

УДК 663.533

ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВЫХ ДЛЯ КРАФТОВОГО ПИВОВАРЕНИЯ ШТАММОВ ДРОЖЖЕЙ

Е. А. Цед

Белорусский государственный университет пищевых и химических технологий, Республика Беларусь

АННОТАЦИЯ

Введение. Крафтовое пивоварение – важнейшее направление развития современной пивоваренной отрасли. Цель исследования – импортозамещение при производстве крафтового пива с оригинальными вкусоароматическими свойствами. Научная задача – оценка физиологических и технологических свойств новых для крафтового пивоварения штаммов дрожжей.

Материалы и методы. Пять штаммов экспериментальных образцов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* – ИМ-1, ИМ-2, ИМ-3, ИМ-4, ИМ-5 (ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси»). Для получения питательной среды использовали светлый пивоваренный ячменный солод (ГОСТ 29294) и экстракт ячменно-солодовый неохмеленный (ТУ 9184-489-05031531). Общепринятые физико-химические, микробиологические и биохимические методы исследований.

Результаты. Установлены физиологические (витальность, удельная скорость роста, упитанность по гликогену, почкование) и технологические (степень и скорость сбраживания, бродильная активность, спиртообразование) характеристики новых для пивоваренного производства дрожжей, на основании которых составлены карты основных биотехнологических свойств изучаемых штаммов, что позволяет целенаправленно и эффективно определять технологические режимы их использования в качестве источника брожения и управлять процессом накопления их биомассы.

Выводы. Изученные штаммы дрожжей рекомендованы для применения в промышленности, т. ч. в целях импортозамещения и создания отечественной коллекции дрожжей. Позволяют сформировать заданный вкусоароматический профиль готового продукта. Технологически эффективны, не требуют дополнительного оборудования и других капитальных затрат при использовании в производстве.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: импортозамещение; крафтовое пиво; дрожжи; физиологические свойства; бродильная активность; степень сбраживания; витальность.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Цед, Е. А. Исследование физиологических и технологических свойств новых для крафтового пивоварения штаммов дрожжей / Е. А. Цед // Вестник Белорусского государственного университета пищевых и химических технологий. – 2023. – № 1(34). – С. 62–77.

STUDY OF PHYSIOLOGICAL AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF NEW YEAST STRAINS USED IN CRAFT BREWING

E. A. Tsed

Belarusian State University of Food and Chemical Technologies, Republic of Belarus

ABSTRACT

Introduction. Craft brewing is a strategic focus area in the development of today's brewing industry. The purpose of the study is to develop import substitution goods in the production of craft beer with unique flavoring properties. The scientific task is to evaluate the physiological and technological properties of new yeast strains used in craft brewing.

Materials and methods. Five strains of experimental samples of yeast *Saccharomyces cerevisiae* – IM-1, IM-2, IM-3, IM-4, IM-5 (SSI «Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus»). Light brewers' barley malt (GOST 29294) and non-hopped barley malt extract (TS 9184-489-05031531) for obtaining a nutrient medium. Generally accepted physico-chemical, microbiological and biochemical research methods.

Results. Physiological (vitality, specific growth rate, glycogen state, budding) and technological (degree and

rate of fermentation, fermentation activity, alcohol formation) characteristics of new yeast used in brewing industry were determined. Taking into account these characteristics there were worked out process sheets of the main biotechnological properties of the strains under study, which makes it possible to determine the technological modes of their use as a source of fermentation in a specific and effective way and manage the process of accumulation of their biomass.

Conclusions. The studied yeast strains are recommended to be used in industry, including for import substitution and the creation of national collection of yeast. They make it possible to develop a specified flavor profile of the finished product. The yeasts are technologically efficient and do not require additional equipment and other capital costs when used in production.

KEY WORDS: *import substitution; craft beer; yeast; physiological properties; fermentation activity; degree of fermentation; vitality.*

FOR CITATION: Tsed, E. A. Study of physiological and technological properties of new yeast strains used in craft brewing / E. A. Tsed // Vestnik of the Belarusian State University of Food and Chemical Technologies. – 2023. – № 1(34). – P. 62–77 (in Russian).

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время крафтовое пивоварение – это активно развивающийся сектор пивоваренной промышленности, который с каждым годом занимает все большую долю общего рынка пива. Известно, что потребительские свойства пива в значительной степени зависят от применяемых основных сырьевых компонентов – ячменного (или пшеничного) солода, хмеля, воды и дрожжей. Важнейшие показатели качества готового пива (органолептические и физико-химические характеристики) являются факторами, формирующими конкурентоспособность данного напитка на рынке [1–4].

Отдельным направлением развития крафтового пивоварения является применение новых эффективных дрожжей, а также нетрадиционных видов дрожжей и бактерий, что позволяет получать пиво с необычно приятными сенсорными характеристиками и физико-химическими свойствами. Это обусловлено тем, что качественный и количественный состав веществ, образующихся при сбраживании пивного сусла, во многом определяется физиологическим состоянием микроорганизмов, их биохимической способностью сбраживать те или иные углеводы, а также способностью дрожжевых клеток адаптироваться к условиям конкретной питательной среды. Скорость и глубина сбраживания пивного сусла, образование основных и побочных продуктов спиртового брожения формируют вкусоароматический профиль готового напитка, его микробиологическую и коллоидную стабильность [5–8].

Крафтовые пивоварни в своем ассортименте содержат большое количество уникальных сортов пива, для получения которых важную роль играют именно определенные штаммы дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) или их сочетание. Выбор расы дрожжей определяет характер и стабильность протекания наиболее длительных стадий производства пива – главного брожения и дображивания, а также образование веществ, отвечающих за вкус и аромат готового продукта при ферментации. К важнейшим характеристикам применяемых штаммов дрожжей относятся степень сбраживания, флокуляция, пенообразование, качество и количество основных и ароматических побочных продуктов, образующихся при брожении [9–10].

Для расширения количества штаммов, используемых в производстве крафтового пива, проводятся исследования по выявлению биохимических характеристик у диких дрожжей и их способности сбраживать пивное сусло [11]. Установлена гетеролактическая ферментация углеводов у штаммов *Shizosaccharomyces japonicus*, *Hanseniaspora vineae*, *Lachancea fermentati* и *L.thermotolerans*, *Wickerhamomyces anomalus*, что делает возможным их использование в новой обработке кислого пива. Это позволяет исключить применение традиционных молочнокислых бактерий, которые используют в технологии получения кислого пива [12]. Культура *L.thermotolerans* синтезирует при своем развитии большое количество молочной кислоты и

фруктовые эфиры, что позволяет эффективно регулировать рН среды и использовать данную культуру как при первичной ферментации, так и при ферментации в бутылках для получения более высокого содержания диоксида углерода и пенообразования.

Дрожжи вида *Torulaspora delbrueckii* способны синтезировать цветочные и фруктовые сложные эфиры, высвободить полисахариды и, таким образом, улучшать вкус, структуру пива и ощущение во рту. Данную культуру можно использовать отдельно, последовательно или в смешанных культурах с *Saccharomyces cerevisiae* или *Shizosaccharomyces pombe*.

Представляют интерес дрожжи вида *W.anomalus* (*Pichia anomala*), которые могут утилизировать большое количество источников углерода – пентозы, гексозы, ди- и трисахариды, некоторые спирты, органические кислоты, жирные кислоты и ароматические углеводы. Эти дрожжи также способны переносить экстремальные значения рН и температуры и синтезировать этилацетат, соединение с сильной противогрибковой активностью [13].

Современная тенденция – производство крафтового пива путем ферментации дрожжей, выделенных из бродящего суслу /вина/хлеба. Штаммы *Saccharomyces cerevisiae*, выделенные из кустарных заквасок, успешно применяются для получения крафтового пива определенных стилей [11,12].

Дрожжи *Dekkera/Brettanomyces*, выделенные во время спонтанного брожения при получении пива *Lambic*, являются основными традиционными дрожжами для производства кислого крафтового пива. Дрожжи данного вида за счет присутствия в них фермента β -глюкозидазы способны метаболизировать источники углерода, не усваиваемые *Saccharomyces*, включая целлобиозу и декстрины. При своем развитии они синтезируют значительное количество фруктовых, цветочных эфиров и других летучих соединений, изменяя таким образом сенсорные характеристики получаемого пива. Однако, при неправильном ведении процесса брожения дрожжи *Dekkera/Brettanomyces* могут быть причиной неприятных ароматов, таких как «едкий дым», «пластырь» и др. [14].

Проводятся исследования по созданию искусственных гибридов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* – *Saccharomyces non cerevisiae*, имеющих метаболизм лагерных дрожжей [13].

В настоящее время производителям крафтового пива в Республике Беларусь предлагают пивоваренные дрожжи в двух вариантах: сухие гранулированные культуры и жидкие культуры во флаконах или пакетах с питательной капсулой [11]. Преимуществом использования сухих дрожжей в сравнении с жидкими разводками являются: простота использования и сокращение времени на их подготовку; возможность получать за короткий период времени нужный объем инокулята; точный расчет количества вносимых на брожение клеток по весу сухих дрожжей; разнообразие предлагаемых штаммов для расширения ассортимента выпускаемых напитков; при соблюдении температурного режима (меньше 10 °С) обеспечивается сохранность гарантированной активности сухих препаратов на протяжении длительного срока – 2-х лет со дня выпуска.

Однако, при имеющихся преимуществах использования сухих препаратов дрожжей в практике пивоварения отмечается ряд негативных моментов. Возможны случаи, когда при разведении сухих дрожжей наблюдается слабое или полное отсутствие процесса ферментации суслу; процессы при брожении не нарушаются, но ухудшаются органолептические характеристики напитка; при неправильно проведенной регидротации дрожжей (обводнение клетки) наблюдается повышенное количество мертвых клеток; при использовании сухих дрожжей для вторичного брожения наблюдается повышенное содержание аминного азота в питательной среде [15, 16].

Одной из причин неудач при использовании активных сухих дрожжей может быть изначально низкое их качество или разгерметизация упаковки [17]. Отмечается значительное снижение жизнеспособности сухих препаратов дрожжей после вскрытия упаковки производителя и хранения их в атмосфере воздуха при 10 °С в течение 2 месяцев. При нарушении герметично-

сти упаковки за счет поступления кислорода происходит активация клеточных ферментов, снижение запаса гликогена, что отражается на функциональной активности дрожжей.

Кроме того, необходимо учитывать одну из важнейших особенностей сухих дрожжей – повышенную проницаемость мембран. Это приводит, с одной стороны, к очень высокой чувствительности сухих дрожжей, а с другой – обуславливает выход в среду различных компонентов их клеток (аминокислоты, витамины, минеральные вещества), что затрудняет нормальное протекание процессов репарации и восстановления их физиологической активности [18–20]. Таким образом, проведение процесса брожения с использованием чистых культур дрожжей позволяет обеспечить стабильное протекание основных процессов ферментации и получение стандартных физико-химических и органолептических показателей продукта.

Наиболее распространенные сухие дрожжевые культуры, применяемые для производства крафтового пива, представлены в табл. 1.

Табл. 1. Перечень сухих дрожжевых культур, применяемых в крафтовом пивоварении [2, 3]

Table 1. List of dry yeast cultures used in craft brewing [2, 3]

№ п/п	Наименование штамма	Производитель	Наиболее подходящие пивные стили или сорта (по рекомендациям производителей)
1	<i>Safbrew S-33</i>	FERMENTIS (Франция)	Любые сорта эля
2	<i>Safbrew T-58</i>	FERMENTIS (Франция)	Темные сорта эля
3	<i>Safbrew WB-06</i>	FERMENTIS (Франция)	Пшеничное пиво
4	<i>Safale US-05(56)</i>	FERMENTIS (Франция)	Американские эли
5	<i>Safale S-04</i>	FERMENTIS (Франция)	Светлые сорта эля, английские эли
6	<i>Saflager W-34/70</i>	FERMENTIS (Франция)	Любые лагерные сорта
7	<i>Gervin GV 12 Ale Yeast</i>	Muntos (Великобритания)	Светлые и темные сорта эля, пшеничное и специальное пиво
8	<i>Muntos Premium Gold</i>	Muntos (Великобритания)	Светлые элевые сорта
9	<i>US West Coast Yeast M44</i>	Mangrove Jacks (Н.Зеландия)	Американские сорта эля
10	<i>Mead M05</i>	Mangrove Jacks (Н.Зеландия)	Крепкие сорта эля, медовухи
11	<i>Belgian Ale M41</i>	Mangrove Jacks (Н.Зеландия)	Бельгийские сорта элей, траппист
12	<i>Liberty Bell Ale M36</i>	Mangrove Jacks (Н.Зеландия)	Биттер, стаут, альтбир
13	<i>New World Strong Ale M42</i>	Mangrove Jacks (Н.Зеландия)	Крепкие сорта элей (IPA, барливайн, имперский стаут)
14	<i>Belgian Abbey M47</i>	Mangrove Jacks (Н.Зеландия)	Бельгийские сорта элей
15	<i>Belgian Wit M21</i>	Mangrove Jacks (Н.Зеландия)	Пшеничные сорта, бельгийский вит, специальные сорта
16	<i>Californian Lager M54</i>	Mangrove Jacks (Н.Зеландия)	Лагерные сорта
17	<i>Beeringem Wheat BVG03</i>	Beeringem (Великобритания)	Пшеничные сорта
18	<i>Beeringem Universal BVG01</i>	Beeringem (Великобритания)	Любые сорта элей
19	<i>Beeringem American Ale BVG04</i>	Beeringem (Великобритания)	Элевые сорта и IPA
20	<i>Lalbrew New Englsnd</i>	Lallemand (Австрия)	IPA и его разновидности

Следует отметить, что приобретение зарубежных штаммов связано со значительными финансовыми затратами, а развитие собственного производства семенных дрожжей в условиях мини-предприятий республики затруднительно по причине отсутствия необходимой научно-технической базы чистых культур, технологии их размножения и должного микробиологического контроля процесса. В связи с этим для развития отечественного крафтового пивоварения актуальными задачами являются получение конкурентоспособных отечественных штаммов пивоваренных дрожжей и разработка оригинальных технологий их культивирования.

Цель исследования – импортозамещение при производстве крафтового пива с оригинальными вкусоароматическими свойствами за счет использования культивируемых в республике штаммов дрожжей.

Научная задача – оценка физиологических и технологических свойств новых для крафтового пивоварения штаммов дрожжей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-исследовательская работа проводилась в учреждении образования «Белорусский государственный университет пищевых и химических технологий» на кафедре технологии пищевых производств. В качестве объектов исследования служили 5 экспериментальных штаммов дрожжей – ИМ-1, ИМ-2, ИМ-3, ИМ-4, ИМ-5, полученных в ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси». По морфологическим признакам односуточные культуры исследуемых дрожжей, выращенные в солодовом сусле в колбах на качалке, варьируют по форме и размерам клеток (рис. 1). При микроскопировании установлено, что у изолята ИМ-1 клетки овальные (5,2...10,5)–(4,0...8,7) мкм, количество крупных клеток в популяции составляет 10...15 %, средних – 70...75 %, мелких – 10...15 %; у ИМ-2 клетки круглые и круглоовальные (5,2...10,5)–(4,0...8,7) мкм, крупных клеток в поле зрения – 15...20 %, средних – 45...50 %, мелких – 30...40 %. Особенностью биокультуры ИМ-3 является способность образовывать псевдомицелий, его клетки расположены мутовками, образуют цепочки, по форме овальные, размером 6,2...9,7 мкм. Для биокультуры ИМ-4 характерны круглоовальные клетки (5,2...11,5)–(3,4...8,2) мкм, преобладают крупные – 60...65 %, мелких – 35...40 %; у биокультуры ИМ-5 клетки шаровидные (6,2...11,5 мкм), преимущественно средние и мелкие 80...85 %, крупных – 15...20 % [21].

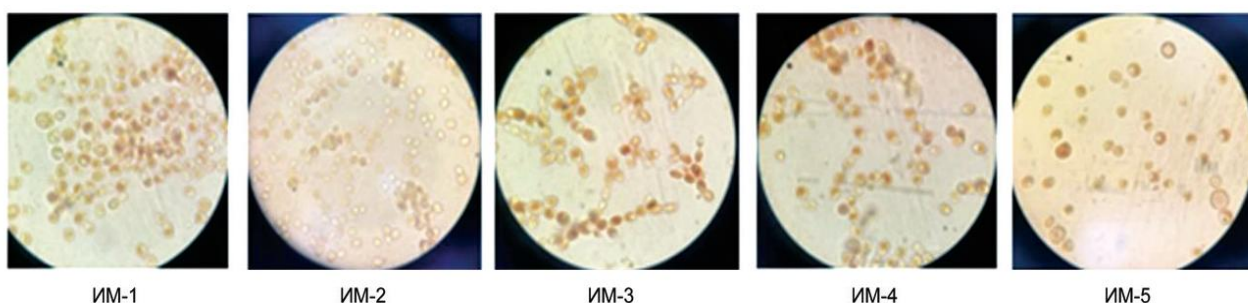


Рис. 1. Микроскопирование исследуемых биокультур дрожжей (×400)

Fig. 1. Microscopy of the yeast biocultures under study (×400)

Вегетативное размножение культур осуществляется почкованием. Все биокультуры – факультативные анаэробы; активно сбраживают глюкозу, галактозу, мальтозу, сахарозу, раффинозу; не сбраживают лактозу; ассимилируют глюкозу, галактозу, мальтозу, сахарозу, трегалозу, раффинозу, альфа-метил, молочную кислоту; не ассимилируют целлобиозу, лактозу, мелибиозу, инулин, крахмал, глицерин, этанол, янтарную кислоту, лимонную кислоту, маннит, сорбит; нитраты не усваивают.

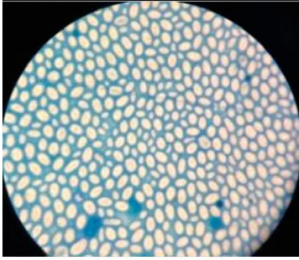
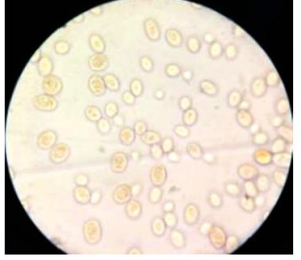
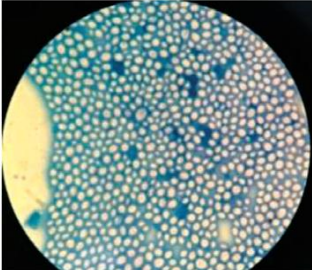
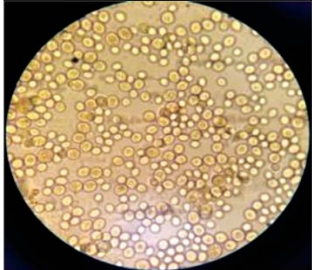
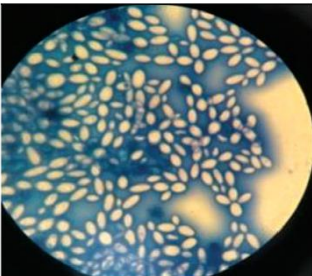
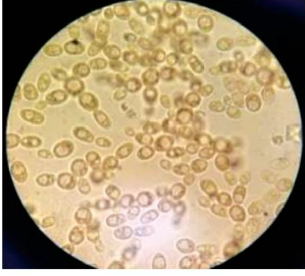
Видовую идентификацию уточняли на основе анализа последовательности фрагмента гена 18S рРНК. Выделение хромосомной ДНК из клеток дрожжей осуществляли с использованием модифицированного ЦТАБ метода. Амплификацию ДНК проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием программируемого термостата SureCycler 8800 Thermal Cycler (Agilent Technologies) и соответствующих пар праймеров. Для очистки амплифицированных фрагментов ДНК использовали набор GeneJET PCR Purification Kit (ThermoFisher). Секвенирование фрагментов ДНК проводили методом терминации цепи по

Сэнгеру в термоциклической реакции с мечеными на 5'-конце меткой Cy5.5 праймерами NS1, для постановки секвенирующей реакции использовали набор DNA Cycle Sequencing Kit (Jena Bioscience). Разделение и детекцию продуктов секвенирующей реакции проводили на ДНК-анализаторе 4300 DNA Analyzer (Li-COR Biosciences) с соответствующим программным обеспечением. Результаты секвенирования анализировали с помощью программного пакета eSeq V.3.1 (Li-COR Biosciences). Сравнительный анализ секвенированных нуклеотидных последовательностей и нуклеотидных последовательностей из международной базы данных GenBank осуществляли с помощью программы BLASTN [21].

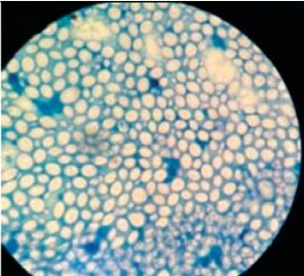
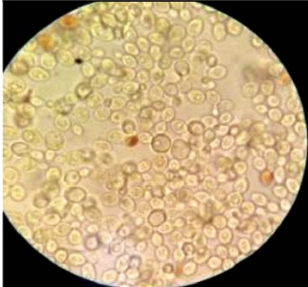
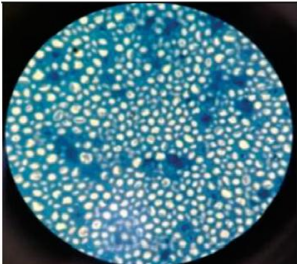
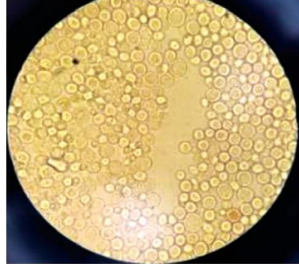
Экспериментальные дрожжи при их культивировании в замкнутой системе характеризуются активным накоплением биомассы с высоким титром клеток от $4,8 \times 10^8$ до $1,1 \times 10^9$ кл./мл (табл.2).

Табл. 2. Характеристика жизнеспособности и физиологической активности жидких культур экспериментальных биокультур дрожжей [21]

Table 2. Characteristics of viability and physiological activity of liquid cultures of experimental yeast biocultures [21]

Штамм	Титр, $n \times 10^8$ кл./мл	Жизнеспособность: количество мертвых клеток 2–5 %	Физиологическая активность: количество клеток с гликогеном 75–95 %
1	2	3	4
ИМ-1	7,3		
ИМ-2	11,0		
ИМ-3	4,8		

Продолжение табл. 2.

1	2	3	4
ИМ-4	9,4		
ИМ-5	7,4		

Таким образом, по совокупности установленных культуральных, морфологических и физиолого-биохимических особенностей выделенные биокультуры отнесены к роду *Saccharomyces*.

Исследование физиологических и технологических свойств экспериментальных штаммов дрожжей проводили на двух питательных средах – пивном сусле, полученном из ячменного пивоваренного солода отечественного производства (ОАО «Белсолод»), и пивном сусле, полученном из экстракта ячменно-солодового неохмеленного. Солодовое сусло получали настольным способом по следующим режимам [22]. Для этого дробленый солод (степень дробления составляла: шелуха – 15...18 %, крупная крупка – 20...22 %, мелкая крупка – 30...35 %, мука – 25...35 %) смешивали с водой в соотношении зернопродукты:вода – 1:3,5. Полученный замес нагревали до температуры 40 °С и выдерживали при этой температуре в течение 40...42 мин (цитолитическая пауза). Затем осуществляли подогрев затора до температуры 50...52 °С и выдерживали при этой температуре в течение 50...52 мин (белковая пауза). Затем температуру затора повышали до значения 60...62 °С и выдерживали в течение 60 мин (мальтозная пауза), после чего затор нагревали до температуры 70 °С (осахаривающая пауза). При этой температуре осуществляли осахаривание в течение 25...30 мин. Полноту осахаривания определяли по йодной пробе.

Сусло из экстракта ячменно-солодового неохмеленного (КПС) получали путем разведения его питьевой водой с последующим кипячением его в течение двух часов и охлаждением до температуры брожения. Микробиологические исследования проводили с использованием общепринятых методов исследований [23–30]. Концентрацию этанола определяли в соответствии с ГОСТ 12787 [31], бродильную активность весовым методом [32]; скорость сбраживания и удельную скорость сбраживании по методикам [33]. Статистическую обработку результатов исследования и формирование базы данных с результатами исследований проводили с использованием программы MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Важными факторами, определяющими бродильную способность дрожжевых клеток, а также их способность продуцировать вкусоароматические летучие вещества, является спо-

способность клеток адаптироваться к постоянно изменяющимся условиям внешней среды в процессе брожения. В свою очередь витальность клеток, их адаптационные возможности, биосинтетическая активность зависят от ряда факторов, таких как сбалансированность питательной среды, устойчивость к осмотическому, этанольному, температурному стрессам, и в том числе от штаммовых особенностей дрожжей и их физиологического состояния [23–26]. Витальность и физиологические свойства отобранных 6 экспериментальных образцов дрожжей – ИМ-1, ИМ-2, ИМ-3, ИМ-4, ИМ-5 – оценивали по следующим показателям, характеризующим физиологические и технологические свойства источника брожения – степени сбраживания (ССБ) и скорости сбраживания, удельной скорости роста культуры, содержанию общего количества (ОБКК) и почкующихся дрожжевых клеток (ПК_{после гл.бр.}), концентрации гликогена (УП_{по гликогену}), содержание мертвых клеток (МК), спиртообразование (СС) и др. В качестве объекта сравнения служил штамм дрожжей ИМ-16, выделенный с поверхности фруктов и относящийся к р. *Saccharomyces cerevisia*.

Исследования проводили на двух питательных средах – солодовом сусле (СС) с начальной концентрацией сухих веществ от 10 до 18 % и на сусле, приготовленном на основе концентрата пивного сула (КПС), с аналогичной начальной концентрацией сухих веществ. Процесс брожения осуществляли по двум режимам брожения: первый режим – при температуре (22±2) °С (верховое брожение); второй режим – при температуре – (7±2) °С (низовое брожение); продолжительность брожения составляла 8 сут. Норма внесения дрожжевой разводки составляла 20–30 см³/дм³ с титром, указанным в табл. 3. Результаты исследований представлены на рис. 2–9.

Табл. 3. Титры культур для внесения в пивное сусло

Table 3. Titters of cultures to be added to beer wort

Наименование культуры	Титр, КОЕ/см ³
<i>ИМ-1</i>	3,4×10 ⁸
<i>ИМ-2</i>	6,0×10 ⁸
<i>ИМ-3</i>	2,5×10 ⁸
<i>ИМ-4</i>	2,5×10 ⁸
<i>ИМ-5</i>	1,4×10 ⁸
<i>ИМ-16</i>	2,4×10 ⁸

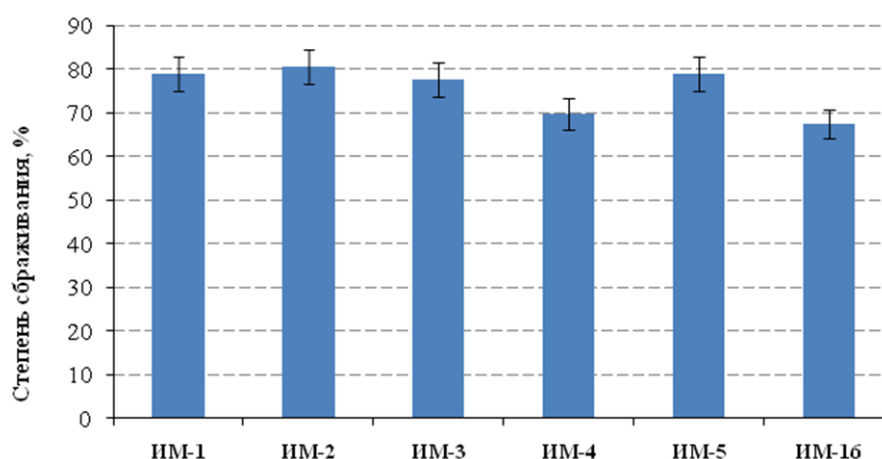


Рис. 2 Степень сбраживания дрожжей в зависимости от штамма

Fig. 2. Degree of yeast fermentation depending on the strain

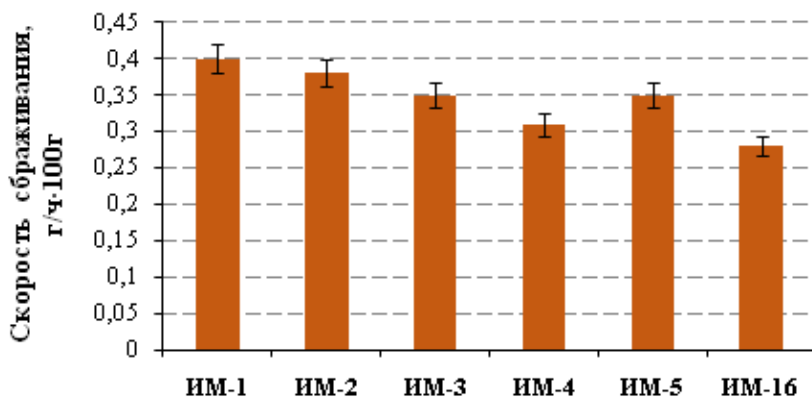


Рис. 3. Скорость сбраживания дрожжей в зависимости от штамма

Fig. 3. Yeast fermentation rate depending on the strain

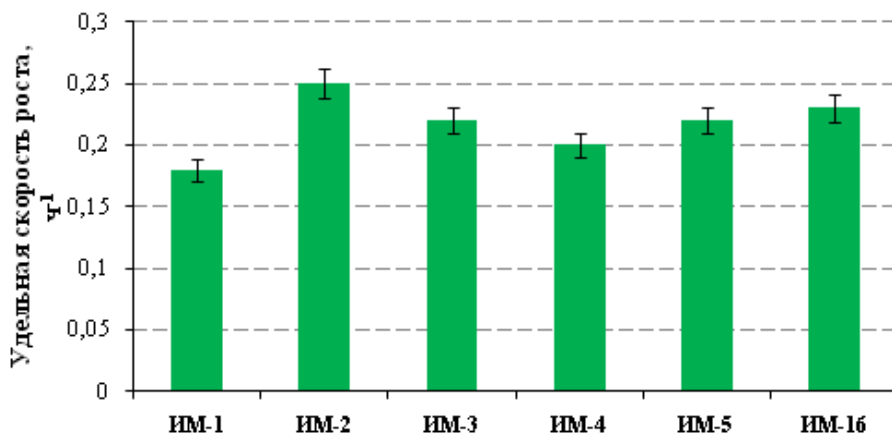


Рис. 4. Удельная скорость роста дрожжей в зависимости от штамма

Fig. 4. Specific growth rate of yeast depending on the strain

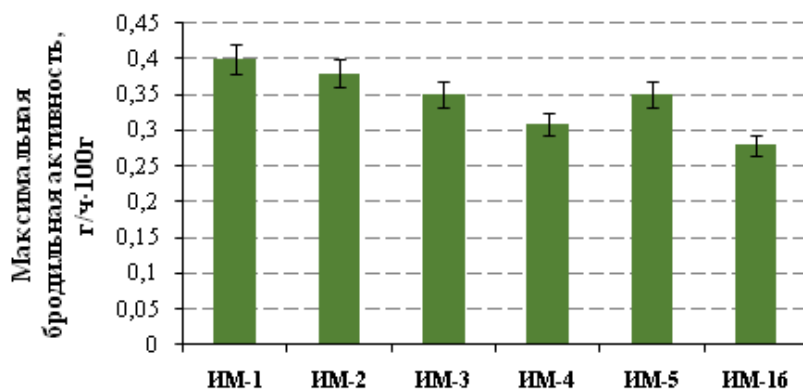


Рис. 5. Бродильная активность дрожжей в зависимости от штамма

Fig. 5. Fermentation activity of yeast depending on the strain

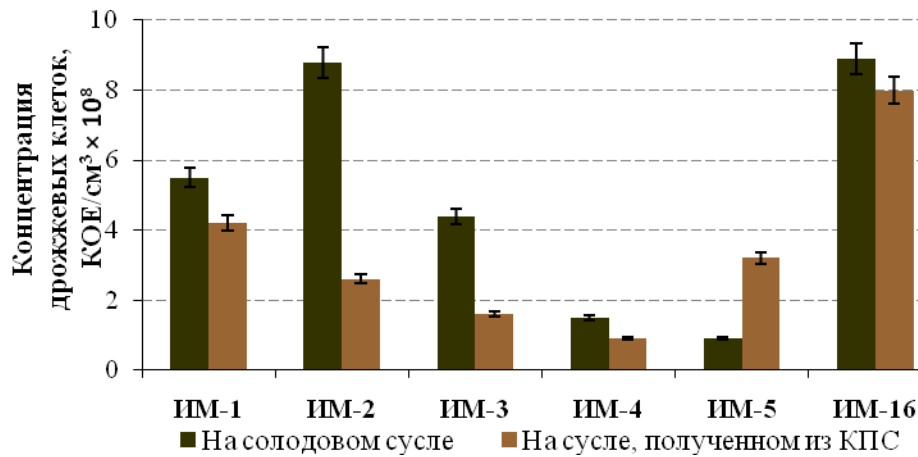


Рис. 6. Концентрация дрожжевых клеток после главного брожения в зависимости от штамма и вида сусла

Fig. 6. Concentration of yeast cells after the main fermentation depending on the yeast strain and the wort type

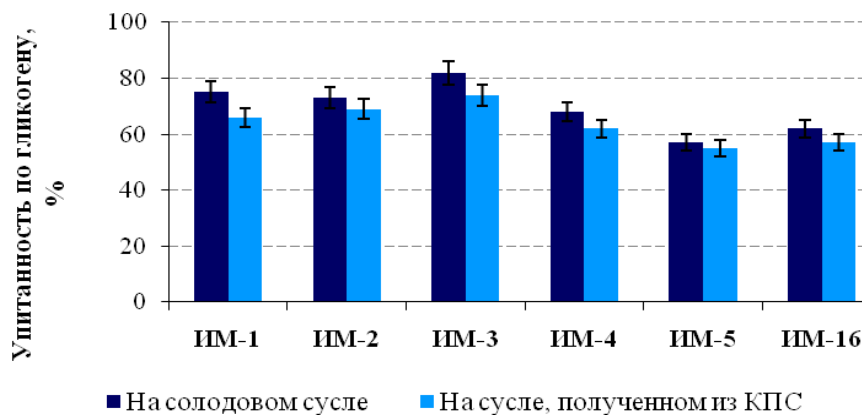


Рис. 7. Упитанность по гликогену в зависимости от штамма дрожжей и вида сусла

Fig. 7. Glycogen state depending on the yeast strain and the wort type

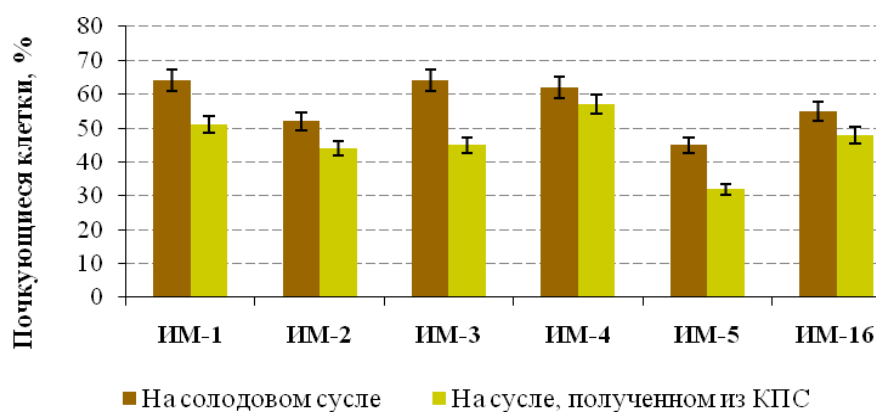


Рис. 8. Содержание почкующихся клеток после главного брожения в зависимости от штамма дрожжей и вида сусла

Fig. 8. Content of budding cells after the main fermentation depending on the yeast strain and the wort type

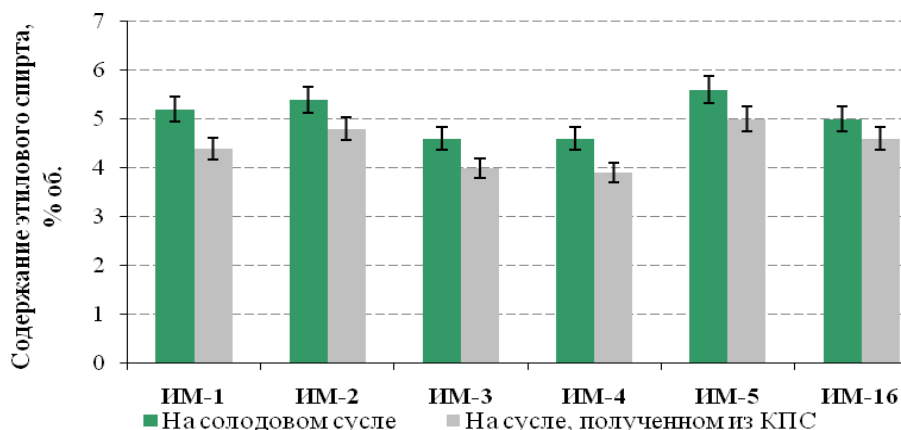


Рис. 9. Содержание этилового спирта в зависимости от штамма дрожжей и вида сусла

Fig. 9. Content of ethyl alcohol depending on the yeast strain and the wort type

На основании полученных экспериментальных данных по изучению физиологических и технологических свойств исследуемых образцов экспериментальных дрожжей составлены микробиологические карты с указанием особенностей развития исследуемых штаммов дрожжей на пивном сусле. Пример карты биотехнологических свойств штамма дрожжей ИМ-1 представлен в табл.4.

Табл. 4. Карта биотехнологических свойств штамма дрожжей ИМ-1

Table 4. Process sheet of biotechnological properties of yeast strain IM-1

Наименование показателей	Значение
ИМ-1	
Степень сбраживания, %	78,9 (высокосбраживающие)
Скорость сбраживания, г/ч x100 г	0,35–0,4 (высокая)
Удельная скорость роста, ч ⁻¹	0,18 (средняя)
Зависимость от осмотического стресса	средняя
Максимальная бродительная активность, г/ч x100 г	0,4
На солодовом сусле:	
ОБКК _{до начала брож.} /ОБКК _{после гл.бр.} =6,8x10 ⁶ /5,5x10 ⁸ КОЕ/см ³ ; МК=3,3–5,5%; УП _{по гликогену} =61–75%; ПК _{после гл.бр.} =56–64%; ССБ _{вид. после гл.бр.} = 58–68%; ССБ _{действ. после гл.бр.} = 59,6–64,4%; СС=4,6–5,2% об.	
На сусле, полученном из КПС:	
ОБКК _{до начала брож.} /ОБКК _{после гл.бр.} =6,8x10 ⁶ /4,2x10 ⁷ КОЕ/см ³ ; МК=4,0–8,5%; УП _{по гликогену} =57–66%; ПК _{после гл.бр.} =40–51%; ССБ _{вид. после гл.бр.} = 51–63%; ССБ _{действ. после гл.бр.} = 49,2–58,0%; СС=3,8–4,4% об.	

Таким образом, установлено, что физиологические свойства исследуемых дрожжей, их витальность и технологические свойства – степень сбраживания, скорость сбраживания, удельная скорость роста, бродительная активность и устойчивость к осмотическому стрессу зависят от ряда факторов – состава питательной среды, штаммовых особенностей и условий культивирования.

На основании экспериментальных данных получены зависимости концентраций дрожжевых клеток от продолжительности сбраживания пивного сусла, характеризующие динамику протекания циклов развития популяции исследуемых дрожжей и сопряжение их с периодом, когда дрожжи проявляют свою максимальную бродительную активность. Данные зависимости описывают поведение дрожжевых клеток при ферментации и позволяют контролировать и корректировать ключевые параметры процесса брожения в течение производственного цикла. Результаты исследований представлены на рис. 10–15.

Из полученных математических зависимостей следует, что для каждой исследуемой дрожжевой популяции характерна своя динамика изменения концентрации дрожжевых клеток в периодическом цикле брожения пивного сула. Развитие дрожжей штамма *ИМ-1* происходит в условиях низового брожения и подчиняется параболической зависимости – повышение биомассы в первый период ферментации (первые – третьи сутки брожения), с последующим переходом в стационарную фазу (четвертые – пятые сутки брожения) и фазу отмирания к окончанию процесса брожения.

Другие исследуемые экспериментальные штаммы дрожжей в условиях верхового брожения характеризуются неоднородной динамикой и скоростью изменения концентрации дрожжевых клеток в течение ферментации, что, вероятно, связано с более высокими температурами процесса и физиологическими штаммовыми особенностями.

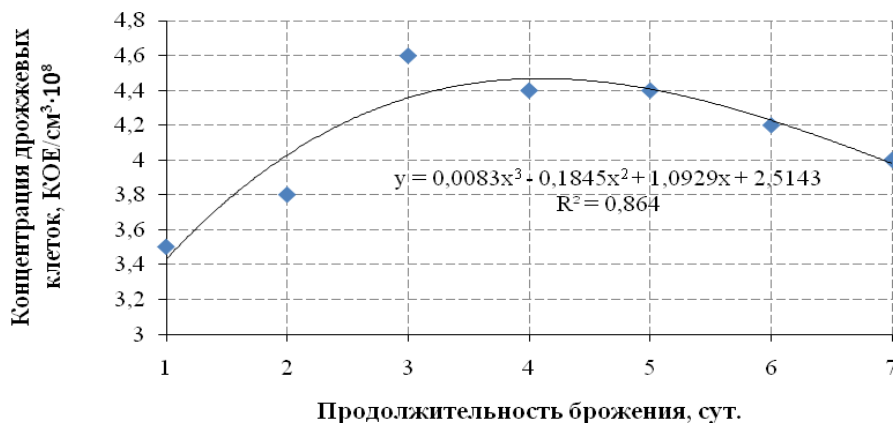


Рис. 10. Зависимость концентрации дрожжевых клеток *ИМ-1* от продолжительности брожения

Fig. 10. Concentration of yeast cells *IM-1* depending on the time of fermentation

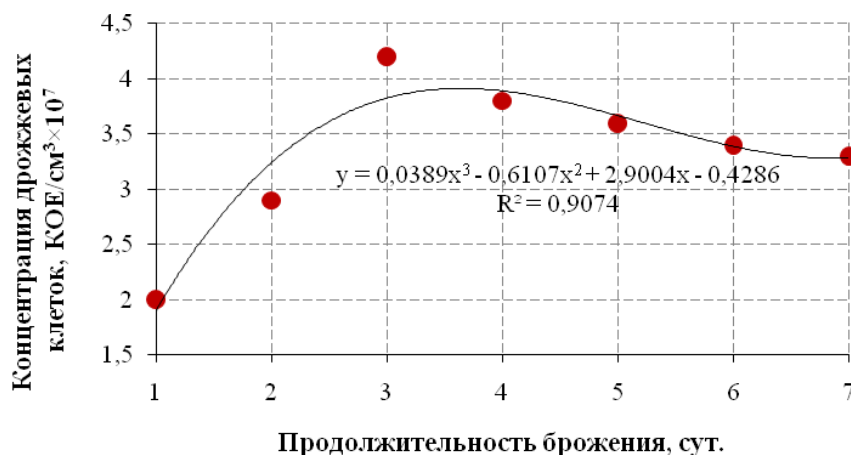


Рис. 11. Концентрация дрожжевых клеток *ИМ-2* в зависимости от продолжительности брожения

Fig. 11. Concentration of yeast cells *IM-2* depending on the time of fermentation

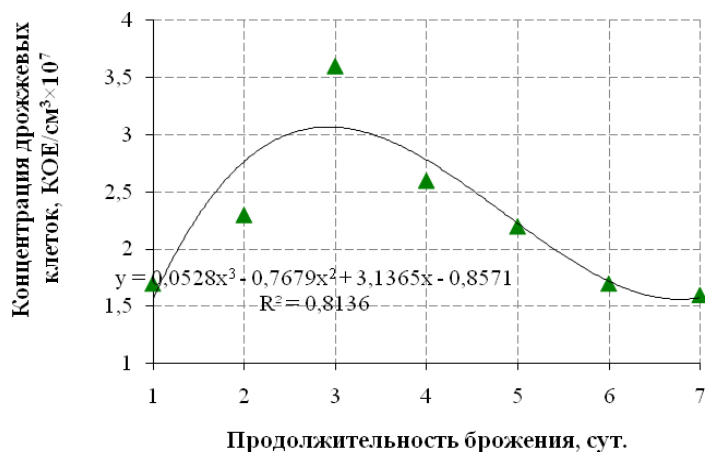


Рис. 12. Концентрация дрожжевых клеток *ИМ-3* в зависимости от продолжительности брожения

Fig. 12. Concentration of yeast cells *IM-3* depending on the time of fermentation

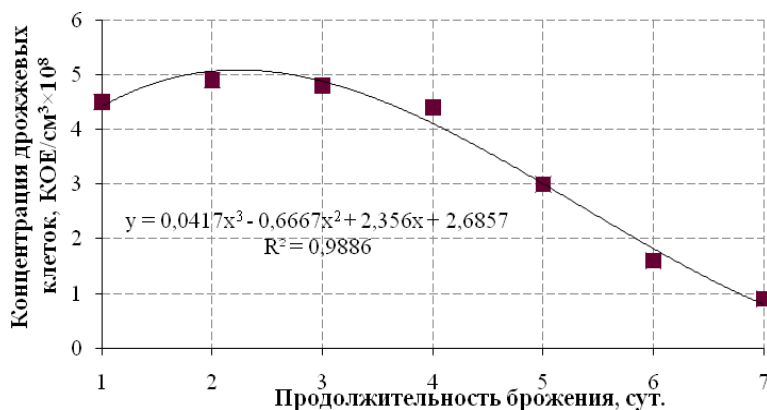


Рис. 13. Концентрация дрожжевых клеток *ИМ-4* в зависимости от продолжительности брожения

Fig. 13. Concentration of yeast cells *IM-4* depending on the time of fermentation

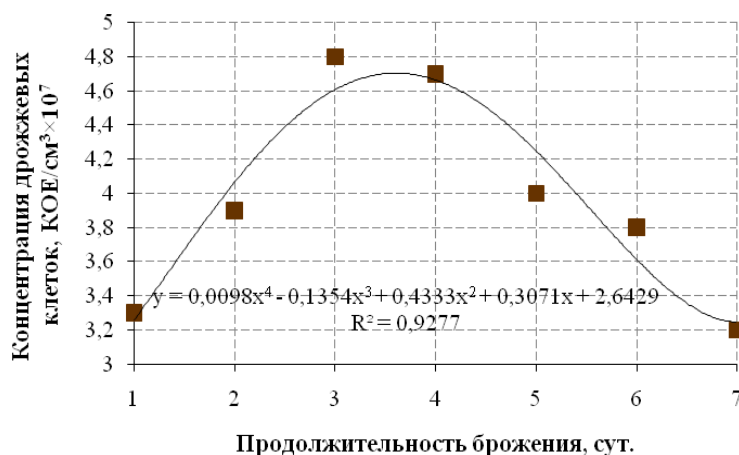


Рис. 14. Концентрация дрожжевых клеток *ИМ-5* в зависимости от продолжительности брожения

Fig. 14. Concentration of yeast cells *IM-5* depending on the time of fermentation

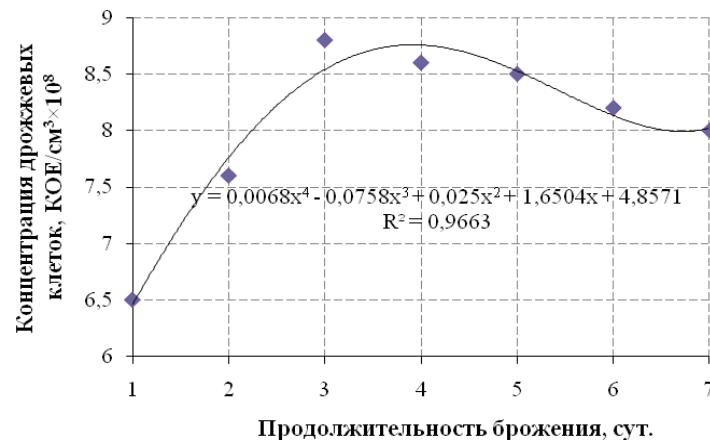


Рис. 15. Концентрация дрожжевых клеток штамма *ИМ-16* в зависимости от продолжительности брожения

Fig. 15. Concentration of yeast cells *IM-16* depending on the time of fermentation

Таким образом, проведенные экспериментальные и математические исследования позволили установить кинетику развития экспериментальных биокультур дрожжей, применительно к условиям крафтового пивоварения, и определить фазу их максимальной клеточной активности. Полученные результаты легли в основу методических рекомендаций по использованию новых штаммов дрожжей в крафтовом пивоварении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные экспериментальные исследования позволили обосновать использование новых высокоактивных штаммов дрожжей для крафтового пивоварения. Установлено, что экспериментальные штаммы дрожжей, предоставленные Институтом микробиологии НАН Беларуси – *ИМ-1*, *ИМ-2*, *ИМ-3*, *ИМ-4*, *ИМ-5*, характеризуются высокими физиологическими и технологическими свойствами – витальностью (титр $1,4\text{--}6,0 \times 10^8$), удельной скоростью роста ($0,18\text{--}0,25 \text{ ч}^{-1}$), бродильной активностью ($0,28\text{--}0,31 \text{ г/ч} \times 100 \text{ г}$), скоростью и степенью сбраживания ($70\text{--}80 \%$).

Изученные штаммы дрожжей рекомендованы для применения в промышленности, в т.ч. в целях импортозамещения и создания отечественной коллекции дрожжей. Позволяют сформировать заданный вкусоароматический профиль готового продукта. Технологически эффективны, не требуют дополнительного оборудования и других капитальных затрат при использовании в производстве.

Теоретическая значимость исследования состоит в развитии методов эффективного управления процессами дрожжегенерации пивоваренных дрожжей при их использовании в качестве источника брожения.

Исследования проводились в рамках выполнения государственной научно-технической программы «Промышленные био- и нанотехнологии - 2020», 2016-2020 годы (номер госрегистрации 20200155) в рамках задания 4-22 «Разработать и внедрить технологию получения жидких дрожжей для крафтового пивоварения» при финансовой поддержке Министерства образования Республики Беларусь.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Петроченков, А. В. Крафтовое пиво. Пивная революция / А. В. Петроченков. – М.: Эксмо. – 2018. – 208 с.
- 2 Annemuller, G. The yeast in the brewery / G. Annemuller, H.-J. Manger, P.Lietz. – VLB Berlin. – 2011. – 430 с.
- 3 Цед, Е. А. Технология крафтового пива на основе применения жидких культур дрожжей: моногр. / Е. А. Цед. – Могилев: БГУТ, 2023. – 292 с.
- 4 Цед, Е. А. Перспективы использования жидких дрожжей в крафтовом пивоварении / Е. А. Цед, А. В. Батулев // Материалы XIII Международной научно-технической конференции «Техника и технология пищевых производств» Могилев, 23–24 апреля 2020 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия; редкол.: А. В. Акулич [и др.]. – Могилев, 2020. – С. 51–52.
- 5 Меледина, Т. В. Роль штаммов характеристик дрожжей и формирование вкуса и аромата пива / Т. В. Меледина // Мир пива. 1997. – № 1. – С. 38–43.
- 6 Фараждева, Е. Д. Значение расы дрожжей в формировании вкуса и аромата пива / Е. Д. Фараждева, Е. В. Ермошкина // Пиво и напитки. 1999. – № 1. – С. 24–26.
- 7 Крюгер, Л. Обмен веществ дрожжей и его влияние на вкус и аромат пива // Л. Крюгер // Спутник пивовара. 1999. – № 1–2. – С. 31–48.
- 8 Киселева, И. В. Способ интенсификации процесса сбраживания пива / И. В. Киселева, М. В. Гернет // Пиво и напитки. 2004. – № 2. – С. 11–18.
- 9 Коновалов, С. А. Биохимия дрожжей / С. А. Коновалов. – М.: Пищевая промышленность. – 1980. – 271 с.
- 10 Меледина, Т. В. Сырье и вспомогательные материалы в пивоварении / Т. В. Меледина. – СПб.: Профессия. – 2003. – 304 с.
- 11 Бурак, Л. Ч. Состояние и развитие крафтового пива. Обзор /Л. Ч. Бурак // The scientific heritage// – 2022. – № 87. – С. 52–66.
- 12 Качмазов, Г. С. Дрожжи бродильных производств / Г. С. Качмазов. – СПб.: Лань. – 2012. – 224 с.
- 13 Бэмфорд, Ч. Новое в пивоварении. – СПб.: Профессия. – 2007. – 220 с.
- 14 Филимонова, Т. И. Проблемы плотного пивоварения / Т. И. Филимонова, О. А. Борисенко, Т.П. Рыжова // Пиво и напитки. 2006. – № 1. – С. 26–27.
- 15 Мартыненко, Н. Н. Решение проблем сухих спиртовых дрожжей / Н. Н. Мартыненко, В. В. Верченков, Л. В. Римарева // Производство спирта и ликеро-водочных изделий. 2007. – № 2. – С. 10–14.
- 16 Меледина, Т. В. Пиво с высокой массовой долей сухих веществ / Т. В. Меледина, С. А. Черепанов // Индустрия напитков. 2006. – № 5. – С. 12–18.
- 17 О'Конер-Кокс, А. Оптимизация процесса ведения дрожжей на пивоваренном заводе /А. О'Конер-Кокс // Спутник пивовара. 1999. – № 3–4. – С. 30–36.
- 18 Меледина, Т. В. Особенности метаболизма трегалозы у пивных дрожжей низового брожения / Т. В. Меледина // Пиво и напитки. 2004. – № 4. – С. 23–27.
- 19 Салохина, Г. А. Физиологическая регуляция метаболизма дрожжей / Г. А. Салохина. – Мн.: Наука и техника. – 1991. – 332 с.
- 20 Борисова, С. В. Использование дрожжей в промышленности. – СПб.: ГИОРД. – 2008. – 216 с.
- 21 Романовская, Т. В. Скрининг и характеристика пивоваренных дрожжей верхового и низового брожения / Т. В. Романовская [и др.] // Микробные технологии: фундаментальные и прикладные аспекты. –Т.12. – 2021. – С. 388–401.
- 22 Кунце, В. Технология солода и пива / Кунце, В. – СПб.: Профессия. – 2009. – 1064 с.
- 23 Прист, Ф. Дж. Микробиология пива / Ф. Дж. Прист. – СПб.: Профессия. – 2005. – 463 с.
- 24 Меледина, Т. В. Качество пива: стабилизация вкуса и аромата, коллоидная стойкость, дегустация / Т. В. Меледина. – СПб.: Профессия. – 2011. – 220 с.
- 25 Филимонова, Т. И. Расы дрожжей для сбраживания плотного пива / Т. И. Филимонова, О. А. Борисенко // Пиво и напитки. 2004. – № 1. – С. 22–23.
- 26 Третьяк, Л. Н. Технология производства пива с заданными свойствами / Л. Н. Третьяк // Монография. – СПб.: Профессия. – 2012. – 463 с.
- 27 Слюсаренко, Т. П. Лабораторный практикум по микробиологии пищевых производств /Т. П. Слюсаренко. – М.: Пищевая промышленность, 1984. – 207 с.
- 28 ГОСТ 26669-85. Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов. – Введ. 01.07.86. – М.: Стандартиформ, 2010. – 74 с.
- 29 ГОСТ 10444.12-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов. – Введ. 01.07.2015. – М.: Стандартиформ, 2015. – 63 с.
- 30 ГОСТ 26670-91. Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов. – Введ. 01.01.1993. – М.: Стандартиформ, 1993. – 7 с.
- 31 ГОСТ 12787-81. Пиво. Методы определения спирта, действительного экстракта и расчет сухих веществ в начальном сусле. – Введ. 01.01.83. – М.: Стандартиформ, 2011. – 46 с.

32 Жвирблянская, А. Ю. Дрожжи в пивоварении / А. Ю. Жвирблянская. М.: Пищевая промышленность – 1979. – 247 с.

33 Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии / А. И. Нетрусов. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

Поступила в редакцию 17.06.2023 г.

ОБ АВТОРАХ:

Елена Алексеевна Цед, доктор технических наук, доцент, заведующий кафедрой технологий пищевых производств, Белорусский государственный университет пищевых и химических технологий, e-mail: tsedelena@inbox.ru.

ABOUT AUTHORS:

Elena A. Tsed, D. Sc. (Engineering), Associate Professor, Head of the Department of Food Production Technologies, Belarusian State University of Food and Chemical Technologies, e-mail: tsedelena@inbox.ru.