasında en fazla miktarda (-)-epikateşin içeren örnek ise %100 malt birası olarak belirlenmiştir. Filtrasyon prosesi sırasında (-)-epikateşin miktarı her örnekte azalma göstermiş ve en fazla azalma klasik malt birasında gözlenmiştir. Bira örneklerinde

filtrasyon işleminin (-)-epikateşin üzerine olan etkisi incelendiğinde kieselguhr filtre (-)-epikateşin miktarında düşük alkollü ve ithal malt birası hariç çalışmada kullanılan diğer tüm örneklerde istatistiksel olarak önemli miktarda azalmaya neden olmaktadır. PVPP filtre ise klasik malt birası ve aromalı malt birası örneklerinde (-)-epikateşin miktarında önemli bir değişime neden olmazken, diğer örneklerde istatistiksel olarak kayda değer miktarda farka neden olmaktadır. Trap filtre ve dinlendirme basamağı ise sadece klasik ve %100 malt biralarında önemli miktarda azalma sağlamakta, diğer örneklerde bir fark yaratmamaktadır.

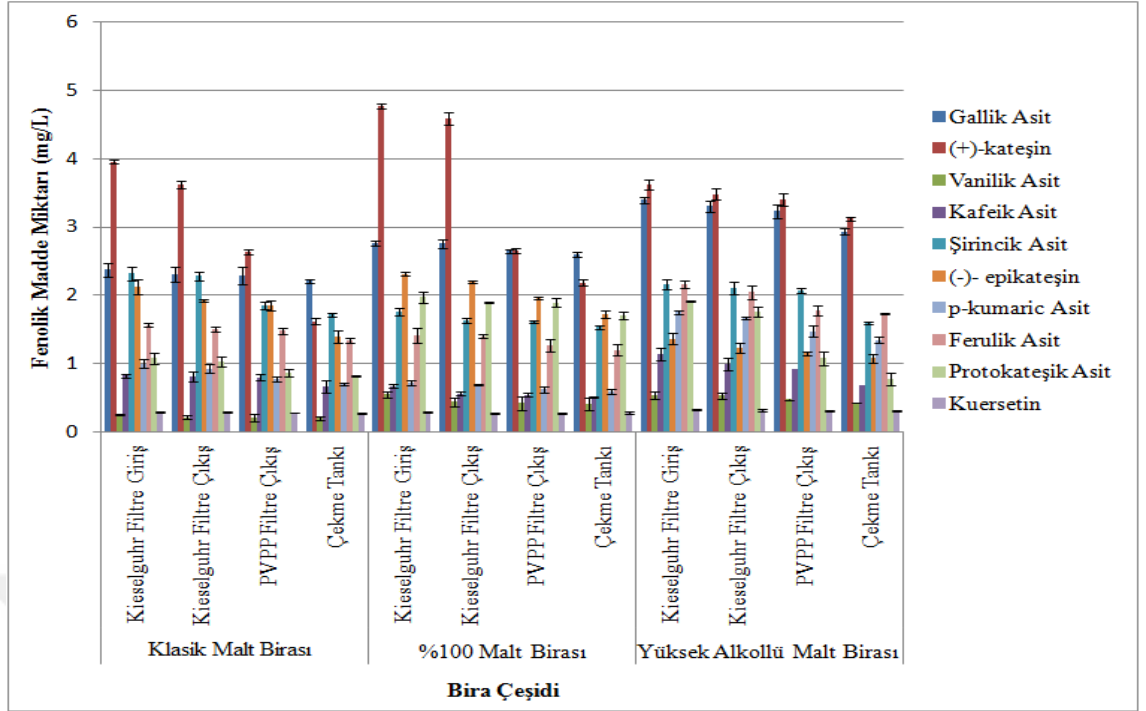
Ferulik asit miktarı çalışmada incelenen örneklerde filtrasyon başlangıcında 1.1309-2.5769 mg/L, p-kumarik asit ise 0.6989-1.7574 mg/L aralığında; Kieselguhr filtre çıkışında ferulik asit 1.1168-2.3381mg/L, p- kumarik asit 0.4796-1.6661 mg/L aralığında, PVPP filtre sonunda ise ferulik asit 0.8077-2.2942 mg/L ve p-kumarik asit ise 0.4067-1.4732 mg/L aralığında ve çekme tankı sonunda ise örneklerdeki ferulik asit miktarları 0.7567- 2.5262 mg/L arasında; p-kumarik asit miktarları ise 0.3581 – 1.3470 mg/L arasında değişmektedir (Çizelge 4.24). Örnekler içerisinde filtrasyon basamağında uygulanan bütün filtrelerde en fazla miktarda ferulik asit içeren örnek aromalı malt birasıyken en az ferulik asit içeren örnek ise düşük alkollü malt birasıdır. Filtrasyon işlemi sırasında p-kumarik asit ise en fazla miktarda yüksek alkollü malt birasında; en az miktarda ise ithal malt birasında bulunmaktadır. Ferulik asidin filtrasyon prosesi sonunda en az miktarda değişim gösterdiği örnek aromalı malt birasıyken en fazla miktarda değişim ise ithal malt birasındadır. Yüksek alkollü malt birası p-kumarik asidin en fazla miktarda değişim gösterdiği örnek olurken, filtrasyon işlemi sonucunda en az miktarda değişim ise aromalı malt birasında görülmüştür.

Ferulik asit ve p-kumarik asit üzerine filtrasyon işlemlerinin etkisi incelendiğinde Kieselguhr filtre ithal malt birası hariç p-kumarik asit üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etki yaratmazken, ferulik asit üzerinde ithal ve aromalı malt biraları için istatistik olarak önemli derecede azalmaya neden olmuş diğer örneklerde önemli bir etkide bulunmamıştır. PVPP filtre ise p-kumarik asit üzerinde %100 malt, aromalı ve ithal malt birası örneklerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde azaltıcı etki yaratırken diğer örneklerde görülen azalma istatistiksel olarak önemli değildir. PVPP filtrenin

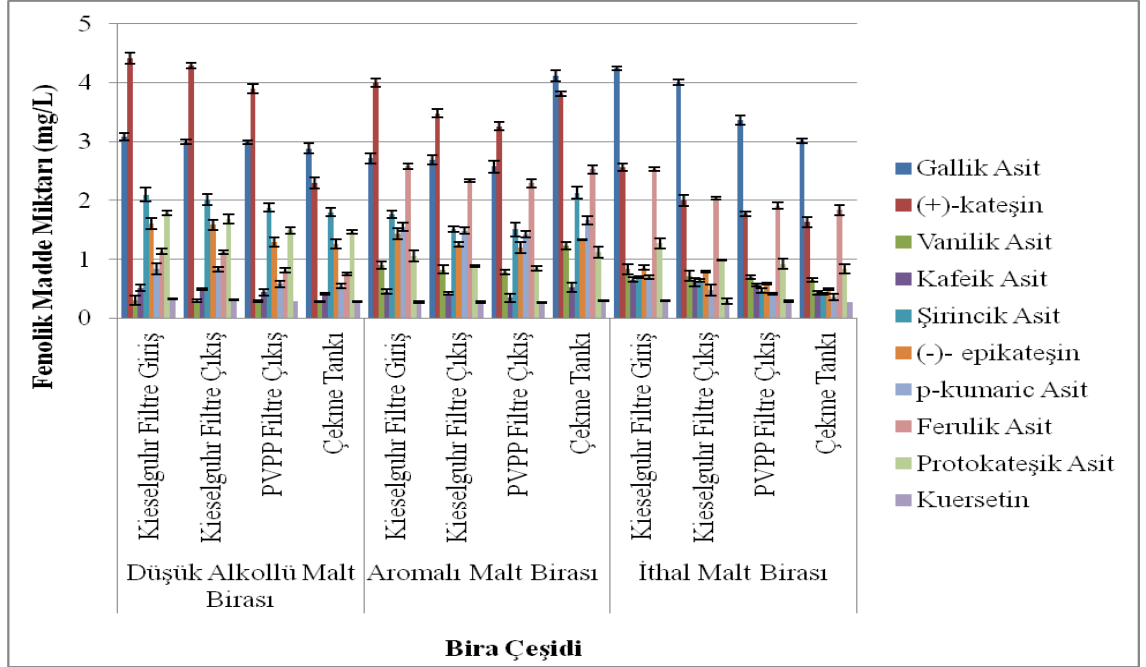
ferulik asit üzerindeki etkisi ise %100 malt, yüksek alkollü ve düşük alkollü malt üzerine istatistiksel olarak önemli ölçüdeyken, diğer örneklerde önemli değişime neden olmamaktadır. Filtrasyon işleminin son basamağı ise aromalı malt bira örneği hariç olmak üzere diğer hiçbir örnekte p-kumarik asit için önemli ölçüde değilken, ferulik asit üzerine klasik malt ve aromalı malt biralarında istatistik olarak önemli ölçüde etkiye sahiptir.

Protokateşik asit üzerine filtrasyon proses basamaklarının etkisi incelendiğinde Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında miktarları sırasıyla klasik malt birasında 1.0824 mg/L, 1.0284 mg/L, 0.8657 mg/L ve 0.8238 mg/L ; %100 malt birasında 1.9748 mg/L, 1.9028 mg/L, 1.8923mg/L ve 1.7093 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 1.9171 mg/L, 1.7590 mg/L, 1.0800 mg/L ve 0.7690 mg/L, düşük alkollü malt birasında 1.7839 mg/L, 1.6834 mg/L, 1.4903 mg/L ve 1.4689 mg/L, aromalı malt birasında 1.0554 mg/L, 0.8838 mg/L, 0.8453 mg/L ve 1.1193 mg/L ve ithal malt birasında 1.2749 mg/L, 0.9867 mg/L, 0.9198mg/L ve 0.8374 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.24). Filtrasyon işlemi süresince en fazla miktarda protokateşik asit %100 malt birasında bulunurken en az miktarda protokateşik asit içeren örnek PVPP filtre çıkışına kadar aromalı malt birasıyken filtrasyon sonunda klasik malt ve ithal malt birası olmuştur.

Filtrasyon işlemi sonunda protokateşik asit miktarında en az miktardaki değişim aromalı malt birasında olurken en fazla miktardaki değişim ise yüksek alkollü malt birasında görülmektedir. Filtrasyon işlemlerinin protokateşik asit üzerine olan etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde; ithal ve aromalı malt birası hariç tüm örneklerde Kieselguhr filtre işlemi sırasında protokateşik asit miktarında meydana gelen değişimler önemli olmamaktadır. İthal ve aromalı malt birasında gözlenen azalma ise istatistik olarak önemlidir. PVPP filtre ise %100 malt, aromalı malt ve ithal malt bira çeşitleri üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunmazken, diğer çeşitlerde meydana getirdiği azalmalar istatistiksel olarak önemlidir. Trap filtre ve dinlendirme işlemleri ise klasik malt, düşük alkollü ve ithal malt birası örneklerini etkilemezken diğer örneklerde protokateşik asit miktarında önemli ölçülerde değişime neden olmaktadır.



Şekil 4.17 Klasik, %100 ve yüksek alkollü malt birası örnekleri için filtrasyon işlem basamaklarında fenolik madde dağılımı



Şekil 4.18 Düşük alkollü, aromalı ve ithal malt birası örnekleri için filtrasyon işlem basamaklarında fenolik madde dağılımı

Filtrasyon işlemi sırasında tanenlerin %37'si PVPP ve %66'sı trap filtrede tutulmaktadır. Filtrasyon işleminde büyük bir kısmı tanenlerden olmak üzere filtrelerde tutulan fenoller nedeniyle toplam fenol miktarında azalma meydana gelmektedir (Fumi vd. 2011).

Filtrasyon işlemi tüm aşamalarıyla incelendiğinde genel olarak bira örneklerinde en fazla miktarda bulunan fenolik bileşik kaynatma işleminde olduğu gibi (+)-kateşindir. (+)- kateşinin ardından gallik asit, şirincik asit, (-)-epikateşin, protokateşik asit ve ferulik asit de bira örneklerinde filtrasyon işlemi öncesinde yoğun olarak bulunan fenolik bileşenlerdir. Filtrasyon işlemi sırasında uygulanan Kieselguhr filtre, PVPP filtre ve trap filtre ile dinlendirme işlem basamakları arasında fenolik içerikte en fazla değişime, fenolik bileşiklere göre değişmekle beraber PVPP filtre işlemi neden olurken Kieselguhr filtre ve trap filtre ile dinlendirme işlemleri de fenoller üzerine farklı miktarlarda etkiye bulunmaktadır.

Genel olarak bira örneklerindeki fenolik bileşen dağılımı incelendiğinde ise klasik malt birasında filtrasyon başlangıcında en yoğun fenolik bileşen (+)- kateşin olurken, gallik asit, şirincik asit ve (-)-epikateşin de diğer fenollere kıyasla yüksek miktarda bulunmaktadır. Kieselguhr filtre işleminin sonunda en fazla miktardaki azalma (-)-epikateşin ve (+)-kateşinde, en az miktarda değişim ise kuersetinde görülmektedir. PVPP filtre işlemi en fazla miktarda (+)-kateşin ve şirincik asit üzerinde görülürken en az değişim gallik asit ve vanilik asitte görülmüştür. Çekme tankı çıkışında ise en fazla miktarda azalma (+)-kateşin de olurken, en az değişim ise kuersetinde görülmektedir. Tüm filtrasyon prosesi incelendiğinde toplamda en fazla miktarda azalma (+)-kateşinde, en az miktarda azalma ise kuersetinde görülmektedir.

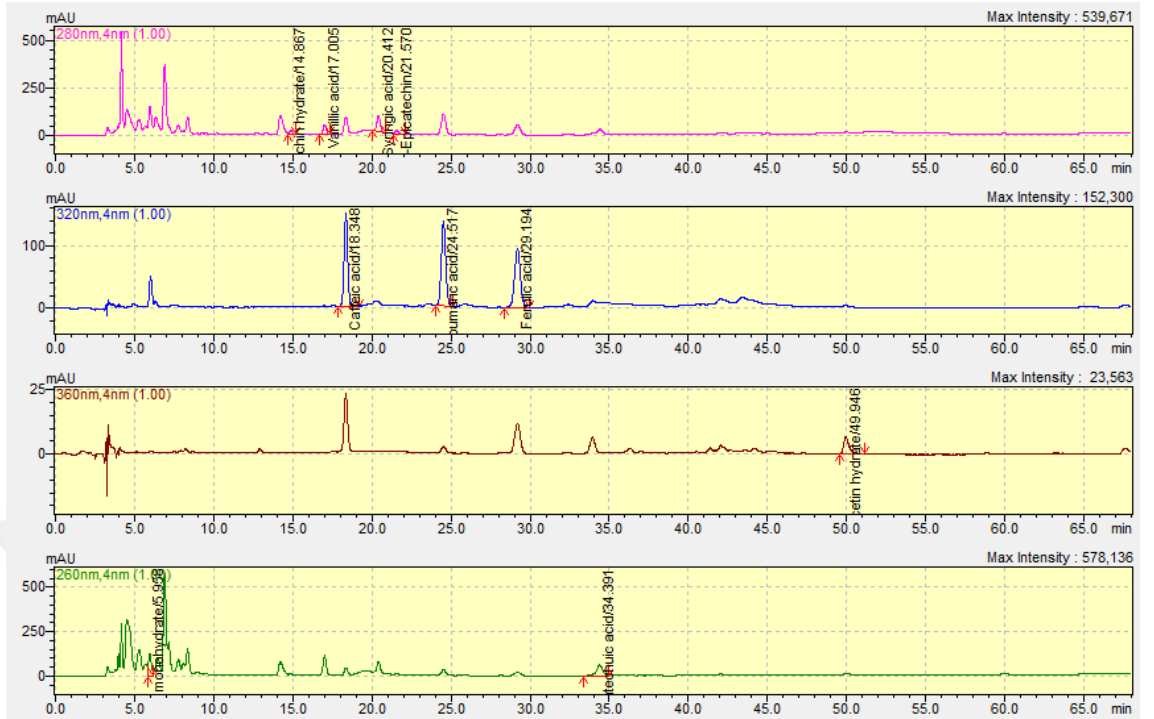
Benzer şekilde %100 malt birasında da filtrasyon başlangıcında en yoğun miktarda bulunan fenolik bileşen (+)-kateşin olurken, gallik asit ve (-)-epikateşin de yoğun miktarda mevcuttur. Filtrasyon prosesi içerisinde uygulanan tüm filtrelerde en fazla miktarda azalma (+)-kateşinde görülmektedir. Kieselguhr filtre işleminin sonunda en az miktardaki azalma gallik asit ve kuersetinde görülmektedir. PVPP filtre işlemi en fazla

miktarda (+)-kateşin ve şirincik asit üzerinde görülürken en az değişim gallik asit ve vanilik asitte görülmüştür. Çekme tankı çıkışında ise en fazla miktarda azalma (+)-kateşin de olurken, en az değişim ise kuersetinde görülmektedir.

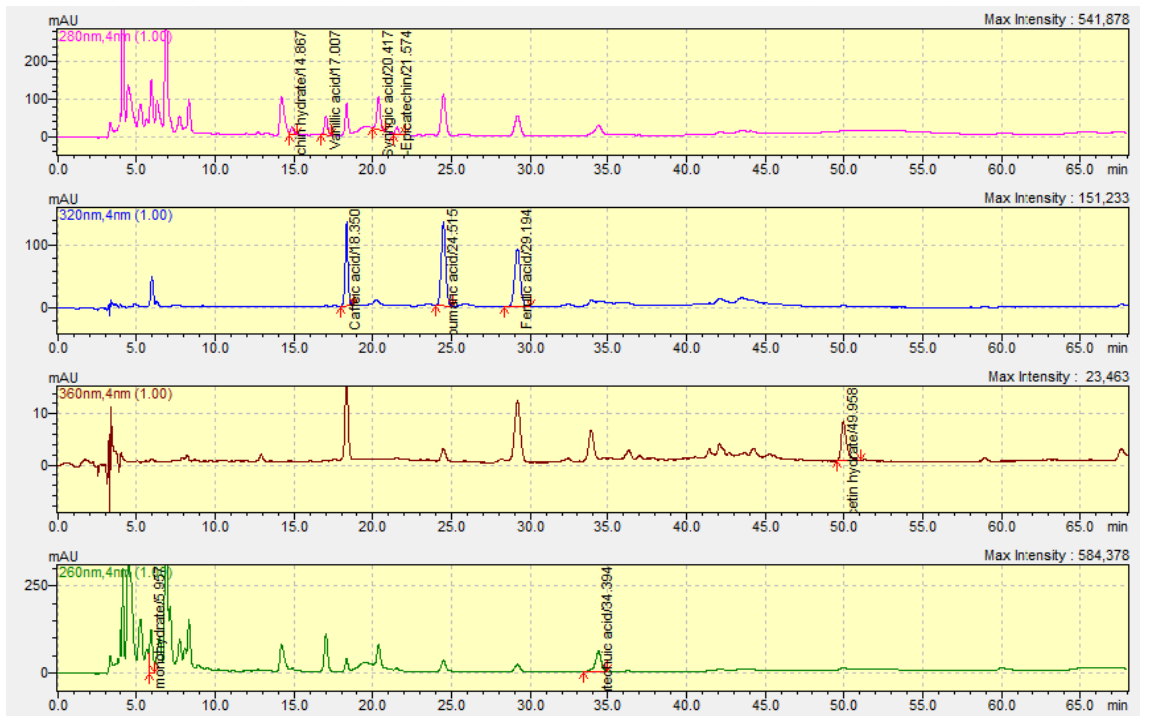
Yüksek alkollü ve düşük alkollü malt biralarının fenolik dağılımları incelendiğinde ise bu çeşitlerde filtrasyon başlangıcında gallik asit, (+)- kateşin en fazla miktardaki fenolik bileşenler olurken, bu çeşitlerde filtrasyon başlangıcında diğer fenoliklere oranla daha yüksek miktarda şirincik asit ve ferulik asit bulunduğu belirlenmiştir. Yüksek alkollü bira çeşidinde tüm filtrasyon prosesinde en fazla miktarda değişim gösteren fenolik bileşen protokateşik asit olurken, düşük alkollü bira çeşidinde ise (+)-kateşin olduğu belirlenmiştir. Yüksek alkollü malt birasında protokateşik asitten sonra (+)- kateşin ve şirincik asit, düşük alkollü malt sırasında ise (-)-epikateşin ve ferulik asit en fazla miktarda değişim gösteren fenolik bileşenlerdir. Kuersetin ve vanilik asit ise her iki bira örneğinde de en az miktarda değişim gösteren fenolik bileşiklerdir.

Filtrasyon işlemi başlangıcında aromalı malt birasında da (+)- kateşin en fazla miktardaki fenolik bileşiktir. Bunun yanı sıra gallik asit ve ferulik asit de filtrasyon işlemi başlangıcında diğer fenolik bileşenlerden daha fazla miktarda bulunmaktadır. Aromalı malt birasında PVPP tankı çıkışına kadar incelenen örneklerde tüm fenolik bileşenlerin miktarında azalma görülürken, aroma eklemesine PVPP filtre sonunda başlanmasından dolayı, PVPP filtre çıkışından sonra alınan örneklerde tüm fenolik bileşenlerde miktarların arttığı görülmüştür. Tüm filtrasyon basamakları incelendiğinde aromalı malt birasında gallik asit miktarı en fazla değişim gösteren fenolik madde olmuştur.

İthal malt birasında ise filtrasyon başlangıcında gallik asit en fazla miktarda bulunurken (+)-kateşin, ferulik asit ve protokateşik asit haricindeki diğer fenolik bileşikler çok az miktarda bulunmaktadır. Filtrasyon prosesi sırasında en yoğun azalma yine gallik asit ve (+)- kateşinde olmaktadır. Diğer bütün fenolik bileşenler çeşitli miktarlarda azalma göstermiştir. İthal malt birasında filtrasyon prosesinde miktarı en az değişen fenolik bileşen ise kuersetindir.



Şekil 4.19 %100 malt birasınin pastörizasyon öncesinde 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları



Şekil 4.20 %100 malt birasınin pastörizasyon sonrasında 260, 280, 320 ve 360 nm'deki HPLC kromatogramları

Çizelge 4.25 Pastörizasyon işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi

|                   | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|-------------------|----------------------|-----------------------|
| Gallik Asit       | 2.1797 ± 0.032 a     | 2.1762 ± 0.061 a      |
| (+)-kateşin       | 1.4759 ± 0.036 a     | 1.4632 ± 0.028 a      |
| Vanilik Asit      | 0.2068 ± 0.038 a     | 0.2063 ± 0.074 a      |
| Kafeik Asit       | 0.6638 ± 0.031 a     | 0.6572 ± 0.060 a      |
| Şirincik Asit     | 1.3516 ± 0.056 a     | 1.2823 ± 0.096 a      |
| (-)- epikateşin   | 1.4028 ± 0.067 a     | 1.4006 ± 0.098 a      |
| p-kumaric Asit    | 0.6849 ± 0.007 a     | 0.6954 ± 0.015 a      |
| Ferulik Asit      | 1.2634 ± 0.030 a     | 1.2628 ± 0.023 a      |
| Protokateşik Asit | 0.7312 ± 0.021 a     | 0.7262 ± 0.029 a      |
| Kuersetin         | 0.2709 ± 0.005 a     | 0.2690 ± 0.015 a      |
| Gallik Asit       | 2.5287 ± 0.045 a     | 2.5277 ± 0.027 a      |
| (+)-kateşin       | 1.8624 ± 0.029 a     | 1.8495 ± 0.038 a      |
| Vanilik Asit      | 0.3916 ± 0.068 a     | 0.3861 ± 0.076 a      |
| Kafeik Asit       | 0.4841 ± 0.030 a     | 0.4787 ± 0.065 a      |
| Şirincik Asit     | 1.5522 ± 0.045 a     | 1.5446 ± 0.024 a      |
| (-)- epikateşin   | 1.6702 ± 0.093 a     | 1.6651 ± 0.071 a      |
| p-kumaric Asit    | 0.5883 ± 0.076 a     | 0.5861 ± 0.091 a      |
| Ferulik Asit      | 1.1695 ± 0.042 a     | 1.1665 ± 0.057 a      |
| Protokateşik Asit | 1.6888 ± 0.017 a     | 1.6817 ± 0.022 a      |
| Kuersetin         | 0.2694 ± 0.006 a     | 0.2647 ± 0.007 a      |
| Gallik Asit       | 2.9358 ± 0.061 a     | 2.9079 ± 0.078 a      |
| (+)-kateşin       | 2.9105 ± 0.075 a     | 2.8896 ± 0.063 a      |
| Vanilik Asit      | 0.4269 ± 0.009 a     | 0.4250 ± 0.060 a      |
| Kafeik Asit       | 0.6137 ± 0.013 a     | 0.6102 ± 0.019 a      |
| Şirincik Asit     | 1.5274 ± 0.031 a     | 1.5211 ± 0.085 a      |
| (-)- epikateşin   | 0.8621 ± 0.078 a     | 0.8519 ± 0.017 a      |
| p-kumaric Asit    | 1.3356 ± 0.067 a     | 1.3122 ± 0.081 a      |
| Ferulik Asit      | 1.7265 ± 0.029 a     | 1.7240 ± 0.062 a      |
| Protokateşik Asit | 0.7029 ± 0.011 a     | 0.6714 ± 0.061 a      |
| Kuersetin         | 0.3016 ± 0.017 a     | 0.2999 ± 0.008 a      |

(n:4), Sonuçlar mg/L cinsinden verilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler Tukey ikili karşılaştırma testine göre proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.25 Pastörizasyon işlem basamağında örneklerde fenolik bileşik analizi (devam)

|                   |                           | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|-------------------|---------------------------|----------------------|-----------------------|
| Gallik Asit       | Düşük alkollü malt birası | 2.6487 ± 0.041 a     | 2.6409 ± 0.079 a      |
| (+)-kateşin       |                           | 2.2319 ± 0.054 a     | 2.0653 ± 0.094 a      |
| Vanilik Asit      |                           | 0.2513 ± 0.010 a     | 0.2356 ± 0.027 a      |
| Kafeik Asit       |                           | 0.2609 ± 0.005 a     | 0.2558 ± 0.012 a      |
| Şirincik Asit     |                           | 1.3297 ± 0.037 a     | 1.2793 ± 0.024 a      |
| (-)- epikateşin   |                           | 1.0571 ± 0.050 a     | 0.9410 ± 0.027 a      |
| p-kumaric Asit    |                           | 0.4820 ± 0.023 a     | 0.4795 ± 0.034 a      |
| Ferulik Asit      |                           | 0.6942 ± 0.033 a     | 0.6882 ± 0.035 a      |
| Protokateşik Asit |                           | 1.1377 ± 0.036 a     | 1.1334 ± 0.098 a      |
| Kuersetin         |                           | 0.2786 ± 0.007 a     | 0.2773 ± 0.005 a      |
| Gallik Asit       | Aromalı malt birası       | 3.9634 ± 0.065 a     | 3.9532 ± 0.038 a      |
| (+)-kateşin       |                           | 3.6376 ± 0.098 a     | 3.6099 ± 0.076 a      |
| Vanilik Asit      |                           | 1.1972 ± 0.059 a     | 1.1924 ± 0.034 a      |
| Kafeik Asit       |                           | 0.4434 ± 0.069 a     | 0.4044 ± 0.080 a      |
| Şirincik Asit     |                           | 1.9948 ± 0.064 a     | 1.9616 ± 0.038 a      |
| (-)- epikateşin   |                           | 1.2131 ± 0.073 a     | 1.1915 ± 0.056 a      |
| p-kumaric Asit    |                           | 1.5832 ± 0.029 a     | 1.5772 ± 0.068 a      |
| Ferulik Asit      |                           | 2.2009 ± 0.038 a     | 2.2219 ± 0.080 a      |
| Protokateşik Asit |                           | 1.0093 ± 0.089 a     | 0.9914 ± 0.065 a      |
| Kuersetin         |                           | 0.2835 ± 0.018 a     | 0.2849 ± 0.009 a      |
| Gallik Asit       | İthal malt birası         | 2.9007 ± 0.054 a     | 2.7831 ± 0.057 a      |
| (+)-kateşin       |                           | 1.5724 ± 0.031 a     | 1.5620 ± 0.022 a      |
| Vanilik Asit      |                           | 0.5781 ± 0.023 a     | 0.5532 ± 0.097 a      |
| Kafeik Asit       |                           | 0.3902 ± 0.066 a     | 0.3826 ± 0.093 a      |
| Şirincik Asit     |                           | 0.3734 ± 0.009 a     | 0.3591 ± 0.021 a      |
| (-)- epikateşin   |                           | 0.4379 ± 0.032 a     | 0.4239 ± 0.013 a      |
| p-kumaric Asit    |                           | 0.3359 ± 0.007 a     | 0.3252 ± 0.048 a      |
| Ferulik Asit      |                           | 1.6935 ± 0.096 a     | 1.6656 ± 0.025 a      |
| Protokateşik Asit |                           | 0.8103 ± 0.072 a     | 0.7983 ± 0.054 a      |
| Kuersetin         |                           | 0.2673 ± 0.015 a     | 0.2652 ± 0.007 a      |

(n:4), Sonuçlar mg/L cinsinden verilmiştir. Aynı satırdaki küçük harfler Tukey ikili karşılaştırma testine göre proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P<0.05$ ).

Pastörizasyon işlemi sırasında çalışmada kullanılan örneklerin gallik asit miktarları pastörizasyon girişinde ve pastörizasyon çıkışında sırasıyla klasik malt birasında 2.1797mg/L ve 2.1762 mg/L; %100 malt birasında 2.5287 mg/L ve 2.5277 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 2.9358 mg/L ve 2.9079 mg/L, düşük alkollü malt birasında 2.6487 mg/L ve 2.6409 mg/L, aromalı malt birasında 3.9634 mg/L ve 3.9532mg/L ve ithal malt birasında 2.9007 mg/L ve 2.7831 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.25).

Diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda pastörizasyon sonrası tüketime hazır bira örneklerinde gallik asit miktarları 0.3-3.5 mg/L (McMurrough vd. 1984), ortalama 0.034 mg/L (Montanari vd. 1999), 2.59-3.21 mg/L (Gorinstein vd. 2000), ortalama 0.593 mg/L (Floridi vd. 2003), 1.81- 10.39 mg/L ( Zhao vd. 2010) ve 0.99-1.47 mg/L (Marova vd. 2011) şeklinde belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar Montanari vd. (1999), Floridi vd. (2003) ve Marova vd. (2011) çalışmalarında belirledikleri değerlerden daha yüksek olurken diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur.

İncelenen örnekler arasında pastörizasyon işleminde en fazla miktarda gallik asit içeren örnek aromalı malt birasıyken, en az miktarda gallik asit bulunduran örnek ise klasik malt birasıdır. Pastörizasyon uygulaması sırasında gallik asit miktarında en fazla miktarda azalma ithal malt birasında gözlenirken %100 malt birasında ise neredeyse hiç değişim gözlenmemiştir. Bira örneklerinde pastörizasyon uygulamasının gallik asit üzerine olan etkisi incelendiğinde çalışmada kullanılan tüm örneklerde pastörizasyon uygulaması istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır.

(+)-Kateşin miktarları pastörizasyon işlemi sırasında çalışmada kullanılan örneklerde pastörizasyon girişinde ve pastörizasyon çıkışında sırasıyla klasik malt birasında 1.4759mg/L ve 1.4632 mg/L; %100 malt birasında 1.8624 mg/L ve 1.8495 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 2.9105 mg/L ve 2.8896 mg/L, düşük alkollü malt birasında 2.2319 mg/L ve 2.0653 mg/L, aromalı malt birasında 3.6376 mg/L ve

3.6099mg/L ve ithal malt birasında 1.5724 mg/L ve 1.5620 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.25).

Kirby ve Wheeler (1980) tüketime hazır bira üzerine yaptıkları çalışmalarında (+)-kateşin miktarını 3.4- 6.3 mg/L arasında belirlerken; Zhao vd. (2010) (+)-kateşin miktarını 3.4- 6.3 mg/L arasında belirlemektedir. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlar her iki çalışmada elde edilen sonuçlardan düşük bulunmaktadır.

İncelenen örnekler arasında pastörizasyon işleminde en fazla miktarda (+)-kateşin içeren örnek aromalı malt birasıyken, en az miktarda (+)-kateşin içeren örnek ise klasik malt birasıdır. Pastörizasyon uygulaması sırasında (+)-kateşin miktarında en fazla miktarda azalma düşük alkollü malt birasında gözlenirken, en az miktarda azalma ithal malt birasında görülmektedir. Bira örneklerinde pastörizasyon uygulamasının (+)-kateşin üzerine olan etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde çalışmada kullanılan tüm örneklerde görülen değişim önemli değildir.

Çizelge 4.25 incelendiğinde şirincik asit ve (-)-epikateşin miktarlarının bira örneklerinde pastörizasyon öncesinde sırasıyla klasik malt birasında 1.3516 mg/L ve 1.4028 mg/L; %100 malt birasında 1.5522 mg/L ve 1.6702 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 1.5274 mg/L ve 0.8621 mg/L, düşük alkollü malt birasında 1.3297 mg/L ve 1.0571 mg/L, aromalı malt birasında 1.9948 mg/L ve 1.2131 mg/L ve ithal malt birasında 0.3734 mg/L ve 0.4379 mg/L olarak; pastörizasyon işlemi sonunda ise sırasıyla klasik malt birasında 1.2823 mg/L ve 1.4006 mg/L; %100 malt birasında 1.5446 mg/L ve 1.6651 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 1.5211 mg/L ve 0.8519mg/L, düşük alkollü malt birasında 1.2793 mg/L ve 0.9410 mg/L, aromalı malt birasında 1.9616 mg/L ve 1.1915 mg/L ve ithal malt birasında 0.3591 mg/L ve 0.4239mg/L olarak belirlendiği görülmektedir (Çizelge 4.25).

Yapılan diğer çalışmalarda pastörizasyon sonrası tüketime hazır bira örneklerinde şirincik asit miktarları 0.7-2.2 mg/L (McMurrough vd. 1984), ortalama 0.017 mg/L (Montanari vd. 1999), ortalama 0.237 mg/L (Floridi vd. 2003), 0.06- 10.99 mg/L ( Zhao

vd. 2010) ortalama 0.87 mg/L (Piazzon vd. 2010) şeklinde belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen şirincik asit sonuçları Montanari vd. (1999), Floridi vd. (2003) ve Piazzon vd. (2010) çalışmalarında belirledikleri değerlerden daha yüksek olurken diğer çalışmalar ile uyumlu bulunmuştur.

Tüketime hazır biralar ile yapılan çalışmalarda (-)-epikateşin miktarları ise 0.8-1.9 mg/L (Kirby ve Wheeler 1980), 58.8- 72.2 mg/L (Gorinstein vd. 2000), 0.02- 0.73 mg/L (Zhao vd. 2010) ve 2.27-5.59 mg/L (Marova vd. 2011) olarak belirlenmiştir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar Kirby ve Wheeler (1980) çalışmaları ile uyumlu olurken diğer çalışmalarla uyumlu olmamaktadır.

İncelenen örnekler arasında pastörizasyon işleminde en fazla miktarda şirincik asit içeren örnek aromalı malt birasıyken, en fazla miktarda (-)-epikateşin içeren örnek ise %100 malt birasıdır. Her iki fenolik bileşeni de en az miktarda içeren örnek de ithal malt birasıdır. Pastörizasyon uygulaması sırasında şirincik asit miktarında en fazla azalma klasik malt birasında gözlenirken, (-)-epikateşin miktarında en fazla azalma ise düşük alkollü malt birasında görülmektedir. Pastörizasyon uygulaması sırasında şirincik asit miktarında en az azalma ise yüksek alkollü malt birasında gözlenirken, (-)-epikateşin miktarında en az azalma klasik malt birasında görülmektedir. Bira örneklerinde pastörizasyon uygulamasının şirincik asit ve (-)-epikateşin üzerine olan etkisi incelendiğinde çalışmada kullanılan tüm örneklerde görülen değişim istatistiksel olarak önemli değildir.

Aromalı malt birası ve yüksek alkollü malt birasında diğer bira örneklerine göre daha fazla miktarda bulunan p-kumarik asidin pastörizasyon işlemi başlangıcında yüksek alkollü malt birası ve aromalı malt birasında miktarları sırasıyla 1.3356 mg/L ve 1.5832 mg/L olurken diğer örneklerdeki miktarları 0.3359 - 0.6849 mg/L aralığında değişirken pastörizasyon işlemi sonucunda p-kumarik asidin yüksek alkollü malt birası ve aromalı malt birasında miktarları sırasıyla 1.3122 mg/L ve 1.5772 mg/L, diğer örneklerdeki miktarları 0.3252 - 0.6954 mg/L aralığında değişmektedir (Çizelge 4.25). İthal malt birası en az miktarda p-kumarik asit içerirken, p-kumarik asit miktarında pastörizasyon

işlemi boyunca en fazla değişim yüksek alkollü malt birasında gözlenmiştir. Klasik malt birası hariç örneklerin hepsinde pastörizasyon başlangıcı ile sonu arasında azalma gözlenirken; klasik malt birasında artış gözlenmiştir. Bira örneklerinde pastörizasyon uygulamasının p-kumarik asit üzerine olan etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde görülen değişim istatistiksel olarak önem taşımamaktadır.

Pastörizasyon sonrası tüketime hazır bira örneklerinde p-kumarik asit miktarları 0.6-4.6 mg/L (McMurrough vd. 1984), ortalama 0.129 mg/L (Montanari vd. 1999), 1.75- 2.45 mg/L (Gorinstein vd. 2000), ortalama 1.364 mg/L (Floridi vd. 2003), 0.34- 0.76 mg/L (Nardini ve Ghiselli 2004), ortalama 1.36 mg/L (Piazzon vd. 2010) ve 0.01- 1.12 mg/L (Zhao vd. 2010) şeklinde belirtilmektedir.

Yapılan çalışmada belirlenen p-kumarik asit miktarları, diğer çalışmalar ile kıyaslandığında tüm bira örneklerinde Gorinstein vd. (2000) çalışmasından daha düşük; Montanari vd. (1999) çalışmasından daha yüksek değerlerde belirlenmiştir. %100 malt birası ve ithal malt birası hariç, tüm örnekler McMurrough vd. (1984); yüksek alkollü malt bira örneği Floridi vd. (2003) ve Piazzon vd. (2010); aromalı ve yüksek alkollü malt biraları hariç tüm örnekler ise Nardini ve Ghiselli (2004) ve Zhao vd. (2010) çalışmaları ile uyum göstermektedir.

Ferulik asit miktarları pastörizasyon işlemi sırasında çalışmada kullanılan örneklerde pastörizasyon girişinde ve pastörizasyon çıkışında sırasıyla klasik malt birasında 1.2634mg/L ve 1.2628mg/L; %100 malt birasında 1.1695 mg/L ve 1.1665 mg/L, yüksek alkollü malt birasında 1.7265 mg/L ve 1.7240 mg/L, düşük alkollü malt birasında 0.6942 mg/L ve 0.6882 mg/L, aromalı malt birasında 2.2009 mg/L ve 2.2219mg/L ve ithal malt birasında 1.6935 mg/L ve 1.6656 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.25). İncelenen örnekler arasında pastörizasyon işleminde en fazla miktarda ferulik asit içeren örnek aromalı malt birasıyken, en az miktarda ferulik asit içeren örnek ise düşük alkollü malt birasıdır. Pastörizasyon uygulaması sırasında ferulik asit miktarında en fazla miktarda azalma ithal malt birasında gözlenirken, klasik malt birasında neredeyse hiç değişim görülmemektedir. Bira örneklerinde pastörizasyon

uygulamasının ferulik asit üzerine olan etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde çalışmada kullanılan tüm örneklerde görülen değişim önemli olmamaktadır.

Pastörizasyon sonrası tüketime hazır bira örneklerinde ferulik asit miktarları ise 1.1-10.8 mg/L (McMurrough vd. 1984), ortalama 0.274 mg/L (Montanari vd. 1999), 6.1-7.5 mg/L (Gorinstein vd. 2000), ortalama 2.410 mg/L (Floridi vd. 2003), 1.36- 2.31 mg/L (Nardini ve Ghiselli 2004), ortalama 16.6 mg/L (Piazzon vd. 2010) ve 0.51- 3.13 mg/L (Zhao vd. 2010) şeklinde belirtilmektedir.

Yapılan çalışmada belirlenen ferulik asit miktarları diğer çalışmalar ile kıyaslandığında tüm bira örnekleri Gorinstein vd. (2000), Floridi vd. (2003) ve Piazzon vd. (2010) çalışmalarından daha düşük; Montanari vd. (1999) çalışmasından daha yüksek değerlerde belirlenmiştir. Düşük alkollü malt birası hariç tüm bira örnekleri McMurrough vd. (1984) ve Nardini ve Ghiselli (2004) ile tüm bira örnekleri de Zhao vd. (2010) ile uyum göstermektedir.

Pastörizasyon işlemi sırasında çalışmada kullanılan örneklerde protokateşik asit miktarları pastörizasyon girişinde ve pastörizasyon çıkışında sırasıyla klasik malt birasında 0.7312 mg/L ve 0.7262 mg/L; %100 malt birasında 1.6888 mg/L ve 1.6817mg/L, yüksek alkollü malt birasında 0.7029 mg/L ve 0.6714 mg/L, düşük alkollü malt birasında 1.1377 mg/L ve 1.1334 mg/L, aromalı malt birasında 1.0093 mg/L ve 0.9914 mg/L ve ithal malt birasında 0.8103 mg/L ve 0.7983 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.25).

Pastörizasyon sonrası tüketime hazır bira örneklerinde protokateşik asit miktarları ise 0.2-1.2 mg/L (McMurrough vd. 1984), ortalama 0.020 mg/L (Montanari vd. 1999), ortalama 0.840 mg/L (Floridi vd. 2003) ve 0.02- 1.30 mg/L (Zhao vd. 2010) şeklinde belirtilmektedir.

Yapılan çalışmada belirlenen protokateşik asit miktarları diğer çalışmalar ile kıyaslandığında tüm bira örnekleri Montanari vd. (1999) çalışmasında elde ettiği

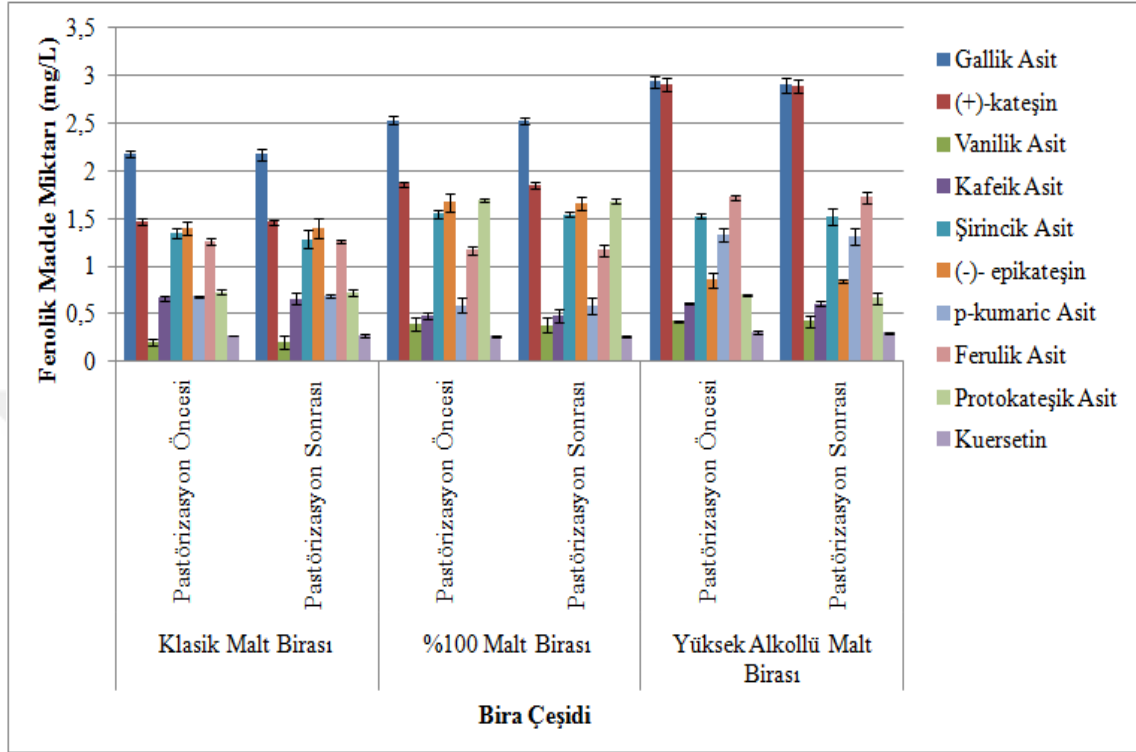
değerlerden yüksek bulunurken; tüm örneklerden elde edilen sonuçlar Zhao vd. (2010) ile uyumlu olmaktadır. %100 malt birası hariç tüm örnekler McMurrough vd. (1984) ile uyumlu olurken; ithal malt birası sonuçları ise Floridi vd. (2003) ile uyum göstermektedir.

İncelenen örnekler arasında pastörizasyon işleminde en fazla miktarda protokateşik asit içeren örnek %100 malt birasıyken, en az miktarda protokateşik asit içeren örnek ise yüksek alkollü malt birasıdır. Pastörizasyon uygulaması sırasında protokateşik asit miktarında en fazla miktarda azalma yüksek alkollü malt birasında gözlenirken düşük alkollü malt birasında ise en az miktarda azalma gözlenmiştir. Bira örneklerinde pastörizasyon uygulamasının protokateşik asit üzerine olan etkisi incelendiğinde çalışmada kullanılan tüm örneklerde pastörizasyon uygulaması istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmamıştır.

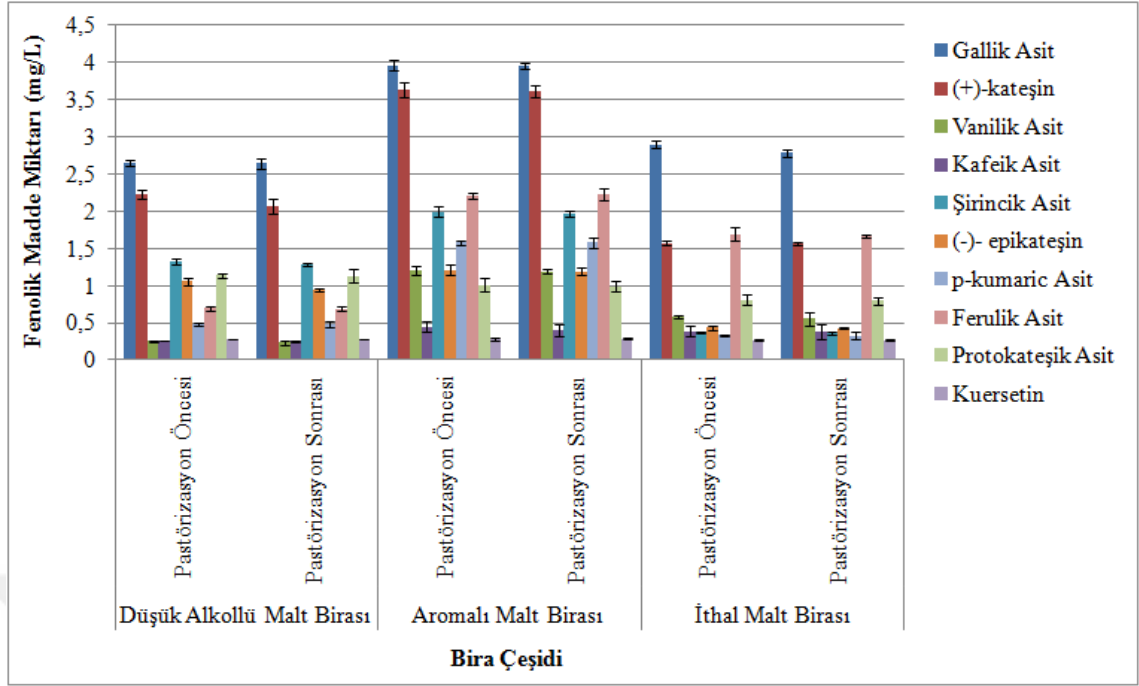
Shahidi ve Naczk (1995, 2004) genellikle tüketime hazır biralarda kateşin, epikateşin ve gallokateşin miktarlarının 15 mg/L'yi, kateşin grubu toplam fenol miktarının ise 40 mg/L'yi geçmediğini belirtmektedir. Flavonlar ve flavonoller grubundan kamferol, kuersetin, iso-kuersetin, mirisetin ve rutin gibi fenolik bileşenlerin bira içerisindeki miktarlarının ise 1 mg/L'den daha az miktarda olduğunu ifade etmektedir. Shahidi ve Naczk (1995, 2004) İngiliz, Alman, Amerikan ve İrlanda biraları üzerine yaptıkları çalışmalarında gallik asit miktarının 0.3-3.5 mg/L, protokateşik asit miktarını 0.2- 1.2 mg/L, vanilik asit miktarını 1.5-12.5 mg/L, şirincik asit miktarını 0.7-2.2 mg/L, kafeik asit miktarını 0.1-1.0 mg/L, p-kumarik asit miktarını 1.0-4.6 mg/L ve ferulik asit miktarını ise 1.1-10.8 mg/L arasında belirlemektedir.

Pastörizasyon sonrası tüketime hazır bira örneklerinde diğer fenolik bileşenler için yapılan çalışmalarda kuersitin miktarlar 0.82-1.08 mg/L (Gorinstein vd. 2000) ve 0.41-0.46 mg/L (Marova vd. 2011); vanilik asit miktarları 1.5-12.7 mg/L (McMurrough vd. 1984), ortalama 0.97 mg/L (Montanari vd. 1999), ortalama 0.737 mg/L (Floridi vd. 2003), 0.59- 0.85 mg/L(Nardini ve Ghiselli 2004), ortalama 1.58 mg/L (Piazzon vd. 2010) ve 0.22- 2.98 mg/L (Zhao vd. 2010) ve kafeik asit miktarları ise ortalama 0.006mg/L (Montanari vd. 1999), ortalama 0.566 mg/L (Floridi vd. 2003), 0.15- 0.20

mg/L(Nardini ve Ghiselli 2004), ortalama 1.51 mg/L (Piazzon vd. 2010) ve 0.08- 1.22 mg/L (Zhao vd. 2010) şeklinde belirtilmektedir.



Şekil 4.21 Klasik, %100 ve yüksek alkollü malt birası örnekleri için pastörizasyon işlem basamağında fenolik madde dağılımı



Şekil 4.22 Düşük alkollü, aromalı ve ithal malt birası örnekleri için pastörizasyon işlem basamağında fenolik madde dağılımı

Pastörizasyon işlemi genel olarak incelendiğinde bira örneklerinde en fazla miktarda bulunan fenolik bileşik gallik asit olmaktadır. Gallik asidin ardından, (+)- kateşin ve ferulik asit en fazla miktarlarda bulunurken, şirincik asit, (-)-epikateşin, protokateşik asit ve p-kumarik asit de bira örneklerinde pastörizasyon işlemi öncesinde bulunan fenolik bileşenlerdir. Pastörizasyon işlemi başlangıcında ve sonunda fenolik bileşiklerin miktarlarında azalma görölse de hiçbir fenolik bileşikte bu görülen azalma istatistiksel olarak önemli olmamaktadır. Yani pastörizasyon işleminin örneklerin fenolik bileşik dağılımına bir etkisi bulunmamaktadır.

Genel olarak bira örneklerindeki fenolik bileşen dağılımı incelendiğinde ise klasik malt birasında pastörizasyon öncesinde ve sonrasında en yoğun miktarda bulunan fenolik bileşen gallik asit olurken; (+)-kateşin, şirincik asit, (-)-epikateşin ve ferulik asit de diğer fenollere kıyasla yüksek miktarda bulunmaktadır. Pastörizasyon işlemi sırasında en fazla miktarda azalma şirincik asitte görölürken; vanilik asit ve ferulik asit miktarları neredeyse hiç değişmemektedir. Pastörizasyon işlemi sırasında sadece p-kumarik asit miktarında önemsiz bir artış görölmektedir.

Klasik malt birasında kaynatma işlemi başlangıcından pastörizasyon işlemi sonuna kadar olan genel bira üretim prosesinde fenolik bileşenlerde meydana gelen değişim incelendiğinde ise tüm proses boyunca kuersetin hariç tüm fenolik bileşenlerin başlangıçtaki miktarlarının altına indiği görülmektedir. Bira üretim prosesi boyunca en fazla miktardaki azalma (+)-kateşinde; en az miktarda değişim ise kuersetinde görülmektedir. (+)-Kateşinin ardından şirincik asit, protokateşik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve gallik asit de diğer fenolik bileşiklere kıyasla tüm proses boyunca fazla değişim göstermektedir.

Benzer şekilde %100 malt birasında da pastörizasyon öncesinde ve sonrasında en yoğun miktarda bulunan fenolik bileşen gallik asit olurken, (+)-kateşin, (-)-epikateşin, şirincik asit, ferulik asit ve protokateşik asit de %100 malt birasında oldukça fazla miktarda bulunan diğer fenolik bileşiklerdir. Pastörizasyon uygulaması sırasında hiçbir fenolik bileşiğin miktarında artış görülmemektedir. Pastörizasyon işlemi sırasında %100 malt birasında en fazla miktarda azalma (+)-kateşinde görülürken; diğer fenolik bileşiklerin miktarları neredeyse hiç değişmemektedir.

%100 malt birasında kaynatma işlemi başlangıcından pastörizasyon işlemi sonuna kadar olan genel bira üretim prosesinde fenolik bileşenlerde meydana gelen değişim incelendiğinde ise klasik malt birasında olduğu gibi tüm proses boyunca kuersetin hariç tüm fenolik bileşenlerin başlangıçtaki miktarlarında azalma görülmektedir. Bira üretim prosesi boyunca en fazla miktardaki azalma (-)-epikateşinde görülürken (+)-kateşin miktarında neredeyse (-)-epikateşin miktarı kadar değişmektedir. Tüm bira üretim prosesi sırasında en az miktarda değişim ise kuersetinde görülmektedir. Diğer fenolik bileşiklere kıyasla protokateşik asit ve p-kumarik asit de tüm proses boyunca daha fazla değişim göstermektedir.

Yüksek alkollü ve düşük alkollü malt biralarının fenolik dağılımları incelendiğinde ise bu çeşitlerde pastörizasyon uygulaması boyunca gallik asit ve (+)-kateşin en fazla miktardaki fenolik bileşenler olurken, her iki çeşitte de pastörizasyon işleminde diğer fenoliklere oranla daha yüksek miktarda şirincik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit

bulunduğu belirlenmiştir. Yüksek alkollü bira çeşidinde tüm pastörizasyon prosesinde en fazla miktarda değişim gösteren fenolik bileşen protokateşik asit olurken, düşük alkollü bira çeşidinde ise (+)-kateşin olduğu belirlenmiştir. Yüksek alkollü malt birasında gallik asit, (+)-kateşin, (-)-epikateşin ve p-kumarik asit miktarlarında; düşük alkollü malt birasında ise (-)-epikateşin, şirincik asit ve vanilik asit miktarlarında çok az miktarda azalma gözlenirken her iki çeşitte de diğer fenolik bileşenlerde neredeyse hiç değişim gözlenmemiştir.

Yüksek alkollü ve düşük alkollü malt biralarında kaynatma işlemi başlangıcından pastörizasyon işlemi sonuna kadar olan genel bira üretim prosesinde fenolik bileşenlerde meydana gelen değişim incelendiğinde tüm proses boyunca yüksek alkollü malt birasında kuersetin hariç tüm fenolik bileşenlerin; düşük alkollü malt birasında ise incelenen bütün fenolik bileşiklerin miktarları başlangıçtaki miktarlarına göre azalma göstermektedir. Bira retim prosesi boyunca yüksek alkollü malt birasında en fazla miktardaki azalma protokateşik asitte görülürken, (+)-kateşin miktarı da neredeyse protokateşik asit miktarı kadar değişmektedir. Düşük alkollü malt birasında ise en fazla miktarda değişim (+)-kateşinde görülmekte; (+)-kateşini p-kumarik asit ve şirincik asit takip etmektedir. Tüm bira üretim prosesi sırasında her iki bira çeşidi için de en az miktarda değişim ise kuersetinde görülmektedir. Kuersetin miktarının proses başlangıcındaki değeri ile proses sonundaki değeri yüksek alkollü bira örneğinde artış gösterirken, düşük alkollü bira örneğinde azalma göstermiştir.

Pastörizasyon işlemi başlangıcında aromalı malt şirasında da gallik asit ve (+)- kateşin en fazla miktarda bulunan fenolik bileşiklerdir. Bunun yanı sıra şirincik asit, p-kumarik asit ve ferulik asit de diğer fenolik bileşenlerden daha fazla miktarda bulunmaktadır. Aromalı malt birasında pastörizasyon işlemi nedeni ile en fazla miktardaki azalma kafeik asit ve şirincik asitte görülmektedir. Vanilik asit, p-kumarik asit ve kuersetin pastörizasyon uygulaması sırasında hemen hemen hiç değişmezken, diğer fenolik bileşiklerde çok az miktarda değişim grlmştir.

Aromalı malt birasında kaynatma işlemi başlangıcından pastörizasyon işlemi sonuna kadar olan genel bira üretim prosesinde fenolik bileşenlerde meydana gelen değişim incelendiğinde ise tüm proses boyunca fenolik bileşenlerin farklı değişimler gösterdiği görülmektedir. Gallik asit, vanilik asit ve kuersetin dışarıdan eklenen aroma maddesi nedeniyle başlangıçtaki miktarlarının daha üzerinde çıkarken diğer fenolik bileşikler bira üretim prosesi sonunda başlangıçtaki miktarlarının altına inmektedir. Bira üretim prosesi boyunca en fazla miktardaki değişim gallik asitte; en az miktarda değişim ise kuersetinde görülmektedir.

İthal malt birasında ise pastörizasyon uygulaması süresince gallik asit en fazla miktarda bulunurken (+)-kateşin ve ferulik asit haricindeki diğer fenolik bileşikler çok az miktarda bulunmaktadır. Pastörizasyon prosesi sırasında en yoğun azalma yine örnek içerisinde en fazla miktarda bulunan gallik asitte olmaktadır. Diğer bütün fenolik bileşenler çeşitli miktarlarda azalma göstermiştir. İthal malt birasında pastörizasyon prosesinde kafeik asit ve kuersetin miktarı neredeyse hiç değişmemiştir.

İthal malt birasında kaynatma işlemi başlangıcından pastörizasyon işlemi sonuna kadar olan genel bira üretim prosesinde fenolik bileşenlerde meydana gelen değişim incelendiğinde ise tüm proses boyunca fenolik bileşenlerin miktarının azaldığı görülmektedir. Tüm bira üretim prosesi sırasında en fazla miktardaki azalma (+)-kateşin miktarında meydana gelirken gallik asit ve ferulik asit miktarları da oldukça fazla miktarda azalmıştır. İthal malt birası diğer bira çeşitleriyle kıyaslandığında fenolik bileşimi en fazla miktarda azalan çeşit olmaktadır.

Bira örneklerinin fenolik profillerinin farklı olması kullanılan ham madde, ekstrakt miktarı, uygulanan proses koşullarının farklı olması gibi nedenlerden kaynaklı olabilmektedir (Zhao vd. 2010).

Bira üretim prosesine genel olarak bakıldığında tüm proses süresince fenolik içerik yaklaşık %28 azalmaktadır (Fantozzi vd. 1998). Tüm proses boyunca bu fenolik

içerikten tanenlerde %91 oranında ve flavonoidlerde %75 oranında azalma gözlenmektedir (Fumi vd. 2011).

#### **4.4 Antioksidan Aktivite tayini**

Süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz gibi enzimler; albümin, ferritin ve diğer protein molekülleri gibi büyük moleküller; askorbik asit, glutatyon, tokoferol, polifenoller gibi küçük moleküller ve melatonin, östrojen gibi bazı hormonlar biyolojik örneklerde antioksidan kaynağı olan dört temel kaynaktır. Aynı zamanda organizmada  $HO^{\bullet}$ ,  $NO^{\bullet}$ ,  $^1O_2$ ,  $RO(O)^{\bullet}$  gibi serbest radikaller ve oksidan kaynakları da bulunmaktadır. Antioksidan bileşikler oksidan radikalleri hidrojen atom transferi (HAT) ve tek elektron transferi (SET) olarak iki temel mekanizma ile deaktif hale getirmektedir. HAT mekanizması antioksidan bileşiğin serbest radikallere hidrojen verebilme yeteneğini ölçerken, SET mekanizması potansiyel antioksidan bileşiğin metalikarbonil ya da radikal herhangi bir bileşiği indirgeyebilmek için bir elektron transfer edebilme yeteneğini ölçmektedir. DPPH radikali süpürme kapasitesi ve Trolox eşdeğeri antioksidant kapasite yöntemleri genellikle SET mekanizması ile tayin yapmaktadır (Prior vd. 2005).

Örneklerde farklı proses basamaklarının toplam antioksidan aktivite üzerine etkisi DPPH radikal süpürme aktivitesi olarak belirlenmiştir. Proses basamaklarının toplam antioksidan aktivite üzerine etkisi çizelge 4.26-4.28’de, uygulanan proses basamaklarında toplam antioksidan madde miktarındaki değişim ise grafiksel olarak şekil 4.23 - 4.25’de verilmiştir.

Çalışmada incelenen proses basamaklarının klasik malt birası, %100 malt birası, yüksek alkollü malt birası, düşük alkollü malt birası, aromalı malt birası ve ithal malt birası örneklerinin toplam antioksidan aktivitesi üzerindeki etkisi proses boyunca %inhibisyon değişimi olarak toplu olarak EK 19-24’de görülmektedir.

Biranın antioksidan aktivitesinin kaynağının yaklaşık %70 kadarını arpadan ve geri kalanını şerbetçi otundan gelen fenolik bileşenler oluşturmaktadır. (Montanari vd. 1999, Floridi vd. 2003, Piazzon vd. 2010, Gorjanovic vd. 2010, Zhao 2014). Bira içerisindeki fenolik bileşenlerin miktarı ve antioksidan aktivitesi bira üretiminde kullanılan ham maddenin kalitesine, miktarına, çeşidine bağlı olduğu kadar uygulanan üretim prosesine de bağlıdır (Piazzon vd. 2010).

Malt içerisinde antioksidatif özellikleri nedeniyle önemli rol oynayan pek çok bileşenin kaynağı, arpa içerisinde bulunan fenolik bileşenler ve malt üretimi sırasında meydana gelen maillard reaksiyon ürünleridir. Arpa içerisinde antioksidan aktivite gösteren temel fenolik bileşen grubu monomer ve polimer yapıda görülebilen flavan -3-ollerdir (Goupy vd. 1999).

Biraların antioksidan aktivitesi ile arpa ve şerbetçi otundan kaynaklanan yüksek polifenolik içerikleri arasında bir korelasyon olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir (Piazzon vd. 2010, Dasgupta ve Klein 2014 b).

Bira üretim prosesi sırasında polifenollerin reaksiyonlarına bağlı olarak, fenolik içerik ve buna bağlı olarak da antioksidan aktivite değişim göstermektedir (Leitao vd. 2012). Leitao vd. (2011) antioksidan aktivite gösteren aktif fenolik bileşenlerin antioksidan aktivite sıralamasını gallik asit > epikateşin > kafeik asit > kateşin > sinapik asit > klorojenik asit > protokateşik asit > ferulik asit şeklinde yapmıştır. Çalışmada kullanılan örneklerin antioksidan aktivitelerinin prosese bağlı değişiminin nedenlerinden birinin, bu fenolik bileşenlerin miktarlarının proses içerisindeki değişimi olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 4.26 Kaynatma işlem basamağında şıra örneklerinde DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan aktivite

|                                 | Kaynatma Başı     | Kaynatma Sonu     | Soğutma          |
|---------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| Klasik malt bira şırası         | 0.4384±0.00205Ab  | 0.4559±0.00293Aa  | 0.4567±0.00184Aa |
| %100 malt bira şırası           | 0.4177±0.00346 Bc | 0.4378±0.00441Cb  | 0.4462±0.00492Ba |
| Yüksek alkollü malt bira şırası | 0.3982±0.00518Db  | 0.4463±0.00193Ba  | 0.4473±0.00486Ba |
| Düşük alkollü malt bira şırası  | 0.4097±0.00468Cb  | 0.4381±0.00412Ca  | 0.4439±0.00450Ba |
| Aromalı malt bira şırası        | 0.4061±0.00410Cb  | 0.4370 ±0.00494Ca | 0.4333±0.00307Ca |
| İthal malt bira şırası          | 0.2926±0.00405Ec  | 0.3289±0.00542Db  | 0.3633±0.00454Da |

(n:4), Sonuçlar mmol/L Trolox eşdeğeri olarak ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı sütündaki büyük harfler bira çeşitleri arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P<0.05$ ).

Klasik malt bira şırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite miktarları sırasıyla %inhibisyon olarak %88.5728, %91.7307 ve %91.8706 olurken Trolox eşdeğeri olarak 0.4384 mmol/L, 0.4559 mmol/L ve 0.4567 mmol/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.26, EK 19).

Kaynatma işleminin klasik malt bira şırası üzerine etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önemliyken; soğutma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önemli değildir. Kaynatma işlemi sırasında klasik malt bira şırasında antioksidan aktivite, % inhibisyon düzeyinde 3.1579 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %3.99 oranında; soğutma işleminde ise %inhibisyon düzeyinde 0.1399 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %0.17 oranında artış

göstermektedir. Kaynatma işlemi süresince değişim oranı hesaplandığında ise toplamda %inhibisyon düzeyinde 3.2978 birim artarken, trolox eşdeğer miktarı olarak %4.17 oranında artış görülmektedir.

%100 malt bira şırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının, DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite miktarları sırasıyla %inhibisyon olarak %84.8436, %88.3309 ve %89.9674 olurken Trolox eşdeğeri olarak 0.4177 mmol/L, 0.4378 mmol/L ve 0.4462 mmol/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.26, EK 20).

Kaynatma işleminin %100 malt bira şırası üzerine etkisi incelendiğinde kaynatma ve soğutma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önemlidir. Kaynatma işlemi sırasında %100 malt bira şırasında antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 3.4873 birim artarken, trolox eşdeğer miktarı olarak %4.82 oranında; soğutma işleminde ise %inhibisyon düzeyinde 1.6370 birim artarken, trolox eşdeğer miktarı olarak %1.92 oranında artış göstermiştir. Kaynatma işlemi süresince değişim oranı hesaplandığında ise toplamda %inhibisyon düzeyinde 5.1243 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %6.83 oranında artış görülmektedir.

Yüksek alkollü malt bira şırası örneğinde DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite üzerine kaynatma proses basamaklarının etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite miktarları kaynatma başında %inhibisyon olarak %81.3187 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.3982 mmol/L; kaynatma sonunda %inhibisyon olarak %90.0032 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.4463 mmol/L ve soğutma işlemi sonunda %inhibisyon olarak %90.1661 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.4473mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.26, EK 21).

Yüksek alkollü malt bira şırası üzerine kaynatma işleminin etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önemliyken; soğutma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önemsizdir. Kaynatma işlemi sırasında

yüksek alkollü malt bira sırasında antioksidan aktivite, %inhibisyon düzeyinde 8.6845 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak % oranında; soğutma işleminde ise %12.08 inhibisyon düzeyinde 0.1629 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %0.22 oranında artış göstermiştir. Kaynatma işlemi süresince değişim oranı hesaplandığında ise toplamda %inhibisyon düzeyinde 8.8474 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %12.33 oranında artış görülmektedir.

Düşük alkollü malt bira şırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite miktarları sırasıyla %inhibisyon olarak %83.4059, %89.0385 ve %89.5679 olurken Trolox eşdeğeri olarak 0.4097 mmol/L, 0.4381 mmol/L ve 0.4439 mmol/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.26, EK 22).

Kaynatma işleminin düşük alkollü malt bira şırası üzerine etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde kaynatma işlemi sırasında gözlenen artış önemliyken; soğutma işlemi sırasında gözlenen artış önemli değildir. Kaynatma işlemi sırasında düşük alkollü malt bira şırasında antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 5.6326 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %6.93 oranında; soğutma işleminde ise %inhibisyon düzeyinde 0.5294 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %1.32 oranında artış göstermiştir. Kaynatma işlemi süresince değişim oranı hesaplandığında ise toplamda %inhibisyon düzeyinde 6.1620 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak % 8.35 oranında artış görülmektedir.

Aromalı malt bira şırası örneğinde kaynatma başı, kaynatma sonu ve soğutma sonu proses basamaklarının DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite miktarları sırasıyla %inhibisyon olarak %82.7432 %88.3079 ve %87.6534 olurken Trolox eşdeğeri olarak 0.4061 mmol/L, 0.4370 mmol/L ve 0.4333 mmol/L olduğu görülmektedir (Çizelge 4.26, EK 23).

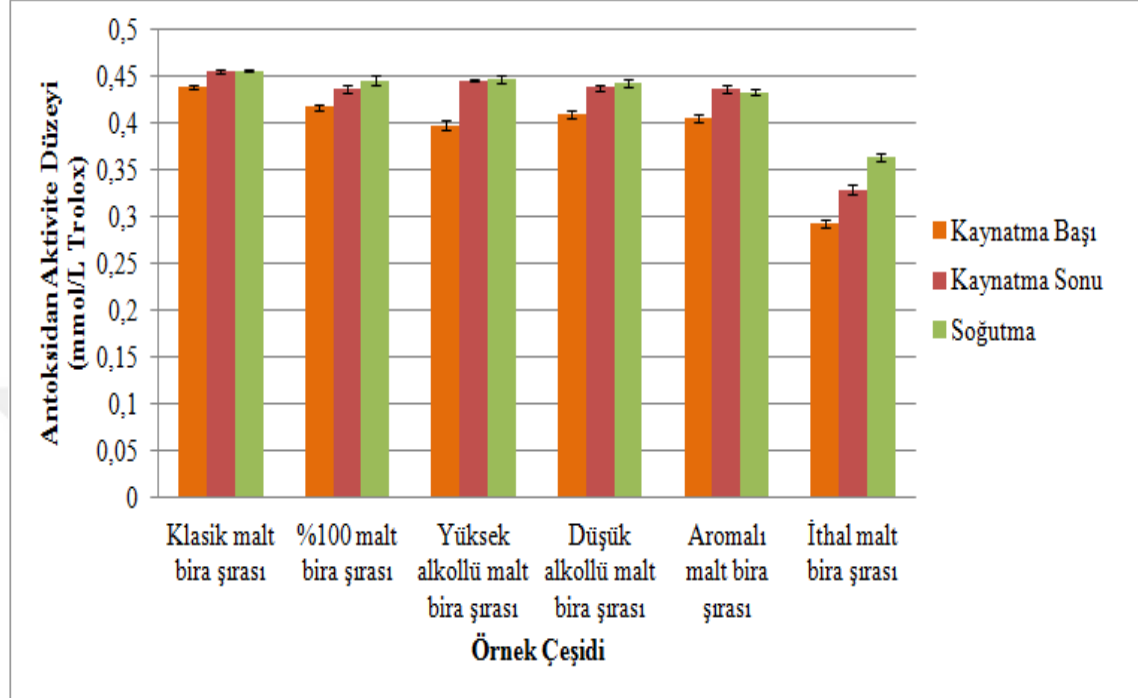
Aromalı malt bira şırası üzerine kaynatma işleminin etkisi incelendiğinde kaynatma işlemi sırasında gözlenen artış istatistiksel olarak önemliyken; soğutma işlemi sırasında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemli değildir. Kaynatma işlemi sırasında düşük alkollü malt bira şırasında antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 5.5647 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %7.61 oranında; soğutma işleminde ise %inhibisyon düzeyinde 0.6545 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %0.85 oranında azalma göstermiştir. Kaynatma işlemi süresince değişim oranı hesaplandığında ise toplamda %inhibisyon düzeyinde 4.9102 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak % 6.70 oranında artış görülmektedir.

İthal malt bira şırası örneğinde DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite üzerine kaynatma proses basamaklarının etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite miktarları kaynatma başında %inhibisyon olarak %62.2974 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.2926 mmol/L; kaynatma sonunda %inhibisyon olarak %68.8542 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.3289 mmol/L ve soğutma işlemi sonunda %inhibisyon olarak %75.0443 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.3633mmol/L olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.26, EK 24).

Kaynatma işleminin ithal malt bira şırası üzerine etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde kaynatma ve soğutma işlemleri sırasında gözlenen artış önemli olmaktadır. Kaynatma işlemi sırasında ithal malt bira şırasında antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 6.5568 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %12.41 oranında; soğutma işleminde ise % inhibisyon düzeyinde 6.1901 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %10.46 oranında artış göstermiştir. Kaynatma işlemi süresince değişim oranı hesaplandığında ise toplamda %inhibisyon düzeyinde 12.7469 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak % 24.16 oranında artış görülmektedir.

Bira içerisindeki antioksidan aktivitenin temel kaynaklarından birisi kaynatma işlemi sırasında malt ve şerbetçi otundan şıraya geçen fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşiklerden daha az miktarda olsalar da yine arpa ve malt ekstraktlarının içerdiği karotenoid (lutein ve zeaxanthin), tokoferoller ve askorbik asit miktarına ve kaynatma

işlemi sırasında meydana gelen Maillard reaksiyon ürünleri ve sülfidler de biranın antioksidan aktivitesini etkilemektedir (Goupy vd. 1999, Piazzon vd. 2010, Zhao 2014).



Şekil 4.23 Şıra örneklerinin kaynatma işlem basamağında DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite

Kaynatma işlem basamağının şıra örneklerine olan etkisi incelendiğinde tüm örneklerde görülen ortak özellik, kaynatma başı ve kaynatma sonu arasında toplam antioksidan aktivitenin istatistiksel olarak önemli ölçüle artması ve soğutma sonunda ise aromalı malt bira şırası hariç genel olarak artışın görülmesidir. %100 malt bira şırası ve ithal malt bira şırası örnekleri hariç soğutma işlem basamağında toplam antioksidan aktivitede meydana gelen değişimler istatistiksel olarak önemli olmamaktadır. Kaynatma işlem basamağının her iki aşamasında da ithal malt bira şırası örnekleri en yüksek miktarda artışı göstermektedir. Soğutma işleminde yine toplam fenolik madde miktarında olduğu gibi antioksidan aktivitede de tek azalma aromalı malt bira şırasında meydana gelmektedir.

Klasik malt, %100 malt, yüksek alkollü malt, düşük alkollü malt, aromalı malt ve ithal malt bira şıraları birbirleri ile karşılaştırıldıklarında kaynatma başında, kaynatma

sonunda ve soğutma işlemi sonunda en yüksek toplam antioksidan aktivite miktarının klasik malt bira sırasında olduğu görülmektedir. Kaynatma prosesi içerisindeki basamaklar bir arada değerlendirildiğinde bira sıralarının en yüksek antioksidan aktivite miktarları aromalı malt bira sırası hariç tutulmak üzere soğutma işlemi sonunda görülmektedir. Aromalı malt bira sırasında ise en yüksek antioksidan aktivite miktarı kaynatma işlemi sonunda görülmekte ve diğer örneklerin aksine soğutma işlemi sırasında artmamaktadır.

Kateşin gibi flavonoidler grubuna ait fenolik bileşikler flavonoid olmayan fenolik bileşiklere göre daha fazla antioksidan aktivite göstermekte ve bu fenoliklerin miktarındaki değişim antioksidan aktiviteyi etkilemektedir (Zhao vd. 2010). Leita vd. (2011 ve 2012) çalışmalarında antioksidan aktivite gösteren polifenoller arasında protokateşik asit, kateşin, klorojenik asit, kafeik asit, epikateşin, ferulik asit ve sinapik asit tanımlamış ve kateşin, kafeik asit, ferulik asit ve sinapik asidin antioksidan aktivite üzerinde kayda değer katkı sağladığını belirtmiştir.

Çalışmada kullanılan örneklerin hepsinde kaynatma işlemi sırasında toplam fenolik madde miktarlarında ve başta (+)-kateşin miktarında önemli derecede olmak üzere bahsedilen fenolik bileşiklerin miktarlarında artış olduğu görülmektedir. Çalışmada kullanılan örneklerdeki antioksidan aktivitedeki değişimlere, toplam fenolik madde miktarındaki değişimlerin ve (+)-kateşin ve ferulik asit gibi antioksidan özellik gösteren fenolik bileşenlerin miktarlarının değişiminin etkili olabileceği düşünülmektedir.

Şerbetçi otunda bulunan  $\alpha$ - ve  $\beta$ - asitleri kuvvetli radikal yakalama kapasitesine sahiptir. Ancak  $\alpha$ -asitlerinin iso-  $\alpha$ - asitlerine izomerizasyonu sırasında antioksidatif kapasiteleri düşmektedir (Wietstock vd. 2010). Kaynatma işlemi sırasında şerbetçi otu tanelerinden  $\alpha$ -asitleri ekstrakte edilmekte ve çözünür form olan iso-  $\alpha$ -asitlerine dönüşmektedir (O'Rourke 2002a,b).

Yapılan literatür çalışmaları kıyaslandığında; sıra bileşiminde bulunan başta şerbetçi otundan gelen bileşikler, malttan gelen fenolik bileşenler ve Maillard reaksiyon ürünleri

olmak üzere pek çok faktörün, antioksidan aktiviteye etkide bulunduğu görülmektedir. Bu faktörlerden bir kısmı antioksidan aktiviteyi azaltırken, bazıları artırma eğilimindedir. Bu durumda çalışmada elde edilen sonuçlardaki artış, antioksidan aktiviteyi artırma yönünde etki eden faktörlerin baskın olduğu şeklinde açıklanabilmektedir.

Çizelge 4.27 Filtrasyon işlem basamağında bira örneklerinde DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite

|                               | Kieselguhr Filtre<br>Giriş | Kieselguhr Filtre<br>Çıkış | PVPP Filtre Çıkış | Çekme Tankı      |
|-------------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------|------------------|
| Klasik malt birası            | 0.4579±0.00498Aa           | 0.4597±0.00354Aa           | 0.4346±0.00339Bb  | 0.4301±0.00416Bc |
| %100 malt birası              | 0.4565±0.00359Aa           | 0.4608±0.00177Aa           | 0.4464±0.00291Ab  | 0.4368±0.00370Ac |
| Yüksek alkollü<br>malt birası | 0.4307±0.00134Ba           | 0.4342±0.00294Ba           | 0.4181±0.00373Cb  | 0.4128±0.00218Cc |
| Düşük alkollü<br>malt birası  | 0.4568±0.00210Aa           | 0.4593±0.00440Aa           | 0.4065±0.00349Db  | 0.3942±0.00440Dc |
| Aromalı malt<br>birası        | 0.4124±0.00397Cb           | 0.3698±0.00312Dd           | 0.3890±0.00307Ec  | 0.4404±0.00523Aa |
| İthal malt birası             | 0.4117±0.00285Ca           | 0.3817±0.00270Cb           | 0.3267±0.00524Fc  | 0.3264±0.00393Ec |

(n:4), Sonuçlar mmol/L Trolox eşdeğeri olarak ortalama  $\pm$  standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı sütündaki büyük harfler bira çeşitleri arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P<0.05$ )

Klasik malt birası üretiminde filtrasyon basamaklarının toplam antioksidan aktiviteye olan etkisi incelendiğinde DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları Kieselguhr filtre girişinde %inhibisyon olarak %92.0872 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.4579 mmol/L; Kieselguhr filtre çıkışında %inhibisyon olarak %92.4129 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.4597 mmol/L, PVPP filtre çıkışında %inhibisyon olarak %87.8939 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.4346 mmol/L ve trap filtre ile dinlendirme işlemi sonunda çekme tankı çıkışında %inhibisyon olarak %86.7537 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.4301 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.27, EK 19).

Filtrasyon işleminin klasik malt birası üzerine etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde; Kieselguhr filtre işlemi istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmazken, PVPP ve trap filtre ile dinlendirme işlemleri sırasında toplam antioksidan aktivitede görülen azalma istatistiksel olarak önem taşımaktadır. Filtreleme işleminde klasik malt birasında Kieselguhr filtre süresince, antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 0.3257 birim artarken, trolox eşdeğer miktarı olarak %0.39 oranında artarken; PVPP filtre süresince, antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 4.5190 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %5.46 oranında azalmıştır. Trap filtre ile dinlendirme süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 1.1402 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %1.04 oranında azalırken; filtrasyon proses basamağında toplamda antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 5.3335 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %6.07 oranında azalmaktadır.

%100 malt birası üretiminde filtrasyon basamaklarının toplam antioksidan aktiviteye olan etkisi incelendiğinde DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında %inhibisyon olarak sırasıyla %91.8309, %92.6142, %90.0179 ve %87.9663 olarak ve Trolox eşdeğeri olarak sırasıyla 0.4565 mmol/L, 0.4608 mmol/L, 0.4464 mmol/L ve 0.4368 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.27, EK 20).

Filtrasyon işleminin %100 malt birası üzerine etkisi incelendiğinde; Kieselguhr filtre işlemi istatistiksel olarak önemli bir değişime neden olmazken, PVPP filtre ve trap filtre ile dinlendirme işlemleri sırasında toplam antioksidan aktivitede görülen azalma istatistiksel olarak önemlidir. Filtreleme işlemi sırasında %100 malt birasında Kieselguhr filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 0.7233 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %0.94 oranında artarken; PVPP filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 2.5963 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %3.12 oranında azalmıştır. Trap filtre ile dinlendirme süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 2.0516 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %2.15 oranında azalma olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda

antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 3.8646 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %4.32 oranında azalma göstermiştir.

Filtrasyon işleminde proses basamaklarının yüksek alkollü malt birasının toplam antioksidan aktivitesi üzerine olan etkisi incelendiğinde DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında %inhibisyon olarak sırasıyla %87.1834, %87.8180, %84.9035 ve %83.7430 olarak ve Trolox eşdeğeri olarak sırasıyla 0.4307 mmol/L, 0.4342 mmol/L, 0.4181 mmol/L ve 0.4128 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.27, EK 21).

Filtrasyon işleminin yüksek alkollü malt birası üzerine etkisi incelendiğinde; Kieselguhr filtre işlemi sırasında görülen artışın istatistiksel olarak bir önemi bulunmazken, PVPP filtre ve trap filtre ile dinlendirme işlemleri sırasında toplam antioksidan aktivitede görülen azalma istatistiksel olarak önemlidir. Filtreleme işlemi yüksek alkollü malt birasında Kieselguhr filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 0.6346 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak %0.81 oranında artarken; PVPP filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 2.9145 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %3.71 oranında azalmış ve trap filtre ile dinlendirme süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 1.1605 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %1.27 oranında azalma olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 3.4404 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %4.16 oranında azalışa neden olmaktadır.

Filtrasyon işleminde proses basamaklarının düşük alkollü malt birasının toplam antioksidan aktivitesi üzerine olan etkisi incelendiğinde DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında %inhibisyon olarak sırasıyla %91.8981, %92.3394, %82.8221 ve %80.2951 olarak ve Trolox eşdeğeri olarak sırasıyla 0.4568 mmol/L, 0.4593 mmol/L, 0.4065 mmol/L ve 0.3942 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.27, EK 22).

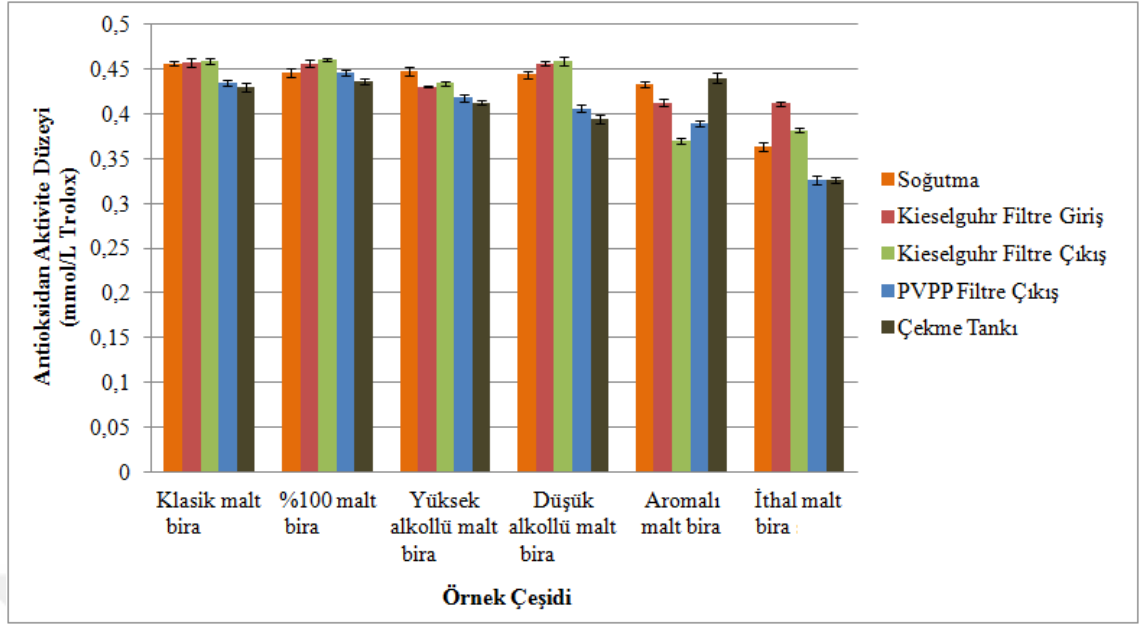
Filtrasyon işleminin düşük alkollü malt birası üzerine etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde; Kieselguhr filtre işlemi sırasında görülen artışın bir önemi bulunmazken, PVPP filtre ve trap filtre ile dinlendirme işlemleri sırasında toplam antioksidan aktivitede görülen azalma önemlidir. Filtreleme işlemi düşük alkollü malt birasında Kieselguhr filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 0.4413 birim artarken trolox eşdeğer miktarı olarak % 0.55 oranında artarken; PVPP filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 9.5173 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %11.49 oranında azalmış ve trap filtre ile dinlendirme süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 2.5270 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %3.02 oranında azalma olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 11.6030 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %13.70 oranında azalışa neden olmaktadır.

Aromalı malt birası üretiminde filtrasyon basamaklarının toplam antioksidan aktiviteye olan etkisi incelendiğinde DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında %inhibisyon olarak sırasıyla %83.8847, %76.2145, %79.6711 ve %88.6196 olarak ve Trolox eşdeğeri olarak sırasıyla 0.4124 mmol/L, 0.3698 mmol/L, 0.3890 mmol/L ve 0.4404 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.27, EK 23).

Filtrasyon işleminin aromalı malt birası üzerine etkisi incelendiğinde; Kieselguhr filtre işlemi sırasında toplam antioksidan aktivitede gözlenen azalma, PVPP filtre ve trap filtre ile dinlendirme işlemleri sırasında toplam antioksidan aktivitede görülen artmalar istatistiksel olarak önemlidir. Filtreleme işlemi aromalı malt birasında Kieselguhr filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 7.6702 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %10.33 oranında azalmaya; PVPP filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 3.4566 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %5.19 oranında artmışa neden olmaktadır. Trap filtre ile dinlendirme süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 8.9485 birim artış ve trolox eşdeğer miktarı olarak %13.21 oranında artış olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda antioksidan aktivite

% inhibisyon düzeyinde 4.7349 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %6.79 oranında artış göstermektedir.

İthal malt birası üretiminde filtrasyon basamaklarının toplam antioksidan aktiviteye olan etkisi incelendiğinde DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları Kieselguhr filtre girişinde, Kieselguhr filtre çıkışında, PVPP filtre çıkışında ve çekme tankı çıkışında %inhibisyon olarak sırasıyla %83.7639, %78.3697, %68.4591 ve %68.2619 olarak ve Trolox eşdeğeri olarak sırasıyla 0.4117 mmol/L, 0.3817 mmol/L, 0.3267 mmol/L ve 0.3264 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.27, EK 24). Filtrasyon işleminin ithal malt birası üzerine etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde; Kieselguhr filtre işlemi ve PVPP filtre işlemleri sırasında görülen azalma istatistiksel olarak önemliyken trap filtre ile dinlendirme işlemleri sırasında toplam antioksidan aktivitede görülen azalma istatistiksel olarak önemli olmamaktadır. Filtreleme işlemi ithal malt birasında Kieselguhr filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 5.3942 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %7.29 oranında azalmış; PVPP filtre süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 9.9106 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %14.41 oranında azalmış ve trap filtre ile dinlendirme süresince antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 0.1972 birim azalırken trolox eşdeğer miktarı olarak %0.09 oranında azalma olmak üzere filtrasyon proses basamağında toplamda antioksidan aktivite % inhibisyon düzeyinde 15.5020 birim ve trolox eşdeğer miktarı olarak %20.72 oranında azalışa neden olmaktadır.



Şekil 4.24 Bira örneklerinin filtrasyon işlem basamağında DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite

Bira örneklerinde soğutma tankı ile filtrasyon işlemi başlangıcı arasında gerçekleştirilen fermantasyon ve olgunlaştırma işlemleri sırasında toplam antioksidan madde bir miktar değişim göstermiştir. Bu değişim klasik malt, %100 malt ve düşük alkollü malt bira örneklerinde istatistiksel olarak önemsiz düzeyde artış şeklindeyken, yüksek alkollü malt bira örneklerinde istatistiksel olarak önemsiz azalma şeklindedir. Ancak aromalı ve ithal malt bira örneklerindeki değişimler istatistiksel olarak önemli düzeyde olup aromalı malt birasında ciddi ölçüde azalma şeklindeyken ithal malt bira örneğinde ciddi ölçüde artış şeklinde görülmektedir (Şekil 4.24).

Filtrasyon işlem basamağının bira örneklerine olan etkisi incelendiğinde klasik malt, %100 malt, yüksek alkollü malt ve düşük alkollü malt bira örnekleri filtrasyon işlemine benzer tepkiler veren bir grup olarak düşünülebilir ve bu örneklerin hepsinde Kieselguhr filtre işleminde istatistiksel olarak önemi olmayacak düzeyde artış görülürken, PVPP filtre basamağında antioksidan aktivitede keskin bir düşüş görülmekte ve bu düşüş filtrasyon sonuna kadar devam etmektedir. Bu gruba ters olarak ithal malt birası örneğinde Kieselguhr filtre başlangıcından itibaren keskin bir düşüş yaşanmakta ve PVPP filtre çıkışından itibaren antioksidan aktivitede önemli bir değişim görülmemektedir. Aromalı malt bira örneğinde ise toplam antioksidan aktivitede

Kieselguhr filtrede gözlenen düşüş aroma eklenmesi ile artışa geçmiş ve filtrasyon sonuna kadar devam etmiştir.

Filtrasyon süresince toplam antioksidan aktivite miktarında gruplama yapılan örnekler içerisinde en fazla miktarda azalma %11.49 ile PVPP filtre işlemi uygulanan düşük alkollü bira örneğinde görülürken, aynı grupta en az azalma %0.39 ile Kieselguhr filtre uygulanan klasik malt bira örneğinde görülmektedir. Genel örnekler arasında ise en fazla oranda azalma %14.41 ile PVPP filtre uygulanan ithal malt bira örneğinde ve en az oranda azalma ise %0.09 ile trap filtre ve dinlendirme işlemi uygulanan ithal bira örneğinde görülmektedir. Filtrasyon işleminde PVPP filtre sonuna doğru aromalı malt bira örneğine dışarıdan eklenen limon ve agave aromalarının kendi antioksidan özelliklerinin de bira örneğine eklenmesi nedeniyle toplam antioksidan aktivitedeki tek artış aromalı malt birasında görülmektedir.

Kieselguhr filtre, PVPP filtre ve trap filtre arasında toplam antioksidan aktivite üzerine en fazla azaltıcı etkiyi PVPP filtre göstermektedir. Bunun sebebi PVPP filtrenin polifenol bileşenlerini tutmak üzere tasarlanmış olmasıdır. PVPP filtre en yoğun düşük alkollü bira ve ithal malt birasında azalmaya neden olurken diğer bira çeşitlerinde daha az miktarda düşüslere neden olmuştur. Gruplama yapılan örneklerde trap filtre ve dinlendirme basamağının da PVPP kadar yoğun olmasa bile önemli etkisi görülmektedirken Kieselguhr filtrenin bu örneklerde antioksidan aktivite üzerine etkisi görülmemektedir. Grup dışında kalan ithal malt birası örneğinde en yoğun etki yine PVPP filtrede görülmesine rağmen bu örnekte Kieselguhr filtre de yoğun bir azaltıcı etki göstermekte ve trap filtrenin antioksidan aktivite üzerine etkisi bulunmamaktadır.

Çalışmada kullanılan örnekler birbirleri ile karşılaştırıldıklarında filtrasyon prosesi başlangıcında en yüksek antioksidan aktiviteler klasik malt, %100 malt ve düşük alkollü malt örneklerinde neredeyse aynı değerlerde görülmektedir. En düşük antioksidan aktivite ise aromalı malt ve ithal malt birası örneklerinde görülmektedir. Filtrasyon işlemi sonunda ise en yüksek antioksidan aktivite aromalı malt birasında ve en düşük antioksidan aktivite ithal malt birası örneklerinde görülmektedir. Antioksidan aktivitede

en az oranda azalma %4.16 ile yüksek alkollü malt bira örneğinde ve en fazla azalma ise %20.72 ile ithal malt birası örneğinde görülmektedir.

Polifenollerin polimerize olma, kolloidal bulanıklık yapma gibi özelliklerinden dolayı filtrasyon işleminde PVPP filtre ile ayrılması söz konusudur. Bu filtrasyon işlemi sırasında ayrılan polifenollerin bir kısmı yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve bira içeriğinden ayrılmaları antioksidan aktiviteyi etkilemektedir (Maillard vd. 1996). Zhao (2014)'de PVPP ile polifenolik bileşiklerin bir kısmının ayrılmasının biranın indirgeme gücünü %9-38 oranında azalacağını belirtmektedir.

Çizelge 4.28 Pastörizasyon işlem basamağında bira DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite

|                                 | Pastörizasyon Öncesi | Pastörizasyon Sonrası |
|---------------------------------|----------------------|-----------------------|
| Klasik malt bira şırası         | 0.4282 ± 0.00362 Ba  | 0.4258 ± 0.00502 Ba   |
| %100 malt bira şırası           | 0.4382 ± 0.00329 Aa  | 0.4347 ± 0.00475 Aa   |
| Yüksek alkollü malt bira şırası | 0.4116 ± 0.00298 Ca  | 0.4101 ± 0.00254 Ca   |
| Düşük alkollü malt bira şırası  | 0.3639 ± 0.00401 Da  | 0.3608 ± 0.00260 Da   |
| Aromalı malt bira şırası        | 0.4233 ± 0.00479 Ba  | 0.4118 ± 0.00324 Cb   |
| İthal malt bira şırası          | 0.32389 ± 0.00450 Ea | 0.30636 ± 0.00306 Eb  |

(n:4), Sonuçlar mmol/L Trolox eşdeğeri olarak ortalama ± standart hata şeklinde verilmiştir. Aynı sütündeki büyük harfler bira çeşitleri arasındaki farkı, aynı satırdaki küçük harfler ise proses basamakları arasındaki farkı göstermektedir. ( $P<0.05$ ).

Pastörizasyon işleminin klasik malt birasında antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları pastörizasyon girişinde ve pastörizasyon çıkışında %inhibisyon olarak sırasıyla %86.7330 ve %86.3092 olarak ve Trolox eşdeğeri olarak sırasıyla 0.4282 mmol/L ve 0.4258 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.28, EK 19). Pastörizasyon işleminin klasik malt birası üzerine etkisi incelendiğinde pastörizasyon işlemi sırasında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemli değildir. Pastörizasyon

işlemi klasik malt birasında antioksidan aktivite üzerinde %inhibisyon olarak 0.4238 birim azalmaya ve Trolox eşdeğeri olarak % 0.56 oranında azalışa neden olmuştur.

Pastörizasyon işleminin %100 malt birasında antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları pastörizasyon girişinde ve pastörizasyon çıkışında %inhibisyon olarak sırasıyla %88.5336 ve %87.9169 olarak ve Trolox eşdeğeri olarak sırasıyla 0.4382 mmol/L ve 0.4347 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.28, EK 20). Pastörizasyon işleminin %100 malt birası üzerine etkisi incelendiğinde pastörizasyon işlemi toplam antioksidan aktivite üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunmamaktadır. Pastörizasyon işlemi %100 malt birasında antioksidan aktivite üzerinde %inhibisyon olarak 0.6167 birim azalmaya ve Trolox eşdeğeri olarak % 0.79 oranında azalışa neden olmuştur.

Yüksek alkollü malt birasında pastörizasyon işleminin toplam antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite pastörizasyon girişinde % inhibisyon olarak %83.7430 ve Trolox eşdeğer olarak ise 0.4116 mmol/L ve pastörizasyon çıkışında % inhibisyon olarak %83.4643 ile Trolox eşdeğer olarak ise 0.4101 mmol/L olarak görülmektedir (Çizelge 4.28, EK 21). Yüksek alkollü malt birası örneklerinde toplam antioksidan aktivite üzerindeki pastörizasyon etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde pastörizasyon işlemi sırasında gözlenen azalışın önemi bulunmamaktadır. Pastörizasyon işlemi yüksek alkollü malt birasında antioksidan aktivite üzerinde %inhibisyon olarak 0.2787 birim azalmaya ve Trolox eşdeğeri olarak % 0.36 oranında azalışa neden olmuştur.

Düşük alkollü malt birasında pastörizasyon işleminin toplam antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite pastörizasyon girişinde %inhibisyon olarak %75.1495 ve Trolox eşdeğer olarak ise 0.3639 mmol/L ve pastörizasyon çıkışında % inhibisyon olarak %74.5989 ile Trolox eşdeğer olarak ise 0.3608 mmol/L olarak görülmektedir (Çizelge 4.28, EK 22). Düşük alkollü malt birası örneklerinde toplam antioksidan aktivite üzerindeki pastörizasyon etkisi incelendiğinde

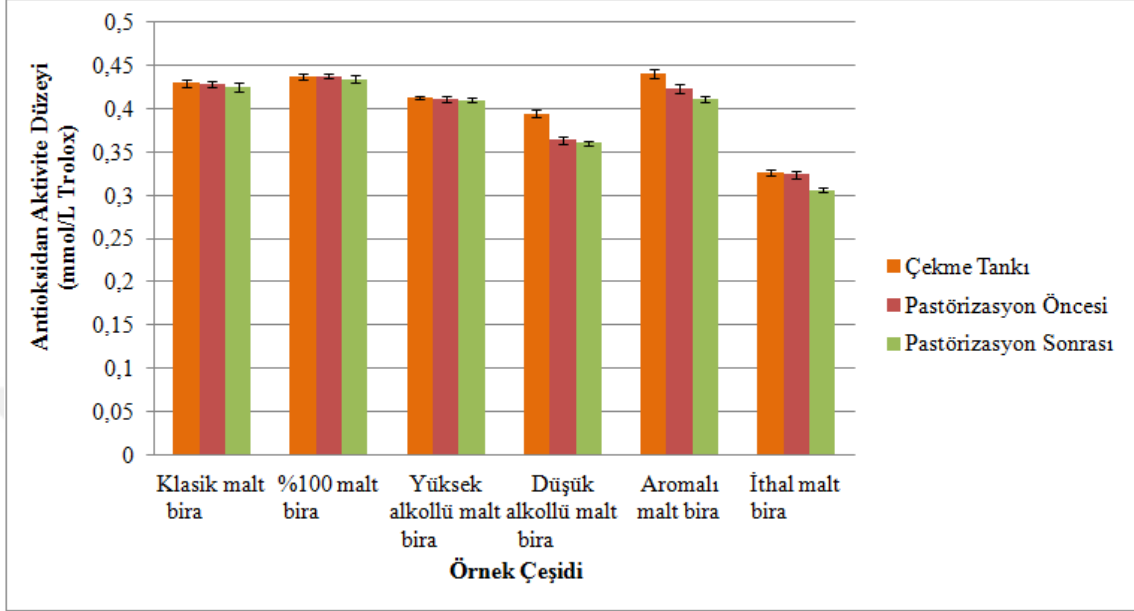
pastörizasyon işlemi sırasında gözlenen azalış istatistiksel olarak önemli değildir. Pastörizasyon işlemi düşük alkollü malt birasında antioksidan aktivite üzerinde %inhibisyon olarak 0.5506 birim ve Trolox eşdeğeri olarak % 0.85 oranında azalışa neden olmuştur.

Pastörizasyon işleminin aromalı malt birasında antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; DPPH radikal süpürme kapasitesi yöntemine göre belirlenen toplam antioksidan aktivite miktarları pastörizasyon girişinde ve pastörizasyon çıkışında %inhibisyon olarak sırasıyla %85.8417 ve %83.7786 olarak ve Trolox eşdeğeri olarak sırasıyla 0.4233 mmol/L ve 0.4118 mmol/L olarak ölçülmüştür. (Çizelge 4.28, EK 23). Pastörizasyon işleminin aromalı malt birası üzerine etkisi incelendiğinde pastörizasyon işlemi sırasında gözlenen azalma istatistiksel olarak önemlidir. Pastörizasyon işlemi aromalı malt birasında antioksidan aktivite üzerinde %inhibisyon olarak 2.0631 birim ve Trolox eşdeğeri olarak % 2.72 oranında azalmaya neden olmuştur.

İthal malt birasında pastörizasyon işleminin toplam antioksidan aktivite üzerine olan etkisi incelendiğinde; toplam antioksidan aktivite pastörizasyon girişinde % inhibisyon olarak %67.9370 ve Trolox eşdeğer olarak ise 0.3239 mmol/L ve pastörizasyon çıkışında % inhibisyon olarak %64.7790 ile Trolox eşdeğer olarak ise 0.3064 mmol/L olarak görülmektedir (Çizelge 4.28, EK 24). İthal malt birası örneklerinde toplam antioksidan aktivite üzerindeki pastörizasyon etkisi incelendiğinde pastörizasyon işlemi sırasında gözlenen azalma önem taşımaktadır. Pastörizasyon işlemi ithal malt birasında antioksidan aktivite üzerinde % inhibisyon olarak 3.1580 birim ve Trolox eşdeğeri olarak % 5.40 oranında azalışa neden olmuştur.

Granato vd. (2011) bira örneklerinin antioksidan aktivitelerini belirledikleri çalışmalarında örneklerinin antioksidan aktivitelerini DPPH yöntemi ile %inhibisyon cinsinden %4.75-%59.98 aralığında belirlemiştir. Zhao vd. (2010) ise 34 farklı lager türü bira örneği üzerine yaptığı çalışmasında örneklerin DPPH radikal süpürme kapasitesinin 0.24-1.35 mmol TE/L olduğunu belirtmiştir. Pastörizasyon sonrası örneklerin sonuçları ile yapılan çalışmalar kıyaslandığında elde edilen sonuçların Zhao

vd. (2010) çalışması ile uyumlu olduğu, Granato vd. (2011) çalışmasından ise daha yüksek olduğu görülmektedir.



Şekil 4.25 Bira örneklerinin pastörizasyon işlem basamağında DPPH yöntemine göre belirlenen Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite

Bira örneklerinde çekme tankı çıkışı ile pastörizasyon işlemi başlangıcı arasında gerçekleştirilen CO<sub>2</sub> ayarlama ve şişeleme işlemleri sırasında toplam antioksidan madde bir miktar azalmıştır. Bu azalma en fazla düşük alkollü malt birası örneğinde sonrasında da aromalı malt birası örneğinde görülmektedir (Şekil 4.25).

Pastörizasyon işleminin bira örneklerine olan etkisi incelendiğinde filtrasyon basamaklarında olduğu gibi klasik malt, %100 malt, yüksek alkollü malt ve düşük alkollü malt biralarının bir grup oluşturduğu, aromalı ve ithal malt örneklerinin ise ayrı bir grup oluşturduğu görülmektedir. İlk grup örneklerde meydana gelen azalmalar istatistiksel anlamda önemli değilken ikinci grupta meydana gelen azalmalar istatistiksel olarak önemli olmaktadır. Pastörizasyon işleminde gözlemlenen azalma en fazla % 5.40 ile ithal malt birasında, ez az değişim ise %0.36 ile yüksek alkollü malt birasında görülmektedir.

Bira üretim prosesi sonunda çalışmada kullanılan tüm bira çeşitlerinin karşılaştırması yapıldığında en yüksek toplam antioksidan aktivite %inhibisyon olarak %87.9169 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.4347 mmol/L ile %100 malt bira örneğinde görülürken en düşük toplam antioksidan aktivite ise %inhibisyon olarak %64.7790 ve Trolox eşdeğeri olarak 0.3064 mmol/L ile ithal malt bira örneğinde görülmektedir.

Zhao vd. (2013) antioksidan aktivite üzerine 40 farklı bira çeşidinde yaptıkları çalışma sonucunda DPPH radikal süpürme yöntemi ile antioksidan aktiviteyi 0.24-0.97 mmol TE/L aralığında belirlemiştir. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçların hepsi belirtilen aralık içerisinde yer almaktadır.

Çalışmada incelenen proses basamaklarının klasik malt birası, %100 malt birası, yüksek alkollü malt birası, düşük alkollü malt birası, aromalı malt birası ve ithal malt birası üzerindeki toplam antioksidan aktivite miktarına olan etkisi trolox eşdeğeri olarak toplu halde EK 25- 30'da görülmektedir.

Ekler incelendiğinde bira çeşitleri içerisinde toplam antioksidan aktivite miktarının kaynatma başlangıç örneği ile pastörizasyon sonu örnekleri arasındaki değişimleri toplamda klasik malt birasında %2.87 azalma, %100 malt birasında %3.35 artma, yüksek alkollü malt birasında %2.99 artma, düşük alkollü malt birasında %11.93 azalma, aromalı malt birasında %1.33 artma ve ithal malt birasında ise %4.71 artma şeklindedir. Bu sonuçlara göre bira üretim prosesinden toplam antioksidan aktivite açısından en fazla düzeyde etkilenen çeşit ithal malt birasıyken, en az etkilenen çeşit aromalı malt birasıdır.

Biralarda toplam fenol miktarı ve fenolik dağılım ile antioksidan aktivite arasında kayda değer varyasyon bulunmaktadır. DPPH radikal süpürme aktivitesi, ABTS radikal yakalama kapasitesi, süperoksit anyon radikal süpürme aktivitesi, indirgeme gücü ve metal çelatlama aktivitesi ile (+)-kateşin, protokateşik asit, kafeik asit ve şirincik asit arasında ise önemli ölçüde pozitif korelasyon bulunmaktadır (Zhao vd. 2010). DeSchutter vd. (2009) ise (+)-kateşin, kuersetin ve rutin gibi fenolik bileşiklerin

süperoksit yakalama ve lipit peroksidasyonunu önleme özellikleri bulunduğunu belirtmektedir. Zhao (2014) ferulik asit, şirincik asit, (+)-kateşin, (-)-epikateşin, kafeik asit ve protokateşik asitin biraların antioksidan aktivitesine %88.1 - %55.0 oranında katkıda bulunduğunu belirtmiştir.

Malt ve bira üretimi sırasında indirgen şekerlerin karbonil grubu ve amino asitlerin amino grupları arasında su aktivitesi, pH ve sıcaklık gibi faktörlere bağlı olarak gerçekleşen Maillard reaksiyonları sonucunda pek çok Maillard reaksiyon ürünü oluşmaktadır. Oluşan ürünlerden biri olan melanoidinler, genellikle mayşeleme ve kaynatma sırasında oluşmakta ve renk üzerine etki etmek dışında, oksijen ve hidroksil ile reaksiyona girme, DPPH radikalini süpürme, metal çelatlama gibi antioksidan özellikler de göstermektedir (Rivero vd. 2005, Yılmaz ve Toledo 2005, DeSchutter vd. 2009, Wunderlich ve Back 2009, Yıldız vd. 2010). Fenolik bileşikler ve Maillard reaksiyon ürünleri hariç birada antioksidatif etki gösteren bir diğer bileşen ise sülfidlerdir. Sülfidler fermantasyon sırasında, mayaların yan ürünü olarak sentezlenmekte ve son ürüne kadar kalmaktadır. Bira içerisindeki sülfidlerin miktarı kullanılan maya suşuna, fermantasyon koşullarına ve şıra bileşenlerine bağlıdır (Zhao 2014)

Sonuç olarak bira içerisinde fenolik bileşenler, Maillard reaksiyon ürünleri ve sülfid olmak üzere pek çok endojen antioksidan bileşik bulunmakta ve bunlar biranın antioksidatif özelliklerini oluşturmaktadır (Rivero vd. 2005, Vanderhaegen vd. 2006, Zhao vd. 2010). Antioksidan aktivite ile biraların içerdiği toplam fenol miktarı ( $R^2=0.9110$ ,  $p< 0.005$ ), prosiyanidin miktarı ( $R^2=0.8533$ ,  $p< 0.005$ ), kateşin miktarı ( $R^2=0.8333$ ,  $p< 0.005$ ) ve melanoidin miktarı ( $R^2=0.7999$ ,  $p< 0.005$ ) arasında pozitif korelasyon belirlenmiştir (Rivero vd. 2005). Bu bileşiklerin, bira örnekleri içerisindeki miktarının, hem ham maddelerin genetik yapısına ve yetiştirme koşullarına hem de bira üretim prosesi boyunca uygulanan işlemlere bağlı olarak değişim göstermeleri sonucunda, bira prosesi süresince ve tüketime hazır son üründe antioksidan aktivitenin de değişim gösterdiği düşünülmektedir.

## 5. SONUÇ

Çalışmada elde edilen bulgular genel olarak değerlendirildiğinde farklı bira çeşitlerinde hammaddeden kaynaklı olduğu kadar, prosese bağlı olarak da fiziksel ve kimyasal özelliklerde, fenolik bileşiklerin miktarında, çeşidinde ve antioksidan aktivitelerde farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

Araştırma sonuçlarına göre; çalışmada kullanılan bira örnekleri içerisinde en yüksek fenolik madde miktarının yüksek alkollü malt bira örneğinde, en düşük fenolik madde miktarının ise ithal malt bira örneğinde olduğu saptanmıştır. Çalışmada kullanılan çeşitlerin tümü incelendiğinde en yüksek fenolik madde miktarı kaynatma sonu-soğutma aşamasından elde edilen örneklerde bulunmuştur. Proses basamaklarının bira çeşidinin fenolik madde miktarına etkisi incelendiğinde ise; kaynatma işlem basamaklarında toplam fenolik madde miktarının hızlıca arttığı ve soğutma aşamasında artış miktarının yavaşlayarak devam ettiği, filtrasyon basamaklarında artışın yerini azalmanın aldığı belirlenmiştir. Diğer yandan, pastörizasyon işlem basamaklarında fenolik madde miktarının sabit kaldığı ve pastörizasyon işleminin fenolik içerik üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

Kaynatma işlemi boyunca toplam fenolik madde miktarında en fazla oranda artışın aromalı malt bira sırası örneğinde, en az miktardaki artışın düşük alkollü malt bira sırası örneğinde olduğu belirlenmiştir. Filtrasyon süreci incelendiğinde, toplam fenolik madde miktarında en fazla azalmanın yüksek alkollü ve aromalı malt bira örneklerinde Kieselguhr filtrasyondan sonra, diğer çeşitlerde ise PVPP filtre uygulamasında olduğu görülmüştür. Filtrasyon işleminde aromalı malt birası çeşidi dışında tüm bira çeşitlerinde fenolik içerikte azalma meydana gelirken, aromalı malt birası çeşidinde PVPP filtre sonrasında fenolik içerikte artış belirlenmiştir. Filtrasyon işleminde fenolik içerikte en fazla değişime ise PVPP filtrenin neden olduğu saptanmıştır.

Toplam Fenolik asit dağılımına bakıldığında; çalışmada kullanılan tüm örneklerde kaynatma başlangıç basamağından, trap-filtre sonuna yani çekme tankı çıkışına kadar en

yüksek düzeyde saptanan fenolik bileşik, (+)-kateşin olmuştur. Çekme tankı çıkışından alınan örneklerden pastörizasyon işlem sonuna kadar olan basamaklarda ise tüm örneklerde en fazla miktarda bulunan fenolik bileşik gallik asit olarak saptanmıştır. Bira üretim prosesi genelinde gallik asit ve (+)-kateşinden sonra en fazla bulunan fenolik bileşikler; şirincik asit, (-)-epikateşin, protokateşik asit ve ferulik asit olarak sıralanmıştır.

Bira üretim prosesinin geneline bakıldığında, proses başlangıcından sonuna kadar tüm çeşitlerde miktarı en az değişen fenolik bileşik kuersetin olurken, klasik malt birası, düşük alkollü malt birası ve ithal malt birası çeşitlerinde miktarı en fazla değişen fenolik bileşik (+)-kateşin olmuştur. Bununla birlikte, %100 malt birası çeşidinde (+)-kateşinle birlikte, (-)-epikateşin ve yüksek alkollü malt birası çeşidinde ise protokateşik asit en fazla değişim gösteren fenolikler olarak belirlenmiş, aromalı malt birasında ise proses süresince miktarı en fazla değişim gösteren fenolik bileşik gallik asit olarak bulunmuştur.

Antioksidan aktivite bulguları değerlendirildiğinde; kaynatma işlemi boyunca çalışmada kullanılan her bir çeşitte antioksidan aktivite miktarı artmıştır. Kaynatma işlemi başlangıcında ve sonunda en fazla miktarda antioksidan aktiviteyi klasik malt birası örneği göstermiştir. İthal malt birası ise kaynatma işlemi başlangıcında en düşük antioksidan aktiviteye sahip olmasına rağmen en yoğun antioksidan aktivite artışını sergilemiştir. Soğutma işleminin ise sadece ithal malt birası ve %100 malt birası üzerinde antioksidan aktiviteye istatistiksel olarak önemli bir etkisi saptanmıştır.

Filtrasyon işleminin genel olarak antioksidan aktiviteyi azaltıcı yönde etkisi bulunduğu belirlenmiştir. Filtrasyon başlangıcında en fazla antioksidan aktiviteye sahip çeşitler yakın değerlerle klasik malt birası, %100 malt birası ve düşük alkollü malt birası olarak bulunmuştur. Filtrasyon başlangıcında ithal malt birası ile birlikte en düşük antioksidan aktiviteye sahip çeşit olan aromalı malt birası filtrasyon işlemi sonunda en fazla antioksidan aktivite gösteren çeşit olarak saptanmıştır.

Pastörizasyon işleminin antioksidan aktivite üzerine istatistiksel olarak bir etkisi bulunmamıştır. Bira üretim prosesinde antioksidan aktivitedeki değişim incelendiğinde; proses başlangıcından sonuna kadar antioksidan aktivite miktarı en fazla değişen çeşit düşük alkollü malt birası olurken, en az değişen çeşit ise aromalı malt birası olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak; malttan üretilen farklı çeşit örneklerde uygulanan proses basamakları, üretim yöntemi farklı bile olsa benzer sonuçlar vermektedir. Genel bir değerlendirme yapılırsa kaynatma işlemi ve eklenen şerbetçi otu, tüm çeşitlerde fenolik madde miktarını ve dolayısıyla antioksidan aktiviteyi arttırıcı etki gösterirken; filtrasyon işlemleri fenolik maddeleri ayırmayı amaçlamakta ve fenolik madde miktarındaki azalmaya paralel olarak antioksidan aktiviteyi de azaltmaktadır. Pastörizasyon işlemi ise fenolik madde miktarlarını etkilemediği gibi biranın antioksidan aktivitesini de etkilememektedir.

Bira kimyası üzerinde önemli bir yeri olan fenolik bileşiklerin; bira prosesinin farklı aşamalarında önemli düzeyde değişim gösterdiği görülmektedir. Çok kompleks bir ürün olan biranın malt üretiminden itibaren tüm aşamalarının fenolik yapı üzerindeki etkisi önemlidir. Elde edilen veriler, fenolik yapı ve antioksidan özelliklerdeki farklılaşmayı büyük ölçüde ortaya koymaktadır. Kuşkusuz ileride yapılacak diğer çalışmalar ile konuya ilişkin daha zengin bir bilgi birikimi oluşacaktır.

## KAYNAKLAR

- Acar, J. ve Gökmen, V. 2007. Bölüm 8: Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri; Gıda Kimyası. Editör: İlbilge Saldamlı, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, III. Baskı, , 463-496, Ankara, Türkiye.
- Achilli, G., Cellerino, G.P., Gamache, P.H. and Melzi d'Eril, G. V. 1993. Identification and determination of phenolic constituents in natural beverages and plant extracts by means of a coulometric electrode array system. Journal of chromatography. Vol 632, issue 11, pp.111-117. Italy.
- Akman, A.V. ve Yazıcıoğlu, T. 1962. Fermantasyon Teknolojisi birinci kitap. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. Yayın no:51. 378s. Ankara.
- Andersen, Ø.M. and Jordheim, M. 2006. The Anthocyanins. In Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications. Øyvind M. Andersen and Kenneth R. Markham (eds). Taylor & Francis Group. CRC Press,471- 551, Norway, New Zeland.
- Anderson R.G. 2006. History of Industrial Brewing, In Handbook of Brewing, Second Edition. Priest, F.G. ve Stewart, G.G. (eds), Taylor & Francis Group. CRC Press, 1-37, USA.
- Aktan, N. ve Kalkan, H. 2000. Şarap Teknolojisi. Kavaklıdere Eğitim Yayınları No:4, 614s. Ankara
- Anonim. 1986. TS 2259 Şişelenmiş ve Kutulanmış Biralara Standardı. Kasım 1986
- Anonim. 2006. Türk Gıda Kodeksi Bira Tebliği (Tebliğ No:2006/33)-07.07.2006
- Anonim. 2010. Tarımda Ortak Akıl. Anadolu Efes Sürdürülebilirlik Raporu.
- Anonim. 2011. Türkiye Bira Sektörünün Ülke Ekonomisine Katkıları. Bira ve Malt Üreticileri Derneği ("BMÜD"), Ernst Young Kurumsal Finansman Danışmanlık A.Ş. Amsterdam / İstanbul, Hollanda / Türkiye.
- Anonim. 2014. Anadolu Efes Faaliyet Raporu. Web Sitesi: Erişim Tarihi: 06.10.2015.
- Anonim. 2015. Türk Tuborg Bira ve Malt Sanayii A.Ş. 30 Haziran 2015 Tarihli Yönetim Kurulu Faaliyet Raporu. Web Sitesi: <http://www.turktuborg.com.tr/sites/default/files/30.06.2015%20Faaliyet%20Raporu.pdf> Erişim Tarihi: 06.10.2015.
- Anonymous. 2000 a. AOAC Official Method 920.50 Specific Gravity of Beer; Pycnometer Method. AOAC Official Methods of Analysis, Malt, Beverages and Brewing Materials Chapter 27, p.2.

- Anonymous. 2000 b. AOAC Official Method 945.09 Extract of Beer. AOAC Official Methods of Analysis, Malt, Beverages and Brewing Materials Chapter 27, p.3.
- Anonymous. 2000 c. AOAC Official Method 935.21 Alcohol (by volume) in Beer; Specific Gravity Method. AOAC Official Methods of Analysis, Malt, Beverages and Brewing Materials Chapter 27, p.4.
- Anonymous. 2000 d. AOAC Official Method 945.10 pH of Beer; Potentiometric Method. AOAC Official Methods of Analysis, Malt, Beverages and Brewing Materials Chapter 27, p.6.
- Anonymous. 2002. 2.13. Farbe Analyse. MEBAK Brautechnische Analysemethoden (Band 2), Brewing Analysis Methods of the Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK), ISBN 3-9805814-5-4
- Anonymous. 2012. Beer: process of production, *Encyclopædia Britannica*. Web Sitesi: <http://www.britannica.com/topic/beer/images-videos/The-process-of-beer-production/70929> Erişim Tarihi: 14.09.2015
- Anonymous. 2014. Kirin Beer University Report Global Beer Production by Country in 2013. Web Sitesi: [http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2014/0808\\_01.html#table1](http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2014/0808_01.html#table1) Erişim Tarihi: 25.09.2015.
- Anonymous. 2015 a. Beer production worldwide from 1998 to 2014 (in billion hectoliters) Web Sitesi: <http://www.statista.com/statistics/270275/worldwide-beer-production/> Erişim Tarihi: 25.09.2015.
- Anonymous. 2015 b. Kirin Beer University Report Global Beer Production by Country in 2014. Web Sitesi: [http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2015/0810\\_01.html](http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2015/0810_01.html) Erişim Tarihi: 17.12.2015.
- Anonymous. 2015 c. Brewery Filter Applications. Web Sitesi: <http://www.probrewer.com/library/filtration/beer-filter-applications/> Erişim Tarihi: 09.07.2015.
- Aron, P.M and Shellhammer, T.H. 2010. A Discussion of Polyphenols in Beer Physical and Flavour Stability. J. Inst. Brew. Vol 116, issue 4, pp. 369-380. USA.
- Baek, S.J. and Lee, S.H. 2009. Chapter 87. Anti-cancer property of epicatechin gallate in colon cancer cells. In Beer in Health and Disease Prevention. First Edition. Victor R. Preedy (eds), Elsevier Academic Press, pp.872-878 USA.
- Barth, R. 2013. The Chemistry of Beer: the Science in the Suds. John Willey & Sons Yayınları, 362p. USA.

- Bamforth, C.W. 2001. pH in Brewing: An Overview. Technical Quarterly Vol. 38, Number 1, pp. 1-9. USA.
- Bamforth, C. W. 2003. Beer: Tap into the art and science of brewing. Second edition. Oxford University Press, 233p. New York.
- Bamforth, C. W. 2004. Chapter 5. The Composition of Beer in Relation to Nutrition and Health. In Beer Health and Nutrition. Blackwell Publishing company. Pp 113-116. California, Davis.
- Bamforth, C. W. 2008. Grape vs. Grain A Historical, Technological and Social Comparison of Wine and Beer. Cambridge University Press, 224 p. Cambridge, UK.
- Bartolomé , B., Peña-Neira, A. and Gómez-Cordovés, C. 2000. Phenolics and related substances in alcohol-free beers. European Food Research and Technology Volume 210, Issue 6, pp 419-423.
- Bendelow, V.M. and La Berge, D.E. 1979. Relationships among barley malt and beer phenolics. J. Am. Soc. Brew. Chem. Vol 37 pp. 89-90.
- Boulton, C. and Quain, D. 2001. Brewing yeast and fermentation. Blackwell Science Publishing. 646 p. Berlin, Germany.
- Boulton, C. 2013. Encyclopaedia of Brewing. Wiley - Blackwell Publication. 716 p. UK.
- Brand-Williams W, Cuvelier M. and Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant capacity. *Food Sci. Tech.* 28 (1), 25-30.
- Briggs, D.E., Boulton, C.A., Brookes, P.A. and Stevens, R. 2004. Brewing: Science and Practice. CRC Press, Woodhead Publishing, 881 P. Cambridge, UK.
- Browne, J. 2006. Chapter 14: Packaging of beer. In Brewing: New Technologies. C.W. Bamforth (Eds). CRC Press. Pp 293-307, Woodhead, Cambridge , UK.
- Bubacz, M., McCreanor, P. and Jenkins, H.E. 2013. Engineering of beer: hard work or too much fun? 2013 ASEE Southeast Section Conference. 10-12 March. Book of abstracts Chapter 3 technical session, T1-A, 3 -6. 10pp. Cookeville, Tennessee.
- Büyüktuncel, E. 2013. Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. Marmara Pharmaceutical Journal Vol. 17, pp. 93-103. Türkiye.
- Case, G. A., Distefano, S. and Logan, K.B. 2000. Tabulation of alcohol content of beer and malt beverages. Journal of Analytical Toxicology. Vol 24, pp. 202-210. Washington.

- Cemeroğlu, B. 2004. Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi 1. Cilt. 2. Baskı. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:35, 77-88, Ankara, Türkiye.
- Cemeroğlu, B. 2007. Gıda analizleri. Gıda teknolojisi derneği yayınları no: 34 Ankara, Türkiye.
- Chen, C-Y. O. and Blumberg, J.B. 2009. Chapter 84. Flavonoids in beer and their potential benefit on the risk of cardiovascular disease. In Beer in Health and Disease Prevention. First Edition. Victor R. Preedy (eds), Elsevier Academic Press, pp.831-841. USA.
- Collin, S. Jerkovic, V., Bröhan, M. and Callemien, D. 2013. Polyphenols and Beer Quality. In Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes, Part VIII Phenolics: Biological Activity and Bioavailability. K. G. Ramawat ve J. M. Mérillon (eds). Springer Publishing. pp. 2333-2359. Belgium.
- Cortacero-Ramírez, S. , Hernáinz-Bermúdez de Castro, M., Segura-Carretero, S., Cruces-Blanco, C., and Fernández-Gutiérrez, A. 2003. Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods. Trends in Analytical Chemistry, vol. 22, no 7+8, pp. 440-455. Granada, Spain.
- Dadić, M., Van Gheluwe, J. E. A. and Valyi, Z. 1970. Chemical constituents of nylon-66 beer adsorbate. I. Preliminary investigations and anthocyanogen contents. J. Inst. Brew. Vol 76. Pp. 267 – 280. Canada.
- Dadić, M., Van Gheluwe, J. E. A. and Valyi, Z. 1971. Chemical constituents of nylon-66 beer adsorbate. II. Thin-layer chromatography of the acidic and alkaline hydrolysis products. J. Inst. Brew. Vol 77. Pp. 48-56. Canada.
- Dasgupta, A. and Klein, K. 2014a. Chapter 1: Introduction to Free Radicals and the Body's Antioxidant Defense. In Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements. Elsevier Academic Press, pp 1-18. USA.
- Dasgupta, A. and Klein, K. 2014b. Chapter 14: Alcoholic Beverages: Antioxidant and other health benefits of moderate consumption. In Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements. Elsevier Academic Press, pp 259-276. USA.
- Demirbüker Kavak, D. 2010. Antioksidan Etkileşimleri : Polifenol - Protein Etkileşimleri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi Cilt 5, no:3, sayfa 9-16. İzmir, Türkiye.
- De Schutter, D.P., Saison, D., Delvaux, F., Derdelinckx, G. and Delvaux, F.R. 2009. The Chemistry of Aging Beer. In Beer in Health and Disease Prevention., Second Edition. Victor R. Preedy (eds), Elsevier Academic Press, pp.375-388. London.

- Dıblan, S. ve Özkan, M. 2013. Çeşitli Durultma Yardımcı Maddelerinin Kırmızı Şarap Antosiyaninleri Üzerine Etkisi. GIDA Dergisi 38(1):47-54
- Di Pietro, M. B. and Bamforth, C.W. 2011. A Comparison of the Antioxidant Potential of Wine and Beer. J. Inst. Brew. Vol. 117, no.4, pp.547-555. California, Davis, U.S.A.
- Dokuzlu, C. 2004. Gıda Analizleri. Marmara Kitabevi Yayınları. Bursa, Türkiye.
- Drawert, F., Leupold, G. and Lessing, V. 1977. Gaschromatographische analyse von phenolischen verbindungen im Bier. Brauwissenschaft. Vol. 30 pp. 13-18. Deutschland.
- Dvořáková, M., Moreira, M.M., Dostálek, P., Skulilová, Z., Guido, L.F. and Barros, A.A. 2008a. Characterization of monomeric and oligomeric flavan-3-ols from barley and malt by liquid chromatography–ultraviolet detection–electrospray ionization mass spectrometry. Journal of Chromatography A, Vol. 1189, issues 1-2, pp. 398–405. Czech Republic.
- Dvořáková, M., Douanier, M., Jurková, M., Kellner, V. and Dostálek, P. 2008b. Comparison of Antioxidant Activity of Barley (*Hordeum vulgare* L.) and Malt Extracts with the Content of Free Phenolic Compounds Measured by High Performance Liquid Chromatography Coupled with CoulArray Detector. J. Inst. Brew. Vol. 114, issue 2, pp. 150–159. Czech Republic.
- Dvořáková, M., Guido, L.F., Dostálek, P., Skulilova, Z., Moreira, M.M. and Barros, A.A. 2008c. Antioxidant Properties of Free, Soluble Ester and Insoluble-Bound Phenolic Compounds in Different Barley Varieties and Corresponding Malts. Journal of the Institute of Brewing Volume 114, Issue 1, pages 27–33. Czech Republic.
- Engert, N. 2011. Phenolic acids and antioxidative capacity on ancient wheat namely einkorn (*T. monococcum* ssp.), emmer (*T. turgidum* ssp.) and spelt wheat (*T. aestivum* ssp. *spelta*) and on germinated bread wheat (*T. aestivum* ssp. *aestivum*). Doctoral dissertation. Jastus Liebig University. Faculty of Agricultural Sciences, Nutritional Sciences and Environmental Management.151 p. Gießen, Deutschland.
- Erbaş, M., Gül, S. ve Şekerci, H. 2008. Fonksiyonel Gıda Bileşeni Olarak Diyetel Antioksidanlar. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Kongre bildiri kitabı 1053-1056, 21-23 Mayıs, Erzurum.
- Eren, E. 2005. Geçmişten Günümüze Anadolu’da Bira. Tarih Vakfı Yurt Yayınları. Türkiye.
- Eßlinger, H.M. 2009 a. Fermentation, Maturation and Storage. In Handbook of Brewing, Processes, Technology, Markets. H.M. Eßlinger (Eds). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co Press. Pp 207-224, Freiberg, Germany.

- Eßlinger, H.M. 2009 b. Filtration and Stabilization. In Handbook of Brewing, Processes, Technology, Markets. H.M. Eßlinger (Eds). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co Press. Pp 225-234, Freiberg, Germany.
- Fantozzi, P., Montanari, L., Mancini, F., Gasbarrini, A., Addolorato, G., Simoncini, M., Nardini, M., Ghiselli, A. and Scaccini, C. 1998. In vitro antioxidant capacity from wort to beer. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* Vol 31, Article no: fs970341, pp. 221-227. Italy.
- Fegredo, J.A., Meynell, R., Lai, A.K.H., Wong, M.C.Y., Martin, C.R., Wiseman, H. and Preedy, V.R. 2009. The Antioxidant Capacity of Beer: Relationships Between Assays of Antioxidant Capacity, Color and Other Alcoholic and Non-alcoholic Beverages. In *Beer in Health and Disease Prevention.*, Second Edition. Victor R. Preedy (eds), Elsevier Academic Press, pp.475-481. London.
- Fernández de Córdova, M.L. and Ruiz Medina, A. 2014. Analytical Methods for Determination of Polyphenols in Beer. In *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*. Victor Preedy (Eds) Elsevier Academic Press. pp. 289-299. Spain.
- Ferreira, I. M. P. L. V. O. 2009. Chapter 27: Beer Carbohydrates. In *Beer in Health and Disease Prevention*, Second Edition. Victor R. Preedy (eds), Elsevier Academic Press, pp.291-306. Porto, Portugal.
- Fix, G. 2014. Beer Colors. Web Sites: <http://beerrecipes.org/beercolor.php#sthash.aU5unyZc.dpbs>, Erişim Tarihi: 09.07.2015.
- Floridi, S., Montanari, L., Marconi, O. and Fantozzi, P. 2003. Determination of Free Phenolic Acids in Wort and Beer by Coulometric Array Detection. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 51, issue 6, pp 1548–1554. Italy.
- Fraga, C.G. 2010. Plant Phenolics and Human Health. Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. Wiley Publication, 593s. New Jersey, Canada.
- Freeman, G. 2006. Chapter 13: Filtration and stabilisation of beer. In *Brewing: New Technologies*. C.W. Bamforth (Eds). CRC Press. Pp 275-292, Woodhead, Cambridge, UK.
- Fumi, M.D., Galli, R. and Donadini G. 2006. Brewing Process and Phenolic Compounds in Beer. Brewing and Distilling Asia Pacific Section Convention 2006. Session 3 – 1430. Hobart, Tasmania, Australia. Web Sites: <http://www.ibdasiapac.com.au/asia-pacific-activities/convention-proceedings/2006/Papers%20&%20Presentations/Fumi%20Maria%20Paper.pdf> Erişim tarihi: 10.08.2014.

- Fumi, M.D., Galli, R., Lambri, M., Donadini G. and De Faveri, D.M. 2011. Effect of full-scale brewing process on polyphenols in Italian all- malt and maize adjunct lager beers. *Journal of Food Composition and Analysis*. Vol 24, issue 4-5, pp. 568- 573. Italy.
- Gerhäuser, C. and Becker, H. 2009. Chapter 12. Phenolic Compounds in Beer. In *Beer in health and disease prevention.*, First Edition. Victor R. Preedy (eds), Elsevier Academic Press, pp.124-144. Germany. Web sitesi: [http://www.researchgate.net/publication/227858885 Phenolic compounds in beer](http://www.researchgate.net/publication/227858885_Phenolic_compounds_in_beer) Erişim tarihi: 15. 09.2015.
- Gordon, M.H. 2003. Natural Antioxidants. In *Encyclopedia of Food and Health*. B. Caballero, P.M. Fingles ve F. Toldrá (eds). Elsevier Press, pp 261- 265. London, UK.
- Gorinstein, S., Caspi, A., Zemser, M. and Trakhtenberg, S. 2000. Comparative contents of some phenolics in beer, red and white wines. *Nutrition Research*. Vol 20, no 1, pp 131-139. Israel.
- Gómez-Caravaca, A.M., Verardo, V., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A. and Caboni, M.F. 2014. Chapter 3. Phenolic Compounds and Saponins in Plants Grown Under Different Irrigation Regimes. In *Polyphenols in Plants*. Ronald Ross Watson (eds). Academic Press. pp. 37-52. Tucson, AZ, USA.
- Gorjanovic, S. Z., Novakovic, M. M., Potkonjak, N. I., Leskosek-Cukalovic, I. and Suznjevic, D. Z . 2010. Application of a novel antioxidative assay in beer analysis and brewing process monitoring. *J. Agric. Food Chem*. Vol. 58, pp. 744–751. Belgrade, Serbia.
- Goupy, P., Hugues, M., Boivin, P. and Amiot, M.J. 1999. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* vol.79, pp. 1625-1634. France.
- Gökpinar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan,T. ve Durmaz, Y. 2006. Algal Antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, cilt 23, Ek 1/1, sayfa 85-89. İzmir, Türkiye.
- Göz, İ. 2014. Biranın Tarihi. Web Sitesi: <http://ilkergoz.com/2014/09/06/biranin-tarihi/> Erişim Tarihi: 15.07.2015.
- Granato, D., Favalli Branco, G., de Assis Fonseca Faria, J. and Gomez Cruz, A. 2011. Characterization of Brazilian lager and Brown ale beers based on color, phenolic compounds, and antioxidant activity using chemometrics. *J.Sci.Food Agric*. Vol. 91, pp. 563-571. São Paulo, Brazil.

- Gresser, A. 2009. chapter 15. Properties and Quality. In Handbook of Brewing Processes, Technology, Markets. Hans Michael Eßlinger (eds). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co Press. Pp 359-397, Freiberg, Germany.
- Güler, D.A. 2009. Bira hakkında her şey!. Efes Pilsen Efes Akademi şirket içi eğitim dökümanları
- Harborne, J.B. and Simmonds, N.W. 1964. Biochemistry of phenolic compounds, Academic Press. pp. 101. London, UK.
- Harborne, J.B. 1989. Plant Phenolics vol. 1. In Methods in Plant Biochemistry. P. M. Dey and J.B. Harborne (eds) pp. 1-552. Academic Press, London, U.K.
- Harborne, J.B. 1993. New naturally occurring plant polyphenols. In Polyphenolic Phenomena, Scalbert, A., Ed., Institut National de la Recherche Argonomique, p.19, Paris.
- Harborne, J.B. and Williams, C.A. 2001. Anthocyanins and other flavonoids. Natural Product Reports. Vol.18, Issue 3. pp.310-333. UK.
- Harrison, M.A. 2009. Beer/Brewing. In Encyclopedia of Microbiology Third Edition. Moselio S. (Eds.) Elsevier Press. pp.23-33. Athens, GA, USA.
- Heleno, S.A., Martins, A., João R. P. Queiroz, M. and Ferreira, I. 2015. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. Food Chemistry. Vol 173, pp. 501-513. Portugal
- Hornsey, I. S. 1999. Brewing . RSC Paperbacks. The Royal Society of Chemistry. 231 pages. NY.
- Hornsey, I. S. 2003. A History of Beer and Brewing. RSC Paperbacks. The Royal Society of Chemistry. Cornwall, UK.
- Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R. and Young, T.W. 1981. Malting and Brewing Science Part 1: Malt and Sweet Wort. Second Edition. Chapman and Hall, Grosvenor Press. 1-387, New York.
- Hough, J.S., Briggs, D.E., Stevens, R. and Young, T.W. 1982. Malting and Brewing Science Part 2: Hopped Wort and Beer. Second Edition. Chapman and Hall, Grosvenor Press. 389-914, New York.
- Hughes, P. 2003. Beers/Raw Materials. In Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Second Edition. Benjamin C. (Eds). Academic Press, pp. 422-429. Zoeterwoude, Netherlands.
- Hughes, P. 2009. Beer flavour. In Beer a Quality Perspective, Charles W. B., Inge R. Bve Graham S. (eds), Elsevier Press, 61-83, UK.

- Hui, Y. H. 2012. Beer production in the United States: Regulatory requirements. In Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology, Second Edition Hui, Y.H. ve Özgül Evranuz, E. (eds), Taylor & Francis Group. CRC Press, 565-577, USA.
- Jacob, F. 2013. Chapter 2. Wort and Beer, 2.12. Color. In MEBAK Wort, Beer, Beer-based Beverages Collection of Brewing Analysis Methods of the Mitteleuropäische Brautechnische Analysenkommission (MEBAK). Fritz Jacob (Eds), MEBAK, ISBN: 978-3-9805814-7-9. Pp. 189-194. Germany.
- Jaganath, I. and Crozier, A. 2010. Dietary flavonoids and phenolic compounds. In Plant Phenolics and Human Health Biochemistry, Nutrition and Pharmacology. Cesar G. Fraga (eds). Wiley Publication. pp. 1- 32. Hoboken, New Jersey.
- Jandera, P., Škeříková, V., Řehová, L., Hájek, T., Baldriánová, L., Škopová, G., Kellner, V. and Horna, A. 2005. RP-HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids in beverages and plant extracts using a CoulArray detector. *J. Sep. Sci.* , vol. 28, issue 9-10, pp.1005-1022. Czech Republic.
- Jurková, M., Horák, T., Hašková, D., Čulík, J. Čejka, P. and Kellner, V. 2012. Control of antioxidant beer activity by the mashing process. *J. inst. Brew.* Vol.118, pp.230-235. Czech Republic.
- Kaneda, H., Takashio, M. and Tamaki, T. 1997. Influence of pH on flavour staling during beer storage. *J. Inst. Brew.* January-February vol. 103, pp. 21-23. Japan.
- Karadeniz, F. 1994. Elma suyunda fenolik madde dağılımı ve konsantreye işleme sırasında değişimi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı, 80s. Ankara
- Kaur, C. and Kapoor, H.C. 2001. Review Antioxidants in fruits and vegetables- the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology.* Vol. 36, pp. 703-725. India
- Kirby, W. and Wheeler, R.E. 1980. The extraction of beer polyphenols and their assay by HPLC. *J. Inst. Brew.* Vol. 86, PP. 15-17. London, UK.
- Kesim, M. 1995. Gıda teknolojisi. Anadolu Üniversitesi Yayınları, yayın no:909, Eskişehir, Türkiye.
- Koca, N. ve Karadeniz, F. 2003. Serbest Radikal Oluşum Mekanizmaları ve Vücuttaki Antioksidan Savunma Sistemleri. *Gıda mühendisliği dergisi.* Sayı 16. Sayfa. 32-37. Ankara, Türkiye
- Koch G. and Allyn M. 2011. *The Brewer's Apprentice; An insider's guide to the art and craft of beer brewing taught by the masters.* Quarry books , 192 p. USA.

- Krottenthaler, M. 2009. Hops. In Handbook of Brewing, Processes, Technology, Markets. H.M. Eßlinger (Eds). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co Press. Pp 85-104, Freiberg, Germany.
- Lapcák, O., Hill, M., Hampl, R., Wähälä, K. and Adlercreutz, H. 1998. Identification of isoflavonoids in beer. *Steroids* Vol. 63 pp14–20, Finland
- Leiper, K.A. and Miedl, M. 2006. Chapter 10. Brewhouse Technology. In Handbook of Brewing, Second Edition. Priest, F.G. ve Stewart, G.G. (eds), Taylor & Francis Group. CRC Press, 383-447, USA.
- Leiper, K.A. and Miedl, M. 2009. Chapter 4. Colloidal stability of beer. In Beer A Quality Perspective A Volume of the Handbook of Alcoholic Beverages Series. C. W. Bamforth, I. Russel and G. Stewaet (eds). Academic Press. 112-161. UK.
- Leitao, C., Marchioni, E., Bergaentzlé, M., Zhao, M., Didierjean, L., Taidi, B. and Ennahar, S. 2011. Effects of Processing Steps on the Phenolic Content and Antioxidant Activity of Beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 59, pp. 1249-1255. France.
- Leitao, C., Marchioni, E., Bergaentzlé, M., Zhao, M., Didierjean, L., Miesch, L., Holder E, Miesch, M and Ennahar, S. 2012. Fate of polyphenols and antioxidant activity of barley throughout malting and brewing. *Journal of Cereal Science*. Vol 55 pp. 318-322. France.
- Lichota, J. 2012. Beer Statistics Report 2012 edition. The Brewers of Europe. Brussels, Belçika.
- Lindemann. 2009. Filtration and Stabilization. In Handbook of Brewing, Processes, Technology, Markets. H.M. Eßlinger (Eds). WILEY-VCH Verlag GmbH & Co Press. Pp 225-234, Freiberg, Germany.
- Linko, M., Haikara, A., Ritala, A. and Penttilä, M. 1998. Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology*, vol. 65, pp.85-98. Espoo, Finland.
- Liu, R.H. 2004. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *The journal of nutrition* 3479S – 3485S. Ithaca, NY.
- Livens, S. 2016. Beer: Fermentation. In Encyclopedia of Food and Health. B. Caballero, P.M. Fingles ve F. Toldrá (eds). Elsevier Press, pp 339- 344. London, UK.
- Logan, B. K., Case, G. A. and Distefano, S. 1999. Alcohol content of beer and malt beverages: Forensic considerations. *J. Forensic Sci.* 44(6): 1292-1296. Washington.

- Lu, J., Zhao, H., Chen, J., Fan, W., Dong, J., Kong, W., Sun, J., Cao, Y. and Cai, G. 2007. Evolution of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity During Malting. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 55 pp. 10994-11001. China.
- Lund, M. N., Hoff, S., Berner, T. S., Lametsch, R. and Andersen, M. L. 2012. Effect of pasteurization on the protein composition and oxidative stability of beer during storage. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 60 pp. 12362-12370. Denmark.
- Maillard, M.-N. and Berset, C. 1995. Evolution of Antioxidant Activity during Kilning: Role of Insoluble Bound Phenolic Acids of Barley and Malt. *J. agric. Food Chem.* Vol. 43, no.7, pp. 1789-1793, France.
- Maillard, M.-N., Soum, M.-H., Boivin, P. and Berset, C. 1996. Antioxidant Activity of Barley and Malt: Relationship with Phenolic Content. *Lebensm.-Wiss. u. – Technol.* Vol. 29, pp. 238-244. France.
- Marinova, G. and Batchvarov, V. 2011. Evaluation of the Methods for Determination of Free Radical Scavenging Activity by DPPH. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17 (no1), pp 11-24. Sofia, Bulgaria.
- Marova, I., Parilova, K., Friedl, Z., Obruca, S. and Duronova, K. 2011. Analysis of Phenolic Compounds in Lager beers of different origin: A contribution to potential determination of the authenticity of Czech beer. *Chromatographia* vol. 73,(suppl 1), pp. S83-S95. Brno, Czech Republic.
- Mc Kay, M., Buglass, A. J. and Lee C. G. 2011. Chapter 2.6. Beer. In *Handbook of Alcoholic Beverages: Technical, Analytical and Nutritional Aspects*, Volume I ve II. Alan J. Buglass (eds.), John Willey & Sons Publishing. pp. 132- 210.
- McMurrough, I., Roche, G.P. and Cleary, K.G. 1984. Phenolic Acids in Beers and Worts. *J. Inst. Brew.* Vol. 90. pp.181-187. Dublin.
- McMurrough I., Madigen D., Kelly, R.J. and Smyth, M.R. 1996. The role of flavonoid polyphenols in beer stability. *J.Am.Soc. Brew Chem.* Vol.54, issue 3, pp.141-148. Dublin. Ireland.
- Miedaner, H. 1986. Centenary Rewiew, Wort Boiling Today- Old and New Aspects. *J. Inst. Brew.* Vol. 92, pp-330-335. Germany.
- Mikyška, A., Hrabák, M., Hašková, D and Šrogl, J. 2002. The role of Malt and Hop Polyphenols in Beer Quality, Flavour and Haze Stability. *J. Inst. Brew.* No 108, issue 1, pp. 78-85.
- Mitić, M.N., Obradović, M.V., Grahovac Z.B. and Pavlović, A.N. 2010. Antioxidant capacities and phenolic levels of different varieties of Serbian white wines.

- Montanari, L., Perretti, G., Natella, F., Guidi, A. and Fantozzi, P. 1999. Organic and Phenolic Acids in Beer. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* Vol 32, Article no: fstl. 1999.0593, pp. 535-539. Italy.
- Moon, J.-K. and Shibamoto, T. 2009. Reviews, Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J. Agric.Food Chem.* Vol. 57, pp. 1655-1666. Davis, California.
- Munroe, J.H. 2006a. Chapter 12. Fermentation. In *Handbook of Brewing*, Second Edition. Priest, F.G. ve Stewart, G.G. (eds), Taylor & Francis Group. CRC Press, 487-524, USA.
- Munroe, J.H. 2006b. Chapter 13. Aging and Finishing. In *Handbook of Brewing*, Second Edition. Priest, F.G. ve Stewart, G.G. (eds), Taylor & Francis Group. CRC Press, 525-550, USA.
- Murkovic, M. 2003. Phenolic Compounds. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Second Edition. B. Caballero (Eds) . Academic Press. pp.4507-4514. Austria.
- Murkovic, M. 2016. Phenolic Compounds: Occurrence, Classes and Analysis. In *Encyclopedia of Food and Health*. B. Caballero, P. M. Fingles ve F. Toldrá (Eds) . Elsevier Press, pp. 346-351. Austria.
- Naczki, M. and Shahidi, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95 – 111. Canada.
- Nardini, M. and Ghiselli, A. 2004. Determination of free and bound phenolic acids in beer. *Food Chemistry*. Vol.84, pp. 137-143. Rome, Italy.
- Narziss, L. 1992. *Die Bierbrauerei*, Band II: Die Technologie der Würzebereitung, 7th ed. Enke Verlag, Stuttgart, Deutschland.
- Nelson, M. 2005. *The Barbarian's Beverage. A History of Beer in Ancient Europe*. Taylor & Francis Group. 214 p.
- Nizamlioglu, N. M. ve Nas, S. 2010. Meyve ve Sebzerlerde bulunan fenolik bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi Cilt: 5, No: 1*, 20-35.
- Okcu, Z. ve Keleş, F. 2009. Kalp – Damar Hastalıkları ve Antioksidanlar. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* No. 40(1), sayfa 153-160. Erzurum.

- O'Rourke, T. 2002a. The function of wort boiling. The *BREWER International*. Technical Summary 2. Technical summaries for the Institute & Guild's AME candidates.
- O'Rourke, T. 2002b. The role of pH in brewing. The *BREWER International*. Vol.2 Issue 8. Technical Summary 2. Technical summaries for the Institute & Guild's AME candidates.
- Ortega-Heras, M. and González-Sanjosé, M.L. 2003. Beers/Wort Production In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Second Edition. Benjamin C. (Eds). Academic Press, pp. 429-434. Burgos, Spain.
- Özçelik, F. 2008. Fermentasyon Teknolojisi Lisans Ders Notu (Yayımlanmamış) . Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
- Özkan, G. ve Göktürk Baydar N. 2006. A Direct RP-HPLC Determination of Phenolic Compounds in Turkish Red Wines. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fak Der*, 19(2):229-234.
- Özkan, S. ve Çilingir, S. 2012. Tarihe Meydan Okuyan Bira ve Türkiye'deki Macerası Web sayfası: <http://www.gunceltarih.org/2012/02/tarihe-meydan-okuyan-bira-ve.html> Erişim Tarihi: 14.07.2015.
- Palmer, G. H. 2006. Chapter 5. Barley and Malt. In *Handbook of Brewing*, Second Edition. Fergus G.P. ve Graham G.S. (Eds). CRC Press. pp. 139- 161.
- Papazian, C. 2006. Chapter 2. Beer Styles: Their Origins and Classification. In *Handbook of Brewing*, Second Edition. Fergus G.P. ve Graham G.S. (Eds). CRC Press. pp. 39-77.
- Piazzon, A., Forte, M. and Nardini, M. 2010. Characterization of phenolics content and antioxidant activity of different beer types. *J. Agric. Food. Chem.* Vol. 58, no. 19, pp. 10677-10683. Italy.
- Preece, I.A. 1954. *The Biochemistry of Brewing*. Oliver & Boyd Press: 393 pages. Edinburgh, London, UK.
- Prior, R. L., Wu, X. and Schaich, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 53, pp. 4290-4302. New Jersey.
- Ribéreau-Gayon, P. 1972. *Plant Phenolics*. Oliver and Boyd Publishing. 254 p. Edinburgh.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. 2006a. *Handbook of Enology, Volume 1: The Microbiology of Wine and Vinifications*. Second edition. John Wiley and Sons Publishing. pp. 255 - 256. England.

- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. and Dubourdieu, D. 2006b. Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Second edition. John Wiley and Sons Publishig. pp. 141- 203. England.
- Rivero, D., Pérez-Magariño, S., González-Sanjosé, M. L., Valls-Belles, V., Codoñer, P. and Muñiz, P. 2005. Inhibition of Induced DNA Oxidative Damage by Beers: Correlation with the Content of Polyphenols and Melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 53, issue 9, pp. 3637- 3642. Spain.
- Roberts, T.R and Wilson, R.J.H. 2006. Chapter 7 Hops. In Handbook of Brewing, Second Edition. Fergus G.P. ve Graham G.S. (Eds). CRC Press. pp. 177-281.
- Russell, I. and Stewart, G.G. 1995. Chapter 11 Brewing. In Biotechnology: Enzymes, Biomass, Food and Feed. Volume 9, Second Ed. H. J. Rehm ve G. Reed (eds.) VCH Publishers, pp. 419- 462. Canada.
- Russell, I. 2006. Chapter 8. Yeast. In Handbook of Brewing, Second Edition. Fergus G.P. ve Graham G.S. (Eds). CRC Press. pp. 281-332.
- Saldamlı, İ. 2007. Gıda Kimyası. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye.
- Samaras, T.S., Gordon, M.H. and Ames J.M. 2005a. Antioxidant properties of malt model systems. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 53, issue 12, pp 4938–4945. UK.
- Saura-Calixto, F., Serrano, J. and Pérez-Jiménez, J. 2009. What Contribution Is Beer to the Intake of Antioxidants in the Diet? In Beer in Health and Disease Prevention., Second Edition. Victor R. Preedy (eds), Elsevier Academic Press, pp.441-448. Madrid, Spain.
- Shahidi, F. and Naczki, M. 1995. Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Applications. Taylor & Francis Group. 331 p. USA.
- Shahidi, F. 2000. Antioxidants in food and food antioxidants. *Food/Nahrung*, Volume 44, Issue 3 pages 158-163. Canada.
- Shahidi, F. and Naczki, M. 2004. Phenolics in Food and Nutraceuticals. CRC Press 558p.
- Shahidi, F. and Ambigaipalan, P. 2015. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A Review. *Journal of Functional Foods* Vol. 18, pp 820-897. Canada.
- Siqueira, P. B., Bolini, H.M.A. and Macedo, G.A. 2011. Polyphenols and antioxidant properties in forced and naturally aged Brazilian beer. *Journale of Brewing and Distiling*. Vol 2, issue 3, pp.45-50. Brasil.

- Slinkard, K. and Singleton, V. L. 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Eunoology and Viticulture*. Vol. 28, p. 49-55.
- Stewart, G.G. 2003. Biochemistry of fermentaton. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, Second Edition. Benjamin C. (Eds). Academic Press, pp. 434-440. Edinburgh, UK.
- Stewart, G.G. 2006. Chapter 19 : Beer Stbility. In *Handbook of Brewing*, Second Edition. Fergus G.P. ve Graham G.S. (Eds). CRC Press. pp. 715-728.
- Stewart, G.G. 2013. Chapter 7: Biochemistry of brewing. In *Biochemistry of Foods*. Third Edition. N.A. Michael Eskin ve Freidoon S. (Eds). Academic Press, pp 291-318. UK.
- Stewart, G.G. 2016. Beer: Raw materials and wort production. In *Encyclopedia of Food and Health*. B. Caballero, P.M. Fingles ve F. Toldrá (eds). Elsevier Press, pp. 355- 363. Cardiff, UK.
- Swain, T. and Bate-Smith, E.C. 1962. Flavonoid compounds. In *Comparative Biochemistry Vol III*. M. Florkin ve H.S. Mason (eds). Academic Press, pp.755-809. New York, USA.
- Szwajgier, D., Pielecki, J. and Targoński, Z. 2005. Changes of Free Ferulic and Coumaric Acid Contents During Malting of Barley Grain. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* Vol 14/55, no: 4, pp.423-429. Poland.
- Szwajgier, D. 2009. Content of individual phenolic acids in worts and beers and their possible contribution to the antiradical activity of beer. *J. Inst. Brew.* Vol 115, issue.3, pp.243-252.
- Szwajgier, D. and Bancarzewska, M. 2011. Changes in the phenolic acid content during wort boiling and whirlpool. *Acta. Sci. Pol., Technol. Aliment.* Vol. 10(1), pp. 19-33. Lublin, Poland.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2008. *Bitki Fizyolojisi, Çeviri Editörü İsmail Türkan, Palme Yayıncılık, III. Baskı, Ankara.*
- Taylor, D.G. 2006. Chapter 4. Water. In *Handbook of Brewing*, Second Edition. Fergus G.P. ve Graham G.S. (Eds). CRC Press. pp. 91-139.
- Toprak, F.E. 2011. Ankara ve Nevşehir illerinde yetiştirilen Kalecik Karası üzüm çeşidinin fitokimyasal özellikleri üzerine araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 65 s. Ankara

- Treutter, D. 2005. Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*. Volume 7, Issue 6, pages 581–591, Freising, Germany.
- Türker, İ., 1974. Fermentasyon Teknolojisi Cilt-1, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 553. Ders kitabı:185, Ankara, Türkiye.
- Türker, İ. 1986. Malt, bira ve şerbetçiotu analizleri, yardımcı ders ve uygulama kitabı. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:977, Ankara, Türkiye.
- Türker, İ. ve Canbaş, A. 1991. Malt ve bira teknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Genel Yayın No:4, Ders Kitapları Yayın No:2. Adana, Türkiye.
- Ünsal, T. 2007. Kalecik Karası, Gamay ve Cabernet Sauvignon şaraplarında bazı fenolik bileşenlerin karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 46, Ankara, Türkiye.
- Vanderhaegen, B., Neven, H., Verachtert, H. and Derdelinckx, G. 2006. The chemistry of beer aging – a critical review. *Food Chemistry* 95 (2006) 357–381. Heverlee, Belgium
- Vardin, B., Dalgıç, A.C. ve Vardin, H. 2008. Gıdaların üretiminde uygulanan işlemlerin doğal antioksidantlar üzerine etkileri. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs, kongre özetleri kitabı sayfa 1091. Erzurum
- Velioğlu, S. 2010. Food acids: Organic acids, volatile organic acids, and phenolic acids. In *Advances in Food Biochemistry*. F. Yıldız (eds). Pp.324-340. CRC Press. Ankara, Turkey.
- Vermerris, W. and Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer Publishing. 276 pp. USA.
- Vinson, J.A., Mandarano, M., Hirst, M., Trevithick, J.R. and Bose, P. 2003. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Beers and the Effect of Two Types of Beer on an Animal Model of Atherosclerosis. *J. Agric. Food Chem.* Vol 51, issue 18, pp 5528–5533. Canada.
- Wanasundara, P.K.J.P.D. and Shahidi, F. 2005. Antioxidants: Science, Technology, and Applications. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Freidoon Shahidi (eds). Pages 1-11. Canada.
- Wietstock, P., Kunz, T., Shellhammer, T., Schön, T. and Methner, F.-J. 2010. Behaviour of Antioxidants derived from hops during wort boiling. *J. Inst. Brew.* Vol. 16, no. 2, pp. 157-166. Germany.

- Wunderlich, S. and Back, W. 2009. Overview of Manufacturing Beer: Ingredients, Processes, and QualityCriteria. In Beer in Health and Disease Prevention. Victor R.P. (Eds). Academic Press, pp. 1,3-16. Freising-Weihestephan, Germany.
- Yavuzeser, A. 1989. Şaraplarda Kimyasal ve Analitik Yöntemler ve Şarap İşletmeleri Denetimi. Tekel Enstitüleri Yayınları. İstanbul, Türkiye.
- Yazıcıoğlu, T. 1965. Türk Malt ve Bira Sanayii (Tarihi, Ham Maddeleri, Kuruluş ve İşleyişi). Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 244, Yardımcı Ders Kitabı:83. Ankara, Türkiye.
- Yerer, M.B. ve Aydoğan, S. 2000. Oksidatif stres ve antioksidanlar. Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. No: 9 (1). Sayfa 49-53. Kayseri, Türkiye.
- Yıldız, O., Şahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö. ve Kolaylı, S. 2010. Maillard reaksiyonları ve reaksiyon ürünlerinin gıdalardaki önemi. Akademik Gıda. No: 8 (6), sayfa 44-51. Türkiye.
- Yılmaz, Y. and Toledo, R. 2005. Antioxidant activity of water-soluble Maillard Reaction products. Food Chemistry Vol. 93, pp. 273-278. Denizli, Türkiye.
- Zarnkow, M. 2014. Beer. In Encyclopedia of Food Microbiology. Second Edition. Carl A. B. (Eds). Academic Press, pp. 209-215. Freising, Germany.
- Zhao, H., Chen, W., Lu, J. and Zhao, M. 2010. Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Commercial Beers. Food Chemistry, Vol. 119, Issue3, pp. 1150 – 1158. PR, China.
- Zhao, H and Zhao, M. 2012. Original article; Effects of mashing on total phenolic contents and antioxidant activities of malts and worts. International Journal of Food Science and Technology. Vol. 47, issue 2, pp 240–247. China.
- Zhao, H., Li, H., Sun, G., Yang, B. and Zhao, M. 2013. Assessment of Endogenous Antioxidative Compounds and Antioxidant Activities of Lager Beers. J. Sci. Food Agric. Vol. 93 pp. 910- 917. China.
- Zhao, H. 2014. Endogenous Antioxidants and Antioxidant Activities of Beers. In Processing and Impact on Antioxidants in Beverages. Victor Preedy (eds). Elsevier Academic Press. pp.15-24.Guangzhou, China.
- Zhao, H. 2015. Effects of processins stages on the profile of phenolic compounds in beer. In Processing and Impact on active Components in Food. Victor Preedy (eds). Academic Press Publications.pp 533-539. Guangzhou, China.

## EKLER

EK 1 Gallik asit standart kurvesi

EK 2 (+) – kateşin standart kurvesi

EK 3 Vanilik asit standart kurvesi

EK 4 Şirincik asit standart kurvesi

EK 5 (-)- epikateşin standart kurvesi

EK 6 Protokateşuik asit standart kurvesi

EK 7 Kafeik asit standart kurvesi

EK 8 *p*-kumaric asit standart kurvesi

EK 9 Ferulik asit standart kurvesi

EK 10 Kuersetin standart kurvesi

EK 11 Toplam fenol tayininde kullanılan gallik asit standart kurvesi

EK 12 Antioksidan aktivite belirlemede kullanılan Trolox standart kurvesi

EK 13 Klasik malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

EK 14 %100 malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

EK 15 Yüksek alkollü malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

EK 16 Düşük alkollü malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

EK 17 Aromalı malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

EK 18 İthal malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

EK 19 Klasik malt birası örneklerinde proses boyunca % inhibisyon sonuçları değişimi

EK 20 %100 malt birası örneklerinde proses boyunca % inhibisyon sonuçları değişimi

EK 21 Yüksek alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca % inhibisyon sonuçları değişimi

EK 22 Düşük alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca % inhibisyon sonuçları değişimi

EK 23 Aromalı malt birası örneklerinde proses boyunca % inhibisyon sonuçları değişimi

EK 24 İthal malt birası örneklerinde proses boyunca % inhibisyon sonuçları değişimi

EK 25 Klasik malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite düzeyindeki değişim

EK 26 %100 malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite düzeyindeki değişim

EK 27 Yüksek alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite düzeyindeki değişim

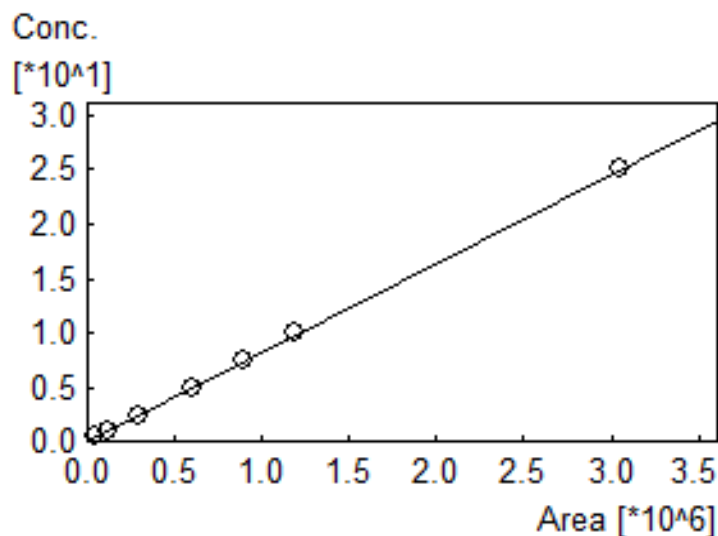
EK 28 Düşük alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite düzeyindeki değişim

EK 29 Aromalı malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite düzeyindeki değişim

EK 30 İthal malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan kapasite düzeyindeki değişim

# EK 1 Gallik asit standart kurvesi

ID# : 1  
 Name : Gallic acid monohydrate  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=8.16618e-006*x+0.0932072$   
 Rr1=0.9999528 Rr2=0.9999056  
 MeanRF:8.47198e-006 RFSD:5.35671e-007 RFRSD:6.32285  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRearession : None  
 Detector Name : PDA



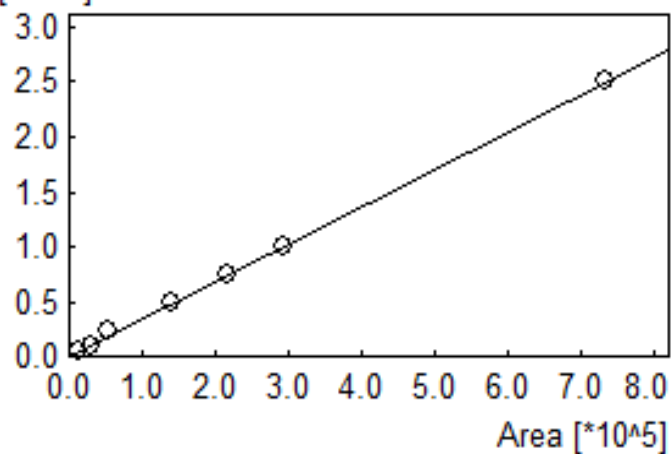
| # | Conc (Ratio) | Area      | Area    |
|---|--------------|-----------|---------|
| 1 | 0.500        | 48592.5   | 48593   |
|   |              | 58576.6   | 58577   |
| 2 | 1.000        | 117862.3  | 117862  |
|   |              | 122988.5  | 122989  |
| 3 | 2.500        | 298311.8  | 298312  |
|   |              | 296957.1  | 296957  |
| 4 | 5.000        | 600238.5  | 600239  |
|   |              | 602834.5  | 602835  |
| 5 | 7.500        | 902485.6  | 902486  |
|   |              | 901358.6  | 901359  |
| 6 | 10.000       | 1192812.0 | 1192812 |
|   |              | 1193179.4 | 1193179 |

# EK 2 (+) – kateşin standart kurvesi

ID# : 2  
 Name : (+)- catechin hydrate  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=3.36932e-005*x+0.164644$   
 Rr1=0.9997083 Rr2=0.9994167  
 MeanRF:3.65298e-005 RFSD:8.07394e-006 RFRSD:22.1023  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRearession : None  
 Detector Name : PDA

Conc.

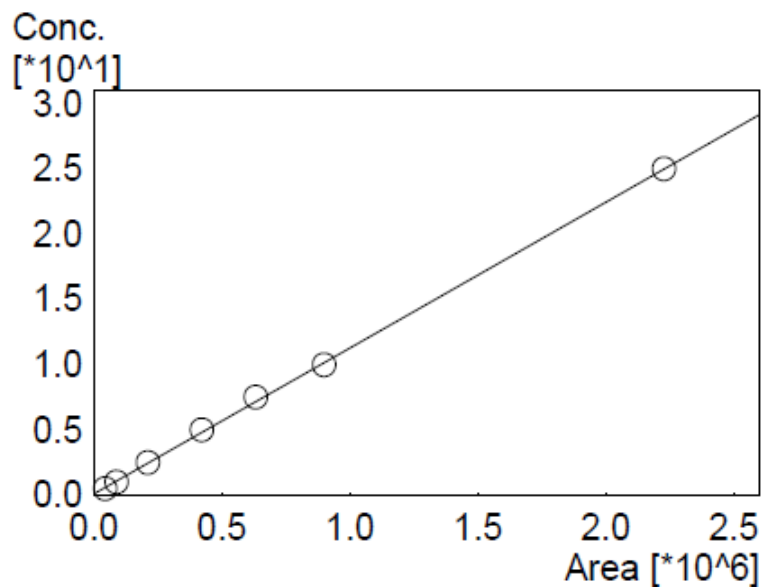
[\*10<sup>1</sup>]



| # | Conc (Ratio) | Area     | Area   |
|---|--------------|----------|--------|
| 1 | 0.500        | 14060.4  | 14060  |
|   |              | 14054.4  | 14054  |
| 2 | 1.000        | 29931.3  | 29931  |
|   |              | 31737.4  | 31737  |
| 3 | 2.500        | 72824.8  | 72825  |
|   |              | 40365.0  | 40365  |
| 4 | 5.000        | 142520.3 | 142520 |
|   |              | 143623.8 | 143624 |
| 5 | 7.500        | 218738.0 | 218738 |
| 6 | 10.000       | 293717.9 | 293718 |
|   |              | 295291.5 | 295292 |
| 7 | 25.000       | 736491.6 | 736492 |

# EK 3 Vanilik asit standart kurvesi

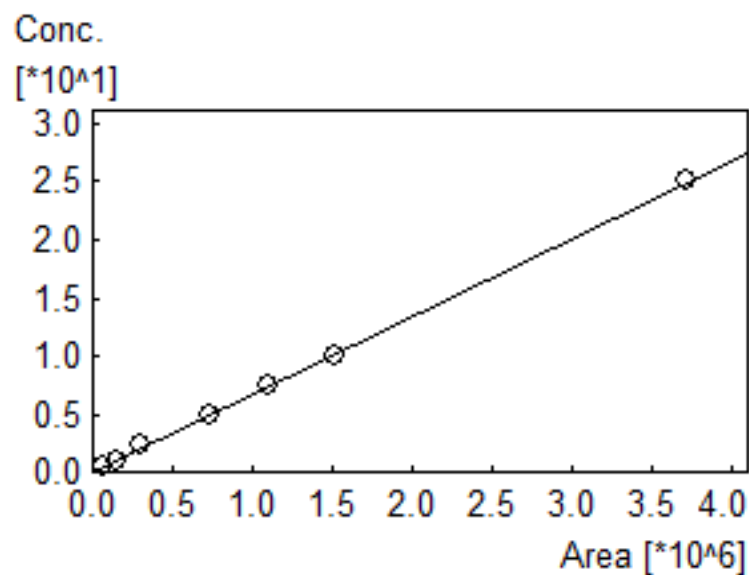
ID# : 3  
 Name : Vanillic acid  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=1.11793e-005*x+0.12139$   
 Rr1=0.9997953 Rr2=0.9995907  
 MeanRF:1.14539e-005 RFSD:3.62468e-007 RFRSD:3.16459  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRegression : None  
 Detector Name : PDA



| # | Conc (Ratio) | Area      | Area    |
|---|--------------|-----------|---------|
| 1 | 0.500        | 43005.3   | 43005   |
|   |              | 45916.0   | 45916   |
| 2 | 1.000        | 88833.8   | 88834   |
|   |              | 89266.9   | 89267   |
| 3 | 2.500        | 215285.0  | 215285  |
|   |              | 209051.2  | 209051  |
| 4 | 5.000        | 423816.4  | 423816  |
|   |              | 422783.7  | 422784  |
| 5 | 7.500        | 632927.7  | 632928  |
| 6 | 10.000       | 899657.7  | 899658  |
|   |              | 901652.6  | 901653  |
| 7 | 25.000       | 2228157.8 | 2228158 |

# EK 4 Şirincik asit standart kurvesi

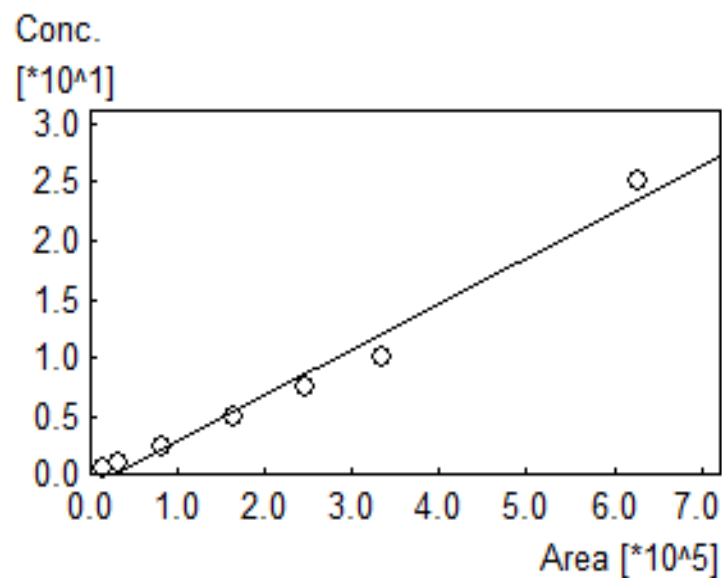
ID# : 4  
 Name : Syringic acid  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=6.657e-006*x+0.105734$   
 Rr1=0.9997634 Rr2=0.9995268  
 MeanRF:7.03693e-006 RFSD:1.11519e-006 RFRSD:15.8476  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRearession : None  
 Detector Name : PDA



| # | Conc (Ratio) | Area      | Area    |
|---|--------------|-----------|---------|
| 1 | 0.500        | 66648.4   | 66648   |
|   |              | 76283.8   | 76284   |
| 2 | 1.000        | 153953.0  | 153953  |
|   |              | 155237.5  | 155237  |
| 3 | 2.500        | 370937.6  | 370938  |
|   |              | 238771.6  | 238772  |
| 4 | 5.000        | 738424.7  | 738425  |
|   |              | 730734.3  | 730734  |
| 5 | 7.500        | 1111858.3 | 1111858 |
| 6 | 10.000       | 1513013.6 | 1513014 |
|   |              | 1522387.1 | 1522387 |
| 7 | 25.000       | 3729983.0 | 3729983 |

# EK 5 (-)- epikateşin standart kurvesi

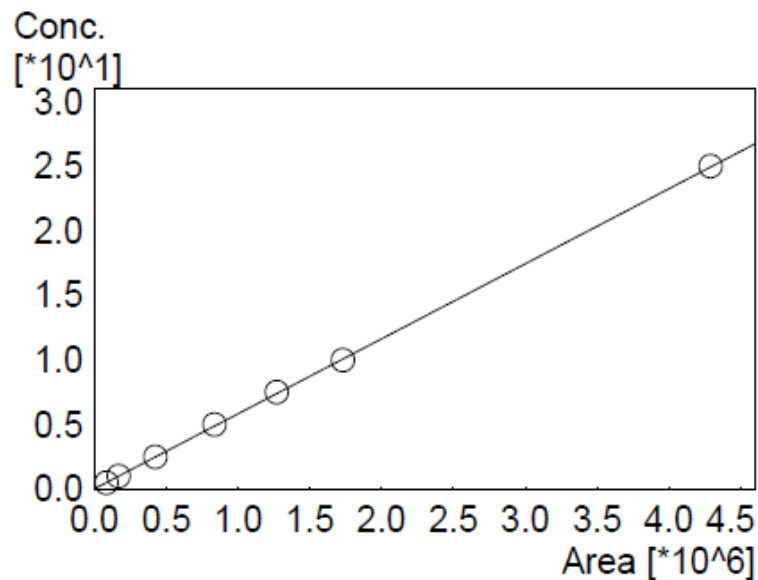
ID# : 5  
 Name : (-)-Epicatechin  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=3.91202e-005*x-1.0588$   
 Rr1=0.9888659 Rr2=0.9778557  
 MeanRF:3.27408e-005 RFSD:8.16263e-006 RFRSD:24.9311  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRearession : None  
 Detector Name : PDA



| # | Conc (Ratio) | Area     | Area   |
|---|--------------|----------|--------|
| 1 | 0.500        | 14395.2  | 14395  |
|   |              | 16942.5  | 16942  |
| 2 | 1.000        | 32255.7  | 32256  |
|   |              | 33496.6  | 33497  |
| 3 | 2.500        | 83490.8  | 83491  |
|   |              | 82202.0  | 82202  |
| 4 | 5.000        | 164856.0 | 164856 |
|   |              | 164628.9 | 164629 |
| 5 | 7.500        | 248113.3 | 248113 |
| 6 | 10.000       | 333317.1 | 333317 |
|   |              | 336690.1 | 336690 |
| 7 | 25.000       | 419844.4 | 419844 |

# EK 6 Protokateşuik asit standart kurvesi

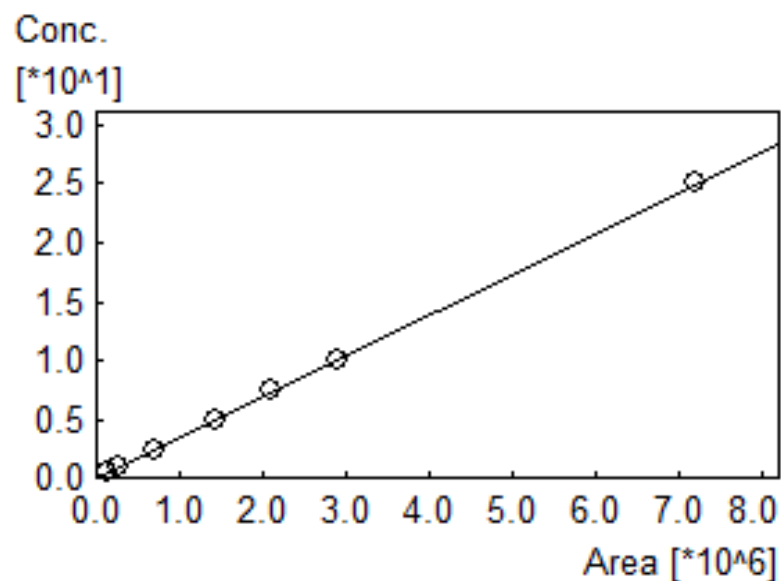
ID# : 6  
 Name : Protocatechuic acid  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=5.81626e-006*x+0.0348954$   
                     Rr1=0.9999680 Rr2=0.9999361  
                     MeanRF:5.87731e-006 RFSD:1.10868e-007 RFRSD:1.88637  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRegression : None  
 Detector Name : PDA



| # | Conc (Ratio) | Area      | Area    |
|---|--------------|-----------|---------|
| 1 | 0.500        | 82214.2   | 82214   |
|   |              | 87857.0   | 87857   |
| 2 | 1.000        | 169541.3  | 169541  |
|   |              | 172145.6  | 172146  |
| 3 | 2.500        | 423568.4  | 423568  |
|   |              | 424887.2  | 424887  |
| 4 | 5.000        | 834703.6  | 834704  |
|   |              | 841484.4  | 841484  |
| 5 | 7.500        | 1270793.9 | 1270794 |
| 6 | 10.000       | 1732463.6 | 1732464 |
| 7 | 25.000       | 4218288.4 | 4218288 |
|   |              | 4363765.3 | 4363765 |

# EK 7 Kafeik asit standart kurvesi

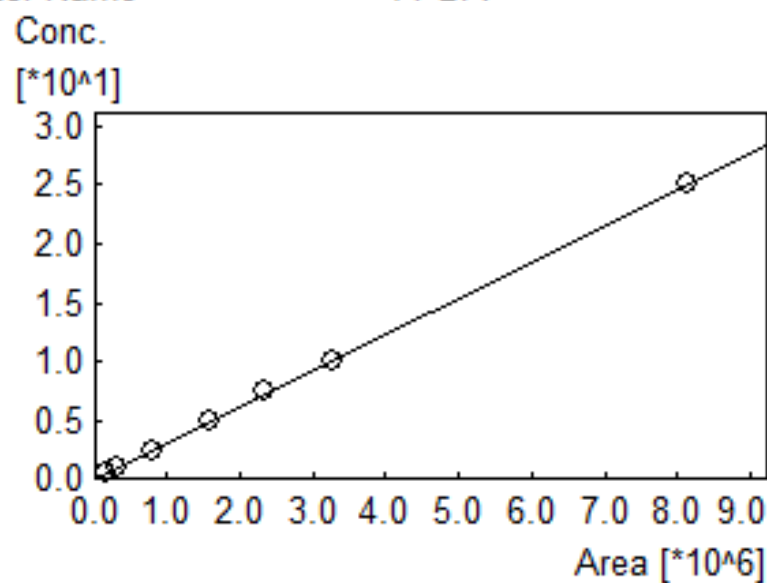
ID# : 7  
 Name : Caffeic acid  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=3.46592e-006*x+0.00847135$   
 Rr1=0.9999297 Rr2=0.9998595  
 MeanRF:3.47983e-006 RFSD:6.98891e-008 RFRSD:2.00841  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRegression : None  
 Detector Name : PDA



| # | Conc (Ratio) | Area      | Area    |
|---|--------------|-----------|---------|
| 1 | 0.500        | 136829.7  | 136830  |
|   |              | 142998.6  | 142999  |
| 2 | 1.000        | 291813.1  | 291813  |
|   |              | 292326.5  | 292326  |
| 3 | 2.500        | 728845.7  | 728846  |
|   |              | 721675.1  | 721675  |
| 4 | 5.000        | 1440030.2 | 1440030 |
|   |              | 1438314.0 | 1438314 |
| 5 | 7.500        | 2088110.8 | 2088111 |
|   |              | 2130281.1 | 2130281 |
| 6 | 10.000       | 2928713.9 | 2928714 |
|   |              | 2931748.2 | 2931748 |

# EK 8 *p*-kumaric asit standart kurvesi

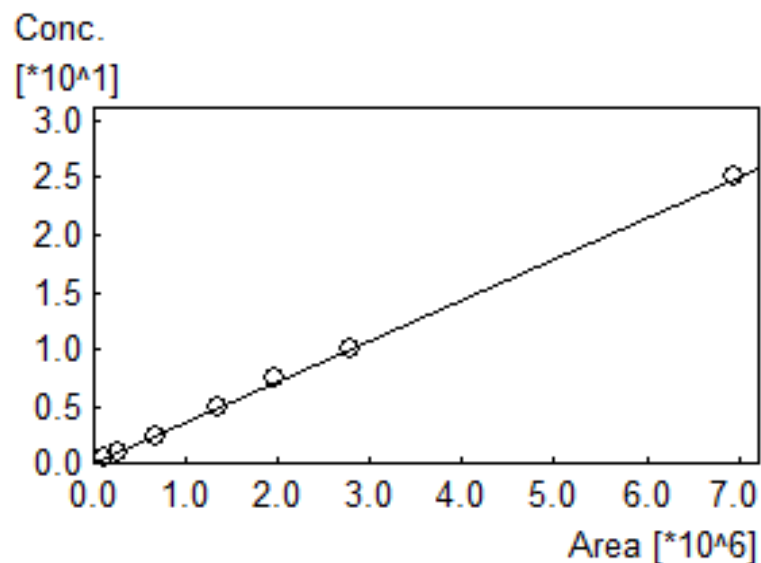
ID# : 8  
 Name : *p*-Coumaric acid  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=3.07263e-006*x+0.0444853$   
 Rr1=0.9999203 Rr2=0.9998407  
 MeanRF:3.09221e-006 RFSD:5.1011e-008 RFRSD:1.64966  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRearession : None  
 Detector Name : PDA



| # | Conc (Ratio) | Area      | Area    |
|---|--------------|-----------|---------|
| 1 | 0.500        | 160278.3  | 160278  |
|   |              | 163712.7  | 163713  |
| 2 | 1.000        | 329655.6  | 329656  |
|   |              | 330433.9  | 330434  |
| 3 | 2.500        | 810533.3  | 810533  |
|   |              | 809145.9  | 809146  |
| 4 | 5.000        | 1598929.9 | 1598930 |
|   |              | 1597828.3 | 1597828 |
| 5 | 7.500        | 2347514.8 | 2347515 |
|   |              | 2361776.4 | 2361776 |
| 6 | 10.000       | 3271558.8 | 3271559 |
|   |              | 3279540.4 | 3279540 |

# EK 9 Ferulik asit standart kurvesi

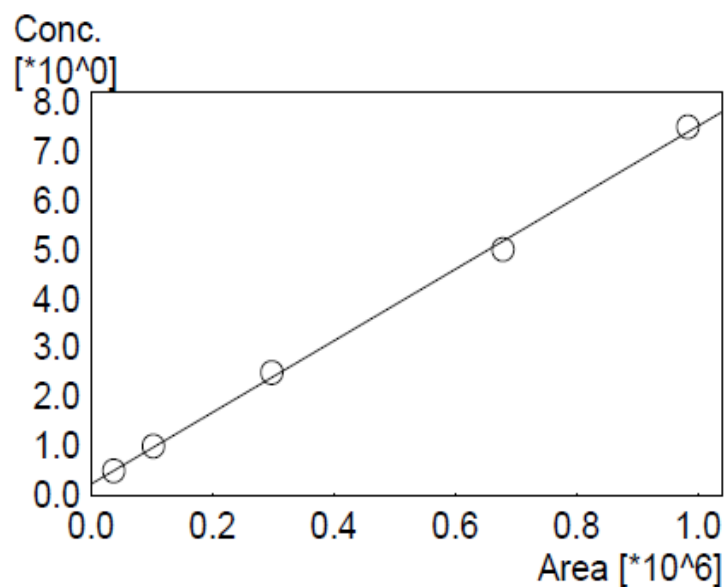
ID# : 9  
 Name : Ferulic acid  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=3.58723e-006*x+0.0748568$   
 Rr1=0.9998557 Rr2=0.9997115  
 MeanRF:3.64168e-006 RFSD:8.85915e-008 RFRSD:2.43271  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRearession : None  
 Detector Name : PDA



| # | Conc (Ratio) | Area      | Area    |
|---|--------------|-----------|---------|
| 1 | 0.500        | 135745.1  | 135745  |
|   |              | 136720.0  | 136720  |
| 2 | 1.000        | 277740.9  | 277741  |
|   |              | 283919.7  | 283920  |
| 3 | 2.500        | 687903.0  | 687903  |
|   |              | 685809.4  | 685809  |
| 4 | 5.000        | 1355898.5 | 1355899 |
|   |              | 1359107.9 | 1359108 |
| 5 | 7.500        | 1926535.8 | 1926536 |
|   |              | 2046095.5 | 2046095 |
| 6 | 10.000       | 2797824.7 | 2797825 |
|   |              | 2812968.2 | 2812968 |

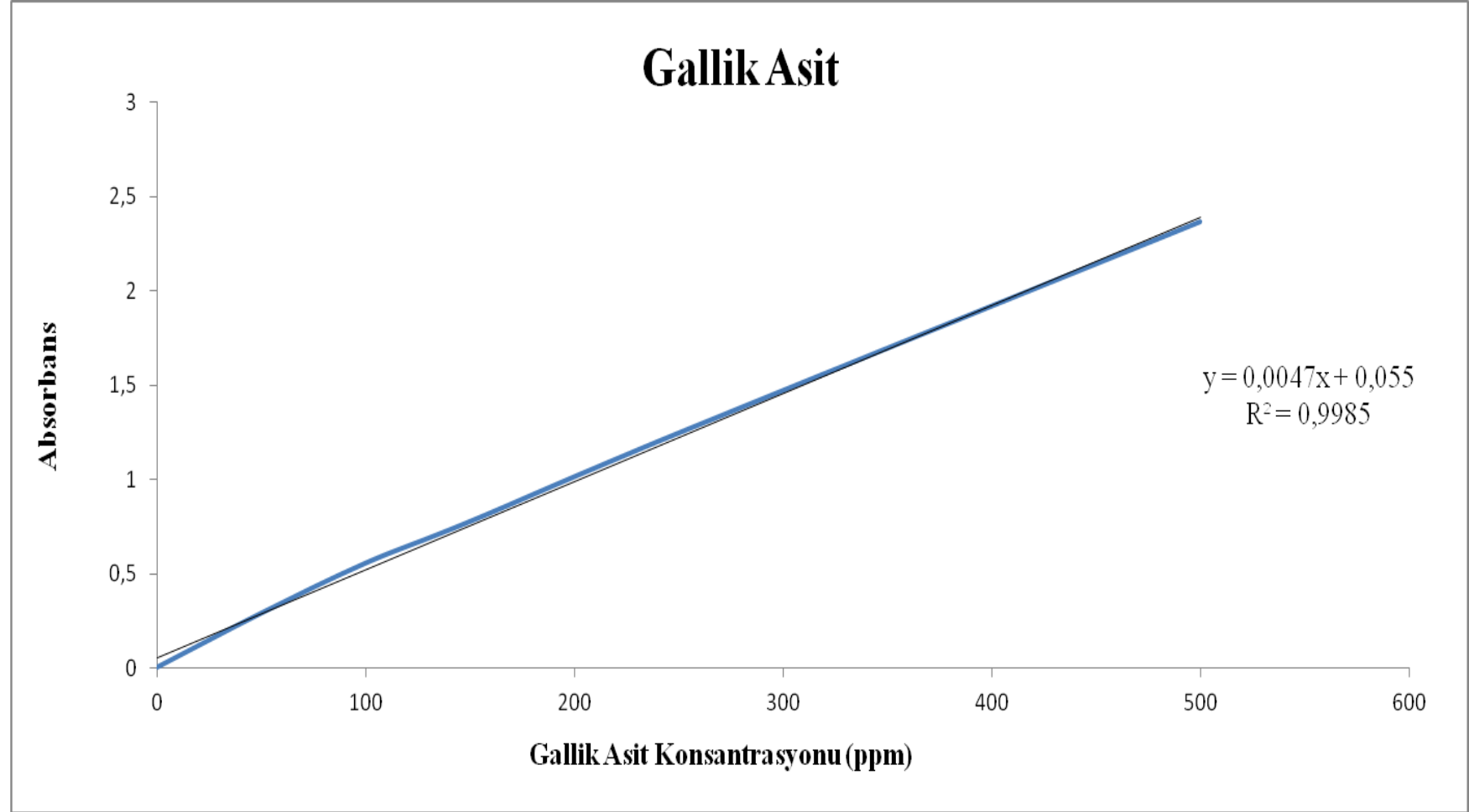
# EK 10 Kuersetin standart kurvesi

ID# : 10  
 Name : Quercetin hydrate  
 Quantitative Method : External Standard  
 Function :  $f(x)=7.281e-006*x+0.238895$   
 Rr1=0.9992560 Rr2=0.9985126  
 MeanRF:1.04103e-005 RFSD:6.75212e-006 RFRSD:64.8603  
 FitType : Linear  
 ZeroThrough : Not Through  
 WeightedRegression : None  
 Detector Name : PDA



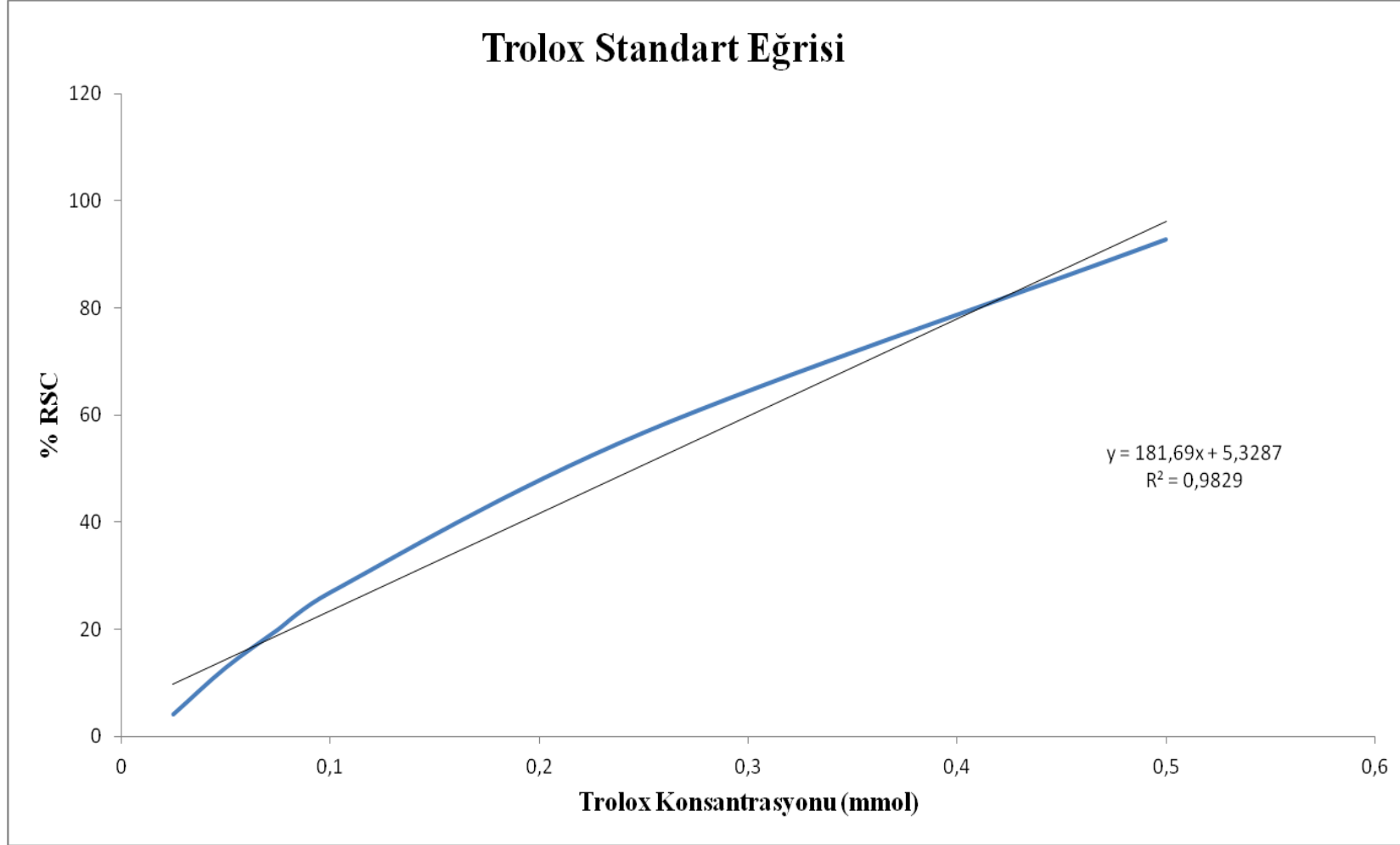
| # | Conc (Ratio) | Area      | Area    |
|---|--------------|-----------|---------|
| 1 | 0.500        | 16974.2   | 16974   |
|   |              | 59187.6   | 59188   |
| 2 | 1.000        | 107575.5  | 107576  |
|   |              | 98828.9   | 98829   |
| 3 | 2.500        | 307462.7  | 307463  |
|   |              | 288746.3  | 288746  |
| 4 | 5.000        | 684409.3  | 684409  |
|   |              | 673277.0  | 673277  |
| 5 | 7.500        | 950795.2  | 950795  |
|   |              | 1016977.7 | 1016978 |

EK 11 Toplam fenol tayininde kullanılan gallik asit standart kurvesi

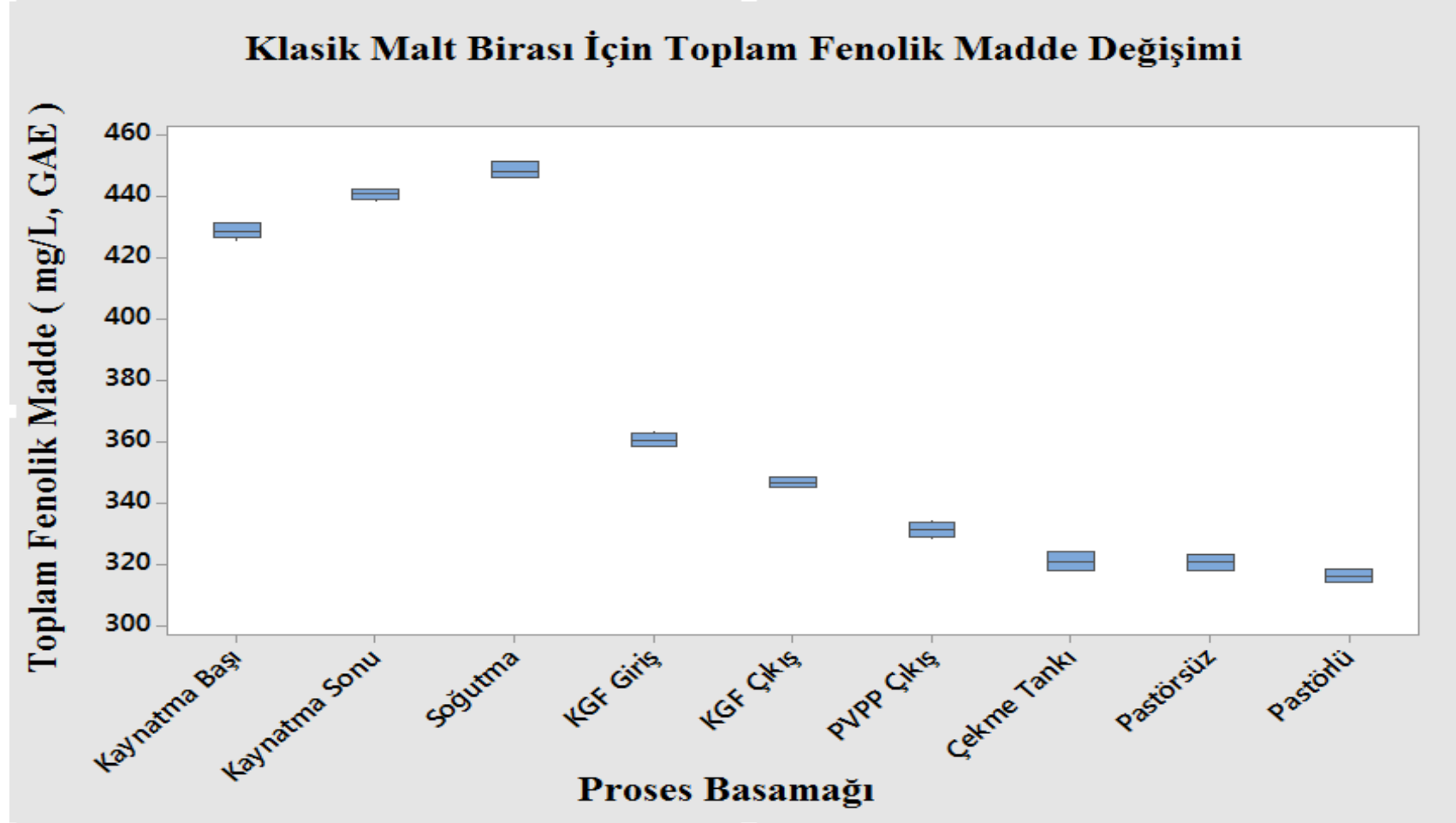


EK 12 Antioksidan aktivite belirlemede kullanılan Trolox standart kurvesi

235

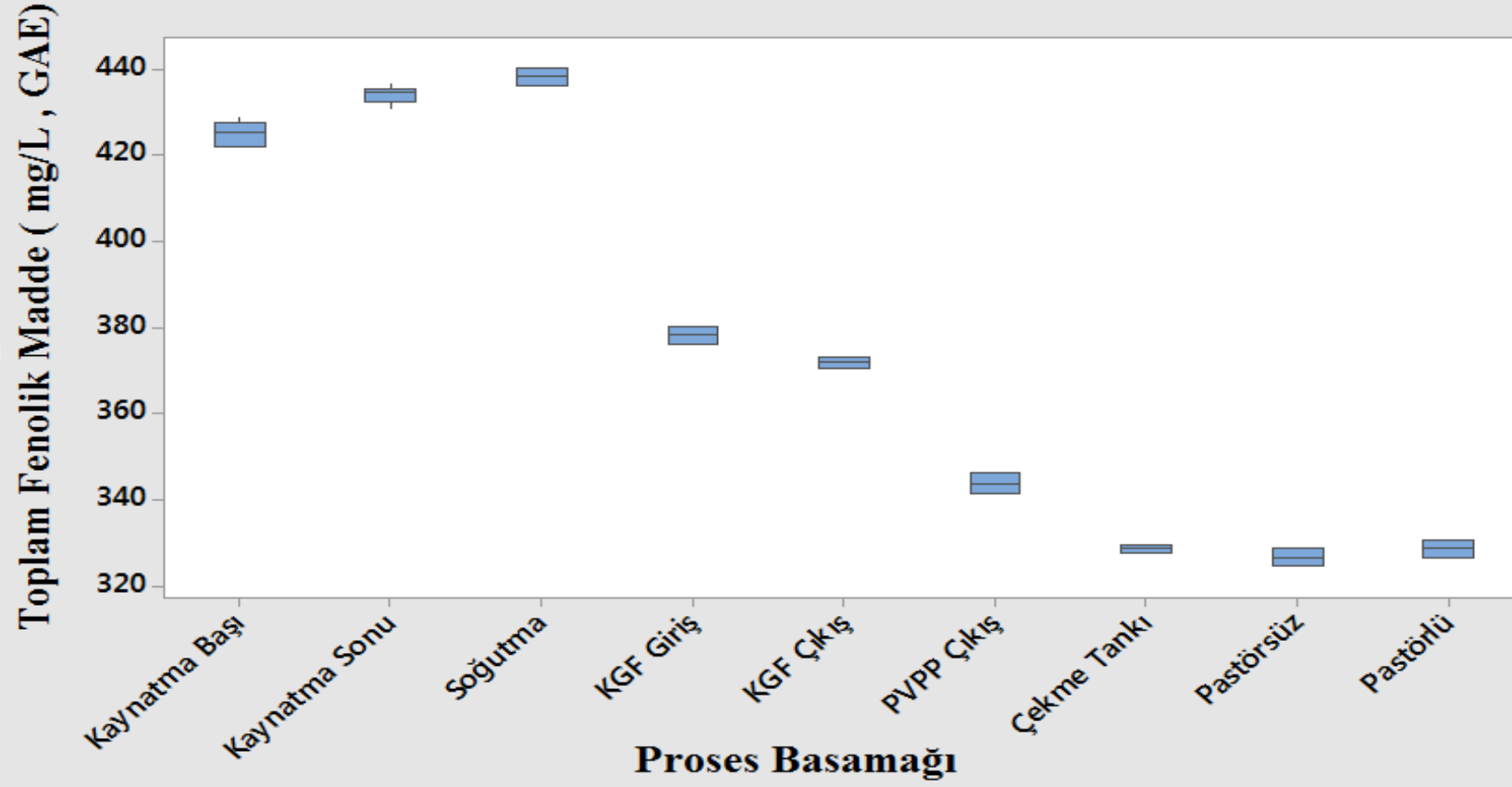


EK 13 Klasik malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

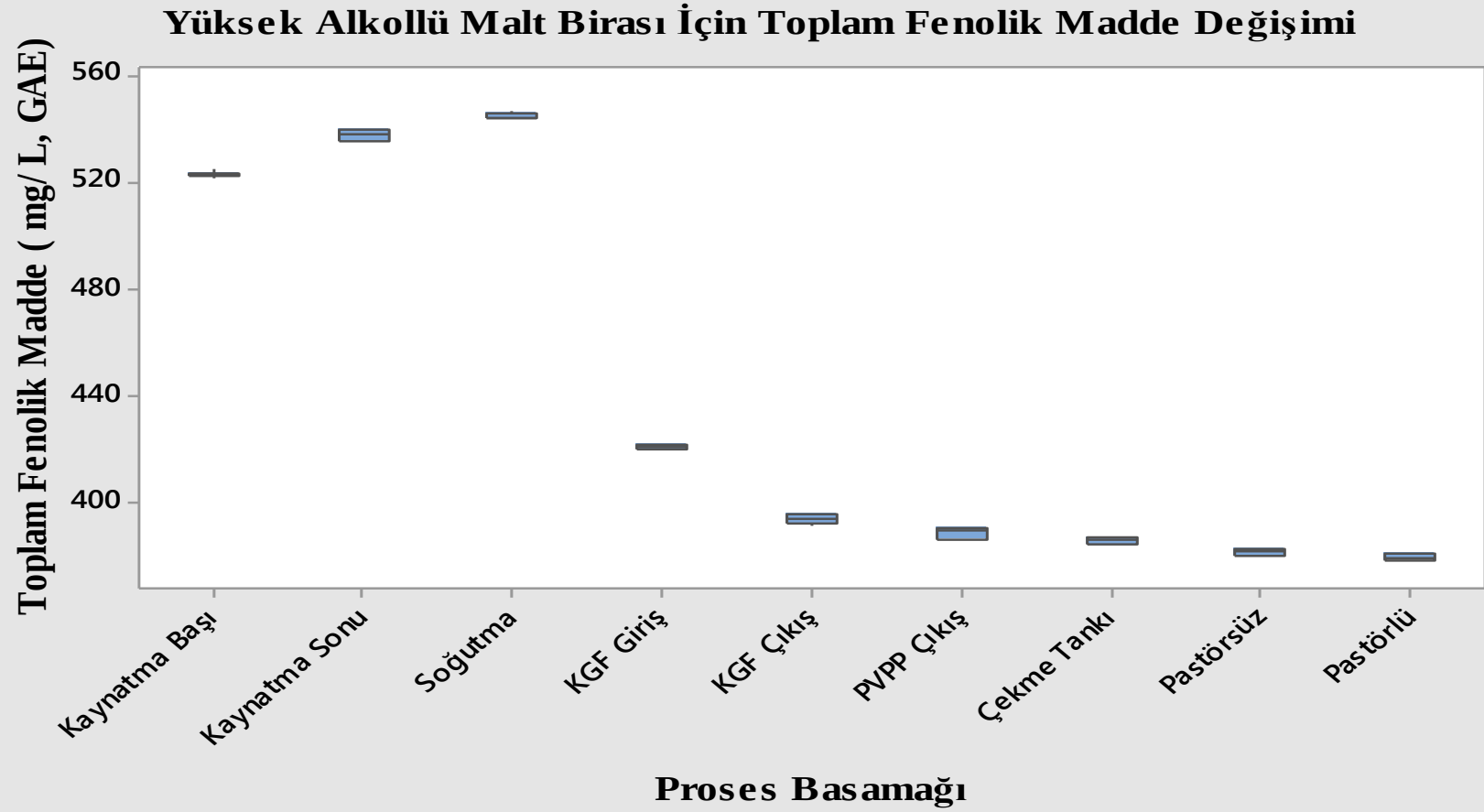


EK 14 %100 malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

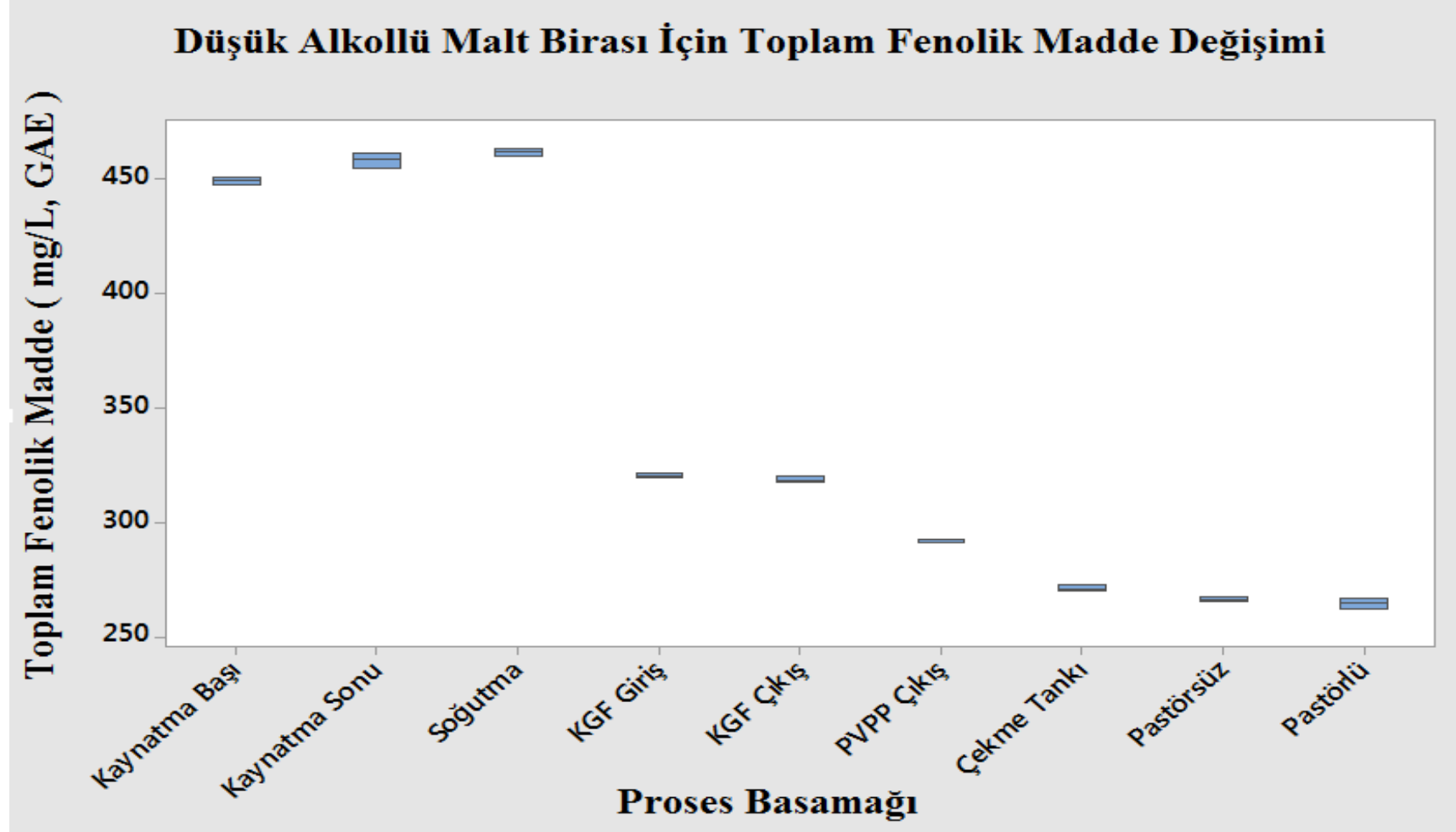
### %100 Malt Birası İçin Toplam Fenolik Madde Değişimi



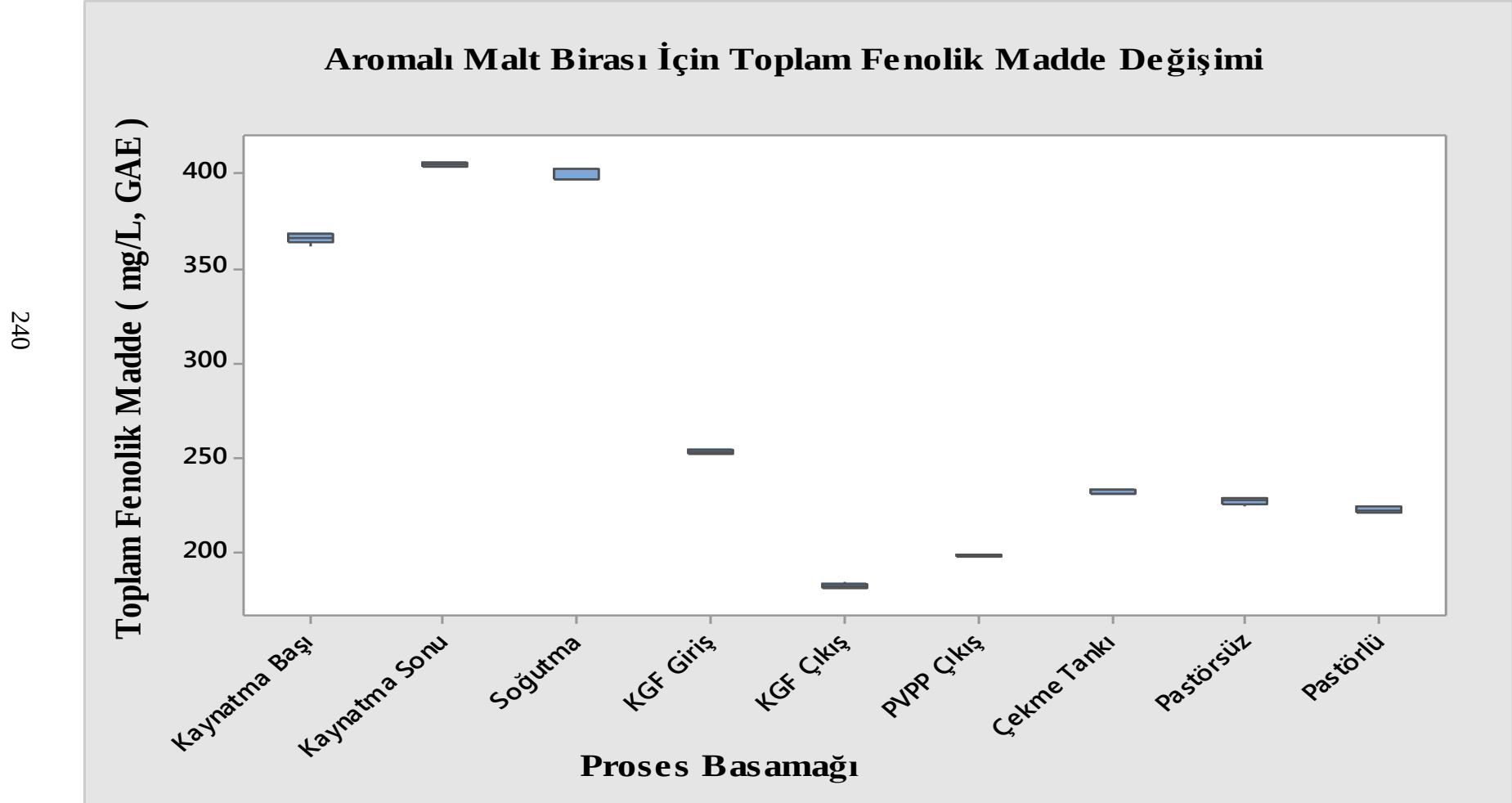
EK 15 Yüksek alkollü malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi



EK 16 Düşük alkollü malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

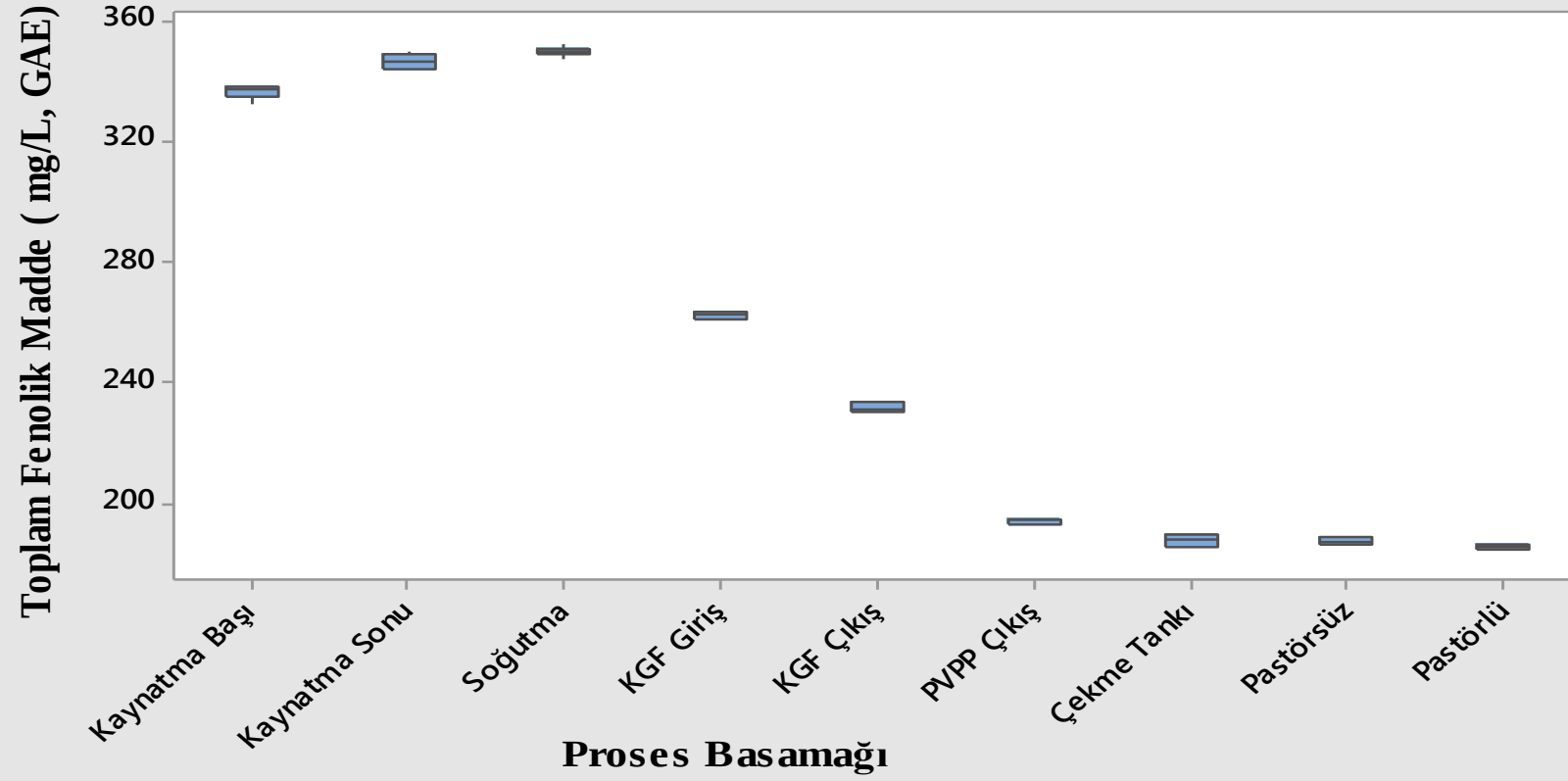


EK 17 Aromalı malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

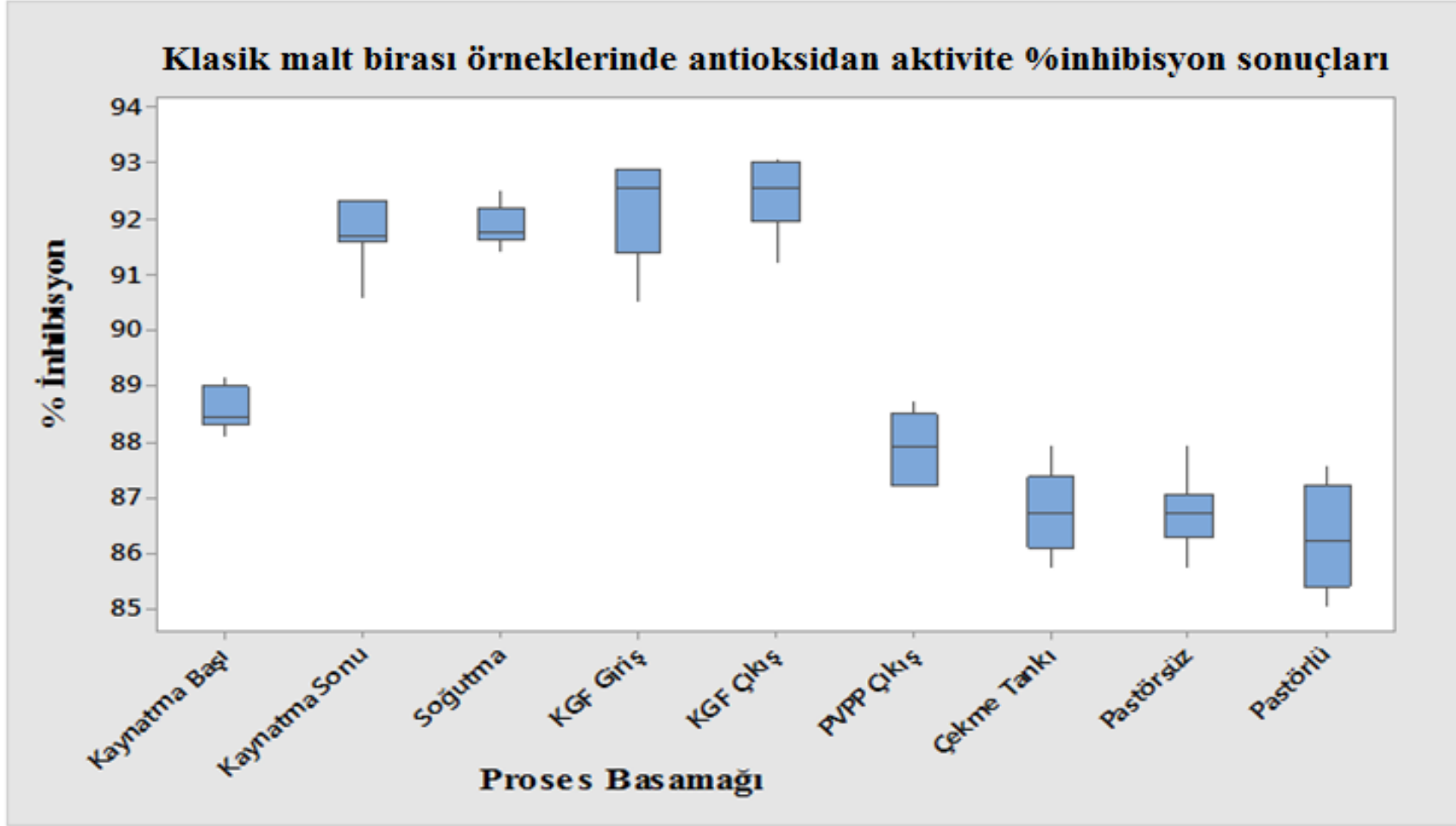


EK 18 İthal malt birası için proses boyunca toplam fenolik madde değişimi

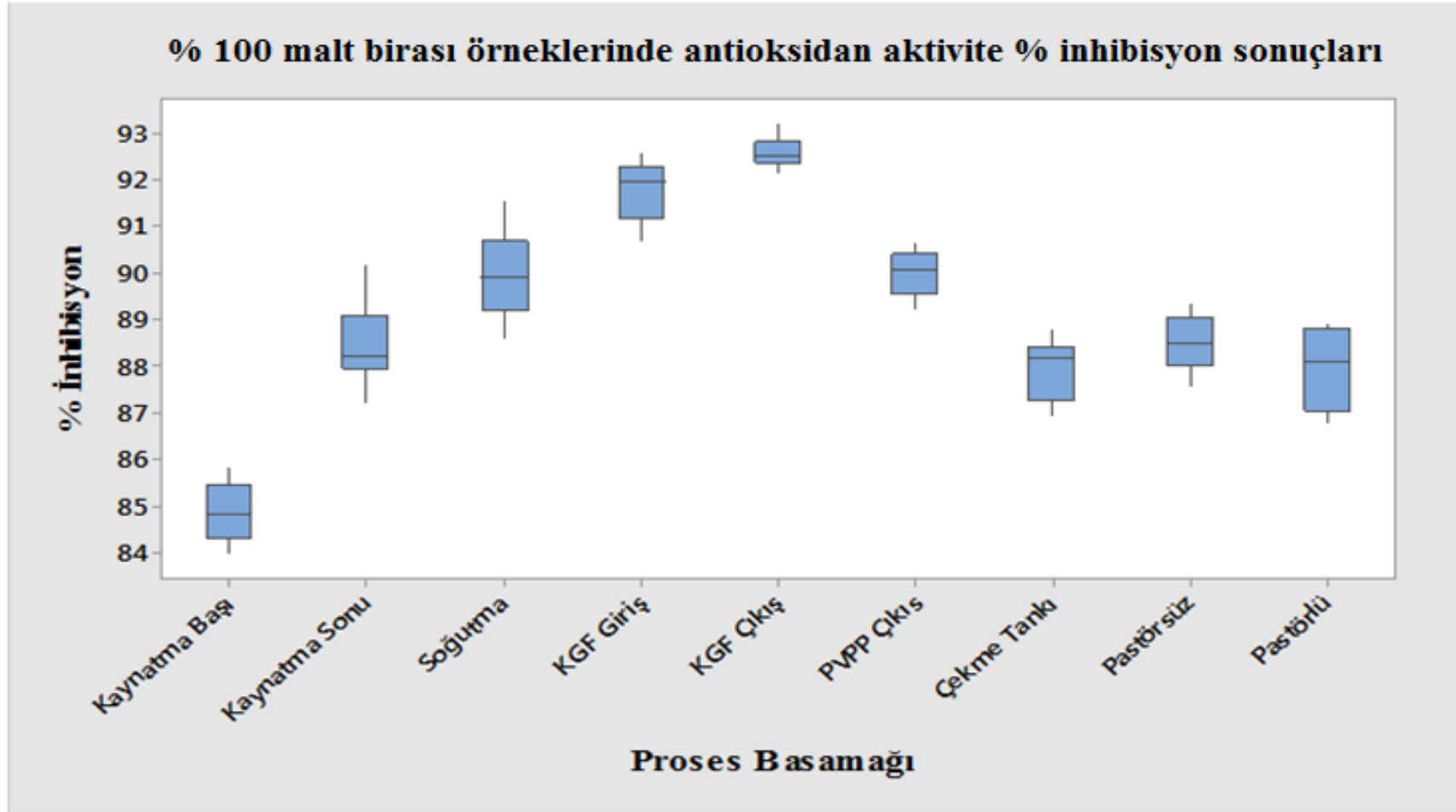
### İthal Malt Birası İçin Toplam Fenolik Madde Değişimi



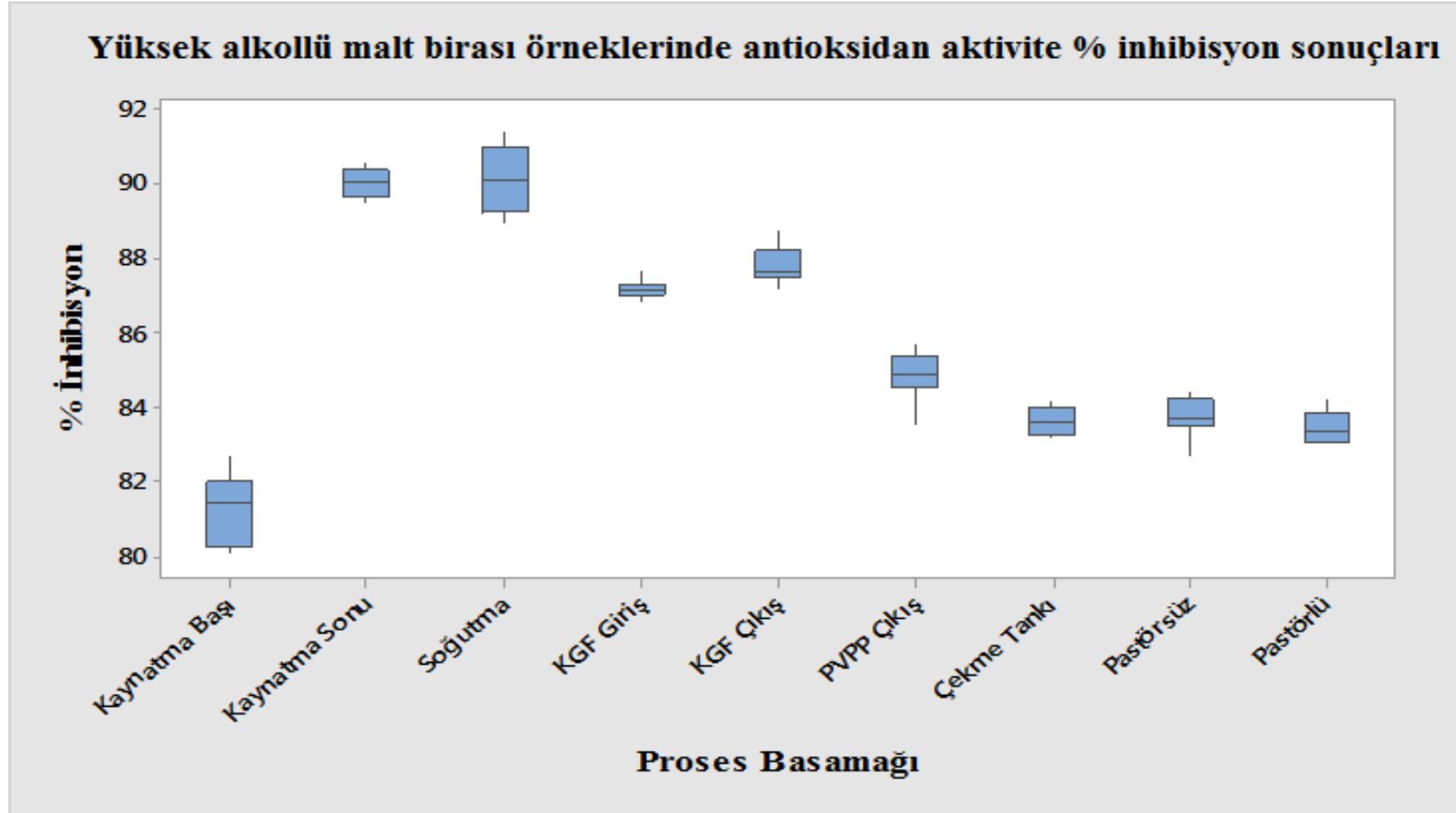
EK 19 Klasik malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları değişimi



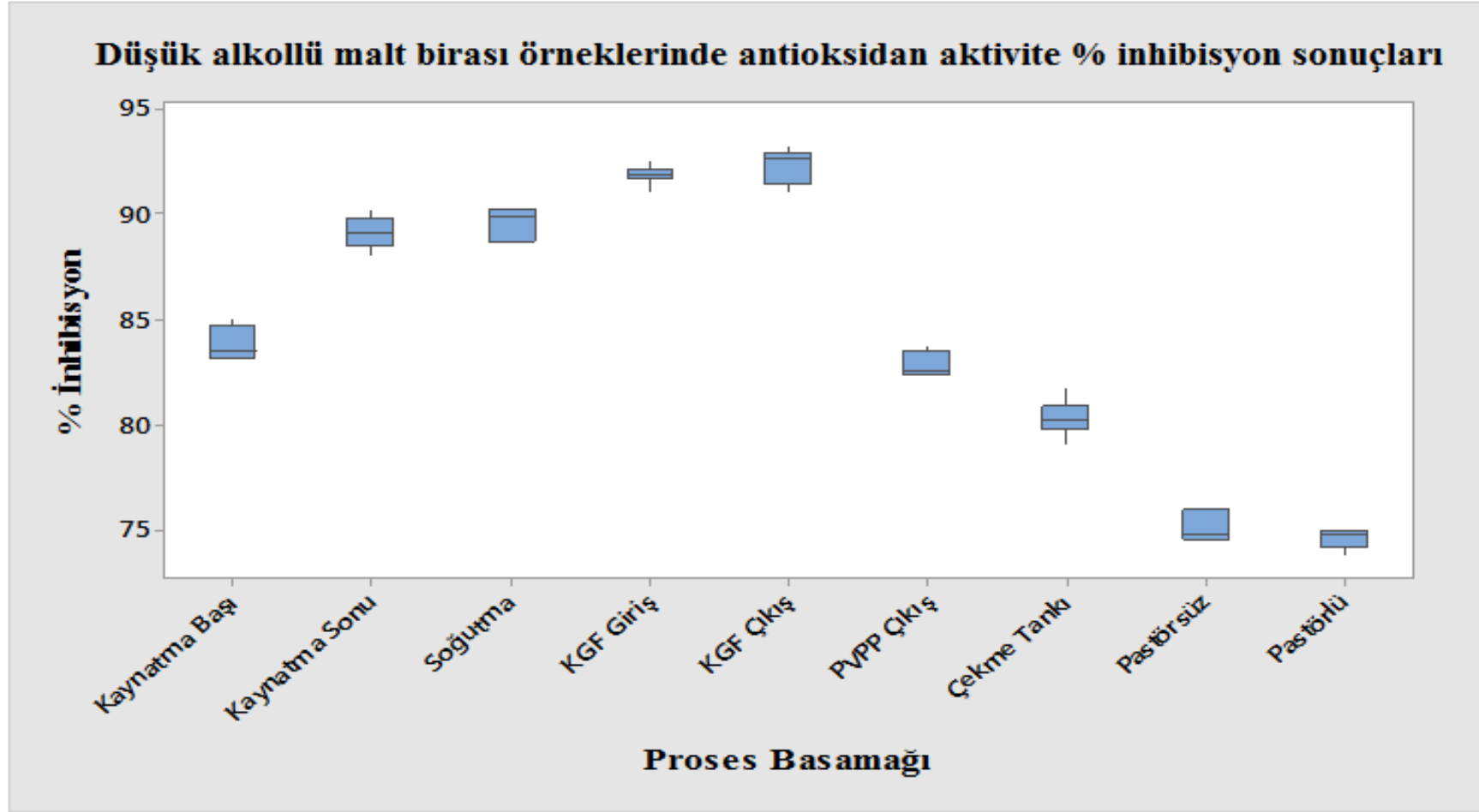
EK 20 %100 malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları değişimi



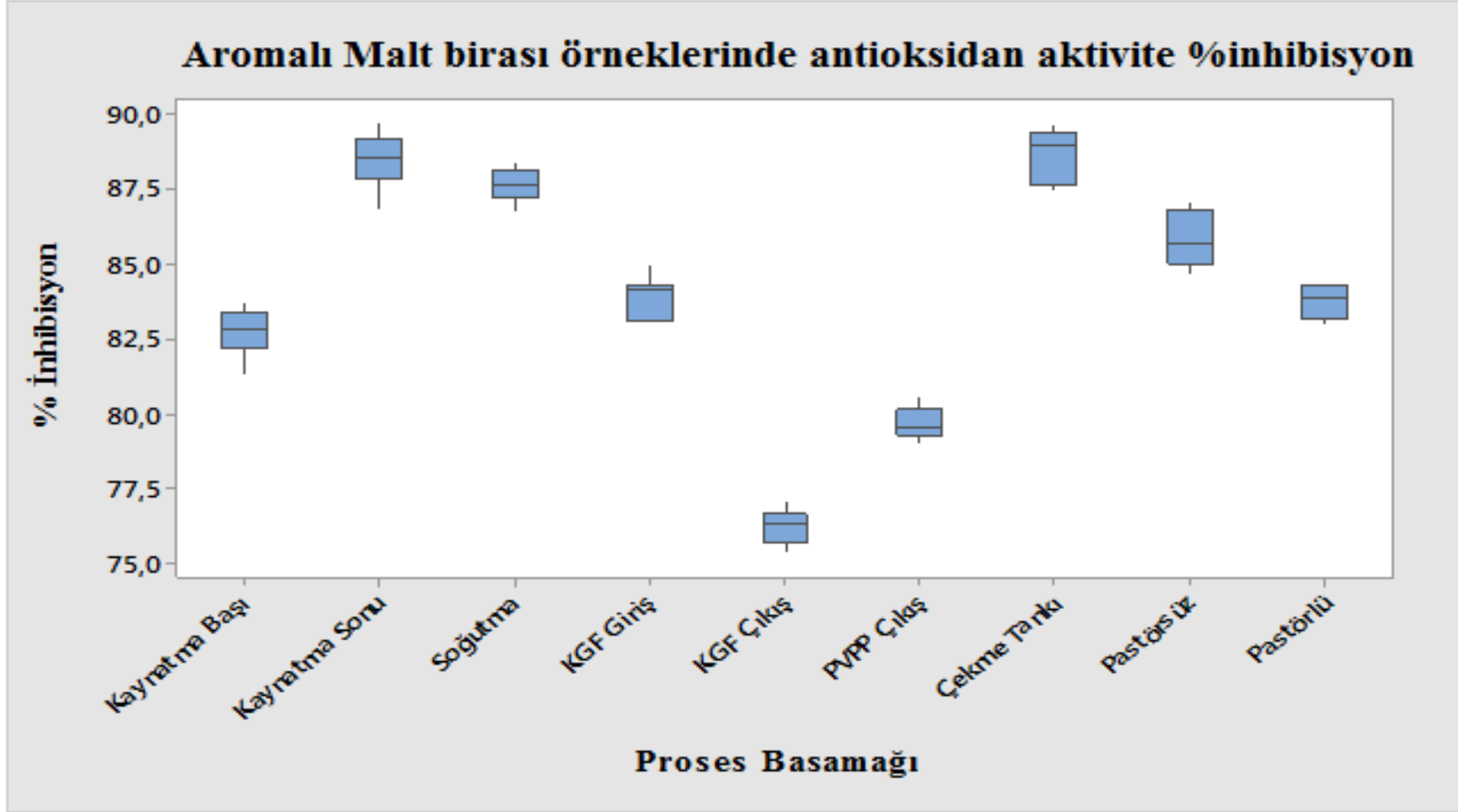
EK 21 Yüksek alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları değişimi



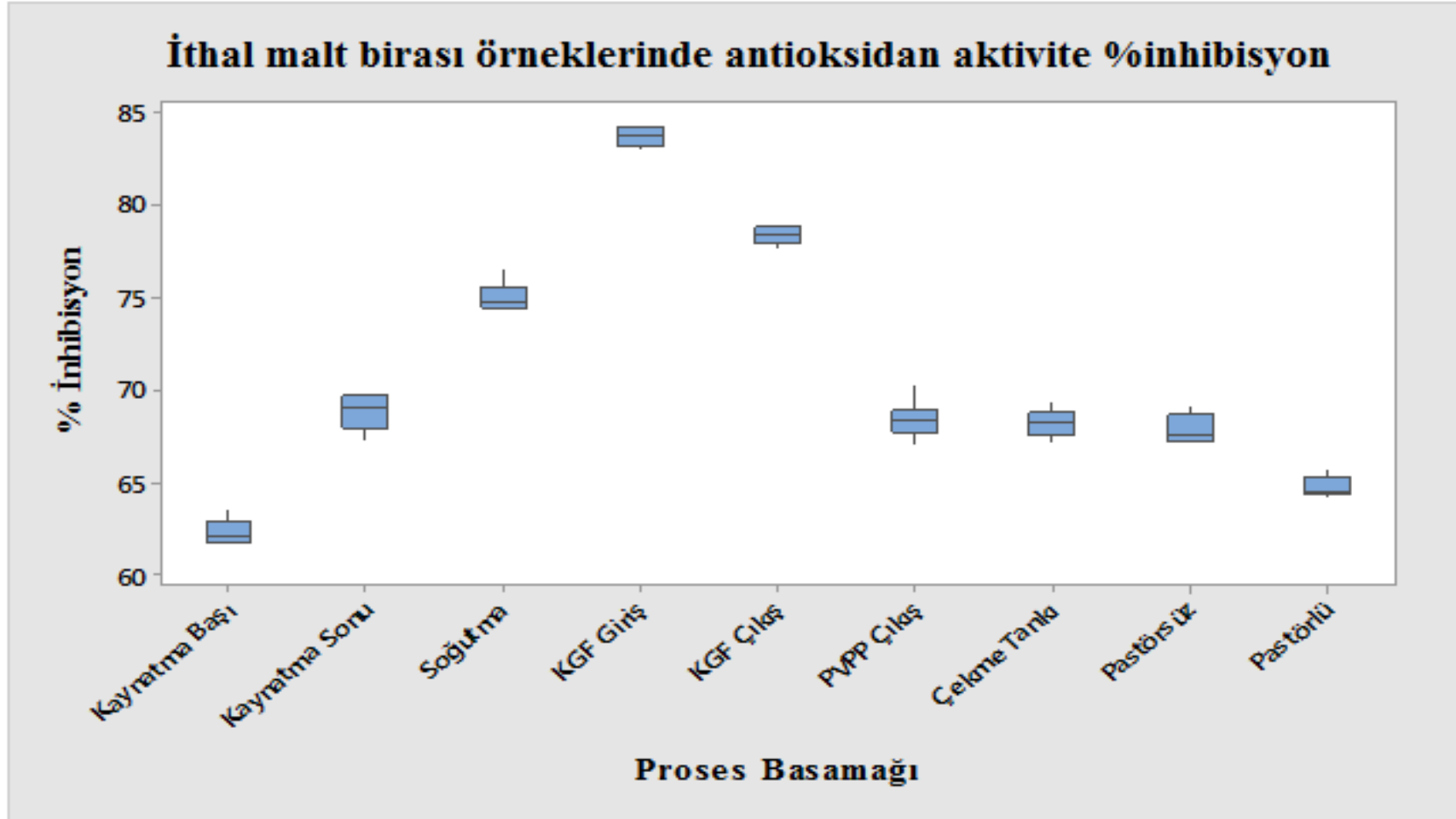
EK 22 Düşük alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları değişimi



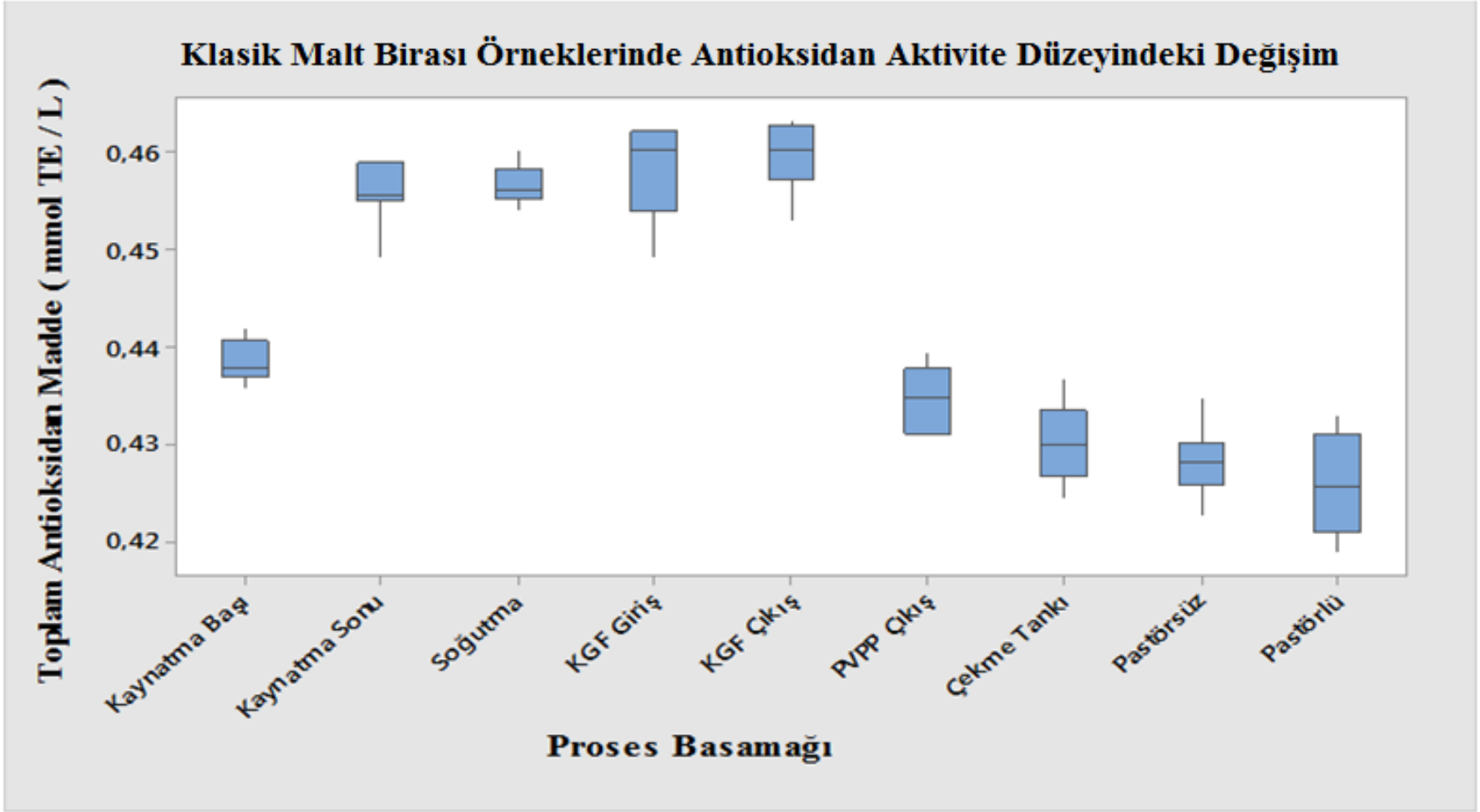
EK 23 Aromalı malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları değişimi



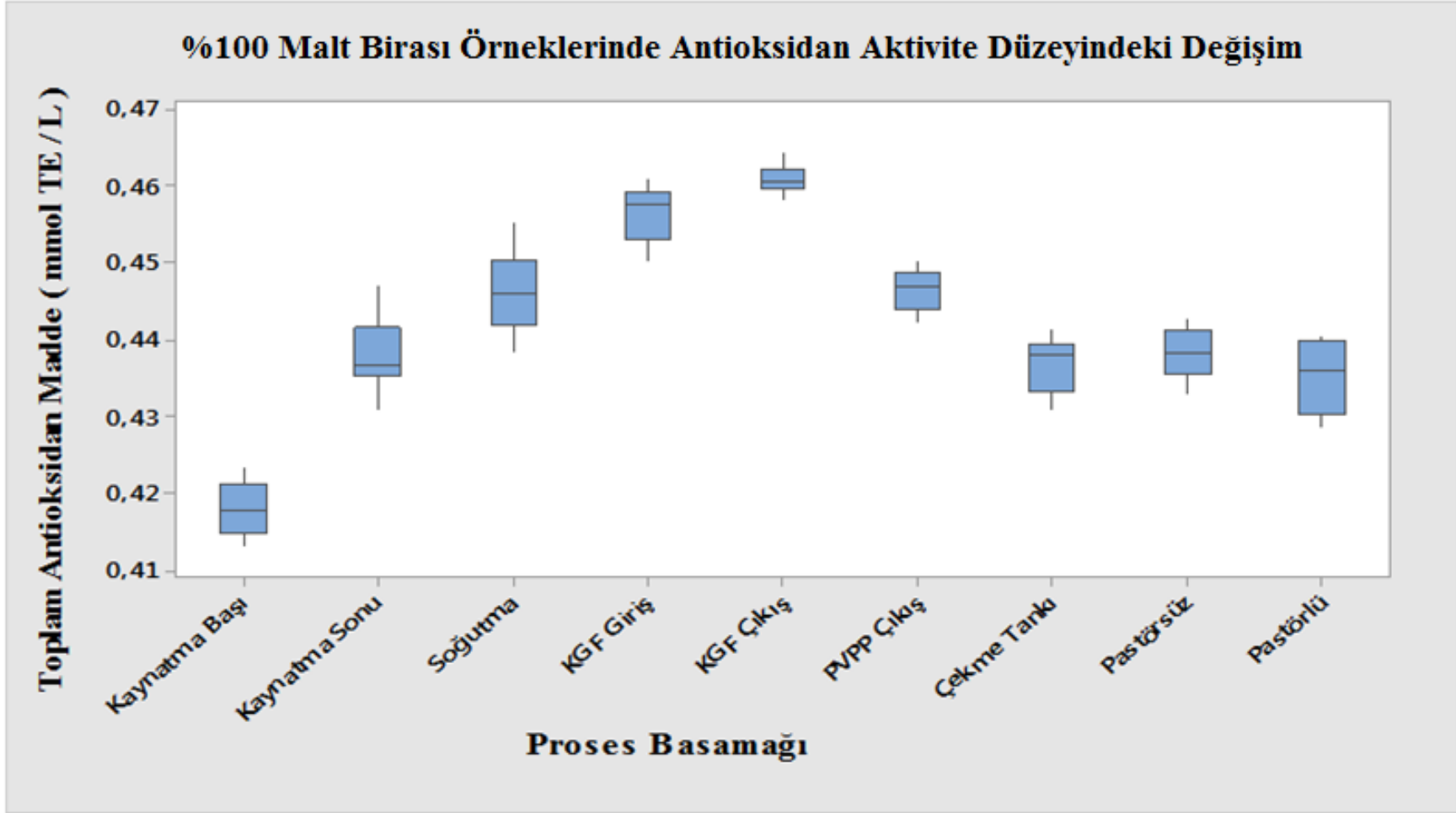
EK 24 İthal malt birası örneklerinde proses boyunca toplam antioksidan aktivite % inhibisyon sonuçları değişimi



EK 25 Klasik malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim

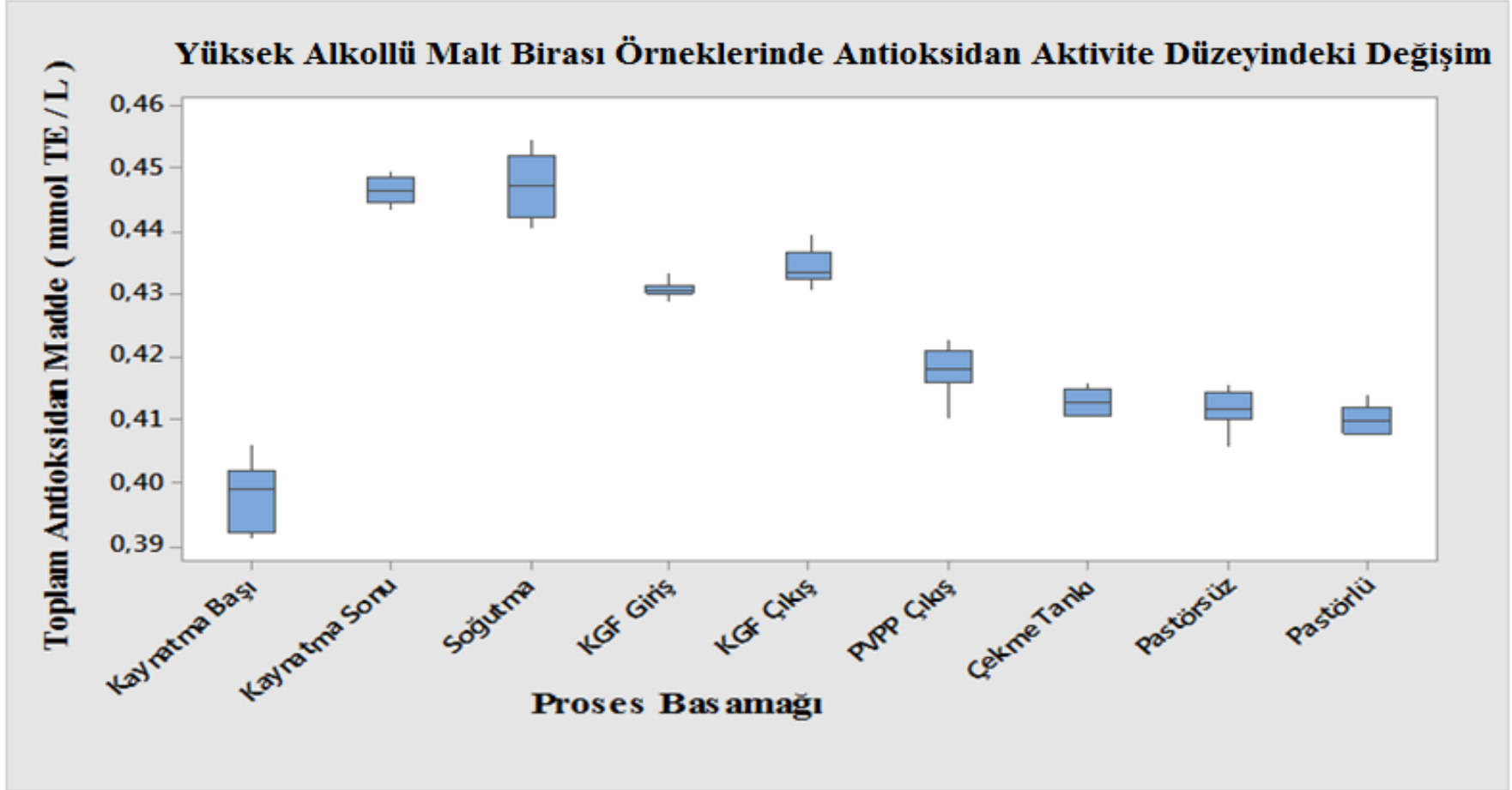


EK 26 %100 malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim

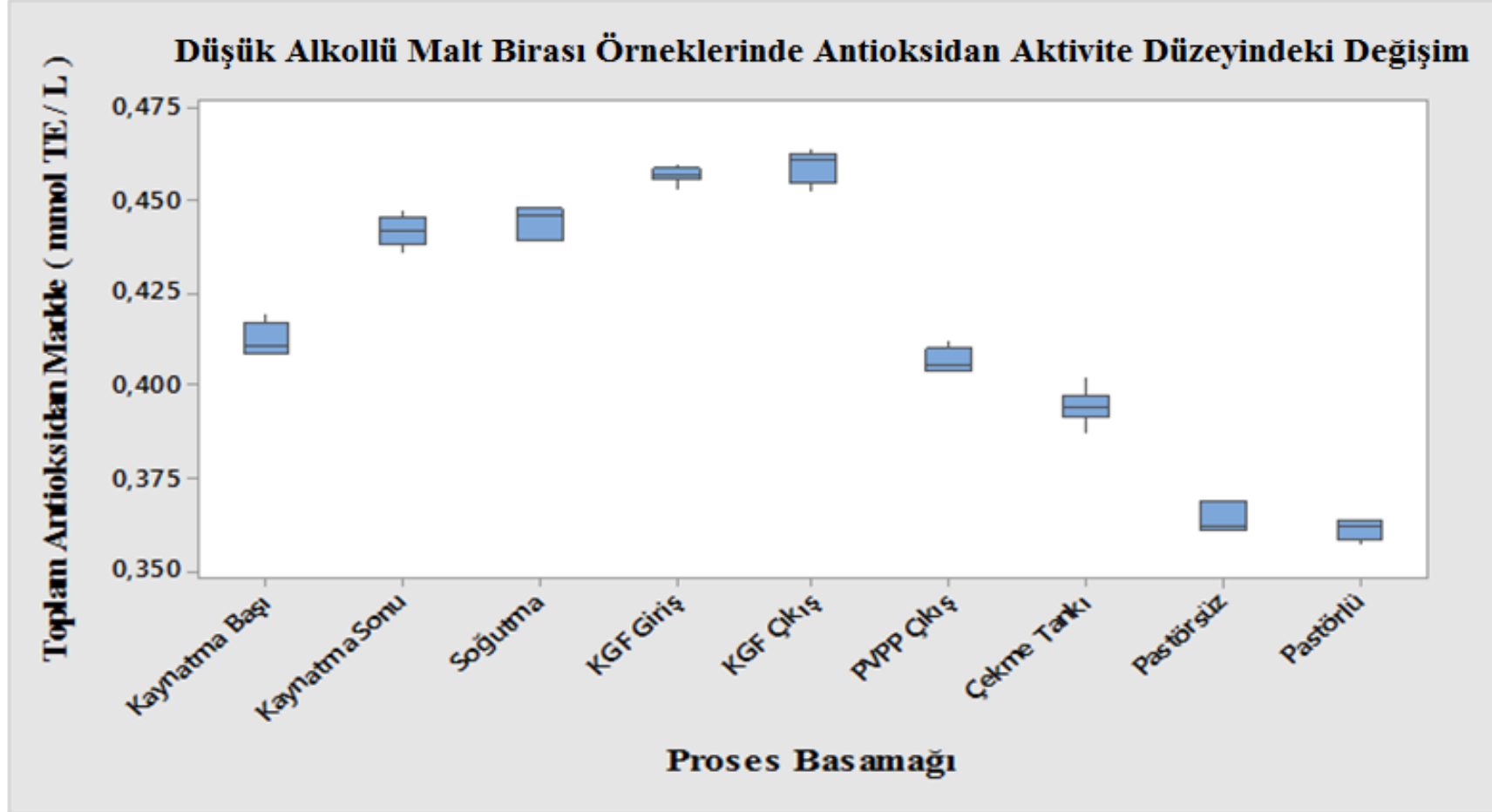


EK 27 Yüksek alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim

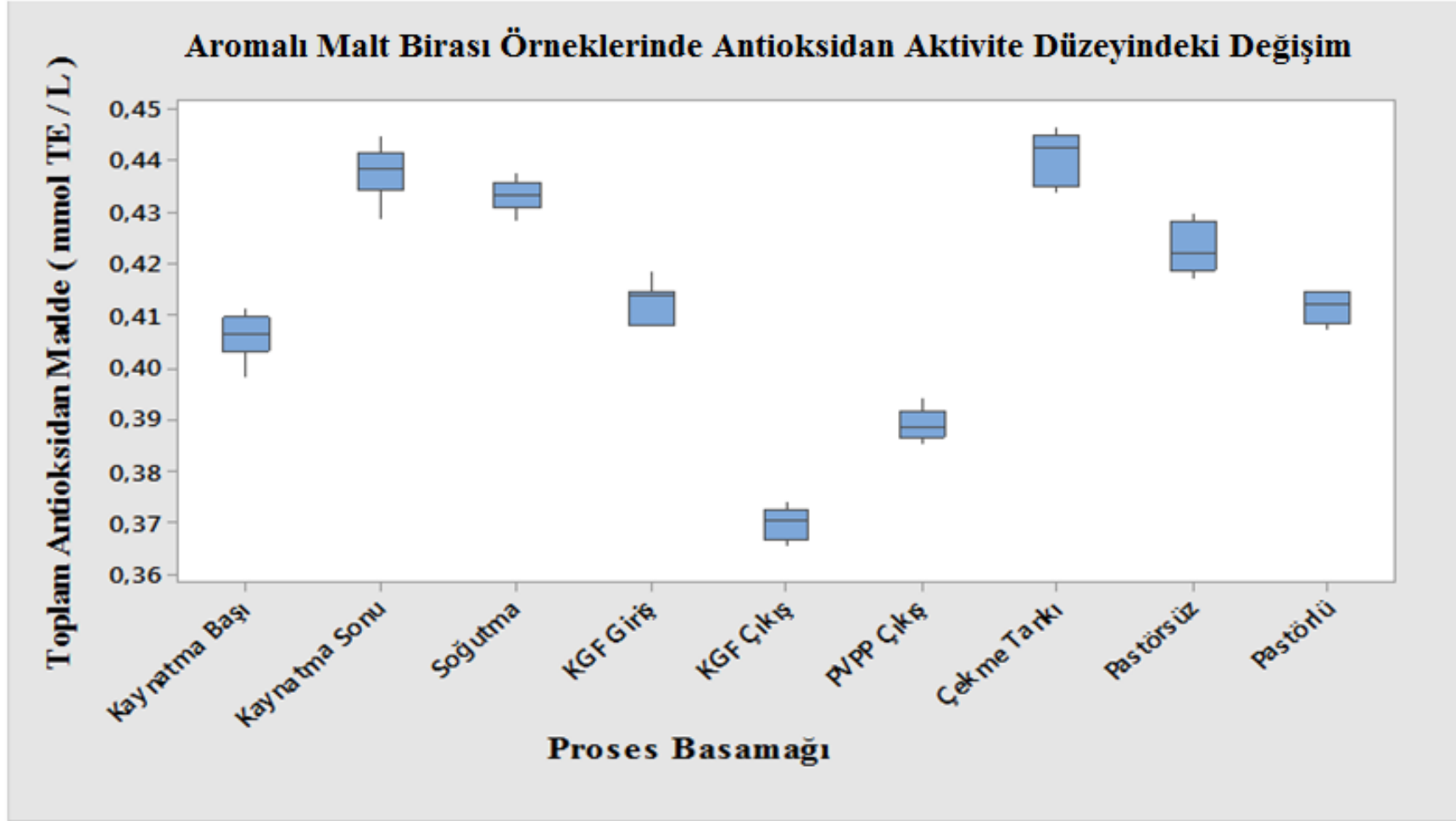
250



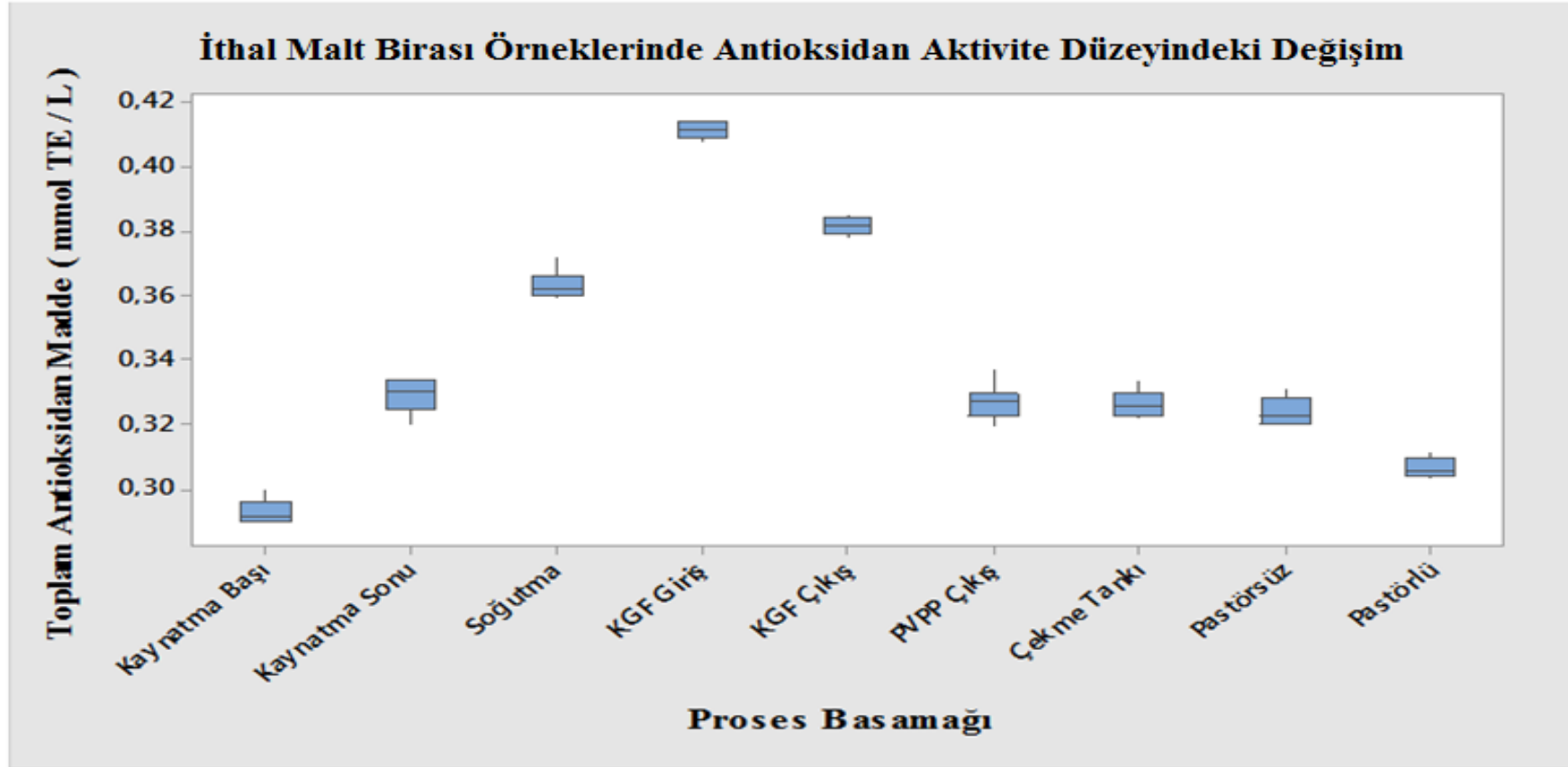
EK 28 Düşük alkollü malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim



EK 29 Aromalı malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim



EK 30 İthal malt birası örneklerinde proses boyunca DPPH yöntemine göre belirlenen antioksidan aktivite düzeyindeki değişim



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Özlem YALÇINÇIRAY

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 06.04.1987

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Özel Aykan Lisesi (2004)

Lisans : Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi  
Gıda Mühendisliği Bölümü (2009)

Bütünleşik Doktora: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Mühendisliği Ana Bilim Dalı (Eylül 2009- Aralık 2016)

Yayınları

Hakemli Dergiler

**Yalçınçiray, Ö.**, Anlı E. 2015. Hicaz Narından Maserasyon Yöntemi İle Elde Edilen Likörlerin Toplam Fenol İçeriğinin ve Antioksidan Kapasitesinin Depolama Koşullarına Bağlı Değişimi. Gıda (4):209-216

Uluslar Arası Kongreler

**Yalçınçiray Ö.**, Sonakın Ş. S., Anlı R.E. 2010. The Comparison Of Different Determination Methods Of Pesticides And Their Residues Poster Presentation (P731). 1st International Congress on Food Technology, 03-06 November, Antalya.

Sonakın Ş. S., **Yalçınçiray Ö.**, Anlı R.E. 2010. HACCP Application in Wine Industry. Poster Presentation (P737). 1st International Congress on Food Technology, 03-06 November, Antalya.

Ulusal Kongreler

Yalçınçiray Ö., Özışık B., Öz B., Budaker M., Anlı R.E. 2012. Nar Likörü Üretimi Poster Çalışması (P 316). Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay