

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Навчально-науковий інститут харчових технологій
Кафедра біотехнології продуктів бродіння і виноробства

«До захисту в ЕК»

Директор ННІХТ

_____ Оксана КОЧУБЕЙ-ЛИТВИНЕНКО
(підпис)

« » лютого 2024 р.

«До захисту допущено»

Завідувач кафедри БПБВ

_____ Анатолій КУЦ
(підпис)

« » лютого 2024 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА
із спеціальності **181 «Харчові технології»**
(шифр та назва спеціальності)

на тему: «Дослідження умов приготування і зберігання пивних дріжджів на
їх біосинтетичну активність»

Виконала:

здобувачка 2 курсу,
групи ТБ-2-7М

_____ (підпис)

_____ **Анастасія Василівна КРАВЧУК**
(прізвище, ім'я, по батькові)

Керівник

_____ (підпис)

_____ **Микола Васильович БОНДАР**
(прізвище, ім'я, по батькові)

Рецензент

_____ (підпис)

_____ **Юлія Вікторівна КАМБУЛОВА**
(прізвище, ім'я, по батькові)

Я, як здобувачка Національного університету харчових технологій, розумію і підтримую політику університету з академічної доброчесності. Я не надавала і не одержувала недозволеної допомоги під час підготовки цієї роботи. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ Анастасія КРАВЧУК
(підпис)

Київ – 2024 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Навчально-науковий інститут харчових технологій

Кафедра біотехнології продуктів бродіння та виноробства

Освітній ступінь – магістр

Спеціальність – 181 «Харчові технології»

Освітня програма – «Технології продуктів бродіння і виноробства»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології
продуктів бродіння і виноробства

_____Анатолій КУЦ
31 серпня 2023 року

З А В Д А Н Н Я **НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧУ**

Кравчук Анастасії Василівни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи: «Дослідження умов приготування і зберігання пивних дріжджів на їх біосинтетичну активність»

Керівник роботи **Бондар М.В., к.т.н., доцент**

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом вищого навчального закладу від 6 листопада 2023 року № 906-КС

2. Строк подання роботи 01 лютого 2024 р.

3. Вихідні дані до роботи _____

1. Матеріали, зібрані під час переддипломної практики

2. Методичні рекомендації до виконання магістерських робіт

3. Дослідити вплив температур приготування і зберігання пивних дріжджів на їх бродильну активність.

4. Скласти математичну модель процесу і перевірити її адекватність.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Титульний аркуш. Завдання на роботу. Анотація. Зміст. Вступ. 1. Вплив показників пивних дріжджів на їх бродильну активність (аналітичний огляд). 2. Матеріали, методи та методика досліджень. 3. Дослідження впливу температури на бродильну активність дріжджів (експериментальна частина). 4. Оптимізація технологічного процесу. 5. Розрахунок соціально-економічної ефективності. 6. Охорона праці. 7. Цивільний захист. Загальні висновки. Список використаної літератури. Додатки

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень)

Таблиці – 8

Графіки з результатами досліджень – 12

6. Консультанти розділів магістерської роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання 31 серпня 2023 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1.	Літературний пошук та підготовка аналітичного огляду за темою дослідження	17.10.23-29.10.23	виконано
2.	Складання планів експериментів, організація робочого місця, підбір і опанування методиками визначення показників якості та статистичної обробки отриманих результатів	30.10.23-4.11.23	виконано
	1-а атестація	5.11.2023	
3.	Експериментальні дослідження впливу голок ялинки і сосни на показники якості пива	05.11.23-17.12.23	виконано
4.	Підготовка розділу з охорони праці та погодження його з керівником	18.12.23-22.12.23	виконано
	2-а атестація	23.12.23	
5.	Підготовка розділу з цивільного захисту та погодження його з керівником	23.12.23-30.12.23	виконано
6.	Розробка рецептур нових сортів пива голок ялинки і сосни	31.12.23-06.01.24	виконано
7.	Оптимізація технологічного процесу	07.01.24-13.01.24	виконано
8.	Розрахунок соціально-економічної ефективності роботи	14.01.24-24.01.24	виконано
9.	Оформлення пояснювальної записки і презентації роботи	25.01.24-31.01.24	виконано
10.	Подання роботи в комісію по перевірці на антиплагіат	01.02.24-05.02.24	виконано
11.	Попередній розгляд роботи на кафедрі	06.02.24-10.02.24	виконано
12.	Отримання зовнішньої рецензії і підготовка до захисту в ЕК	11.02.24-13.02.24	виконано
	Захист роботи в ЕК	Згідно графіку	

Здобувач

Керівник роботи, доцент

Анастасія КРАВЧУК

Микола БОНДАР

АНОТАЦІЯ

Кравчук Анастасія Василівна. «Дослідження умов приготування зберігання пивних дріжджів на їх біосинтетичну активність».

Кваліфікаційна робота на здобуття ступеня магістра за спеціальністю 181 «Харчові технології» спеціалізації «Технології продуктів бродіння і виноробства». Національний університет харчових технологій, Київ 2024 рік.

Мета роботи: дослідження впливу температури приготування і зберігання пивних дріжджів на їх бродильну активність.

Об'єкт дослідження: технологія приготування пивного сусла.

Предмети дослідження: раси дріжджів низового бродіння H124b і H124 LDA, пивне сусло та молоде пиво.

У кваліфікаційній роботі наведено результати досліджень пивного сусла та молодого пива.

Досліджено динаміку зміни вмісту масової частки діоксиду вуглецю, що виділяється, вмісту віцинальних дикетонів та видимого ступеня зброджування сусла. Визначено фізико-хімічні показники пива, флокуляційні та фізіологічні властивості дріжджів.

Розроблено математико-статистичну модель залежності концентрації мертвих дріжджових клітин від тривалості та температури зберігання.

Ключові слова: дріжджі, бродильна активність, температура, зберігання дріжджів, молоде пиво, мертві клітини, віцинальні дикетони.

ANNOTATION

Kravchuk Anastasiia Vasylivna. "Research of conditions of preparation and storage of brewer's yeast on their biosynthetic activity".

Qualification work for a master's degree in specialty 181 "Food Technologies", specialization "Technologies of fermentation products and winemaking". National University of Food Technologies, Kyiv, 2024.

Purpose: to study the effect of the temperature of preparation and storage of brewer's yeast on its fermentation activity.

Object of research: technology of preparation of beer wort.

Subjects of research: races of bottom fermentation yeast H124b and H124 LDA, beer wort and young beer.

The qualification work presents the results of studies of beer wort and young beer.

The dynamics of changes in the mass fraction of carbon dioxide emitted, the content of vicinal diketones and the apparent degree of wort fermentation were studied. The physicochemical parameters of beer, flocculation and physiological properties of yeast were determined.

A mathematical and statistical model of the dependence of the concentration of dead yeast cells on the duration and temperature of storage was developed.

Keywords: yeast, fermentation activity, temperature, yeast storage, young beer, dead cells, vicinal diketones.

ANNOTATION

Kravchuk Anastasiia Vasylivna. "Étude des conditions de préparation et de conservation des levures de bière sur leur activité biosynthétique.

Travail de qualification pour un master dans la spécialité 181 "Technologies alimentaires", spécialisation "Technologies des produits de fermentation et de la vinification". Université nationale des technologies alimentaires, Kiev, 2024.

Objet: étudier l'influence de la température de préparation et de stockage de la levure de bière sur son activité fermentaire.

Objet de la recherche: technologie de préparation du moût de bière.

Sujets de recherche: races de levure de fermentation basse H124b et H124 LDA, moût de bière et bière jeune.

Le travail de qualification présente les résultats des études sur le moût de bière et la bière jeune.

La dynamique des changements dans la fraction massique du dioxyde de carbone émis, la teneur en dicétones vicinales et le degré apparent de fermentation du moût ont été étudiés. Les paramètres physicochimiques de la bière, la floculation et les propriétés physiologiques de la levure ont été déterminés.

Un modèle mathématique et statistique de la dépendance de la concentration de cellules de levure mortes par rapport à la durée et à la température de stockage a été développé.

Mots clés: levure, activité de fermentation, température, stockage de la levure, bière jeune, cellules mortes, dicétones vicinales.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
1 ВПЛИВ ПОКАЗНИКІВ ПИВНИХ ДРІЖДЖІВ НА ЇХ БРОДИЛЬНУ АКТИВНІСТЬ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД)	9
1.1 Біологія дріжджів <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9
1.2 Роль дріжджів у виробництві пива.....	11
1.2.1 Пивні дріжджі та їх основні властивості	11
1.2.2 Вплив стресів на пивні дріжджі.....	15
1.2.3 Роль метаболізму пивних дріжджів в пивоварні	18
1.2.4 Вимоги, що пред'являються до дріжджів у пивоварінні для забезпечення високої якості продукту	20
1.3 Побічні продукти бродіння, що впливають на аромат і смак пива	23
1.3.1 Характеристика основних побічних продуктів бродіння та їх роль у формуванні органолептичних показників пива	25
1.3.2 Вплив деяких технологічних факторів на якісний та кількісний склад летких речовин пива	32
1.4 Висновки, мета та завдання дослідження.....	39
2 МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ.....	41
2.1 Матеріали досліджень	41
2.2 Методи досліджень	41
2.3 Методика досліджень	42
3 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ТЕМПЕРАТУРИ НА БРОДИЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ДРІЖДЖІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА)	47
3.1 Дослідження впливу різних рас дріжджів низового бродіння на фізико-хімічні показники сусла.....	47
3.2 Дослідження впливу температури приготування на бродильну активність дріжджів	52
3.3 Дослідження впливу температури зберігання на фізіологічний стан дріжджів	56
3.4 Висновки до розділу	58
4 ОПТИМІЗАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ	59
5 СОЦІАЛЬНО-ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ РОБОТИ.....	64
6 ОХОРОНА ПРАЦІ	65
7 ЦИВІЛЬНИЙ ЗАХИСТ	70
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	74
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	75
ДОДАТКИ.....	78

					Дослідження умов приготування і зберігання пивних дріжджів на їх біосинтетичну активність					
Змн.	Лист	№ докум.	Підпис	Дата	ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА			Літ.	Арк.	Аркушів
Розробив	Кравчук А.В.								6	80
Н. контролер										
Керівник	Бондар М. В.								НУХТ, ННІХТ, БПБВ, ТБ 2-7М, 2024	
Зав. кафедри	Куц А.М.									

ВСТУП

Актуальність проблеми. Пивоварна промисловість є однією з найбільш динамічних галузей харчової промисловості і відіграє важливу роль у переробній промисловості України. Необхідність виробництва високоякісного пива в короткі терміни і з найменшими витратами спонукала багатьох виробників використовувати нові та сучасні процеси, які в основному спрямовані на підвищення продуктивності виробництва, економію енергії та розширення асортименту продукції, що випускається. Зокрема, використання вдосконалених методів кип'ятіння сусла, високогустинного пивоваріння, вдосконалених методів бродіння та доброджування, а також сучасних методів активації дріжджів.

Дріжджі є основною сировиною в технології бродильних виробництв. Основним показником якості дріжджів є їх бродильна активність.

Бродильна активність дріжджів має першочергове значення для пивоваріння, оскільки швидкість і повнота зброджування вуглеводів сусла багато в чому визначає не тільки виробництво пива необхідної якості, але і можливість інтенсифікації тривалих процесів бродіння і доброджування.

Важливим параметром головного бродіння є температура, яка впливає не тільки на бродильну активність дріжджів і, як наслідок, на ступінь зброджування пива, але й на смакові властивості пива, зокрема на вміст віцинальних дикетонів та фізіологічні властивості самих дріжджів.

Тому дослідження, спрямовані на визначення впливу температури підготовки та зберігання дріжджів на їх ферментативну активність, що сприятиме підвищенню продуктивності виробництва та отриманню якісного пива, є актуальними.

Метою даної роботи є визначення впливу температури приготування і зберігання пивних дріжджів на їх бродильну активність.

Задачі дослідження:

1. Підібрати раси дріжджів для низового бродіння;
2. Дослідити вплив температури приготування на бродильну активність дріжджів, а саме на ступінь зброджування пива, вміст віцинальних дикетонів, фізіологічний стан дріжджів та їх флокуляційні властивості;
3. Дослідити вплив температури зберігання на фізіологічний стан дріжджів.

Об'єкт дослідження – технологія пивного сусла.

Предмет дослідження – раси дріжджів H124b і H124 LDA.

Наукова новизна одержаних результатів. На основі теоретичних і експериментальних даних встановлено залежність бродильної активності і фізіологічних та флокуляційних властивостей дріжджів від впливу температури приготування і зберігання.

Практичне значення одержаних результатів. У результаті експериментальних досліджень встановлено оптимальні температури приготування і зберігання дріжджів раси H124 LDA у суслі з масовою часткою сухих речовин 16 %, які впливають на бродильну активність, яка у свою чергу впливає на швидкість процесу бродіння та якість готового пива.

Структура та обсяг роботи. Робота складається з 7 розділів, висновків, списку використаної літератури з 38 найменувань, в тому числі 5 іноземними мовами. Робота виконана на 80 сторінках друкованого тексту, містить 8 таблиць і 15 рисунків.

1 ВПЛИВ ПОКАЗНИКІВ ПИВНИХ ДРІЖДЖІВ НА ЇХ БРОДИЛЬНУ АКТИВНІСТЬ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД)

1.1 Біологія дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*

Дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* (Meyen, Germany, 1838) - одноклітинний мікроорганізм, що належить до еукаріотів і є відносно високорозвиненими клітинами, які містять усі основні клітинні органели та структури [16].

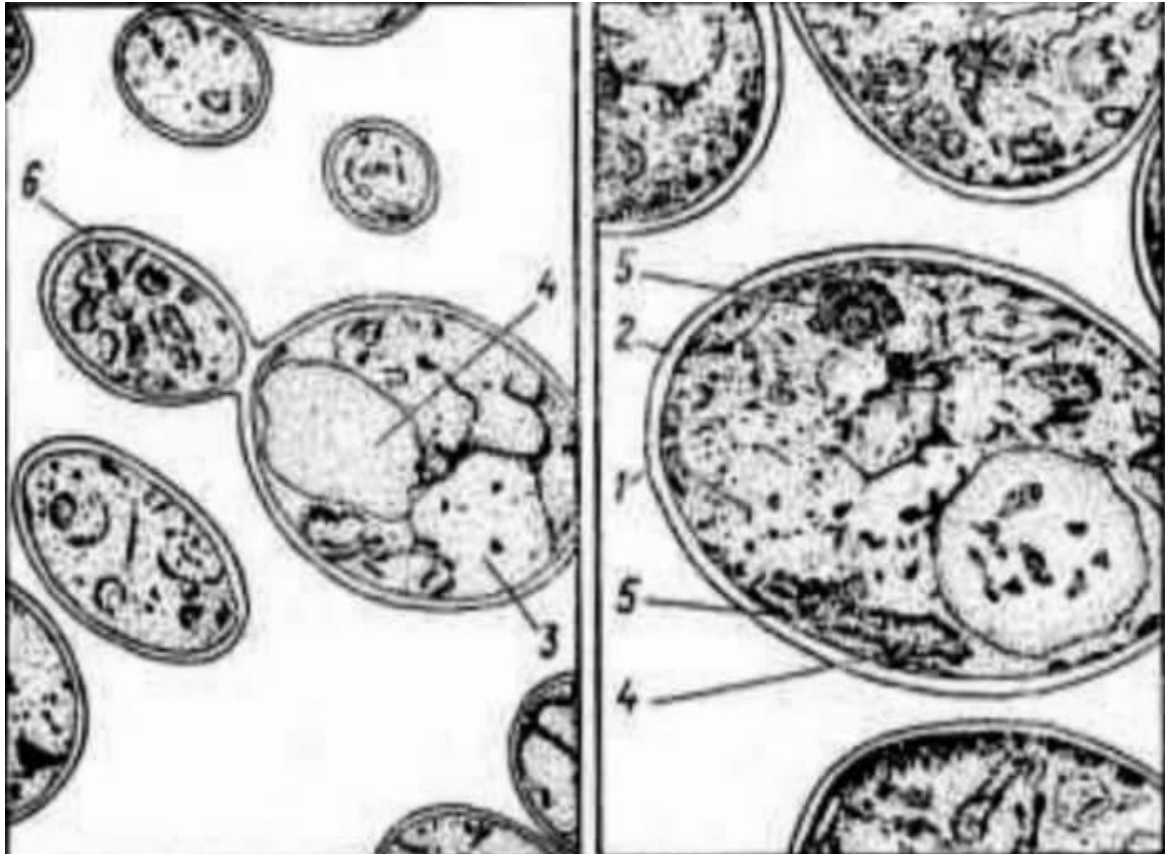


Рисунок 1.1 - Електронна мікрофотографія дріжджової клітини

Примітка: 1 – клітинна стінка; 2 – цитоплазматична мембрана; 3 – цитоплазма; 4 – ядро; 5 – мітохондрії; 6 – брунька.

Клітини *S. cerevisiae* мають округлу або еліпсоїдну форму, їх розмір коливається від 2,5 до 10 мкм. Макроморфологічні характеристики *S. cerevisiae* дуже мінливі і сильно залежать від складу середовища та умов культивування, тому вони мають дуже обмежене значення для ідентифікації дріжджів.

Дріжджова клітина оточена клітинною стінкою товщиною 25 нм, яка захищає протопласт від осмотичного розриву і надає клітині форму. Організація клітинної стінки відповідає моделі тришарової структури, згідно з якою внутрішній глюкановий шар відділяється від зовнішнього мананового шару проміжним шаром з високим вмістом білка. Цитоплазматична мембрана (ЦПМ) прилягає до внутрішньої поверхні клітинної стінки. Вона складається з двох шарів фосфоліпідів, в які занурені білкові молекули. У *S. cerevisiae* основними мембранними фосфоліпідами є лецитин, фосфатидилетаноламін і

фосфатидилсерин. Мембрана дріжджів містить стероїди, такі як ергостабіль, зимостерол тощо. [22].

Білкові речовини представлені переважно ферментами, які беруть участь у трансмембранному транспортуванні речовин, розщепленні полісахаридів і синтезі позаклітинних структур. Дріжджові клітини, маючи міцну клітинну стінку і напівпрозору цитоплазматичну мембрану, можуть витримувати внутрішньоклітинний тиск до 20 атм. Особливістю клітин *S. cerevisiae* є те, що в строго анаеробних умовах вони не здатні синтезувати деякі ненасичені жирні кислоти і стирол. Жирні кислоти і стирол, додані в середовище, вбудовуються в клітинну мембрану, змінюють її ліпідний склад і тим самим впливають на осмотичні властивості, температурну чутливість і поглинання розчинених речовин [16].

У дріжджовій клітині у фазі між поділами завжди є лише одне дискретне ядро. Кількість хромосом у ядрі клітин *S. cerevisiae* становить 16. З ядерною та цитоплазматичною мембранами з'єднана ендоплазматична сітка. Розрізняють два типи ендоплазматичної сітки: гранулярну (рибосоми розташовані на зовнішній поверхні її мембран) і гладку. У ядрі зазвичай знаходиться комплекс Гольджі, пов'язаний з мембранами ендоплазматичної сітки і ядерною мембраною.

Цитоплазма містить мітохондрії, кількість яких варіює від 1 до 20 в різні періоди росту і залежить від умов. Фізіологічні та біохімічні дослідження мітохондрій дріжджів показали, що структура ланцюга переносу електронів, ефективність окисного фосфорилування та фосфат-акцепторний контроль дихання подібні до таких у вищих організмів [13].

Мітохондрії дріжджів мають власну мітохондріальну ДНК, апарат білкового синтезу, який включає матричну РНК (рибонуклеїнову кислоту) та 70S рибосоми. Білки дріжджів, порівняно з білками тваринного походження, містять менше сірковмісних амінокислот, переважно метіоніну, і більше лейцину та ізолейцину [22, 13].

У фазово-контрастному мікроскопі в дріжджових клітинах добре видно вакуолі. Іноді у вакуолях видно метахроматичні гранули або волютин. Волютин - це запас поліфосфатів у клітині. Основна функція вакуолей - розділяти процеси синтезу і розщеплення білків і нуклеїнових кислот, виконувати роль депо для зберігання речовин, а також брати участь у регуляції гідростатичного тиску.

Дріжджові клітини *S. cerevisiae* можуть жити і рости у двох формах - гаплоїдній і диплоїдній. Гаплоїдні клітини здатні лише до вегетативного розмноження, при якому дріжджові клітини діляться на дві клітини різного розміру (брунькування) в результаті мітозу, а при стресі ці клітини просто гинуть. Диплоїдні клітини також здатні до мітозу і брунькування, але в умовах стресу вони піддаються спороутворенню, мейозу і утворюють аск з 4 спорами, які проростають в гаплоїдні клітини [13, 19].

За типом живлення дріжджі є хемо-органогетеротрофами. Під час росту в аеробних умовах з низьким вмістом глюкози в середовищі дріжджі отримують АТФ в результаті дихання, як і більшість аеробних організмів [11, 24, 35]. За відсутності кисню дріжджі можуть отримувати енергію шляхом бродіння з

виділенням спиртів (факультативні анаероби). При анаеробному диханні акцепторами електронів є переважно окиснені неорганічні сполуки. Коли повітря пропускається через субстрат, що зброджується, дріжджі припиняють бродіння і починають дихати (оскільки цей процес є більш ефективним), споживаючи кисень і виділяючи вуглекислий газ. Це прискорює ріст дріжджових клітин (ефект Пастера). Якщо вирощувати дріжджі в присутності кисню, але з високим вмістом глюкози в середовищі, то дріжджі також ферментують глюкозу. Таким чином, глюкоза пригнічує аеробне дихання. Це явище називається ефектом Кребтри, або катаболічною репресією [36].

У метаболізмі дріжджів бере участь велика кількість ферментів. Дріжджі мають ряд ферментних комплексів, з яких найважливішим є зимазний комплекс. Технологічне значення ферментів дріжджів полягає також у процесі спиртового бродіння, утворенні вторинних і побічних продуктів бродіння, які впливають на формування букету і смаку пива, перетворення колоїдної системи суслу і ароматоутворюючих компонентів пива [22, 23, 30, 40].

Дріжджі використовують для виробництва ферментних препаратів, органічних кислот, полісахаридів, багатоатомних спиртів і вітамінів. Висушені пивні дріжджі використовують для виробництва лікарських препаратів та біологічно активних добавок (БАД) [11, 19].

Дріжджі є модельним організмом з повністю секвенованим і розшифрованим геномом, з коротким часом генерації та можливістю генетичних маніпуляцій. За допомогою повної електронної томографії Клод Антоні з Європейської лабораторії молекулярної біології разом з Річардом Макінтошем з Університету Колорадо вперше побудували 3D-зображення еукаріотичної клітини дріжджів, яке надає інформацію про всі структури і процеси, що відбуваються в клітині. Дріжджі використовуються як об'єкт дослідження в біохімії, генетиці, мікробіології та молекулярній біології [22]. Клітини дріжджів *S. cerevisiae* також є зручною моделлю в кріобіологічних дослідженнях для вивчення механізмів пошкодження та кріозахисту різних біологічних об'єктів.

1.2 Роль дріжджів у виробництві пива

Пивоваріння - одна з найдавніших галузей промисловості у світі. Численні та важливі відкриття в галузі мікробіології та накопичення теоретичних знань призвели до розширення меж практичного використання дріжджів. Вивчення і використання механізму успадкування дріжджами властивостей і особливостей метаболізму сприяли перетворенню пивоваріння на галузь новітніх біотехнологій, здатних не тільки досягати відмінних якісних характеристик пива, але і утримувати їх на рівні певних стандартів без випадкового зниження якості.

1.2.1 Пивні дріжджі та їх основні властивості

Систематично виділяють два типи пивних дріжджів: верхового і низового бродіння, але кожен з цих типів включає велику кількість штамів, які відрізняються один від одного за морфологічними, фізіологічними і технологічними властивостями.

Найбільш важливими морфологічними ознаками для характеристики штамів є розмір, форма і однорідність клітин, а також здатність утворювати псевдоміцелій.

Основними фізіолого-біохімічними характеристиками є ферментативні, седиментаційні та флокуляційні властивості, особливості флокуляції, швидкість і кількісні характеристики росту біомаси, потреба в кисні, утворення основних і побічних продуктів бродіння. Ці властивості постійно змінюються, тому оцінка дріжджів базується на великій кількості постійних характеристик [22].

Бродильна активність. Бродильна активність дріжджів характеризується двома ознаками: ступінню і швидкістю зброджування вуглеводів сусла.

За ступенем зброджування низькомолекулярних вуглеводів сусла дріжджі поділяють на три групи: низько-, середньо- і високозброджувальні, які забезпечують менше 80%, 80-90% і 90-100% ступеня зброджування відповідно.

Здатність дріжджів зброджувати певні вуглеводи в суслі є однією з характерних ознак раси дріжджів і визначає ступінь зброджування сусла. Переважним цукром у пивному суслі є мальтоза. Відомо, що підвищений вміст мальтози в суслі призводить до збільшення енергії бродіння. Мальтотріоза завжди присутня в пивному суслі, і ступінь бродіння значною мірою залежить від того, наскільки повно вона зброджена. Дріжджі верхового бродіння зброджують мальтозу і мальтотріозу швидше і повніше, ніж дріжджі низового бродіння, в той час як при зброджуванні гексоз і сахарози це явище не спостерігається. Якщо в середовищі є достатня кількість глюкози, утворення α -глюкозидази, мальтозопермеази і мальтотріозопермеази інгібується. Однак існують штами дріжджів, у яких глюкозна депресія не відбувається. Що стосується відмінностей у здатності зброджувати вуглеводи, присутні в суслі в невеликих кількостях, то існують раси пивних дріжджів, які, крім моносахаридів, мальтози, сахарози і мальтотріози, зброджують ізомальтозу, панозу, ізопанозу, деякі з них - мальтотетраозу, але не зброджують ізомальтозу.

Швидкість зброджування визначається сукупністю багатьох факторів, серед яких склад і концентрація сусла, розмір клітин і площа їх поверхні в об'ємі сусла, тип флокуляції, хімічний склад клітин, особливо вміст азотистих речовин, спосіб зброджування, фізіологічний стан культури: вік, умови зберігання і використання, вгодованість, життєздатність тощо [16].

Флокуляційна властивість. Флокуляція має велике значення в пивоварінні. Це оборотна агрегація (аглотинація) дріжджових клітин. Це специфічна властивість певної раси дріжджів, яка закріплена генетично, але може змінюватися залежно від різних факторів. На флокуляційну здатність впливають склад сусла, швидкість внесення насінневих дріжджів, температура, аерація та інші технологічні фактори.

Відомо, що зброджувані цукри (особливо мальтоза і цукор-сирець) затримують флокуляцію, поки їх вміст у середовищі не досягне певного рівня. Всі фактори, які збільшують вміст зброджуваних цукрів у суслі, такі як якість ячменю, якість солоду, концентрація сусла, температура затирання і т.д., також знижують флокуляційні властивості. Погана флокуляція також спостерігається при нестачі ростових речовин, теплих умовах бродіння, сильному промиванні

дріжджів і використанні дріжджів раннього покоління. Етиловий спирт, присутній у зброженому суслі як обов'язковий продукт бродіння, сприяє аглютинації. Це спостерігається при концентрації спирту 1-3%. При подальшому збільшенні концентрації (4-7%) його вплив на флокуляцію слабшає і повністю припиняється після 8% [14, 28].

Генетична природа і структура мембрани дріжджової клітини відіграють важливу роль у явищі флокуляції. Механізм флокуляції ще не повністю з'ясований. Встановлено, що здатність до флокуляції значною мірою залежить від складу клітинної мембрани і електричного заряду дріжджів. Мембрана дріжджів містить білковий комплекс фосфоманнан, який утворює поверхневий шар клітинної мембрани. Видалення цього шару призводить до різкого зниження флокуляційної здатності. Пилові дріжджі багаті на протеолітичні ферменти, які розчиняють клейкий білковий шар, і процес аглютинації руйнується. Це призводить до того, що дріжджові клітини не злипаються. З цих причин при високих температурах відбувається більш енергійне розчинення клейких білкових речовин на поверхні клітин, оскільки активність протеолітичних ферментів підвищується. Іони кальцію також відіграють значну роль у процесі аглютинації. На думку низки авторів, механізм аглютинації полягає в наступному: на експоненціальній стадії розвитку дріжджі не флокулюють. Потім, внаслідок часткового розщеплення манану, вивільнюються карбоксильні групи. За сприятливих умов (зокрема, у присутності кальцію) вивільнені групи двох сусідніх клітин з'єднуються між собою через іон кальцію, утворюючи кальцій-халатний комплекс, який стабілізується додатковими водневими зв'язками [15, 23].

Розмноження дріжджів. Дріжджові клітини можуть розмножуватися вегетативно та статевим шляхом. У технології пива велике значення має здатність дріжджів розмножуватися вегетативно, шляхом брунькування. У місці утворення бруньки в зовнішній частині клітинної мембрани материнської клітини накопичуються численні частинки маннану і білка. Під час брунькування підвищується активність ферментів, які розм'якшують мембрану в материнській клітині. Через ЦПМ будівельний матеріал переноситься до місця утворення бруньки, в результаті чого утворюється дочірня клітина, яка згодом брунькується за тим же механізмом. Кожне брунькування залишає рубець на клітинній мембрані [22].

Швидкість розмноження залежить від багатьох факторів, включаючи склад і рН сусла, кількість і спосіб внесення насінневих дріжджів, температуру бродіння, продукти бродіння, вік клітин і доступність кисню. Розмноженню сприяють наявність у суслі всіх необхідних поживних речовин і вітамінів, підвищена температура, кисень і рН. Процес поділу клітин пригнічують спирт, вуглекислий газ, висока концентрація цукру та збільшення віку дріжджів.

Автоліз дріжджів. Автоліз відбувається в результаті біохімічних процесів розпаду білків, вуглеводів, жирів і органічних фосфорних сполук в цитоплазмі і клітинній мембрані під впливом ферментів. Під час автолізу життєдіяльність клітин припиняється, але активність ферментів, які викликають процес автолізу, не припиняється [27]. Активність одних ферментів знижується, а інших -

підвищується. Як правило, ферменти дихання і ферменти бродіння гинуть, а гідролітичні ферменти, особливо протеолітичні, активуються.

Автоліз вважається нормальною клітинною функцією і може відбуватися за досить сприятливих умов. Однак автоліз стимулюють такі фактори, як нестача поживних речовин, висока температура, недостатнє промивання дріжджів, висока температура промивної води, перенесення дріжджів з середовища з високою температурою в середовище з нижчою температурою, токсини від солодових і ячмінних грибків, а також підвищена частота інокуляції дріжджів [22]. Автоліз також може відбуватися за низьких температур, наприклад, коли пиво контактує з осадовими дріжджами під час бродіння та доброджування.

Останнім часом більшість зарубіжних і провідних пивоварних заводів нашої країни відмовилися від зберігання дріжджів під водою і перейшли на метод додавання дріжджів з танка в танк, тобто без їх промивання. Основним недоліком зберігання під водою є швидкий автоліз, оскільки, по-перше, клітина відчуває осмотичний шок двічі: перший раз, коли дріжджі переносяться з суслу у воду, другий раз, коли процес зворотний; по-друге, при зберіганні під водою клітина голодує і чим частіше відбувається перемішування і промивання, тим слабкішою стає клітина [14].

Стійкість дріжджів до автолізу також залежить від тривалості їх використання у виробництві: чим більша тривалість генерації дріжджів, тим менш стійкі вони до автолізу порівняно з чистою культурою [10].

Потреба в кисні. Пивні дріжджі належать до групи факультативних анаеробів, але вони не можуть рости за повної відсутності кисню. Потреба дріжджів у кисні пов'язана з їх здатністю синтезувати стероли і ненасичені жирні кислоти, які не виробляються клітиною в анаеробних умовах. Ці речовини є важливими елементами клітинної мембрани. Оскільки сусло містить достатню кількість ненасичених жирних кислот, стерол має особливе значення. Існує навіть певна кореляція між потребою дріжджів у кисні та характером стеролів, що синтезуються в аеробних умовах [10, 15]. При недостатньому вмісті ліпідів погіршується здатність мембрани постачати поживні речовини до клітини, сповільнюється їх розмноження і знижується життєздатність.

Різні раси дріжджів потребують різної кількості кисню (в середньому 2 - 30 мг/дм³) для ефективного росту біомаси і забезпечення нормального перебігу процесу бродіння. Дослідження кінетики процесу розмноження 2 штамів пивних дріжджів залежно від синтезу ергостеролу та дисиміляції глікогену виявило відмінності в динаміці утворення нових клітин, використання вуглеводів сусла, синтезу ергостеролу та дисиміляції глікогену залежно від вмісту кисню в середовищі. Однак за умов максимальної аерації під час струшування досягається однакова кількість біомаси дріжджів для всіх рас [16, 19, 28].

Потреба в кисні також залежить від умов попереднього культивування дріжджів. Якщо дріжджі перед бродінням перебували в тривалому контакті з повітрям, вони розвиваються нормально і зброджують пивне сусло незалежно від вмісту кисню в суслі. Якщо дріжджі перебували в умовах відсутності кисню протягом декількох поколінь, їх потреба в молекулярному кисні різко зростає. Г. М. Лисюк та Л. В. Пермякова пропонують оптимізувати процес бродіння шляхом

короткочасної аерації дріжджової суспензії з подальшою витримкою в умовах без доступу повітря. Така обробка дріжджів перед внесенням у сусло підвищує їх бродильну активність, прискорює розмноження клітин на початковій стадії процесу. Тривалість головного бродіння скорочується на 1-1,5 доби без погіршення якості пива [10, 15].

Потреба в кисні також змінюється залежно від вмісту засвоюваного азоту в суслі, методу бродіння (наприклад, бродіння під тиском, в ЦКТ, щільне бродіння).

1.2.2 Вплив стресів на пивні дріжджі

Осмотичний стрес. Наразі широко використовується технологія приготування високогустинного пива. За таких умов висока концентрація сусла викликає осмотичний стрес у дріжджових клітинах.

Осмотичний тиск виникає через прагнення води проникнути через напівпроникну мембрану в бік більш концентрованого з двох розчинів, розділених цією мембраною. Цей тиск прямо пропорційний концентрації молекул, які не можуть пройти через мембрану. Цитоплазматична мембрана дріжджових клітин характеризується напівпроникністю для води та гідрофільних сполук з високою молекулярною масою. Отже, за низьких концентрацій твердих речовин у поживному середовищі дріжджові клітини відчують гіпоосмотичний стрес, що призводить до збільшення вмісту води в клітинах. У більш концентрованому середовищі (наприклад, у суслі) в клітинах спостерігається гіперосмотичний стрес, що призводить до витоку води з клітин. При цьому дріжджі, незалежно від морфологічних характеристик штаму, набувають округлої форми, а їхня поверхня стає зморшкуватою.

Реакція клітин на осмотичний стрес залежить від густини сусла і його вуглеводного складу, фізіологічного стану дріжджів і стадії росту клітин. Клітини, які розмножуються (лаг-фаза росту), більш чутливі до стресу, ніж клітини, що знаходяться в стаціонарній фазі росту. Це пов'язано з різним хімічним складом дріжджів, зокрема, вмістом резервних вуглеводів глікогену і трегалози.

Гіперосмотичний стрес, якого зазнають клітини при внесенні в поживне середовище, вимагає певного часу для їх адаптації до цих умов, перш ніж дріжджі почнуть розмножуватися. Ця стадія розвитку клітин називається лаг-фазою. У цей період значно зростає синтез гліцерол-3-фосфатдегідрогенази, що призводить до збільшення внутрішньоклітинної концентрації гліцерину. Може пройти кілька годин, перш ніж буде виявлено значне збільшення внутрішньоклітинного гліцерину.

За нормальних умов гліцерин може проникати через цитоплазматичну мембрану, але під час гіперосмотичного стресу пори, через які він виходить, закриваються, і гліцерин не виділяється в середовище під час лаг-фази. Під час бродіння стрес послаблюється, і внутрішньоклітинна концентрація гліцерину зменшується.

Для боротьби з цим явищем збільшують вміст металів у суслі, що бродить, або збагачують сусло факторами росту [16, 29].

Етанольний стрес. У процесі бродіння утворюється спирт, і його вплив на дріжджі характеризується як етаноловий стрес.

Токсичні властивості етанолу виникають внаслідок збільшення проникності та пористості клітинних мембран, що призводить до проблем з транспортом поживних речовин. Крім того, виникає дефіцит води, доступної для цитоплазми. Реакція клітин на етиловий спирт в лабораторних умовах проявляється в підвищенні ступеня ненасиченості жирних кислот, присутніх в цитоплазматичній мембрані, збільшенні вмісту ергостеролу, синтезу трегалози і вироблення специфічних білків теплового шоку.

Коли вміст етанолу в середовищі перевищує 1,2 %, питома швидкість росту дріжджів знижується. Концентрація спирту в середовищі 2 % і більше призводить до зниження виходу біомаси. Ріст дріжджів повністю пригнічується в присутності 8-9,5 % етанолу.

Етанол впливає на тривалість часу генерації дріжджових клітин. Збільшення концентрації етанолу з 0 до 1 % збільшує час генерації приблизно з 2,3 до 3,5 годин, а при концентрації етанолу 3,8 % він становить вже 6,9 годин.

Промислові дріжджі піддаються впливу високих концентрацій етанолу в результаті високогустинного пивоваріння. При 23 % екстрактивності вихідного сусла об'ємна частка спирту становить понад 9,0 %. Утворений спирт пригнічує як швидкість розмноження дріжджів, так і процес бродіння [36].

Стрес, спричинений вуглекислим газом. У концентраціях, еквівалентних тиску газу понад 0,2 атм, ця сполука стимулює ріст клітин. Тиск близько 0,5 атм пригнічує цикл трикарбонових кислот, але спиртове бродіння триває до тиску 4,0 атм. Поділ клітин зупиняється при тиску від 2,5 до 3,0 атм. Клітини проходять через S-фазу (синтетичну фазу), але не розмножуються брунькуванням, в результаті чого мають подвійний склад ДНК і більший, ніж зазвичай, розмір. При певних концентраціях вуглекислого газу спостерігається чіткий вплив на формування сенсорних характеристик пива, що дозволяє клітинам рости.

Дослідники ще не дійшли єдиної думки щодо біохімічного механізму дії вуглекислого газу [16, 27].

Окислювальний стрес. Було проведено велику кількість досліджень щодо здатності дріжджів протистояти окислювальному стресу. Клітини мають захисні механізми на рівні субстратів, таких як глутатіон, поліаміни, іони металів тощо, та на рівні ферментів, таких як каталаза, супероксиддисмутаза, глутатіонпероксидаза, тіоредоксинпероксидаза, а також ферменти редуктаза, метіонінредуктаза та репарація ДНК. При повному бродінні значення кисневого стресу не таке велике, оскільки клітини піддаються впливу кисню протягом короткого періоду часу тільки на початку ферментації, тому під час реакцій, що відбуваються в мітохондріях, в клітини надходить дуже мало активного кисню, що може негативно вплинути на життєдіяльність дріжджів.

Як субстрат, кисень дуже важливий для біосинтезу ненасичених жирних кислот та ергостерину, які необхідні для росту клітин [16, 27].

Температурний стрес. Температура суттєво впливає на енергетичний та структурний метаболізм клітин і, як наслідок, впливає на питому швидкість росту дріжджів та час генерації (рис. 1.2).

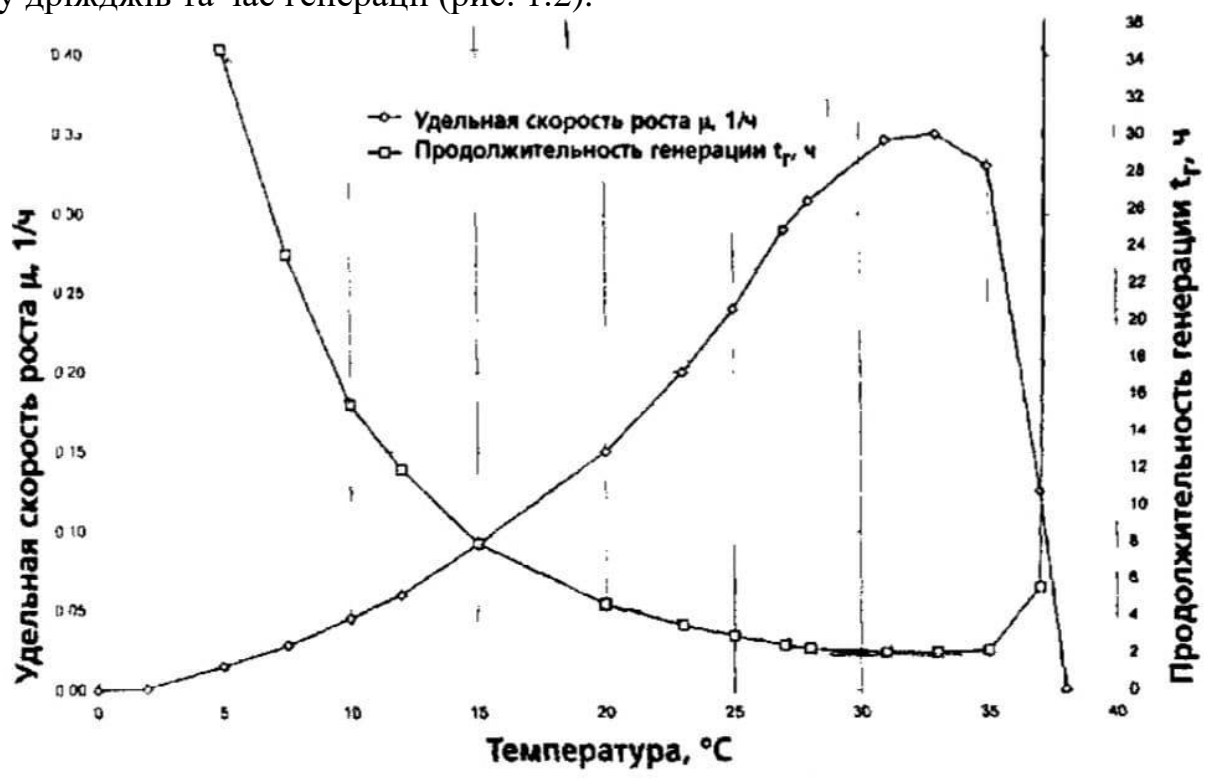


Рисунок 1.2 - Залежність швидкості росту дріжджів від температури

За певних умов виробництва клітини можуть відчувати температурний стрес (шок). Цей ефект виникає, коли дріжджі піддаються впливу досить високої (але не вище 37 °C) температури протягом короткого періоду часу. Стійкість дріжджів до негативних зовнішніх впливів пов'язана з трегалозою, вміст якої в клітині визначається штамом дріжджів та умовами культивування.

Встановлено, що клітини, які пережили вплив високих температур, набувають не тільки термостійкості, але й стійкості до спирту та осмосу [16].

Інші види стресу. На життєдіяльність дріжджових клітин негативно впливають [22]:

- різкі коливання рН;
- гідростатичний стрес
- механічний стрес внаслідок високих дотичних напружень (насоси, мішалки, регулювальні клапани).

Значення рН впливає на систему транспорту поживних речовин, ступінь дисоціації компонентів середовища, дисперсність, просторову організацію та активність ферментних білків, флокуляцію дріжджів.

Оптимальний рівень рН для розмноження певних клітин дріжджів становить 4,8, оскільки при цьому значенні рН фермент для транспортування мальтози в клітину, мальтозопермеаза, є найбільш активним. За нижчого рН прискорюється споживання амінного азоту.

При підкисленні середовища заряд клітини зменшується, взаємне відштовхування клітин послаблюється, а флокуляція збільшується. Загалом

дріжджі живуть і розмножуються в широкому діапазоні рН від 2 до 6. Однак різкі коливання цього параметра також можуть впливати на активність ферментів, порушувати біосинтетичну діяльність дріжджів і збільшувати кількість мертвих клітин.

Гідростатичний стрес спостерігається під час бродіння сусла у високих бродильних резервуарах (циліндрично-конічних танках - ЦКТ), висота яких може варіюватися від 17 до 22 м. Це змінює проникність клітинних мембран і ферментативну активність клітин.

Механічний стрес виникає внаслідок високих дотичних напружень під час перемішування дріжджів і перекачування з одного резервуара в інший за допомогою насосів. Такі механічні операції можуть "відшарувувати" поверхневий шар мембрани дріжджових клітин, що знижує флокуляційні властивості клітин. У свою чергу, це призводить до порушень у процесах бродіння та доброджування, зокрема, не відбувається природного освітлення пива [16, 27].

1.2.3 Роль метаболізму пивних дріжджів в пивоварні

Пивні дріжджі виконують свої життєві функції через численні та взаємозалежні реакції, відомі як метаболізм або обмін речовин. Умови навколишнього середовища мають значний вплив на розвиток і функціонування дріжджів. Сприятливі умови призводять до активного росту і розмноження, а також правильного напрямку і глибини біохімічних процесів. Несприятливі умови можуть призвести до зміни і втрати властивостей дріжджів через порушення їх життєдіяльності.

Цукри - низькомолекулярні вуглеводи - мають велике значення в напрямку і ефективності метаболізму всіх мікроорганізмів. При їх розщепленні утворюється енергія для фізіологічних процесів і біологічного синтезу речовин, необхідних клітині.

Зброджування вуглеводів до етанолу та CO₂ в анаеробних умовах є феноменальною особливістю дріжджів, особливо родини *Saccharomycetes*. Однак при зміні умов, а саме при достатній аерації, дріжджі можуть переходити до окислювального метаболізму.

Експериментально доведено, що дріжджі здатні зброджувати всі цукри, які вони можуть засвоїти, для створення резервних вуглеводів. Однак пивні дріжджі мають різну швидкість бродіння. Це, в першу чергу, визначається молекулярною масою вуглеводів і природою моносахаридних сполук у складних цукрах, а також специфічною здатністю до засвоєння вуглеводів штаму дріжджів, що використовується [33]. Дріжджі верхового та низового бродіння зброджують лише моно-, ди- та трисахариди.

Глюкоза і фруктоза зброджуються найшвидше. З дисахаридів легко зброджуються мальтоза і сахароза після їх гідролітичного розщеплення на гексози під дією відповідних гідролаз дріжджів. Сахароза зникає в суслі на початку бродіння, в той час як мальтоза споживається дріжджами, коли в суслі майже не залишається фруктози і глюкози. Мальтотріоза зброджується пізніше,

ніж мальтоза, частково під час головного бродіння і повільно під час доброджування. Швидкість зброджування мальтози або мальтотріози залежить від концентрації цукрів у суслі: чим нижча концентрація, тим вища швидкість зброджування. Мальтотетраоза, ізомальтоза та вищі полімери глюкози і пентози не зброджуються пивними дріжджами. Однак селекційним шляхом або шляхом спрямованої варіації можна отримати штами дріжджів з різною здатністю до продукування певних вуглеводів [8].

У вуглеводному обміні глікоген відіграє важливу роль, будучи важливим джерелом енергії для дріжджів на останній стадії бродіння, коли зброджувані вуглеводи в середовищі вже спожиті. Вміст глікогену в дріжджах залежить від умов бродіння - температури, швидкості посіву дріжджів, аерації сусла, складу сусла та властивостей раси дріжджів [19].

Для синтезу компонентів, що забезпечують ріст і розмноження, дріжджові клітини споживають азотовмісні сполуки сусла (амонійні сполуки, амінокислоти, дещо гірше дипептиди і в дуже малих кількостях трипептиди) [69], а також можуть споживати амінокислоти сусла і синтезувати всі необхідні амінокислоти за допомогою неорганічного азоту [10].

Амінокислоти можуть засвоюватися дріжджами або шляхом прямої асиміляції, або шляхом дезамінування чи трансамінування. Швидкість прямого засвоєння дріжджами різних амінокислот різна, тобто дріжджі мають селективну здатність. За відсутності деяких незамінних амінокислот у середовищі деякі з наявних дезамінуються або трансамінуються, а необхідні дріжджам амінокислоти повільно синтезуються з азоту, який дріжджі отримали з амінокислот, що швидко засвоюються. У зв'язку з цим вважається, що сусло не повинно містити більше засвоюваних амінокислот, ніж дріжджі можуть використати, оскільки кількість амінокислот сильно впливає на утворення побічних продуктів бродіння, що відповідають за аромат пива. Азотисті речовини, що виділяються дріжджами, надають пиву оксамитову текстуру і сприяють повноті смаку.

Азотистий вуглецевий обмін дріжджової клітини має велике практичне значення, оскільки з ним пов'язані основні зміни в складі сусла, молодого і зрілого пива, які виражаються у формуванні аромату і смаку, насиченні пива вуглекислим газом, піноутворенні, стабілізації колоїдної системи і підвищенні кислотності.

Ароматичні речовини, що утворюються під час бродіння, є продуктами метаболізму амінокислот і жирів дріжджової клітини. У пиві вони представлені вищими спиртами, складними ефірами, органічними кислотами, карбонільними сполуками та деякими сполуками сірки. Склад і властивості ароматичних речовин пива та біосинтетичний механізм їх утворення становлять великий інтерес для пивоварів, оскільки якість готового пива значною мірою залежить від наявності цих сполук.

Під час бродіння сусла активна кислотність молодого пива підвищується за рахунок утворення вуглекислого газу та органічних кислот, а також змін у буферній системі сусла внаслідок відновлення дріжджами азотистих речовин і фосфатів, крім того, вивільнення з сусла хмелевих емульсій і гірких речовин

хмелю [5, 20]. Згідно з Бамфортом і Сімпсоном, дріжджі можуть змінювати рН середовища під час бродіння двома способами: по-перше, вони виділяють кислі продукти (CO_2 і органічні кислоти), а по-друге, вони асимілюють кислоти і основи з сусла і перетворюють їх у сполуки зі зміненими іонними властивостями. Кут і Кірсоп відкидають теорію, що дріжджі видаляють буферні речовини з сусла. Вони дійшли висновку, що пряме вивільнення іонів водню є найбільш вірогідним поясненням рН пива. Роу та ін. показали, що пивні дріжджі підтримують постійний внутрішньоклітинний рН близько 6,3, знижуючи при цьому рН сусла до рівня пива. Здатність дріжджових клітин підтримувати постійне внутрішньоклітинне значення рН є критерієм їхнього стану та життєздатності.

Відомо, що органічні кислоти утворюються на стадії аеробного метаболізму - дихання, при цьому якісний і кількісний склад кислот, що утворюються, визначається видом і штамом використовуваних дріжджів. Зниження значення рН на шляху від сусла до пива має велике технологічне значення, оскільки сприяє:

- створенню несприятливих умов для життєдіяльності мікроорганізмів - шкідників пивоварного виробництва, тобто підвищенню біологічної стійкості пива;
- підвищенню колоїдної стійкості та стабільності пива за рахунок зменшення розчинності при низьких рН багатьох високомолекулярних білків і білково-поліфенольних комплексів, які спричиняють схильність пива до колоїдного помутніння;
- покращення смаку пива.

1.2.4 Вимоги, що пред'являються до дріжджів у пивоварінні для забезпечення високої якості продукту

Смак і стабільність є основними показниками якості пива. Коливання якості можуть бути спричинені технологією та характеристиками сировини, в тому числі дріжджів. Швидкість і характер змін, що відбуваються під час бродіння сусла під впливом пивних дріжджів, визначаються генетичною спадковістю дріжджів. Крім того, метаболізм дріжджових клітин значною мірою залежить від підготовки та утримання культури дріжджів, технології та умов процесу бродіння. Такі характеристики, як швидкість розмноження, здатність до флокуляції, швидкість бродіння, зниження рН, загальна тривалість процесу бродіння, ароматичний спектр тощо можуть змінюватися.

У зв'язку з цим вважається доцільним підбирати раси дріжджів, які забезпечують отримання готового продукту з необхідними фізико-хімічними та органолептичними характеристиками.

На основі аналізу літературних матеріалів [16] можна виділити такі основні вимоги до пивних дріжджів на сучасному етапі розвитку пивоварної промисловості:

- висока бродильна активність та швидке зброджування цукрів сусла

- висока флокуляційна здатність, повільне і повне осадження, що забезпечує освітлення молодого пива в кінці головного бродіння і готового пива в кінці доброджування

- помірна здатність розмножуватися;

- стійкість до несприятливих умов під час зберігання та обробки, а також до інфікування сторонніми та шкідливими мікроорганізмами. Для насінневих дріжджів також обов'язковими є біологічна чистота та висока життєздатність;

- стабільність властивостей і морфологічних характеристик протягом 10-12 генерацій;

- значне зниження рН;

- низька чутливість до холоду;

- забезпечення високого рівня смаку та аромату (букету) пива;

- можливість переробки цінних побічних продуктів.

Властивості та стан пивних дріжджів значною мірою визначаються впливом навколишнього середовища, а їх метаболізм значною мірою залежить від якості сировини, напівпродуктів та умов процесу пивоваріння. Раси пивних дріжджів піддаються впливу цих факторів в різній мірі. Це пов'язано зі спадковими генетичними особливостями дріжджової клітини, які визначають важливі для виробництва характеристики певних дріжджів, специфічні для різних рас.

Бродильна активність дріжджів представляє першорядний інтерес для пивоварної промисловості, оскільки швидкість і повнота зброджування вуглеводів сусла сильно впливає не тільки на виробництво пива необхідної якості, але і на можливість інтенсифікувати процеси тривалого бродіння і доброджування. Використання дріжджів з підвищеною активністю ферментів бродильного комплексу дозволяє збільшити оборотність бродильних і лагерних танків, тим самим підвищуючи ефективність виробництва без будь-яких інвестицій, трудових витрат тощо [10].

Процес бродіння починається лише за наявності певної концентрації дріжджів. На початку бродіння вони повинні бути присутніми в достатній кількості, щоб забезпечити достатнє розмноження дріжджових клітин для утилізації всіх доступних цукрів. Для забезпечення нормального перебігу процесу бродіння надмірне розмноження дріжджів є небажаним, оскільки утворення нових клітин споживає екстракт сусла і призводить до значних втрат гірких речовин хмелю. Крім того, підвищене розмноження дріжджів призводить до утворення більшої кількості побічних продуктів бродіння, які погіршують якість пива.

Інтенсивність розмноження впливає на бродильну активність дріжджів. Помічено, що чим нижча швидкість поділу клітин, тим вища активність бродіння.

У виробництві пива нормальним вважається збільшення біомаси не більше ніж у 3-4 рази.

Здатність дріжджів до флокуляції і седиментації має велике технологічне значення. Якщо використовувати дріжджі з ранньою седиментацією, то в кінці головного бродіння можна отримати пиво з високим вмістом незброджених вуглеводів, що призведе до низької якості пива в кінці бродіння. Воно буде

недостатньо збродженим, матиме неприємний присмак і низьку біологічну стійкість. При використанні дріжджів, що повільно осідають, для молодого пива під час перекачування на кінцеве бродиння буде перенесено більше дріжджів, ніж потрібно для нормального протікання процесу бродиння. В результаті в пиві може з'явитися сторонній присмак, зокрема, присмак автолізованих дріжджів [10, 21].

Для виробництва пива, як правило, намагаються використовувати дріжджі, які добре флокулюють і осідають як під час основного бродиння, так і під час доброджування, при цьому вдається зброджувати необхідну кількість екстракту. В результаті отримують пиво з необхідними фізико-хімічними характеристиками та гарною прозорістю [34].

Іноді практикується використання не однієї, а двох і більше рас дріжджів, поєднання яких забезпечує виконання вищезазначених вимог до молодого і готового пива [23, 24].

Для нормального перебігу процесів бродиння та доброджування необхідна належна культура виробництва. При зберіганні дріжджів під шаром води при низькій температурі зменшується вміст глікогену в клітинах, знижується кількість факторів росту і фізіологічно активних речовин в дріжджах, а також збільшується кількість мертвих клітин. Крім того, з клітин вивільняються екстрактивні речовини, які є живильним середовищем для сторонніх мікроорганізмів, що призводить до ризику інфікування. Звичайне промивання дріжджів біологічно чистою водою при температурі 0-1 °С для видалення механічних забруднень (білкових та інших речовин, мертвих клітин) не звільняє дріжджі від інфекційних мікроорганізмів. Тому дріжджі піддають спеціальній обробці хімічними речовинами (розчинами кислот, лугів), які змінюють властивості дріжджів. Тому для виробництва пива необхідної якості необхідно використовувати дріжджі, які найбільш стійкі до всіх перерахованих вище факторів і здатні зберігати необхідні для пивоваріння властивості при тривалому зберіганні.

Для забезпечення стабільності властивостей дріжджів на конкретному підприємстві доцільно використовувати один штам дріжджів, що забезпечує сталість процесу, надаючи пивовару кращий контроль. Що стосується стабільності властивостей дріжджів при використанні декількох поколінь, то немає єдиної думки про те, скільки циклів дріжджів можна використовувати у виробництві пива. На думку одних авторів, дріжджі можна використовувати до 100-150 поколінь, тоді як інші стверджують, що при звичайному бродинні без тиску слід використовувати не більше 4-5 поколінь, а при бродинні під тиском - не більше 3 поколінь. Поширеним є використання дріжджів до 10-12 поколінь. Це виправдано різними міркуваннями. Деякі виробники викидають дріжджі після кількох поколінь і вважають, що швидке використання свіжої, чистої культури дріжджів гарантує безпеку. Інші ж, навпаки, використовують дріжджі відносно довго і, досягнувши двозначного числа поколінь, використовують їх до тих пір, поки процес ферментації йде добре. Як показує досвід, ефект дріжджів зменшується після кількох поколінь. Це залежить не тільки від дріжджів, але й

від складу сусла, а оскільки інфекції, починаючи з мікростадії, зазвичай завжди активні, рекомендується обмежувати кількість поколінь.

Якщо дріжджі зберігають свою біологічну чистоту і нормальний фізіологічний стан, їх можна використовувати протягом більш тривалого періоду часу, але при цьому виникають більш жорсткі вимоги до зберігання і поводження з дріжджами, а також більш ретельний моніторинг процесу бродіння [35, 36].

Остаточне рішення щодо якості пива не може бути прийняте без аналізу побічних продуктів бродіння, які можуть утворюватися як в результаті складного гліколітичного шляху перетворення вуглеводів на етанол, так і під час розмноження дріжджів. Незалежно від механізму їх утворення, дріжджі беруть безпосередню участь в утворенні цих речовин. Існують активні і неактивні в цьому відношенні дріжджі, і смак і аромат пива багато в чому залежать від їх здатності накопичувати ті чи інші побічні продукти бродіння в навколишньому середовищі, а також від співвідношення цих речовин.

Специфічні особливості штамів пивних дріжджів, що забезпечують виконання вищезазначених вимог до дріжджів у виробництві пива, їх залежність від різних факторів необхідно враховувати при підборі складу сировини і розробці оптимальних технологічних умов для отримання продукту високої якості.

Оскільки якість штаму дріжджів має вирішальний вплив на інтенсивність розмноження дріжджових клітин, здатність до флокуляції, швидкість бродіння, зниження рН, загальний час бродіння і особливо на спектр ароматів, представляється доцільним вибір конкретної раси дріжджів для використання на даному підприємстві [16]. При цьому підвищення рентабельності виробництва і значне поліпшення якості готової пивоварної продукції при використанні дріжджів, властивості яких дозволяють застосовувати їх на конкретному підприємстві, може бути досягнуто на існуючому обладнанні, без зміни прийнятого технологічного режиму і додаткових витрат матеріальних і паливно-енергетичних ресурсів.

1.3 Побічні продукти бродіння, що впливають на аромат і смак пива

Складні біохімічні процеси, що відбуваються під час бродіння та доброджування пива, призводять до отримання продукту зі специфічним складом, смаком та ароматом.

При виробництві пива, поряд з основними продуктами гліколізу (етанол і вуглекислий газ), утворюється ряд побічних продуктів бродіння, які відіграють значну роль у формуванні органолептичних властивостей напою. До них відносяться вищі спирти, леткі кислоти, складні ефіри, альдегіди та їх похідні, а також сірковмісні сполуки. Крім цих речовин, у формуванні смаку та аромату пива беруть участь інші групи хімічних сполук: декстрини та меланоїдини, азотисті речовини, гіркі та дубильні речовини хмелю тощо [27]. Органолептичні якості пива визначаються метаболізмом дріжджів, складом середовища та умовами бродіння і доброджування пива [10, 28].

Смакові властивості пива поділяють на аромат, повноту смаку, свіжість і гіркоту. Основою для формування повноти смаку пива є певний вміст сухих речовин у вихідному суслі та зумовлений ним вміст залишкового екстракту. Крім того, дуже важливий внесок робить вміст високомолекулярних азотистих речовин. Тут частка загального азоту відіграє особливу роль, оскільки пиво з надмірним вмістом азоту має грубий смак. Поліфеноли, продукти реакції Майєра, карамельні речовини, глюкоза і пентозани також мають вплив, як і білкові речовини. Відсутність білкових речовин, що відповідають за повноту смаку, в поєднанні з високим вмістом поліфенолів викликає сильну гіркоту [29].

Відчуття свіжості частково визначається вмістом вуглекислого газу та сприятливим складом сухої речовини. Крім того, у формуванні цього показника важливим є вміст кислих солей.

На гіркоту пива впливає склад гірких речовин: вважається, що когумулон дає більш сильне відчуття гіркоти. Певний вплив також приписують співвідношенню α -кислот. Однак компоненти хмелевих ароматичних речовин, які розчиняються в суслі і пиві, також відіграють певну роль. Частка хмелевої олії має великий вплив на округлення відчуття гіркоти. Крім хмелевої гіркоти, існує гіркота, спричинена дубильними речовинами, гіркими речовинами і, нарешті, дріжджами. Білкова гіркота зумовлена наявністю смакоутворюючої фракції, яка надає пиву певної різкості. Дріжджова гіркота відчувається, коли пиво має дріжджовий аромат і смак. Її поява пов'язана або з надто частою зміною дріжджів при помірному їх розмноженні, або з поганим фізіологічним станом дріжджів, або з надто високим вмістом дріжджів під час перекачування молодого пива і раннім початком бродіння [29, 25].

Існують також різні порушення смаку, які можна класифікувати як затхлий солод, сушло або присмак лушпиння та дробини. Це вже смакові дефекти, оскільки вони супроводжуються - особливо останній тип - загальним грубим смаком пива [29].

Аромат пива, з одного боку, визначається ароматичними компонентами хмелю, з іншого - квітково-ефірними, сірчано-дріжджовими ароматами або дуже поширеними типовими дріжджовими, квітково-дріжджовими і навіть явно дріжджовими ароматами, а також ароматом солоду (солодово-квітково-ефірним), які, швидше за все, сприймаються як неблагородні. Дуже легкі м'які сорти пива мають свіжий, сірчистий дріжджовий аромат, який може переходити в менш приємний цибулевий присмак [29].

Серед складових пива леткі речовини відіграють величезну роль у створенні певного аромату та смаку. Вплив того чи іншого компонента на смак і аромат пива визначається пороговим значенням, або порогом відчуття. Для отримання гармонійного смаку і аромату концентрація летких речовин повинна бути нижче певного рівня. Для деяких ароматичних речовин поріг відчуття вищий за концентрацію, яка погіршує смак пива, що називається "небезпечною концентрацією". Для виробництва якісного пива допустимим є вміст ароматичних і смакових речовин, коли вони не мають негативного впливу на якість пива [10].

В даний час кількість ідентифікованих ароматичних компонентів пива зросла до 400, в тому числі 75 органічних кислот, 50 спиртів, 125 ефірів, 41 карбонільна сполука, 17 ацеталів, 41 фенольна сполука та деякі інші. Понад 100 ароматичних компонентів визначають букет пива. Серед них ідентифіковано близько 32 спиртів, 45 ефірів, 28 кислот тощо.

Точне якісне та кількісне визначення ароматичних речовин пива та вивчення шляхів їх трансформації під час бродіння достатньо повно розкрито завдяки використанню фізико-хімічних методів дослідження, серед яких найбільш популярною є газорідина хроматографія [10, 29].

1.3.1 Характеристика основних побічних продуктів бродіння та їх роль у формуванні органолептичних показників пива

Побічні продукти бродіння, які впливають на смак і аромат пива, можна розділити на наступні групи:

- вищі спирти (та їх попередники)
- складні ефіри
- карбонільні сполуки
- кислоти;
- сірчисті сполуки.

Діацетил, який має специфічний запах, є одним з летких компонентів пива, що формують його аромат і смак. Крім діацетилю, до складу пива входять такі сполуки: 2,3-бутиленгліколь, 2,3-пентадіон, ацетоїн, діацетилметилкарбінол, метилглюксаль тощо. Бажаний рівень їх вмісту в готовому пиві залежить від конкретного смаку, який ми хочемо отримати, але в багатьох сортах пива дефекти смаку спричинені надмірною концентрацією діацетилю. У чистому вигляді діацетил і пентадіон мають однаковий неприємний аромат, але вважається, що пентадіон має менший вплив на аромат пива, оскільки він міститься в невеликих кількостях і є менш ароматичним [10]. Ацетоїн і бутандіол мають вищі порогові концентрації сприйняття. Аромат цих речовин настільки характерний, що багато пивоварів описують його як "діацетиловий". Іноді його називають "маслянистим", "медовим", "цукерковим". Ці характеристики змінюються в залежності від концентрації діацетилю та пентадіону. Воркеліус, досліджуючи причини появи різних присмаків у пиві, показав, що затхлий присмак може з'явитися, коли в пиві міститься високий рівень ацетону. Він також вказав, що при однаковому вмісті ацетону і діацетилю фільтроване пиво має смак, характерний для сарцини, тоді як нефільтроване пиво має затхлий присмак. Помічено, що при концентрації нижче порогової ацетоїн має ефірно-кислий смак, а діацетил - легкий солодовий відтінок. Якщо їх концентрація вище порогової, то ацетоїн надає пиву затхлого, пліснявого смаку, а діацетил - гіркого присмаку. Деякі інші компоненти пива, такі як метилглюксаль, можуть створювати смак, схожий на діацетил. Це одна з причин розбіжностей між фізико-хімічними аналізами діацетилю та його смаковими визначеннями [10, 29].

Відомо [27], що вже при концентрації діацетилю 0,35 - 0,50 мг/дм³ в пиві з'являється медовий аромат, який може бути відмінною характеристикою цього

типу пива, проте при більш високих концентраціях діацетилу пиво набуває специфічного солодкувато-рум'яного смаку, що негативно впливає на органолептичні показники. Загальноприйнято вважати, що аромат діацетилу в пиві є небажаним.

Механізм утворення діацетилу під час бродіння та його відновлення в процесі доброджування в пивоварінні до кінця не з'ясований, хоча основні положення теоретично та експериментально досліджувалися протягом останніх 40 років.

В даний час більшість дослідників пропонують наступну теорію утворення діацетилу. Початковим продуктом біосинтезу діацетилу є пірвиноградна кислота, яка є проміжним продуктом гліколізу і може накопичуватися в результаті життєдіяльності дріжджів. Пірвиноградна кислота ацетилюється в ацетилмолочну кислоту, синтезовану дріжджами за допомогою ферменту ацетооцтової кислоти синтетази, яка шляхом декарбоксілювання перетворюється в ацетоїн. Останній окислюється до діацетилу або відновлюється до 2,3-бутиленгліколю [9, 27]. Вважається, що при виробництві пива вміст діацетилу змінюється за рахунок наступних реакцій: хімічної реакції окислювального декарбоксілювання з утворенням діацетилу та ферментативних реакцій, що призводять до його відновлення. Вважається, що утворення діацетилу з ацетолактату відбувається неферментативним шляхом поза дріжджовою клітиною і не може бути прискорене дріжджами, оскільки не було виявлено ферментів, які каталізують цю реакцію, але рівень діацетилу в пиві залежить від швидкості його метаболізму дріжджами. Встановлено, що пивні дріжджі здатні ферментативно відновлювати діацетил до ацетону, який потім легко відновлюється до сполук, що суттєво не впливають на смак пива. Немає жодних доказів існування специфічного ферменту діацетилредуктази в дріжджах. Очевидно, за відновлення діацетилу дріжджами відповідає фермент алкогольдегідрогеназа, який локалізований у клітинній стінці дріжджів [10].

Вміст діацетилу в готовому пиві визначає не тільки його смак. В даний час багато дослідників довели, що діацетил є нормальним продуктом життєдіяльності дріжджів і що найбільша його кількість утворюється на ранніх стадіях бродіння під час інтенсивного розмноження і метаболізму амінокислот в дріжджах. Протягом періоду бродіння вміст діацетилу зменшується в результаті його активного біологічного розпаду. У зв'язку з цим багато дослідників вважають, що біохімічні перетворення діацетилу можуть характеризувати напрямок, глибину і повноту технологічного процесу, а також можуть служити критеріями закінчення процесу дозрівання пива [28, 29].

Вищі спирти є не менш важливими у напоях бродіння. Незважаючи на те, що вони присутні в пиві в невеликих кількостях, вони є сильними ароматизаторами, тому навіть у невеликих концентраціях мають значний вплив на смак і аромат пива. Поєднання певної кількості вищих спиртів разом з іншими сполуками створює специфічний смак і аромат, який є унікальним для даного напою.

Органолептичні властивості спиртів залежать від їх хімічної структури. Вважається, що аромат вищих спиртів посилюється зі збільшенням

молекулярної маси. Важливу роль відіграють спирти з гідроксильною групою, розташованою в бічному ланцюзі. Ці спирти мають більш приємний аромат, ніж аліфатичні спирти. Аліфатичні спирти містять гідроксильні групи, які по-різному розташовані в молекулі. Залежно від розташування гідроксильних груп вторинні та третинні спирти відрізняються за запахом від нормальних та ізомерних первинних спиртів. Наприклад, первинний бутиловий спирт відрізняється від вторинних спиртів менш інтенсивним запахом. Слід зазначити, що запах стає більш приємним зі збільшенням довжини аліфатичного вуглецевого ланцюга спиртів. Так, бутиловий і аміловий спирти та їхні ізомери мають неприємний різкий запах. Спирти з довшим ланцюгом, такі як гексильовий спирт, мають відносно приємніший аромат, з квітковим запахом при розведенні [30]. Ароматичні спирти мають сильніший вплив на смак і аромат пива, ніж аліфатичні. У той же час, якщо кількість аліфатичних спиртів і ефірів перевищує певні норми, тонкий специфічний аромат пива змінюється і набуває неприємних тонів.

Серед вищих спиртів у пиві 90% припадає на ізоамілол, ізобутанол та н-пропанол. Підвищений вміст вищих спиртів у пиві, особливо ізобутанолу та ізоамілолу, надає пиву нехарактерний аромат і сильну гіркоту. Велика кількість амілового, ізоамілового та ізобутилового спиртів у пиві зумовлює грубий смак так званого "важкого" пива. Шмідт і Рижова також відзначили "огрубіння" смаку пива і погіршення його аромату, викликане високою концентрацією ізоамілолу. У той же час, пропанол у концентрації до 50 мг/дм³ не впливає на смак і аромат пива. Оскільки кількість пропанолу в пиві не досягає такого високого значення, Шмідт і Рижова вважають, що цей спирт взагалі не впливає на смак і аромат пива. До такого ж висновку прийшов і Бервальд. При підвищеному вмісті β -фенілетанолу пиво набуває пліснявого запаху і смаку [30]. Дреус і Ріман вважають, що пиво смачніше при низькому вмісті аліфатичних спиртів і β -фенілетанолу, кількість якого в пиві досягає 60-80% від загальної кількості ароматичних спиртів [10]. У пиві з високим вмістом β -фенілетанолу, гексанолу та 3-метилбутанолу спостерігається затхлий солодовий присмак. Аромат зернового лушпиння та дробини можна віднести до 2-етилгексанолу та 1-октенил-3-олу.

Утворення вищих спиртів у процесі бродіння та доброджування пива широко вивчено [29, 30]. Вищі спирти розглядаються як продукти метаболізму дріжджів. Що стосується механізму утворення вищих спиртів, то згідно з Ерліхом, вищі спирти є продуктами гліколізу амінокислот. Гліколітичне дезамінування призводить до утворення оксикислоти та аміаку, потім оксикислота розщеплюється на мурашину кислоту та альдегід, який відновлюється воднем до відповідного спирту. Нейбауер і Фромхерц вважають першою стадією процесу окислювальне дезамінування з утворенням кетокислот і аміаку [29]. Веселов І. Я. вважає утворення вищих спиртів не самостійним перетворенням амінокислот під час бродіння, а процесом, пов'язаним з бродінням вуглеводів. І. М. Грачова запропонувала схему, згідно з якою утворення вищих спиртів залежить як від вуглеводного, так і від азотного обміну в клітині. Основною сполучною ланкою між цими метаболічними процесами в

утворенні вищих спиртів є піровиноградна кислота, яка, виникаючи в результаті метаболізму вуглеводів, вступає в реакцію трансамінування з амінокислотами і перетворюється на β -аланін, який споживається клітиною разом з іншими амінокислотами для побудови біомаси. Кетокислоти, що утворюються в результаті трансамінування, відновлюються до вищих спиртів після декарбоксілювання в присутності циклу спиртового бродіння вуглеводів [10].

Найважливішими побічними продуктами бродіння є органічні кислоти, вміст і співвідношення яких є одними з ключових характеристик якості пива. Концентрація летких кислот у пиві коливається в широких межах. Підвищений вміст кислот порушує гармонію смаку та аромату.

Під час технологічного процесу вміст деяких кислот не змінюється, тоді як інші утворюються під час бродіння пивного суслу в результаті життєдіяльності дріжджів [29]. Наприклад, лимонна, яблучна та глюконова кислоти переходять у пиво з суслу, L- та D-молочна кислоти зазнають незначних змін, а піровиноградна та оцтова кислоти є продуктами бродіння.

В результаті бродіння в основному утворюються жирні кислоти $C_2 - C_6$. Вміст оцтової кислоти в пиві становить 80-95% від загальної кількості летких кислот. Вона має характерний аромат і, на думку деяких авторів, в оптимальних дозах впливає на формування смаку, тоді як її підвищений вміст створює неприємний букет і знижує смакові якості пива. Характерні запахи пропіонової, масляної, ізобутилової, ізовалеріанової та валеріанової кислот набагато сильніші, ніж запах оцтової кислоти, тому вони мають більший вплив на формування аромату напоїв [30].

Кислоти з великою кількістю атомів вуглецю негативно впливають на букет пива, оскільки вони окислюються до альдегідів і надають напою затхлого аромату. Неприємний дріжджовий присмак, який також погіршує гіркоту пива, супроводжується підвищеним вмістом середньооланцюгових жирних кислот, таких як гексанова, октанова і, перш за все, деканова, а також їх етилових ефірів. Наприклад, під час дозрівання і зберігання, в результаті виділення з дріжджової клітини, вміст деканоевої кислоти може збільшитися від нормального рівня з 0,4 до 1,5 мг/дм³. Якість піни погіршується, гіркий присмак стає металевим і дріжджовим, а значення рН і коефіцієнт вільного амінного азоту зростають [29].

Варто відзначити особливу роль багатоосновних кислот, які входять до циклу Кребса, у формуванні смаку та аромату пива. Вони мають свої смакові характеристики. Лимонна кислота надає напою свіжий кислий запах, бурштинова кислота, крім кислого смаку, має солонуватий і гіркуватий присмак, а піровиноградна кислота має сирий, старий, окислений запах. У високих концентраціях піровиноградна кислота створює неприємний букет, що негативно впливає на якість пива.

Перевищення оптимального вмісту високомолекулярних і низькомолекулярних жирних кислот викликає не тільки небажану зміну аромату, але й спричиняє старіння смаку, погіршує стабільність смаку і погіршує стійкість піни.

Найбільш повну схему утворення жирних кислот дав Ж. Рейзін (США). На основі численних даних було показано, що утворення летких кислот може

відбуватися як за рахунок синтезу, так і розпаду амінокислот. Одним з основних продуктів усіх перетворень є ацетил-КоА.

Ефіри етилового та вищих спиртів мають велике значення для формування органолептичних властивостей пива. ГХР-аналіз виявив у пиві 45 складних ефірів. Основними компонентами цієї групи речовин є етилацетат та ізоамілацетат, вміст яких у пиві, за даними деяких дослідників, становить 15-30 мг/дм³ і 2 мг/дм³ відповідно, тоді як концентрація всіх інших ефірів не перевищує 1 мг/дм³ [10]. За іншими даними, вміст етилацетату в різних сортах пива коливається від 9,2 до 28,2 мг/дм³, ізоамілацетату - від 1,2 до 3,2 мг/дм³, а β-фенілацетату - до 8,0 мг/см³.

Ефіри є позитивними компонентами пива, оскільки вони сприяють формуванню його органолептичних властивостей, але їх підвищений вміст впливає на якість пива. У занадто високих концентраціях ефіри надають пиву фруктовий або льодяникового аромату, причому високомолекулярні ефіри мають більш приємний фруктовий запах, ніж низькомолекулярні [30]. Етилацетат надає пиву легкий сторонній присмак, а у вищих концентраціях - в'язучий смак і гіркоту. Ізобутилацетат у суміші з ізоамілацетатом підсилює аромат з переважаючим запахом банана; етилацетат може сприяти появі так званого "фруктового" пива, тому, якщо поріг смаку дуже низький, його можна легко перевищити в процесі виробництва пива. При змішуванні з етилакрилатом він дає яблучний аромат. Гептилові та октилові ефіри оцтової кислоти, а також етилові ефіри нікотинової та додеканонової кислот надають смак лущеного зерна та гранул. Дуже сильний вплив на пиво має ізопентилацетат, який погіршує смак навіть у невеликих кількостях [29].

Ефірна нота надає приємного смаку більш міцним сортам пива. Це особливо помітно в пиві тривалого бродіння, лагерах і пиві з високим вмістом хмелю.

Поріг відчуття ефірів дуже низький. За даними Суомалайнена, порогові значення для етилакрилату становлять 0,25 мг/дм³, для ізоамілацетату - 0,2 мг/дм³, β-фенілацетату - 0,65 мг/дм³, етилалактату - 14,0 мг/дм³, етилацетату - 17,0 мг/дм³. Гаєнг наводить такі смакові пороги: для етилформиату - 0,35 мг/дм³, ізоамілацетату - 4,0 мг/дм³, фенілетилацетату - 5,0 мг/дм³, етилацетату - 15,0 мг/дм³. Гаррісон пропонує інші сенсорні пороги: 1 мг/дм³ для ізоамілацетату та 25 мг/дм³ для етилацетату. Ці дані близькі до значень порогів, отриманих Шмідтом і Рижовою [10].

Існують різні точки зору щодо хімізму утворення ефірів у процесі виробництва пива. Одні автори вважають, що під час зброджування сусла це відбувається шляхом реакції етерифікації внаслідок взаємодії ряду спиртів і кислот, що утворюються під час бродіння в присутності естераз дріжджів. Для того, щоб ця реакція протікала в одному напрямку, необхідні водовідштовхувальні агенти. Враховуючи зменшення концентрації альдегідів і незмінну кількість кислот при утворенні естерів, інші автори [8] пов'язують утворення естерів з реакцією конденсації між альдегідами.

Літературні дані свідчать про те, що утворення ефірів пов'язане з бродінням і припиняється, коли вичерпується зброджуваний вуглець. Помічено, що накопичення етилацетату відбувається на першій стадії основного бродіння і

його кількість збільшується до кінця бродіння, а також встановлено, що ефіри з'являються на другу добу бродіння, а на третю добу їх кількість збільшується в 1,5 рази.

Під час доброджування відбувається незначне уповільнення швидкості утворення ефірів, яке закінчується після 10 днів витримки. Після цього кількість ефірів залишається майже постійною. Вважається, що концентрація ефірів до кінця доброджування збільшується на 30-100% в порівнянні з вмістом в молодому пиві. Доброджування в основному збільшує вміст етилацетату, ізоамілацетату та етилакрилату в пиві.

Помічено, що аромат пива значною мірою визначається співвідношенням легких аліфатичних спиртів до складних ефірів. Високоцільні та м'які сорти пива виробляються при співвідношенні ефірів до аліфатичних спиртів 1:3 [29].

Альдегіди. Нещодавні дослідження стабільності смаку пива показали, що карбонільні сполуки, головним чином альдегіди, є одним з факторів, що забезпечують дозрівання і збереження пивного букета. За допомогою ГРХ-аналізу газового простору пива, інфрачервоної та мас-спектроскопії в пиві було ідентифіковано 12 альдегідів, що містять від 2 до 12 атомів вуглецю з різними сенсорними порогами [10].

Основним альдегідом, що міститься в пиві, є ацетальдегід, кількість якого в різних сортах пива коливається від 10 до 35 мг/дм³, за іншими даними - від 3,6 до 15,6 мг/дм³ [10]. Коли ацетальдегід присутній у пиві у високих концентраціях, він викликає присмаки, що характеризуються термінами "зелений", "трав'янистий", "фільтр-картонний" та "різкий хімічний". На думку деяких вчених, при концентрації 25 мг/дм³ пиво має шкрябаючий або схожий на льох смак. Пфеннінгер та ін. виявили затхлий аромат у пиві при концентрації 10 мг/дм³. З віком у багатьох сортах пива з'являється папероподібний присмак. Карбонільні сполуки, зокрема, ненасичені аліфатичні альдегіди, роблять вирішальний внесок у формування цього аромату [10, 29].

Альдегіди інтенсивно утворюються на початку стадії бродіння як проміжні продукти метаболізму при гліколітичному перетворенні вуглеводів на етанол [10].

Вважається, що основним шляхом утворення альдегідів є реакція Стрекера. Реакція Мейєра призводить до утворення різних α -дикарбонових сполук, які можуть вступати в реакцію з амінокислотами в рамках розпаду за Штрекером. У цьому випадку α -дикарбоніл з амінокислотою дає альдегід, що містить на 1 атом вуглецю менше, ніж вихідна амінокислота.

У міру дозрівання пива кількість альдегідів зменшується, надаючи готовому напою незрілого смаку. Переважно досліджували зміну вмісту ацетальдегіду. Було показано, що поточне збільшення ацетальдегіду є найбільш енергійним у перші дні бродіння. Деякі дослідники стверджують, що найбільша його кількість міститься в пиві на стадії високого запитка, тоді як інші вважають, що максимальне утворення ацетальдегіду відбувається наприкінці головного бродіння. Під час витримки кількість ацетальдегіду в пиві зменшується на 30-70%, особливо інтенсивно в першій половині стадії [30]. Значне зменшення кількості альдегідів при доброджуванні, яке відбувається в результаті складних

біохімічних перетворень, також відмічено низкою авторів. Тривалість цього процесу залежить від кількості альдегідів, що утворилися під час основного бродіння та під час доброджування.

Сірковмісні сполуки мають великий вплив на смакові та ароматичні характеристики пива [8, 20]. На аромат пива впливає велика кількість летких сполук сірки. Сірчаний і дріжджовий запах і смак чітко відчутні в дуже світлих, м'яких сортах пива. Аналіз показує підвищений вміст полісульфідів, метилового тіоефіру, а також етилового і метилового меркаптанів у цих сортах пива. Іноді спостерігається підвищений вміст SO_2 . Стабільність смаку цих зразків дуже висока. Летючі сполуки спричиняють неприємний рослинний запах, викликаний диметилсульфідом. Професор Нарцис описав диметилсульфід як порок смаку [20].

Наявність сірчистих сполук вважається основною причиною неприємного (незрілого) смаку молодого пива. Готове пиво містить 2 - 15 mg/dm^3 діоксиду сірки, 0,4 - 2,9 mg/dm^3 сульфгідрильних сполук, 0,001 - 0,07 mg/dm^3 меркаптанів і 3 - 15 mg/dm^3 сірководню [10].

При підвищеному вмісті сірчистих сполук пиво набуває дріжджового, окисленого, пастеризованого і так званого сонячного присмаків. Діоксид сірки, з іншого боку, позитивно впливає на загальний смак пива, і, перш за все, на його стабільність. Занадто низький вміст діоксиду сірки може призвести до короткого терміну зберігання пива [20].

Сполуки сірки в пиві утворюються хімічним шляхом з метіоніну і цистеїну, амінокислот, що містять сірку, які в результаті затирання і кип'ятіння суслу утворюють сірковмісні сполуки, що можуть реагувати з різними метаболітами дріжджів, утворюючи інші сполуки сірки. Дріжджі також можуть відновлювати цистеїн і неорганічні сульфати, утворюючи H_2S , і утворювати метил- і етилмеркаптани з метіоніну і ацетальдегіду.

Іншим джерелом сірчистих сполук у пиві є дріжджі, які виробляють SO_2 , H_2S і сіркоорганічні сполуки, які можуть хімічно перетворюватися в інші сірчисті сполуки.

Сірчисті сполуки в пиві також можуть утворюватися в результаті діяльності інфекційних мікроорганізмів.

Вважається, що максимальне утворення сірчистих речовин відбувається в період найбільшої інтенсивності метаболічних процесів дріжджів, а потім знижується [10].

Останнім часом змінам вмісту сірчистих сполук у процесах бродіння та доброджування надають особливого значення у вирішенні проблеми забезпечення смакової стабільності пива. Розроблено спеціальні рекомендації, спрямовані на зниження вмісту сірчистих сполук, зокрема, диметилсульфіду, сірководню, меркаптанів та інших речовин з метою покращення смакової стійкості та усунення присмаку старіння і окислення [35].

Узагальнюючи численні дослідження в цій галузі, можна стверджувати, що, будучи присутніми в пиві в невеликих кількостях, леткі побічні продукти мають значний вплив на його органолептичні характеристики. Певні комбінації цих речовин створюють специфічний смак і аромат напою. Тому необхідно

працювати з сировиною і вибирати таку технологію, яка дозволить отримати пиво з бажаним ароматом і смаком. При цьому необхідно знати фактори, які впливають на смак і аромат пива.

1.3.2 Вплив деяких технологічних факторів на якісний та кількісний склад летких речовин пива

При використанні будь-якого штаму дріжджів оптимальні умови ферментації мають вирішальне значення для якості бродіння. Найважливішими параметрами є доза дріжджів, температура бродіння, аерація (подача кисню) і склад суслу. За допомогою цих параметрів можна контролювати процес бродіння та забезпечити ідеальні умови для росту дріжджів [23, 29].

Вміст летких продуктів у пиві значною мірою залежить від стану дріжджів, який визначається технологічними факторами. Аналіз ароматичних речовин має певну цінність, і контроль зразків пива стає обов'язковим на ранніх стадіях виробництва пива: молодого, доброджуючого, зрілого пива через певні проміжки часу і, нарешті, готового пива. Це допомагає оцінити очікувану якість продукту.

Вплив температури. Температура є важливим параметром, який впливає на процес бродіння. Підвищення температури збільшує швидкість хімічних реакцій і прискорює зброджування екстракту суслу. В середньому, при підвищенні температури на 10 °C швидкість реакції подвоюється. Однак кількість і співвідношення продуктів метаболізму дріжджів під час накопичення мають значний вплив на органолептичні властивості готового продукту. Вважається, що пиво, зварене холодним способом, має кращу якість. Низькі температури сприяють утворенню більш легкого, ніжного аромату у пива низового бродіння, в той час як високі температури верхового бродіння надають пиву фруктовий смак. Таким чином, інтенсифікація бродіння за рахунок підвищення температури при збереженні якості продукту можлива обмежено [29].

Більшість дослідників сходяться на думці, що з підвищенням температури в середовищі бродіння збільшується кількість діацетилу. Швидкість його зниження також залежить від температури. Підвищення температури, по-перше, посилює ріст дріжджів, що призводить до більшого утворення діацетилу, а по-друге, прискорює його активний біологічний розпад, оскільки збільшується швидкість метаболічних процесів у дріжджовій клітині. Наразі встановлено, що підтримання високої температури під час головного бродіння забезпечує виробництво пива з низькою кінцевою концентрацією діацетилу [29]. Деякі дослідники вважають, що чим швидше завершується утворення діацетилу, тим більше діацетилу буде видалено до кінця процесу [10]. Так, при температурі 20 °C відновлення діацетилу відбувається протягом 1-2 годин, при 3-4 °C - протягом декількох днів, а при 0 °C - протягом декількох тижнів. Існують докази того, що пиво, виготовлене шляхом бродіння протягом 6 днів при 16,5 °C і доброджування протягом 2 днів при 0 °C, містить так само мало діацетилу, як і пиво, виготовлене шляхом 7-денного бродіння і 51 дня доброджування при температурі 1 °C.

Загалом, коротка витримка при більш високих температурах має кращий ефект, ніж довга витримка при більш низьких температурах.

В даний час вважається, що для швидкого розщеплення діацетилу при підвищених температурах необхідно дотримуватися наступних умов: досягнення ступеня зброджування молодого пива, близького до кінцевого, підтримання високої концентрації завислих дріжджових клітин, запобігання потраплянню в молоде пиво кисню та інших акцепторів водню [10].

Встановлено, що підвищення температури бродіння зазвичай супроводжується збільшенням вмісту вищих спиртів у пиві. Максимальне утворення вищих спиртів, ймовірно, відбувається за температури 20 °С. І. М. Грачова, П. Ю. Веселов та Гаврилова, які досліджували утворення вищих спиртів дріжджами *S. carlsbergensis* в широкому діапазоні температур від 2 °С до 30 °С, виявили, що при 20 °С їх концентрація в середовищі була приблизно в 2 рази вищою, ніж при 2 °С. При подальшому підвищенні температури кількість вищих спиртів зменшувалася, і при 30 °С вона була в 2,6 рази нижчою порівняно з бродінням при 20 °С. За температури 13-15 °С вміст вищих спиртів збільшився в 1,1-1,3 рази порівняно з холодним режимом бродіння. Це пов'язано з більш інтенсивним розмноженням дріжджів та активнішим використанням азотистих речовин сула. Під час бродіння за максимальної температури 11 °С та 13 °С приріст вищих спиртів становив 10% порівняно з бродінням за максимальної температури бродіння 9 °С [10].

Підвищення температури бродіння особливо сильно впливає на вміст ізоамілолу, активного амідолу, н-пропанолу та ізобутанолу, кількість яких зростає в 1,2-2,2 рази при підвищенні температури з 10 °С до 25 °С, але найбільше - на вміст β -фенілетанолу [20].

Більшість авторів сходяться на думці, що з підвищенням температури бродіння збільшується і кількість кислот, що утворюються в середовищі. З іншого боку, це збільшення є незначним, хоча швидкість їх утворення зростає з підвищенням температури [10]. Наприклад, при підвищенні температури бродіння пива з 12,5 °С до 25 °С утворення піровиноградної кислоти відбувається швидше, водночас, з підвищенням температури вона більше залучається до метаболічних реакцій дріжджів. Таким чином, кінцева концентрація пірувату залишається незмінною [10]. Підвищення температури бродіння сприяє збільшенню вмісту оцтової кислоти.

В. В. Жирова з колегами зброджували 11% охмелене пивне суло різними расами пивних дріжджів при 6 °С і 20 °С. Встановлено, що загальний вміст летких кислот зростає з підвищенням температури. Динаміка накопичення летких кислот є екстремальною незалежно від температури бродіння, але при підвищенні температури бродіння з 6 °С до 20 °С період максимального накопичення загальної суми летких кислот зменшується в 3 рази. При підвищеній температурі ферментації кількість деканоевої кислоти може збільшитися в 3 - 4 рази [20].

З підвищенням температури посилюється окислення жирних кислот. Ліпіди перетворюються на альдегіди з неприємним запахом, які погіршують аромат пива.

Багато дослідників спостерігали збільшення утворення складних ефірів з підвищенням температури бродіння. Помічено, що при підвищенні температури з 7 °С до 10-13 °С загальний вміст ефірів у молодому пиві збільшується в 1,1-1,3 рази. При підвищенні температури бродіння з 10 °С до 25 °С вміст етилацетату в пиві зростає з 12 до 21 мг/дм³.

Вважається, що оптимум утворення естерів дріжджами під час бродіння перебуває в межах 25 °С [29]. Деякі дослідники вказують на те, що підвищення температури бродіння або не має суттєвого впливу на накопичення естерів, або навіть сприяє зменшенню кількості ізоамілацетату без зміни вмісту ізобутилацетату.

Донхаузер та його колеги виявили, що підвищення максимальної температури бродіння до 11 °С і 13 °С збільшує кількість ефірів на 29 і 35%, відповідно, порівняно з 9 °С.

Наразі немає єдиної думки щодо впливу температури на вміст альдегідів у пиві. Використовуючи дріжджі верхового бродіння для зброджування сусла при 12 °С, 16 °С і 20 °С, Соммер не виявив жодних відмінностей у вмісті ацетальдегіду в пиві [20]. Інші автори виявили, що підвищення температури бродіння сприяє підвищеному накопиченню альдегідів, у тому числі ацетальдегіду, в середовищі, але при цьому посилюється і його відновлення. Гаврилова показала, що оптимальною температурою для утворення альдегідів є, ймовірно, 20 °С. При підвищенні температури з 5 °С до 16 °С вміст альдегідів зростає в 1,26 рази, але при подальшому підвищенні температури до 30 °С кількість альдегідів зменшується в 1,58 рази.

Підвищення температури також призводить до збільшення вмісту сірчистих сполук у пиві.

Вплив на якість сусла. Склад сусла, в першу чергу білковий і вуглеводний, змінюється з точки зору біохімічних показників від варки до варки. Під час бродіння в суслі утворюються різні речовини, які певною мірою впливають на утворення побічних продуктів бродіння. Неякісне сусло призводить до уповільнення основного бродіння та доброджування, недостатнього дозрівання і, зрештою, до незадовільної якості пива [29].

Вплив складу сусла на вміст діацетилу ще не повністю вивчений, але відомо, що якість сировини має значний вплив на кількісний вміст діацетилу в пиві.

Рівень амінокислот у суслі впливає на вміст діацетилу в пиві. Зниження концентрації амінного азоту в суслі до менш ніж 20 мг/100 см³ призводить до зниження активності дріжджових клітин, зменшення кінцевого ступеня зброджування сусла, в результаті чого знижується активність алкогольдегідрогенази, і, як наслідок, знижується інтенсивність відновлення діацетилу [29, 30]. Слід зазначити, що важливе значення має як кількість амінокислот, так і вміст окремих амінокислот.

Враховуючи роль валіну в утворенні діацетилу, багато дослідників намагалися встановити зв'язок між вмістом валіну в суслі та кількістю діацетилу в пиві. При використанні різних сортів солоду і сусла з різним вмістом валіну не було виявлено кореляції між кількістю валіну і рівнем діацетилу в пиві. За іншими даними [29], валін утворюється так само, як ацетоїн і діацетил з

ацетолактату. У свою чергу, вміст ацетолактату в клітинах визначається швидкістю піруват-ацетолактатної реакції, яка залежить від активності ферменту ацетооцтової кислоти синтетази. Припускають, що валін інгібує цей фермент і тим самим сприяє зниженню концентрації діацетилену в пиві, тобто при бродінні сусле з високим вмістом валіну утворюється пиво з низькою концентрацією діацетилену. Світлі сорти солоду дають сусло з вищим вмістом валіну, ніж темні, і пиво, виготовлене зі світлого солоду, містить менше діацетилену, ніж пиво, виготовлене з темного солоду.

Вміст легко зброджуваних цукрів (глюкози) у суслі сприяє прискоренню гліколізу, що призводить до утворення більшої кількості пірувату, а отже, до збільшення кількості синтезованого ацетолактату. Крім того, встановлено, що глюкоза є хорошим джерелом для синтезу валіну, а потім сахарози, арабінози, ксилози і мальтози.

Використання добавок несолоджених матеріалів може призвести до отримання пива з високою концентрацією діацетилену. Це пов'язано з низьким накопиченням амінного азоту і цінних поживних речовин в суслі, що призводить до зниження швидкості метаболічних процесів в дріжджових клітинах. Використання солоду з низьким ступенем розчинення також призвело до підвищення концентрації діацетилену в пиві.

Швидкість розкладання ацетилмолочної кислоти і співвідношення діацетилену та ацетону, що утворюються з неї, залежать від рН, температури, наявності окислювачів і переносників електронів [10].

Таким чином, сусло повинно містити достатню кількість цінних поживних речовин і не містити сполук, що пригнічують дріжджі. Це дозволяє забезпечити нормальну життєдіяльність дріжджів під час бродіння та збродження, а отже, підвищити швидкість відновлення діацетилену.

І. М. Грачова та її колеги вивчали вплив на утворення вищих спиртів різних речовин, які за різними схемами можуть бути прямими попередниками вищих спиртів і впливати на їх накопичення в процесі життєдіяльності дріжджів. Встановлено, що дефіцит амінного азоту в середовищі спричиняє зміну співвідношення основних компонентів вищих спиртів, зменшуючи вміст ізоамілового спирту та збільшуючи вміст н-пропілового спирту. Нестача азотного живлення при зниженні рівня загального азоту і значному вмісті зброджуваних вуглеводів у середовищі призводить до збільшення утворення вищих спиртів на одиницю дріжджової біомаси. Деякі автори вважають, що за низького вмісту азоту утворюється більше вищих спиртів. Встановлено, що внесення в середовище аміачного азоту знижує загальну кількість вищих спиртів в 1,4-1,7 рази, в основному за рахунок зменшення біосинтезу ізоамілового та ізобутилового спиртів [10].

Суомалайнен вважає, що деякі кетокислоти, які утворюються в пиві під час бродіння, відповідають за утворення вищих спиртів. Зі збільшенням вмісту піровиноградної кислоти у бродильному середовищі збільшується накопичення вищих спиртів, органічних кислот і складних ефірів, зростає кількість жиру в дріжджах [29].

За даними І. М. Грачової, природа вуглеводів (глюкоза, сахароза, мальтоза, декстрини), що містяться в середовищі, не впливає на утворення вищих спиртів.

Кількісний вміст кислот у готовому пиві значною мірою визначається якісними показниками суслу [29]. Серед факторів, що впливають на накопичення кислот під час бродіння, відзначають рН суслу. Підвищення рН середовища викликає збільшення утворення летких кислот під дією ферментного комплексу дріжджів, який регулює рН і підтримує його на оптимальному для розвитку дріжджів рівні. У своїх експериментах Кут і Кіршоп підвищували рН вихідного суслу на 0,4 і 1,2 одиниці і спостерігали збільшення концентрації піровиноградної кислоти, відповідно, на 10,31 мг/дм³ [10].

Амінокислоти відіграють значну роль в утворенні кислот під час бродіння. При внесенні в середовище вільних амінокислот було помічено [10], що кількість летких кислот збільшується.

У зв'язку з тим, що під час спиртового бродіння відбувається утворення кислот, більшість дослідників дотримуються думки, що їх вміст у готовому напої пропорційний кількості зброджених цукрів.

При вищій масовій частці сухих речовин у початковому суслі дріжджі не розмножуються в таких умовах, і частка складних ефірів зростає. Смак складних ефірів також може залежати від якості солоду. Наприклад, занадто мала кількість амінокислот, що спостерігається в погано розчиненому солоді з низьким вмістом ферментів, призводить до збільшення вмісту складних ефірів. Однак аналогічне явище відбувається, коли вміст вільного азоту в амінокислотах високий, а його надлишок призводить до утворення підвищеної кількості побічних продуктів бродіння, в тому числі складних ефірів [20].

Доведено, що навіть незначні зміни у складі суслу спричиняють зміни концентрації сірчистих речовин у пиві. На утворення сірчистих сполук значною мірою впливає вміст азоту та фосфору в суслі. Помічено, що чим більше солоду використовується у виробництві пива, тим більше H₂S міститься в готовому напої. Заміна солоду іншою сировиною, що містить меншу кількість амінного азоту, зменшує кількість H₂S та інших сірчистих сполук.

Наявність H₂S в середовищі бродіння пов'язана з якісним і кількісним складом амінокислот в ньому. Метіонін уповільнює утворення H₂S, чому сприяє лейцин. Інші амінокислоти сприяють його накопиченню [10]. Показано, що метіонін зменшує утворення SO₂, а також інгібує відновлення SO₂ до H₂S.

Збільшення вмісту диметилсульфіду з 60 частин на млрд (у випадку пива з несолодженої сировини) до 100-130 частин на млрд (у випадку повністю солодового пива) пояснюється тим, що солод постачає попередники диметилсульфіду, такі як S-метилметіонін та оксид диметилсульфіду [20].

Відомо, що перехідні метали, такі як мідь, зменшують концентрацію сірчистих сполук і пом'якшують сірчистий смак пива. І цей ефект вже більше століття використовується для кореляції сульфідних смаків у пиві, що бродить у бочках.

Норма внесення дріжджів. Підвищена норма інокуляції дріжджів є одним із способів інтенсифікації процесів бродіння, що пояснює підвищений інтерес

більшості дослідників до впливу цього фактору на утворення летких речовин у пиві [10, 29].

Стандартна норма внесення 15-18 см³ дріжджових клітин на 1 см³ сусла. При такій кількості дріжджі знаходяться в оптимальному контакті з пивним сусллом. Більш високі дози викликають більш швидке бродіння, але повільніше розмноження клітин. Це призводить до збільшення одних і зменшення інших побічних продуктів бродіння.

Збільшення дози дріжджів сприяє більш інтенсивному накопиченню ацетолактату, а отже, більш ранньому накопиченню діацетилу в пиві. Це, в свою чергу, спричиняє більш ранню реакцію дикетонів з ферментами дріжджів, що призводить до скорочення періоду доброджування пива. Таку технологію наразі використовують деякі іноземні компанії (APV - Англія, Corido - Іспанія).

При вивченні впливу початкової концентрації дріжджових клітин в суслі на синтез діацетилу і його відновлення було виявлено наступне: при збільшенні норми посіву з 25 до 60 млн./см³ спостерігається зменшення кількості діацетилу в молодому пиві з 1,0 до 0,5 мг/дм³, причому максимальний вміст діацетилу в пиві при концентрації клітин 15-30 млн/см³ спостерігається в кінці головного бродіння (1 мг/дм³), а при концентрації 60 млн/см³ - на 4-ту добу бродіння (1,2 мг/дм³). Подальше збільшення швидкості введення дріжджів не має сенсу, оскільки концентрація діацетилу в молодому пиві при 60, 100 і 130 млн/см³ була приблизно в межах 0,5 мг/дм³ [20].

І. М. Грачова та І. А. Беренцвейг досліджували зміну вмісту діацетилу при збільшенні дози введення дріжджів. Вони виявили, що кількість діацетилу інтенсивно зростає протягом 2 діб бродіння, потім сповільнюється, а з третьої доби стрімко зменшується. В результаті дослідження було зроблено припущення, що на завершальних стадіях бродіння швидкість відновлення діацетилу вища, ніж швидкість його синтезу.

Слід зазначити, що багаторазове внесення дріжджів, яке часто практикується в пивоварінні, може призвести до зниження вмісту діацетилу, але в той же час збільшити кількість ацетальдегіду в пиві [20].

Залежність накопичення вищих спиртів від початкової інокуляції дріжджів була детально вивчена вітчизняними дослідниками. Показано, що біосинтез вищих спиртів є результатом метаболічних процесів, інтенсивність яких зростає з розмноженням мікроорганізмів. Тому кількість дріжджів має певний вплив на кількість вищих спиртів у бродильному середовищі.

І. М. Грачова показала, що зведення до мінімуму можливості розмноження дріжджів шляхом різкого збільшення початкової інокуляції призводить до значного зниження інтенсивності утворення вищих спиртів.

Гаврилова виявила, що збільшення кількості посівних дріжджів у 8,5 разів призводить до зменшення загальної кількості вищих спиртів у 2,35 рази. Подібні результати були отримані й іншими вченими. Встановлено, що в напіввиробничих умовах при збільшенні норми засіву дріжджів з 0,5 до 2,0 дм³/гл спостерігається зниження вмісту вищих спиртів у пиві.

Збільшення кількості посівного матеріалу по-різному впливає на накопичення окремих вищих спиртів. Наприклад, Дреус з колегами виявили, що

при збільшенні кількості засівного матеріалу в 4 рази кількість вищих спиртів зменшилася, але вміст *n*-пропанолу збільшився в 2 рази, ізоамілолу зменшився, а кількість активного аміду залишилася незмінною. Бартенев виявив, що збільшення кількості насінневих дріжджів призводить до збільшення кількості пропілового спирту і зменшення ізобутилового та ізоамілового спирту.

Донхаузер і Вагнер виявили, що збільшення дози дріжджів призводить до постійного збільшення вмісту вищого спирту, тоді як дози 8 і 15 млн/см³ не призводять до помітного збільшення вмісту аліфатичного спирту, а при дозі 30 млн/см³ збільшення становить понад 15%. Естери поведуться подібним чином. При 30 млн/см³ спостерігається найвищий вміст естерів [9, 10, 29].

Збільшення маси дріжджів створює перешкоди для нормальної життєдіяльності дріжджів і тому не може не вплинути на метаболізм і, відповідно, на склад кислот у пиві. На думку деяких дослідників [15], збільшення початкової інокуляції дріжджів в анаеробних умовах призводить до збільшення вмісту оцтової та пірвіноградної кислот у пиві.

В МТІХПі досліджували залежність утворення летких кислот від кількості дріжджів, що були внесені. Було виявлено, що концентрація жирних кислот у молодому пиві зменшується зі збільшенням кількості дріжджів. Так, при збільшенні кількості дріжджів з 26,4 до 360 млн. клітин/1 см³ за температури 6 °С концентрація летких жирних кислот зменшилася з 27,5 до 17,54 мг/100 см³. Збільшення кількості інокульованих дріжджів сприяло зростанню оцтової та пропіонової кислот і зменшенню кількості масляної, ізомалярної та ізовалеріанової кислот у загальній кількості летких кислот, що покращило якість готового пива.

А.З. Образцова та С.В. Богобояща спостерігали, що динаміка утворення летких кислот є екстремальною і їх максимальна кількість залежить від концентрації дріжджових клітин. При дозуванні 40 млн/см³ накопичення летких кислот було в межах 0,2 - 0,3 г/дм³.

Німецькі вчені вивчали склад побічних продуктів бродіння, отриманих расою 34/70 з колекції Weihenstephan. При інокуляції дріжджів у кількості 8 та 15 млн/см³ суттєвих змін у вмісті естерів не відбулося. Найвищий вміст естерів спостерігався при 30 млн/см³ [16].

Збільшення норми внесення дріжджів призводить до збільшення утворення ацетальдегіду в пиві на початкових стадіях бродіння. Збільшення кількості дріжджів у 8,5 разів призводить до збільшення кількості ацетальдегіду в пиві в 1,5 рази.

Дослідження показали, що збільшення інокуляційної дози дріжджів не завжди призводить до отримання високоякісного пива. Зміни у складі побічних продуктів бродіння при збільшенні дози насінневих дріжджів змінюють органолептичні властивості пива, може з'явитися дріжджовий відтінок у смаку та запаху пива [29, 30].

Таким чином, оптимізуючи умови бродіння та підвищуючи ефективність дії дріжджів, можна вдосконалити методи зброджування, але при цьому необхідно враховувати вміст летких речовин у готовому пиві.

Узагальнюючи літературні дані про використання підвищених доз введених дріжджів і підвищеної температури, можна зробити наступні висновки. За інших рівних умов (аерація сусла, температура бродіння) висока доза дріжджів призводить до високого вмісту побічних продуктів бродіння. Пиво, виготовлене з максимальною дозою дріжджів, отримує найнижчу оцінку при дегустації. Зокрема, критикується дріжджовий присмак пива.

Підвищення температури також збільшує вміст побічних продуктів бродіння. Ряд експериментів [35] показав, що температура бродіння викликає більш значні зміни концентрації летких побічних продуктів бродіння, ніж тип дріжджів або аерація сусла. З точки зору якості, пиво, вироблене за низької температури головного бродіння, є кращим.

1.4 Висновки, мета та завдання дослідження

Таким чином, основною характеристикою виробничих дріжджів є їх бродильна активність. Важливими факторами, що визначають бродильну здатність дріжджів, є біосинтетична активність клітин і здатність адаптуватися до постійно мінливих умов навколишнього середовища під час бродіння.

Біосинтетична активність клітин залежить від харчування дріжджів, їх віку та фізико-хімічних умов навколишнього середовища. Активність клітин змінюється під впливом осмотичних, гідростатичних, спиртових, температурних і механічних навантажень, стійкість до яких залежить як від штаму дріжджів, так і від їх фізіологічного стану.

Бродильна активність дріжджів визначає тривалість головного бродіння, фізико-хімічні властивості отриманого продукту, його біологічну та колоїдну стабільність, а також його сенсорний профіль і стабільність при зберіганні.

Крім того, ефективність виробництва та якість пива значною мірою залежать від перебігу процесу головного бродіння, його тривалості та параметрів, зокрема температури. Температура суттєво впливає на енергетичний та структурний метаболізм клітин і, як наслідок, впливає на питому швидкість росту дріжджів та час генерації.

Клітини можуть відчувати температурний стрес (шок). Цей ефект виникає, коли дріжджі піддаються впливу досить високої температури (але не вище 37 °C) протягом короткого періоду часу.

Робота мікробіолога на великій пивоварні спрямована на підтримку бродильної активності дріжджів. Однак в умовах міні-пивоварні одним з найефективніших заходів для підтримки вищезгаданих показників є використання сухих пивних дріжджів для першої генерації бродіння. Дріжджі - це живий організм, тому вкрай важливо знати, як їх підготувати та зберігати, щоб відновити їх максимальну активність.

Після детального аналізу літературних джерел було сформульовано мету та завдання дослідження.

Метою даної роботи є дослідження впливу температури підготовки та зберігання на бродильну активність пивних дріжджів.

Були сформульовані наступні завдання дослідження:

1. Вибір раси дріжджів для низового бродіння;
2. Вивчення впливу температури приготування на бродильну активність дріжджів, а саме на ступінь зброджування пива, вміст віцинальних дикетонів, їх фізіологічний стан та флокуляційні показники
3. Вивчення впливу температури зберігання на фізіологічний стан дріжджів.

2 МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

На основі теоретичних та експериментальних досліджень було визначено температури приготування та зберігання дріжджів для забезпечення їх бродильної активності. Оптимальною температурою для приготування та бродіння визначена 16 °С, а для зберігання - 2 °С.

2.1 Матеріали досліджень

Лабораторні дослідження були проведені з:

- пивним суслом зі 100 % світлого ячмінного солоду, яке відповідає вимогам ДСТУ 3888:2015 [7];
- дріжджами раси H124b і H124 LDA [38, 39].

2.2 Методи досліджень

Відповідно до поставленої задачі розроблено схему досліджень, яка наведена на рис. 2.1.

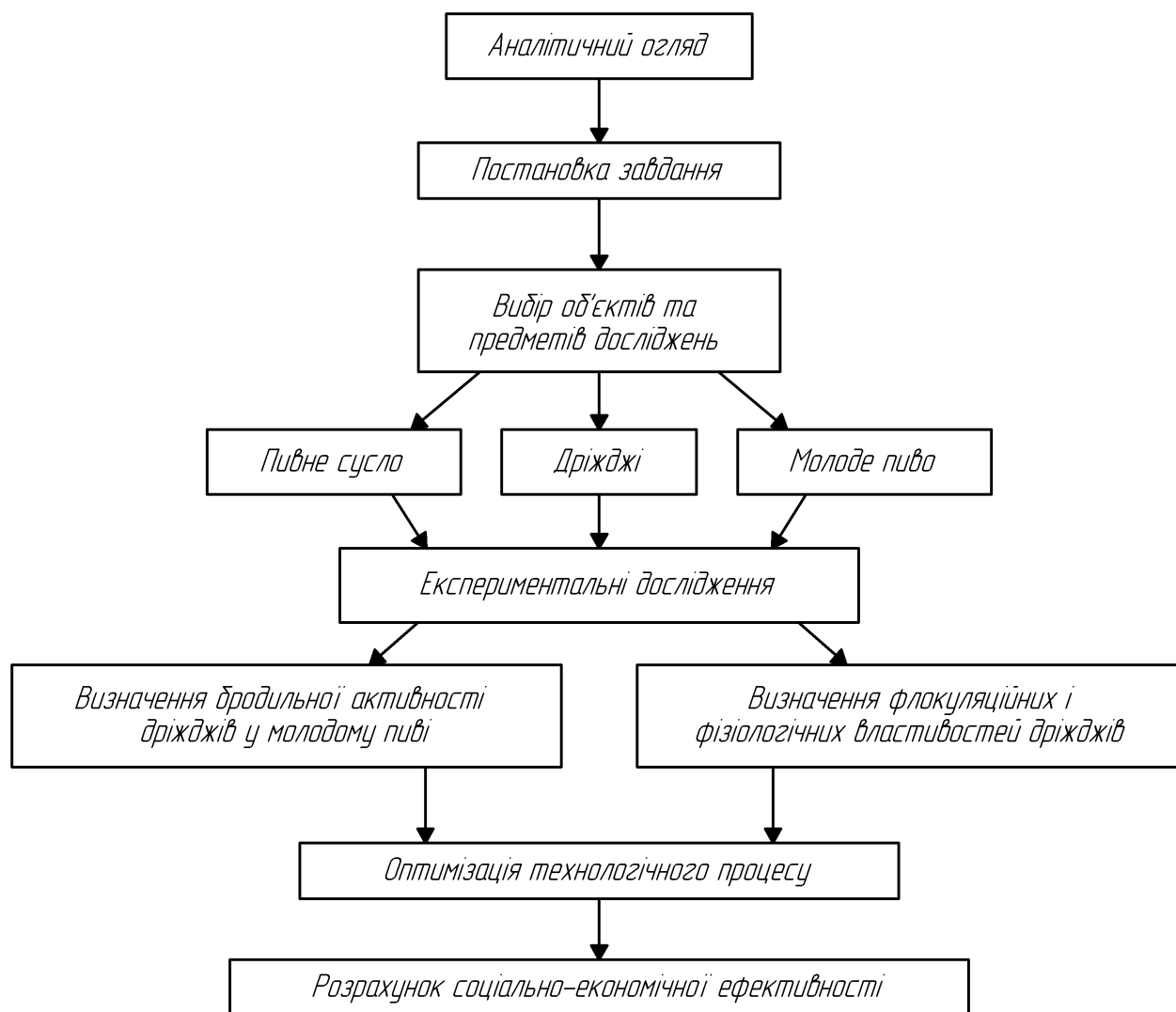


Рисунок 2.1 — Схема проведення досліджень

Відповідно до загальноприйнятих у пивоварінні методик у даній кваліфікаційній роботі проводились визначення фізико-хімічних показників дріжджів, пивного сусла та молодого пива.

Визначення концентрації сухих речовин в початковому суслі проводили аерометричним методом.

Предметом досліджень є пивне сусло та молоде пиво, дріжджі раси H124b і H124 LDA IV генерації. Дослідження проводились у лабораторних умовах.

Перший етап роботи - взяття на пивзаводі декілька зразків охмеленого сусла з початковою масовою часткою сухих речовин 15, 16 і 17 % для проведення досліджень.

Другий етап - визначали бродильну активність дріжджів раси H124b і H124 LDA та фізико-хімічні показники молодого пива за визначених концентрацій сухих речовин (15, 16, 17 %).

Як визначальний показник бродильної активності вимірювали масу виділеного CO₂, який контролює процес зброджування сусла, та швидкість бродіння.

У молодому пиві визначали значення рН, видимий та дійсний екстракти, ступінь зброджування та кислотність.

Після дослідження фізико-хімічних показників молодого пива, одержаного при зброджуванні 2 расами дріжджів, для подальших досліджень була обрана раса H124 LDA.

На третьому етапі визначали вплив різних температур (10, 13, 16 і 19 °C) на бродильну активність дріжджів обраної раси в охмеленому суслі з масовою концентрацією сухих речовин 16 %. Показником бродильної активності слугувала маса виділеного CO₂.

На 8 день у зброженому суслі визначали видимий ступінь зброджування, вміст віцинальних дикетонів, флокуляційні та фізіологічні властивості дріжджів.

Останнім етапом визначали вплив температури зберігання дріжджів раси H124 LDA на їх фізіологічні властивості, а саме на частку мертвих клітин від загальної кількості. Зберігалися дріжджі у молодому пиві з масовою часткою сухих речовин 16 %.

Результати отримані внаслідок досліджень було оброблено математичним шляхом за допомогою програми Excel: побудовано графічні залежності та, згідно них - зроблені висновки про виконані дослідження.

2.3 Методика досліджень

Визначення фізико-хімічних показників пивного сусла та молодого пива

1. Визначення концентрації сухих речовин у суслі аерометричним методом. Для аналізу використовують попередньо відфільтроване і доведене до температури 20 °C сусло. За вищезазначеної температури покази ареометра вказують на вміст сухих речовин у суслі. Коли температура не дорівнює 20 °C, вносять поправку [18].

2. Визначення рН молодого пива. Для визначення показника рН користуються електронним пристроєм, що називається рН-метр [16].

3. Визначення кислотності молодого пива. Фільтроване сусло титрують розчином гідроксиду натрію, концентрацією 0,1 моль/дм³, до появи рожевого забарвлення, яке не знебарвлюється протягом 1 - 2 хв.

Кислотність розраховують за кількістю витраченого розчину гідроксиду натрію 100 см³ сусла за формулою [16]:

$$X = (V \cdot K_n) / 10,$$

де V – об'єм розчину гідроксиду натрію концентрацією 0,1 моль/дм³, витраченого на титрування;

K_n – коефіцієнт поправки робочого розчину гідроксиду натрію.

4. Вміст віцинальних дикетонів (ВДК) в молодому пиві спектрофотометричним методом. *Метод аналізу:* 200 см³ відфільтрованого пива налити в плоскодонну колбу на 500 см³ та провести дистиляцію до утворення в приймальній колбі 50 см³ дистиляту. Підготувати три пробірки. У дві з них додати по 10 см³ дистильованої води. Потім в першу додати 0,5 см³ фенілендіаміну, в другу - діацетил - робочий розчин 0,1 см³. У третю пробірку вносимо 10 см³ дистиляту та 0,5 см³ фенілендіамін. Добре перемішуємо та залишаємо в темному місці на 20 - 30 хв після чого додається по 2 см³ 4м НСІ. Добре перемішати та провести вимірювання на спектрофотометрі з довжиною хвилі 335 нм.

Проведення бродильних проб. Стерильне охмелене сусло в кількості 0,2 дм³ переливали в стерильну колбу об'ємом 0,25 дм³, до якої додавали визначену дозу ЧКД. Колбу щільно закривали гідрозатвором з розчином Н₂SO₄ (концентрацією 1:4). Колбу зважували та отриману масу відмітили як вихідну точку для розрахунку визначення динаміки бродіння за масою виділеного СО₂ протягом головного бродіння, визначаючи зміну маси щодоби. Помістивши колбу в термостат, проводили головне бродіння за визначеної температури та часового проміжку.

Динаміку бродіння сусла досліджували за масою виділеного СО₂, будували графіки залежності маси діоксиду вуглецю від тривалості бродіння та кутом нахилу кривої визначали швидкість бродіння (г СО₂ / добу).

Молоде пиво сепарували від дріжджів після завершення головного бродіння із застосуванням центрифуги при частоті обертів 4000 хв⁻¹ впродовж 10 хв. Зважуванням центрифужних пробірок визначали біомасу дріжджів.

У молодому пиві, яке уже було відділене від дріжджів, визначали значення рН, ступінь кислотності та зброджування, вміст екстракту.

Далі отримане молоде пиво охолоджували до температури 0...2 °С та переливали в колбу об'ємом 0,2 дм³, щільно закривали корком та поміщали в термостат, де проводилось доброджування за температури 0...2 °С. По завершенню доброджування пиво центрифугували при частоті обертів 4000 хв⁻¹ впродовж 10 хв.

У відділеному пиві визначали видимий ступінь зброджування та вміст ВДК у дослідних зразках.

Визначення бродильної активності дріжджів. Бродильну активність дріжджів визначали двома методами:

1. За кутот нахилу кривої зміни маси виділеного CO_2 відносно часового проміжку.

2. Експрес-метод Варбурга ($\text{cm}^3 \text{CO}_2/\text{добу}$) [16].

Для оцінки бродильної активності дріжджів використовують модифікацію методу визначення інтенсивності виділення вуглекислого газу в апараті Варбурга.

Модифікація апарату Варбурга базується на тому ж методі технологічної оцінки активності дріжджів за інтенсивністю виділення CO_2 , який враховує не час, що витрачається на утворення 10 cm^3 вуглекислого газу, а кількість вуглекислого газу, що виділяється досліджуваними дріжджами за 1 годину. Це дозволяє користуватися таймером і спрощує процедуру оцінки активності дріжджів. За необхідності час інкубації можна скоротити.

Методика визначення: 1 cm^3 досліджуваної раси дріжджів помістити в скляний стакан об'ємом 50 cm^3 і додати $0,5 \text{ cm}^3$ 40% -й глюкози або мальтози, $0,25 \text{ cm}^3$ 8-кратного середовища YP ($8 \times 2\%$ пептона, $8 \times 2\%$ дріжджового екстракту) і $0,25 \text{ cm}^3$ води. Усе ретельно перемішати і набрати в одноразовий шприц об'ємом 10 cm^3 , намагаючись уникнути утворення бульбашок повітря. Вилучити залишки повітря зі шприца і герметично запаяти його кінець. Для цього слід нагріти кінець шприца в полум'ї спиртівки і розплавлений пластик стиснути металевим пінцетом.

Герметично запаяні шприци поставити в термостат з температурою 30°C на 1 год. Через 1 год заміряти висоту підйому поршня в шприці. За висотою підйому поршня визначити кількість утвореного CO_2 . За кількістю виділеного діоксиду вуглецю можна оцінити бродильну активність дріжджів.

Визначення флокуляційних та фізіологічних властивостей дріжджів:

1. Вміст нежиттєздатних клітин визначали забарвленням дріжджів метиленовим синім. Після проникнення в клітинну цитоплазму під дією ферментів редуказ цей барвник відновлюється живими дріжджовими клітинами до безбарвних з'єднань. Мертві клітини не відновлюють його і фарбуються в синій колір.

Методика фарбування: На предметне скло наносять по одній краплі нефільтрованої дріжджової суспензії і розчину метиленової сині. Краплю закривають покривним склом, надлишок рідини збирають фільтрувальним папером і через 2 хв спостерігають забарвлення за допомогою мікроскопа. В полі зору мікроскопа рахують загальну кількість дріжджових клітин, потім тільки сині, після чого препарат переміщують і підрахунок ведуть в новому полі зору. Таким чином підраховують загальну кількість клітин (не менше 500) в п'яти зонах мікроскопу. Після підрахунку обчислюють кількість мертвих клітин у відсотках [16, 17].

2. Вміст клітин з глікогеном визначали за забарвленням клітин розчином Люголя. Фізіологічний стан можна визначити за складом клітини, наприклад по запасним вуглеводам, одним з яких є глікоген.

Кількість глікогену в клітинах дріжджів змінюється в залежності від їх віку та умов культивування. Для оцінки використовується розчин Люголя. Розчин Люголя забарвлює клітини в жовтий колір, а глікоген в коричневий. У зрілих клітинах глікоген займає 1/3...2/3 клітини і більше. У клітинах з низькою фізіологічною активністю пофарбований глікоген займає менше чверті клітини. У молодих клітинах глікоген відсутній, тому при фарбуванні розчином йоду вони набувають блідо-жовтого кольору.

Приготування розчину Люголя: 2 г йодистого калію розчиняють в 5 см³ дистильованої води та додають до розчину 1 г кристалічного йоду. Після розчинення йоду отриманий розчин доводять дистильованою водою до об'єму 300 см³.

Методика фарбування: для якісної оцінки рівня глікогену в дріжджових клітинах на предметне скло петлею наносять невелику кількість дріжджової суспензії і 2 - 3 краплі розчину Люголя. Краплю накривають покривним скельцем, надлишок рідини видаляють шматочком фільтрувального паперу і проводять мікроскопію. Через 2 - 3 хв клітини дріжджів фарбуються в жовтий колір, а глікоген в коричневий [16].

3. Концентрацію дріжджових клітин у молодому пиві визначали підрахунком у камері Горяєва. Цей метод рекомендується використовувати для підрахунку великих об'єктів – дріжджів, одноклітинних водоростей, конідій грибів і деяких великих бактерій. Камера Горяєва представляє собою товсте предметне скло, розділене канавками. На центральну частину скла нанесена сітка. Площа квадрата сітки зазначена на одній зі сторін предметного скла та відповідає 1/25 мм² (великий квадрат) або 1/400 мм² (малий квадрат). Частина предметного скла, на якій нанесена сітка, на 0,1 мм нижче двох інших сторін. Це глибина камери; вона завжди вказується на предметному склі.

Метод аналізу: При роботі з камерою необхідно дотримуватися певного порядку її заповнення. Спочатку частину із сіткою покривають спеціальним шліфованим покривним склом і, злегка притискаючи, зміщають покривне скло в протилежні сторони до появи кілець Ньютонів. Це вказує на те, що покривне скло притерте до сторін камери. Тільки за такої умови об'єм суспензії мікроорганізмів, що перебуває в камері, відповідає розрахунковому. Після цього камеру заповнюють досліджуваною суспензією мікроорганізмів.

Суспензію вносять через борозенку камери капіляром або піпеткою. Підрахунок клітин рекомендується починати через 3 - 5 хв після заповнення камери, щоб клітини осіли і у ході мікроскопіювання були видимі в одній площині.

Кількість клітин підраховують із об'єктивом 8× або 40× в 10 великих або 20 маленьких квадратах сітки, переміщуючи останні по діагоналі. Враховують всі клітини, що лежать у квадраті сітки, а також клітини, що перетинають верхню й праву сторони квадрата. При підрахунку кількість клітин у великому квадраті не повинно перевищувати 20, а в малому – 10, у іншому випадку вихідну суспензію розводять водопровідною водою. Для одержання достовірного результату

загальне число підрахованих клітин мікроорганізмів повинне бути не менше 600 [2].

Кількість клітин в 1 см³ досліджуваної суспензії обчислюють за формулою:

$$M = \frac{a \cdot 10^3}{h \cdot 5} \cdot n$$

де M – кількість клітин в 1 см³ суспензії; a – середня кількість клітин у квадраті сітки; h – висота камери в мм; S – площа квадрата сітки в мм²; 10^3 – коефіцієнт переведення см³ у мм³; n - розведення досліджуваної суспензії.

3 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ТЕМПЕРАТУРИ НА БРОДИЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ДРІЖДЖІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА)

З метою визначення впливу температури приготування і зберігання пивних дріжджів на їх бродильну активність проведено дослідницьку роботу. В роботі були поставлені наступні задачі:

1. Підбір раси дріжджів оптимальних для низового бродіння.
2. Дослідження впливу температури приготування на бродильну активність дріжджів, а саме на: ступінь зброджування пива, вміст віцинальних дикетонів (ВДК), фізіологічний стан дріжджів та їх флокуляційні властивості.
3. Дослідження впливу температури зберігання на фізіологічний стан дріжджів.

Зброджування охмеленого сусла в кількості 0,2 дм³ із вмістом сухих речовин 15, 16 і 17 %, при концентрації дріжджів 25 млн. клітин в 1 см³ сусла проводили, використовуючи досліджувані раси дріжджів (H124b і H124 LDA) IV генерації, протягом 8 діб. Для рівноцінного порівняння динаміки процесу обрано температуру 15 °С, при якій активні обидві раси дріжджів. Протікання процесу зброджування сусла контролювали за масою виділеного СО₂. У молодому пиві визначали значення рН, кислотність, ступінь зброджування та вміст екстракту.

Для дослідження впливу температури приготування на бродильну активність дріжджів використовували обрані дріжджі низового бродіння раси H124 LDA з вмістом СР у суслі - 16 %. Процес бродіння проводили протягом 8 діб і контролювали за масою виділеного вуглекислого газу. У молодому пиві визначали ступінь зброджування, вміст віцинальних дикетонів, флокуляційні властивості та фізіологічний стан дріжджів.

Для визначення температури зберігання використовували також дріжджі низового бродіння раси H124 LDA. Їх зберігали у молодому пиві з вмістом сухих речовин 16 %. Вимірювання даного показника проводили протягом 48 годин.

3.1 Дослідження впливу різних рас дріжджів низового бродіння на фізико-хімічні показники сусла

Одним зі способів вибору дріжджів для їх подальшого використання у високогустинному пивоварінні є зброджування субстратів з високим вмістом сухих речовин. Порівняння динаміки головного бродіння висококонцентрованих зразків сусла концентрацією 15 – 17% сухих речовин проводили із додаванням низових рас дріжджів – H124b та H124LDA.

Бродильна активність дріжджів – важлива технологічна властивість, оскільки саме вона визначає тривалість головного бродіння, фізико-хімічні показники пива та його біологічну стійкість. Активність дріжджів оцінюють за швидкістю перетворення цукрів, кількості вуглекислого газу, який виділяється при цьому, і ступенем зброджування сусла. Бродильну активність дріжджів визначали експрес-методом (модифікація методу Варбурга).

Маса виділеного CO₂. Під час бродіння виділяється CO₂, тому результати дослідження саме маси виділеного CO₂ у суслі з вмістом сухих речовин 15% під час бродіння наведені у табл. 3.2.

Таблиця 3.1 – Зміна маси виділеного CO₂ з вмістом сухих речовин 15%, залежно від тривалості бродіння

Тривалість бродіння, діб	Маса виділеного CO ₂ , г	
	H124b	H124 LDA
0	0	0
2	1,9	2,4
4	5,8	7,6
6	8,1	8,4
8	9,7	9,9

На рис. 3.1 зображена динаміка бродіння сусла з вмістом сухих речовин 15%, згідно табл. 3.1.

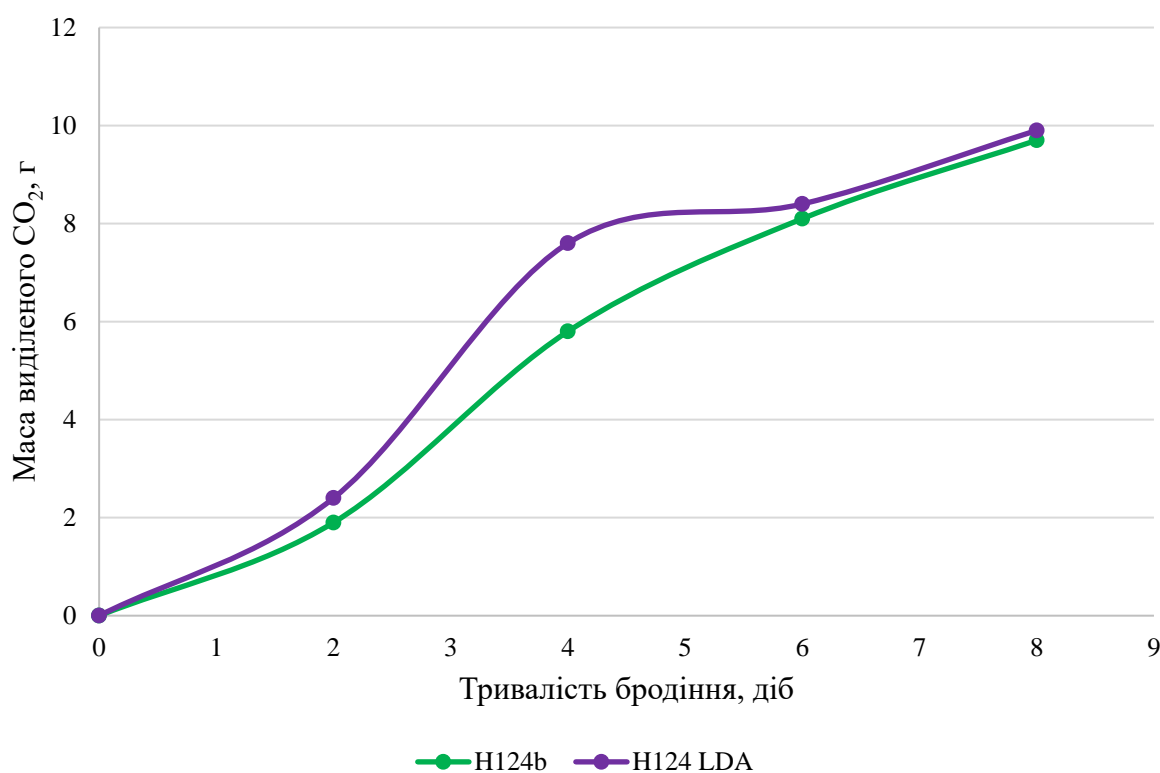


Рисунок 3.1 – Динаміка бродіння сусла з вмістом сухих речовин 15% за участі низових рас дріжджів

Відповідно до рисунку 3.1 видно, що значних відмінностей у виділенні CO₂ обома расами дріжджів низового бродіння H124b та H124 LDA на 8 день не спостерігалось.

Результати дослідження маси виділеного CO₂ у суслі з вмістом сухих речовин 16% під час бродіння наведені у табл. 3.2.

Таблиця 3.2 – Зміна маси виділеного CO₂ з вмістом сухих речовин 16%, залежно від тривалості бродіння

Тривалість бродіння, діб	Маса виділеного CO ₂ , г	
	H124 LDA	H124b
0	0	0
2	2,6	3,4
4	7,6	8,1
6	9,8	9,7
8	11,1	10,5

На рис. 3.2 зображена динаміка бродіння суслу з вмістом сухих речовин 16%, згідно табл. 3.2.

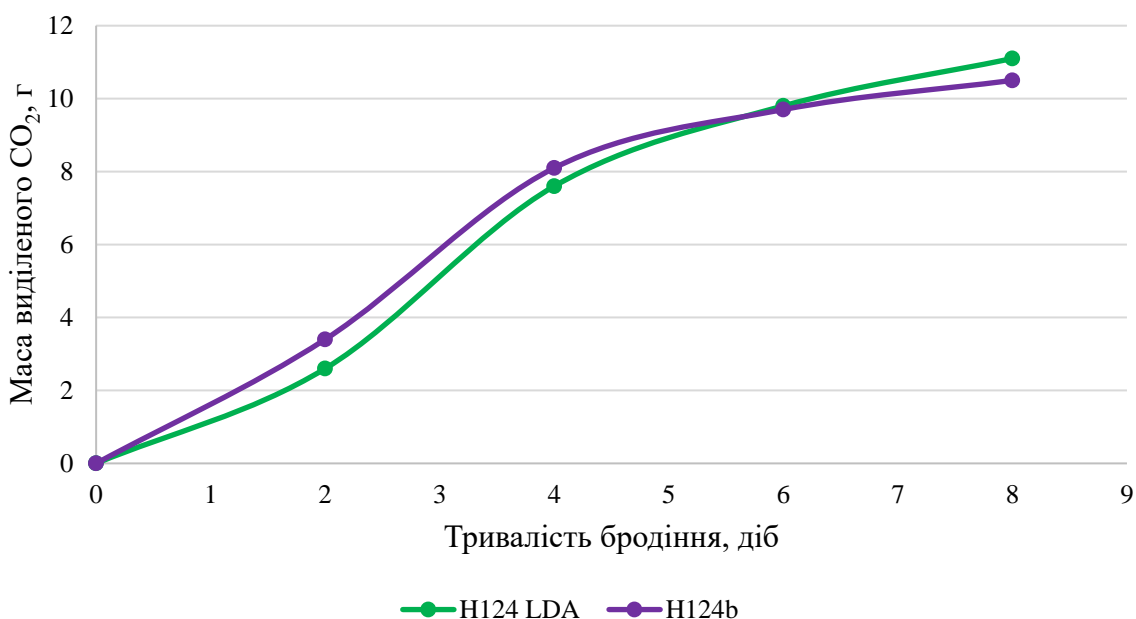


Рисунок 3.2 – Динаміка бродіння суслу з вмістом сухих речовин 16% за участі низових рас дріжджів

Відповідно до рисунку 3.2 видно, що раса дріжджів H124 LDA під час бродіння виділяє більше CO₂, ніж раса H124b.

Результати дослідження маси виділеного CO₂ у суслі з вмістом сухих речовин 17% під час бродіння наведені у табл. 3.3.

Таблиця 3.3 – Зміна маси виділеного CO₂ з вмістом сухих речовин 17%, залежно від тривалості бродіння

Тривалість бродіння, діб	Маса виділеного CO ₂ , г	
	H124 LDA	H124b
0	0	0
2	2,8	3,1
4	7,4	7,8
6	9,6	9,8
8	10,7	10,4

На рис. 3.3 зображена динаміка бродіння суслу з вмістом сухих речовин 17%, згідно табл. 3.3.

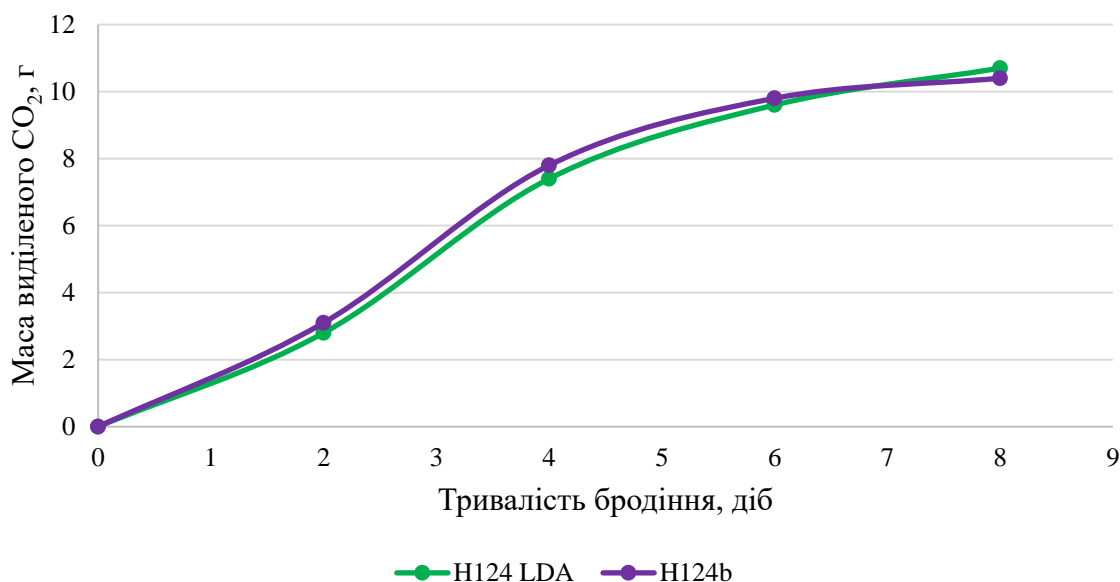


Рисунок 3.3 – Динаміка бродіння сусла з вмістом сухих речовин 17% за участі низових рас дріжджів

Відповідно до рисунку 3.3 видно, що значних відмінностей у виділенні CO_2 двома расами дріжджів низового бродіння H124b та H124 LDA на 8 день не спостерігалось.

Швидкість бродіння сусла. На рисунку 3.4 зображено зміну швидкості бродіння зразків сусла концентрацією 15, 16 і 17% сухих речовин за участю дріжджів обраних рас H124b та H124 LDA.

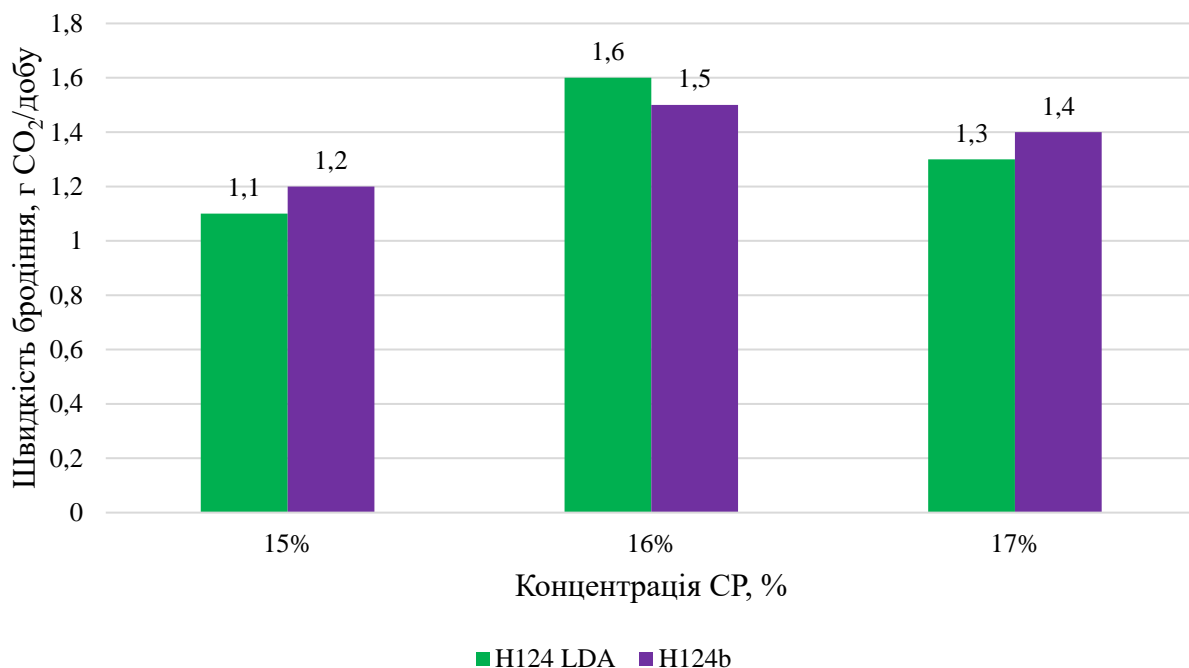


Рисунок 3.4 – Швидкість бродіння зразків сусла концентрацією 15 - 17% сухих речовин за участі низових рас дріжджів

З рисунку 3.4 видно, що швидкість бродіння сусла з концентрацією СР 16% для Н124 LDA та Н124b складала 1,6 г CO₂/добу та 1,5 г CO₂/добу відповідно, тобто є вищою, ніж при вмісті у суслі 15 і 17 % сухих речовин.

Фізико-хімічні показники. У пивоварінні важливе значення має якість готового продукту, тому досліджували фізико-хімічні показники молодого пива, отриманого при зброджуванні вищезазначених зразків сусла за участі дріжджів низового бродіння (табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Фізико-хімічні показники молодого пива

Показники молодого пива	Раса дріжджів					
	Н124 LDA	Н124b	Н124 LDA	Н124b	Н124 LDA	Н124b
Концентрація сусла, % мас.	15		16		17	
Вміст екстракту (% мас.):						
видимий	2,71	2,78	2,85	3,15	3,22	3,31
дійсний	4,36	4,48	4,43	4,72	4,89	4,96
Ступінь зброджування (%):						
видимий	81,93	81,47	82,18	80,31	81,06	80,53
дійсний	70,93	70,13	72,31	70,50	71,23	70,82
Значення рН	4,70	4,57	4,61	4,42	4,60	4,69
Кислотність, см ³ розчину 1 моль/дм ³ NaOH/100 см ³	2,5	2,6	3,1	3,2	2,9	2,6
Вміст віцинальних дикетонів, мг/дм ³	0,15	0,17	0,14	0,16	0,18	0,21

З таблиці 3.4 видно, що зразки молодого пива, отриманого з додаванням дріжджів рас Н124b і Н124 LDA містять 4,36 – 4,96 % мас. дійсного екстракту. Для цих зразків характерні ступені зброджування від 70,13 до 72,31 %.

Рівень рН усіх зразків пива знаходиться в межах норми (4,2–4,7). Кислотність усіх зразків відповідає вимогам нормативної документації, зокрема зразки пива, отриманого з 15 %-го сусла, мають кислотність 2,5 і 2,6 см³ розчину 1 моль/дм³ NaOH/100 см³ (за стандартом 2,1 – 3,6), із 16 %-го сусла – 3,1 і 3,2 (2,5 – 4,5), із 17 %-го сусла – 2,6 і 2,9 (2,5 – 4,5).

Вміст віцинальних дикетонів (2,3-бутандіону і 2,3-пентандіону) – побічних продуктів бродіння, які мають значний вплив на органолептику пива, в усіх зразках досліджуваного молодого пива становлять від 0,10 до 0,19 мг/дм³. Він дорівнює вмісту в молодому пиві перед стадією доброджування та дозрівання (0,3 – 0,6 мг/дм³), а деякі зразки – вмісту в готовому пиві (0,1 - 0,12 мг/дм³).

Отже, кращі фізико-хімічні показники мають зразки молодого пива, отримані із додаванням дріжджів раси Н124 LDA, яка забезпечує високий

ступінь зброджування вуглеводів сусла порівняно з іншою досліджуваною расою. Також перша раса має нижчий вміст ВДК у молодому пиві, який одержаний в усьому діапазоні концентрацій сусла. При цьому H124 LDA має і вищу бродильну активність у порівнянні з H124b.

Зробивши висновок, для подальших досліджень обираємо расу дріжджів низового бродіння H124 LDA та сусло з початковою концентрацією сухих речовин 16 %.

3.2 Дослідження впливу температури приготування на бродильну активність дріжджів

Теоретично зброджування сусла низовими дріжджами відбувається при температурі 10 °С. Однак для інтенсифікації бродіння температуру підвищують. Значення температури суттєво впливатиме на динаміку зброджування сусла, ступінь зброджування та концентрацію віцинальних дикетонів. З цією метою ми досліджували процес зброджування сусла з концентрацією 16 % сухих речовин в діапазоні температур 10-19 °С протягом 8 діб.

Маса виділеного CO₂. Під час бродіння виділяється вуглекислий газ, тому у табл. 3.5 наведені результати дослідження маси виділеного CO₂ у суслі з вмістом сухих речовин 16 % при бродінні за температур 10, 13, 16 і 19 °С.

Таблиця 3.5 – Зміна маси виділеного CO₂ у залежності від тривалості бродіння і встановленої температури

Тривалість бродіння, діб	Маса виділеного CO ₂ , г			
	10 °С	13 °С	16 °С	19 °С
0	0	0	0	0
2	0,9	3,1	4,1	3,9
4	1,8	5,9	7,4	6,5
6	2,7	8,1	10,8	8,9
8	3,5	9,3	11,1	10,1

На рис. 3.5 зображена динаміка зброджування сусла за різних температур.

Рисунок 3.5 показує, що за температури 10 °С активність зброджування досліджуваної раси є дуже низькою. Підвищення температури бродіння до 16 °С сприяє значному зростанню бродильної активності, що може бути пов'язано зі збільшенням активності ферментів гліколізу. За температури 16 °С спостерігали найвищу бродильну активність штаму H124 LDA. При подальшому підвищенні температури до 19 °С бродильна активність дещо знижується.

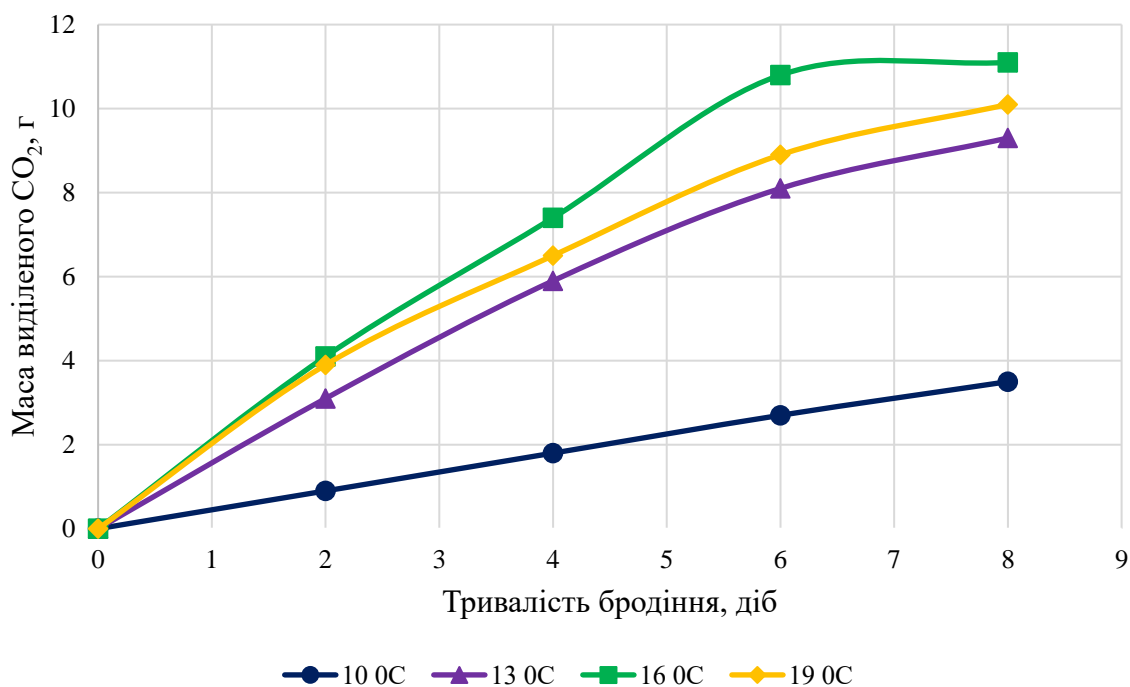


Рисунок 3.5 – Динаміка збродження сула за різних температур

Видимий ступінь збродження. На рис. 3.6 зображено вплив температури бродіння на видимий ступінь збродження у молодому пиві.

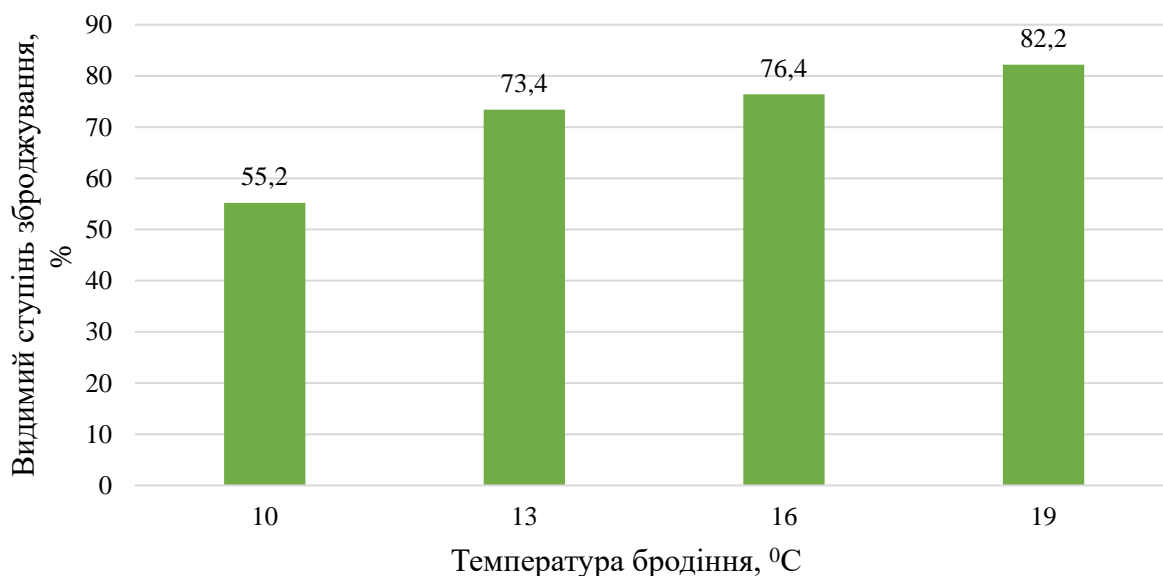


Рисунок 3.6 – Вплив температури бродіння на видимий ступінь збродження в молодому пиві

Рисунок 3.6 демонструє, що при підвищенні температури бродіння від 10 до 13 °C відбувається ріст ступеня збродження молодого пива майже у півтора рази, але при подальшому підвищенні температури різниця ступеню збродження є не такою суттєвою.

Вміст віцинальних дикетонів. Важливим критерієм оптимізації є вміст віцинальних дикетонів у пиві, які суттєво впливають на смакові особливості напою та визначають тривалість дозрівання пива. Рисунок 3.7 демонструє вплив температури бродіння на вміст віцинальних дикетонів у молодому пиві.

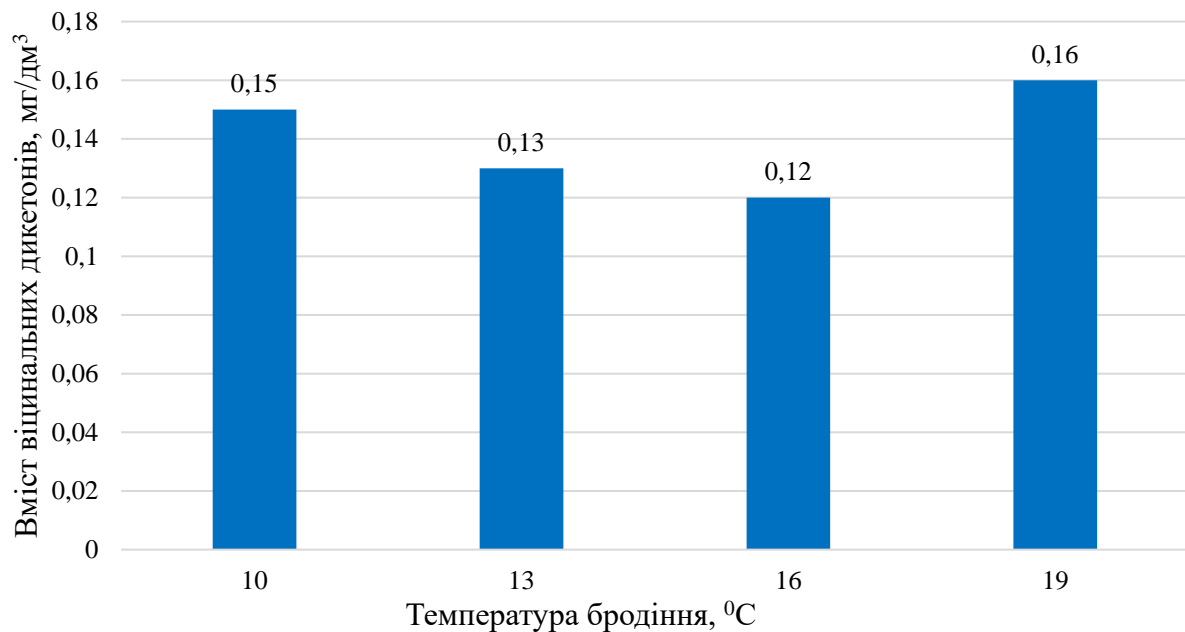


Рисунок 3.7 – Вплив температури бродіння на вміст ВДК у молодому пиві

З даного рисунку спостерігаємо, що концентрація віцинальних дикетонів трохи зростає при підвищенні температури від 10 до 13 °C. Це можна пояснити менш активним бродінням за низьких температур і, як наслідок, утворення меншої кількості ВДК. При підвищенні температури в діапазоні 13...16 °C вміст віцинальних дикетонів починає знижуватися, що зумовлено їх швидшим відновленням при зростанні температури, але трохи підвищується уже при температурі 19 °C.

Відомо, що підвищення температури сприяє швидшому перетворенню попередників віцинальних дикетонів ацетогідроксикислот у віцинальні дикетони та їх швидшому відновленню. Ймовірно, що накопичення вищої концентрації віцинальних дикетонів за 19 °C зумовлене швидшим перетворенням ацетогідроксикислот у віцинальні дикетони та повільнішим їх відновленням.

Флокуляційні властивості. Осідання низових дріжджів має важливе значення на завершальній стадії головного бродіння. Цей процес пов'язаний з флокуляцією клітин. Під час флокуляції важливу роль відіграє клітинна стінка дріжджів, оскільки вона має складну структуру і утворює зв'язки між клітинами. Температура є основним фактором, що впливає на флокуляцію дріжджів.

Флокуляційну здатність дріжджів оцінювали за концентрацією дріжджових клітин у молодому пиві після закінчення головного бродіння (рис. 3.8).

Рисунок 3.8 демонструє, що з підвищенням температури в діапазоні 10...16 °C значення концентрації дріжджів у молодому пиві не суттєво змінюється (1,2 – 4,3 млн. клітин в 1 см³ пива), тоді як підвищення температури до 19 °C сприяє зниженню здатності дріжджів до осідання і збільшення їх концентрації в молодому пиві у 2 - 7 разів.

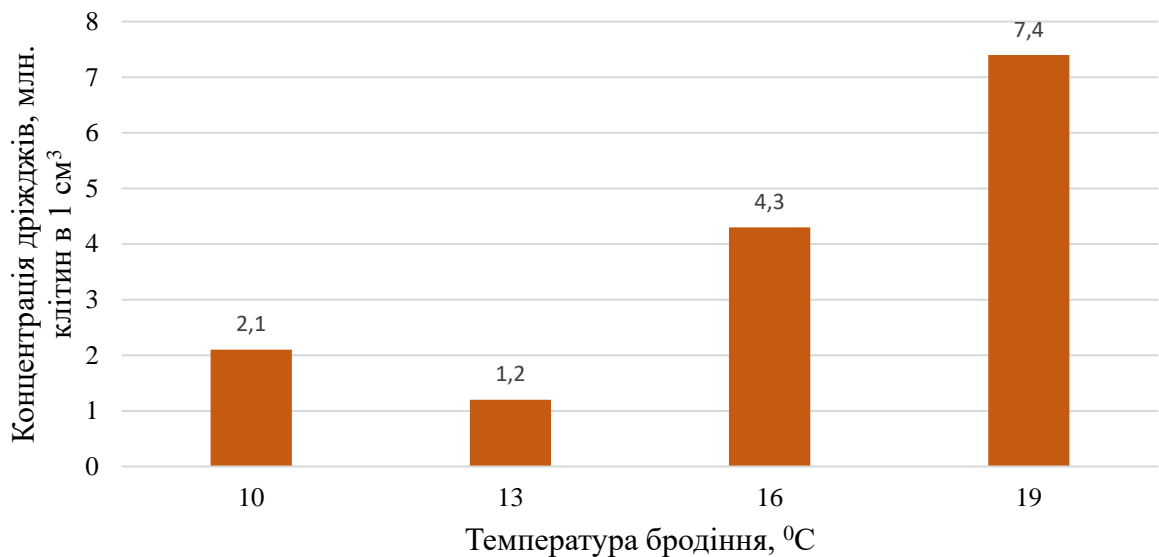


Рисунок 3.8 – Вплив температури бродіння на концентрацію дріжджів у молодому пиві

Фізіологічні властивості. Фізіологічний стан клітин перед початком зброджування обумовлює ефективність бродіння та якість пива. Він може погіршитися під час серійного культивування дріжджів.

Фізіологічний стан оцінюється шляхом визначення специфічних клітинних компонентів, важливих для бродіння. Два основних внутрішньоклітинних вуглеводи, трегалоза і глікоген, найчастіше використовуються як фізіологічно важливі речовини. Глікоген є основним матеріалом для зберігання енергії в дріжджових клітинах. Важливо, щоб культура дріжджів містила максимальну кількість внутрішньоклітинного глікогену перед повторним використанням у наступному бродінні суслу. Дріжджі, збіднені вмістом глікогену, спричиняють неповне зброджування.

На рис. 3.9 показано вплив температури бродіння на фізіологічні властивості дріжджів, які оцінювали за кількістю мертвих клітин та клітин з глікогеном.

Рисунок 3.9 демонструє, що збільшення температури майже не впливає на вміст мертвих дріжджових клітин, який в середньому становив 4 %. Їх концентрація відповідає значенням, яких дотримуються на пивоварних підприємствах.

Збільшення температури з 10 до 16 °C несуттєво впливає на здатність дріжджів накопичувати поживні речовини, оскільки при підвищенні температури з 10 до 13 °C частка дріжджових клітин з глікогеном трохи збільшувалась, але знижувалась при температурах бродіння 13...16 °C. А підвищення температури бродіння до 19 °C призводить до зростання частки клітин з глікогеном (до 4 %), що свідчить про погіршення фізіологічних властивостей дріжджів.

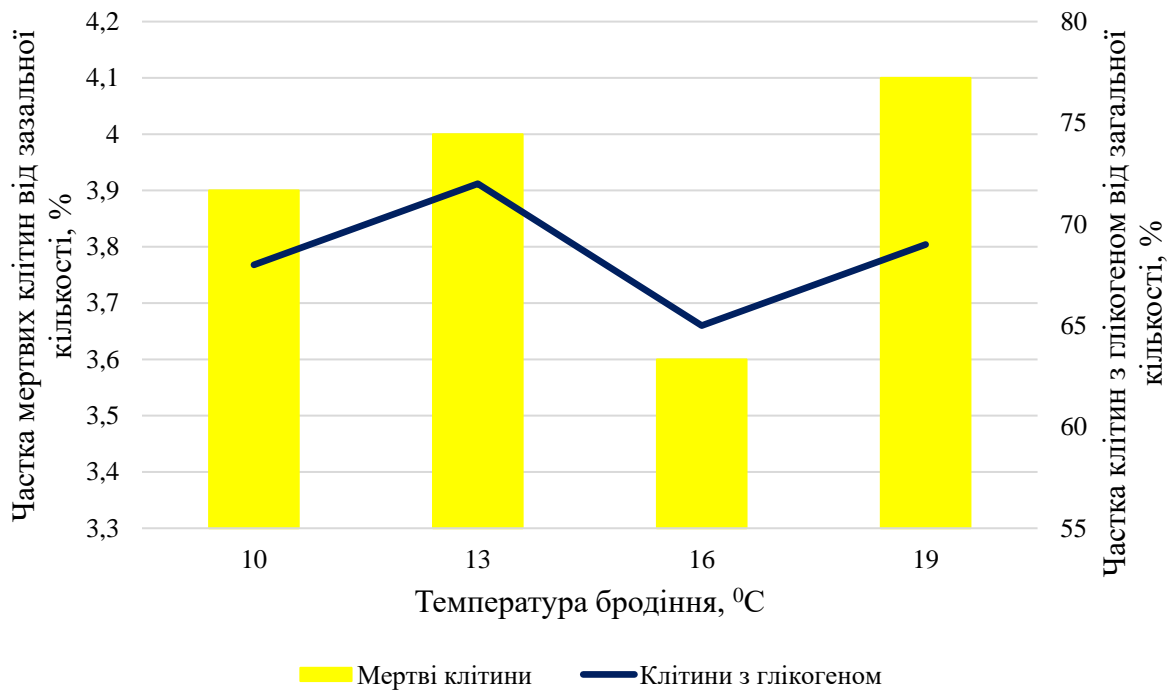


Рисунок 3.9 – Вплив температури бродіння на фізіологічні властивості дріжджів

Отже, при 10 °C бродіння відбувається повільно і передчасно припиняється. Бродіння при 19 °C дозволяє досягти високого ступеня зброджування, але при цьому погіршуються фізіологічні властивості дріжджів, зокрема, зменшується вміст клітин з глікогеном і погіршуються флокуляційні властивості дріжджів. Бродіння при температурі 13 °C значно збільшує вміст віцинальних дикетонів, що впливає на смакові якості пива. Саме тому рекомендується зброджувати сусло при температурі 16 °C, що допоможе отримати необхідний ступінь зброджування, зберегти фізіологічні та флокуляційні властивості дріжджів.

3.3 Дослідження впливу температури зберігання на фізіологічний стан дріжджів

Оскільки, на бродильну активність має вплив фізіологічний стан дріжджів, то розглянемо частку мертвих клітин за різних температур зберігання (2, 4 і 6 °C). Дріжджі після зняття з ЦКТ, тобто ті, які мають 1 і більше генерацій, рекомендовано зберігати не більше 2 – 3 діб.

Для дослідження обрано дріжджі низового бродіння раси H124 LDA IV генерації, які зберігали у молодому пиві з вмістом сухих речовин 16 %.

Результати дослідження частки мертвих клітин від загальної кількості при зберіганні за температурі 2 °C зображено на рис. 3.10.

Рисунок 3.10 демонструє, що зі збільшенням терміну зберігання зростає відсоток мертвих клітин, а саме – на 2 добу становить 5,3 %. Проте ця концентрація відповідає значенням, яких дотримуються на пивоварних підприємствах (до 10 %).

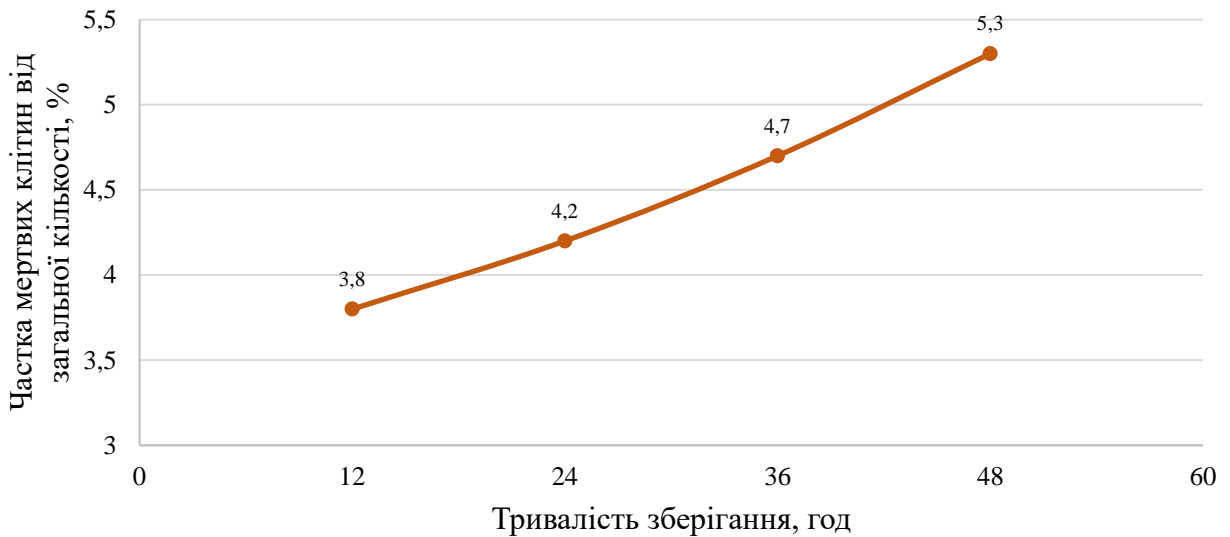


Рисунок 3.10 – Вплив температури зберігання (2 °C) на фізіологічні властивості дріжджів

Результати дослідження частки мертвих клітин від загальної кількості при зберіганні за температурою 4 °C зображено на рис. 3.11.

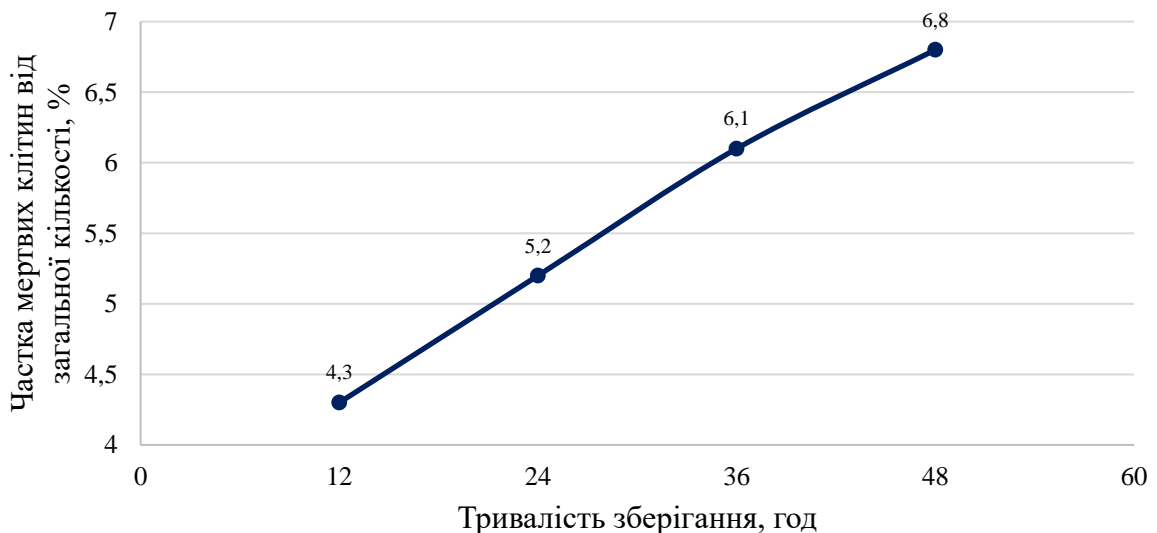


Рисунок 3.11 – Вплив температури зберігання (4 °C) на фізіологічні властивості дріжджів

Рисунок 3.11 демонструє, що збільшення терміну зберігання сприяє підвищенню кількості мертвих клітин, а саме – становить 6,8 % на 2 добу зберігання. Проте такі концентрації відповідають значенням, яких дотримуються на профільних підприємствах (до 10 %).

Результати дослідження частки мертвих клітин від загальної кількості при зберіганні за температурою 6 °C зображено на рис. 3.12.

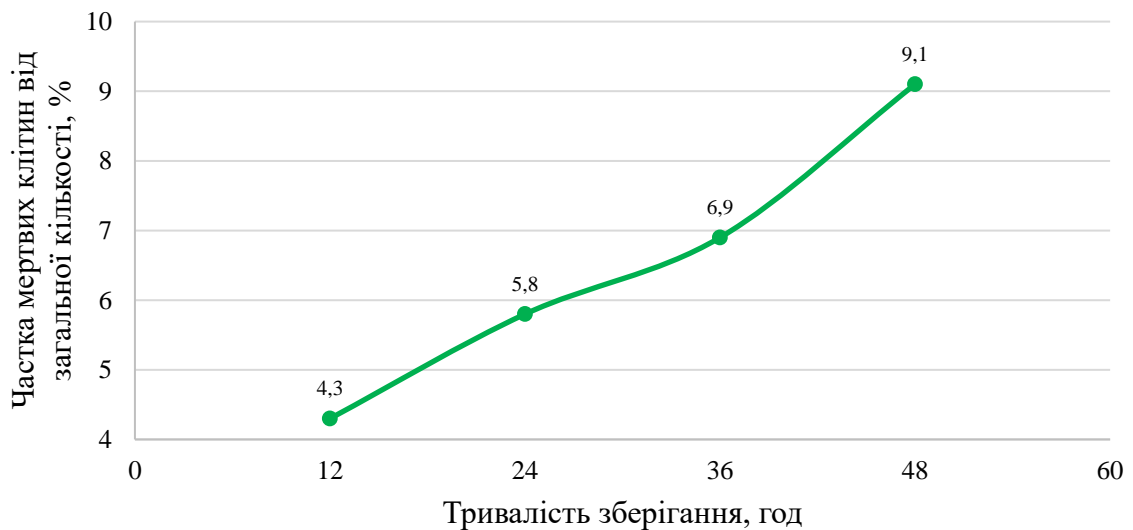


Рисунок 3.12 – Вплив температури зберігання (6 °C) на фізіологічні властивості дріжджів

Рисунок 3.12 демонструє, що збільшення тривалості зберігання сприяє зростанню частки мертвих клітин, а саме – складає 9,1 % за 48 год. Проте їх концентрація допустима за значеннями, яких дотримуються на підприємствах (до 10 %).

Отже, робимо висновок, що температура зберігання впливає на фізіологічний стан дріжджів. Тож, аналізуючи отримані дані, можна визначити, що в даній ситуації оптимальною температурою для зберігання є 2 °C, оскільки при ній маємо найменший показник частки мертвих клітин - 5,3 %, а при 4 і 6 °C маємо 6,8 і 9,1 % відповідно.

3.4 Висновки до розділу

1. Пиво, зброджене штамом H124 LDA, мало кращі фізико-хімічні показники, ніж пиво, зброджене штамом H124b, зокрема, варто відзначити видимий ступінь зброджування та вміст віцинальних дикетонів.

2. На основі отриманих в результаті досліджень даних було відібрано штам дріжджів H124 LDA, який мав вищу бродильну активність та швидкість зброджування порівняно з H124b, при дослідженні їх на суслі з вмістом сухих речовин 15, 16 та 17 %.

3. Пиво, зброджене обраною расою H124 LDA за температури 16 °C, мало вищий видимий ступінь зброджування – 82,18% - та вміст віцинальних дикетонів – 0,14 мг/дм³, ніж при 10, 13 та 19 °C.

4. Визначено оптимальну температуру для раси H124 LDA у суслі з 16 % сухих речовин. За температури 16 °C отримано найвищу бродильну активність, оскільки маса виділеного CO₂ є найвищою - 11,1 г.

5. Експериментально встановлено, що оптимальною температурою зберігання дріжджів H124 LDA IV покоління у суслі з вмістом сухих речовин 16 % протягом 48 годин є 2 °C, оскільки при ній маємо найменший показник частки мертвих клітин - 5,3 %, а при 4 і 6 °C маємо 6,8 і 9,1 % відповідно.

4 ОПТИМІЗАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

Оптимізацією технологічного процесу передбачена розробка математично-статистичної моделі залежності концентрації мертвих клітин дріжджів від двох показників - тривалості і температури зберігання. Параметрична схема математично-статистичної залежності зображена на рис. 4.1.

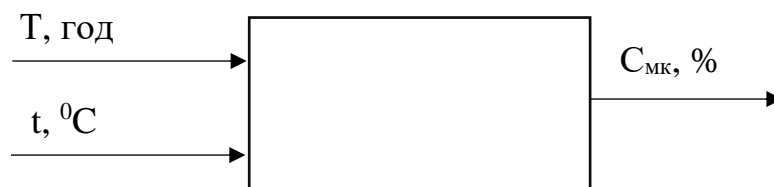


Рисунок 4.1 – Параметрична схема математично-статистичної залежності

У загальному вигляді функцію можна представити так:

$$C_{MK} = f(T, t),$$

де C_{MK} – концентрація мертвих клітин дріжджів, %;

T – тривалість зберігання, год;

t – температура зберігання, °C.

Складання математичної моделі. Поліноміальна функція кодованих величин матиме вигляд:

$$y = f(x_1, x_2),$$

де y – функція відгуку, концентрація мертвих клітин дріжджів, %;

x_1 – тривалість зберігання, год;

x_2 – температура зберігання, °C.

Майбутня математична модель матиме форму поліному першого порядку:

$$y_1 = b_0 + b_1 \times x_2 + b_2 \times x_2 + b_3 \times x_1 x_2,$$

де, b_0, b_1, b_2, b_3 – коефіцієнти регресії.

Визначена кількість дослідів повного факторного експерименту:

$$N = 2^n = 2^2 = 4,$$

де $n = 2$ – кількість вхідних факторів.

Кількість паралельних дослідів $m = 2$.

Проводимо заміну змінних x_i на закодовані значення z_i , які можуть набувати значення верхнього та нижнього рівнів варіювання факторів. За формулою:

$$z_i = \frac{x_i - x_0}{\Delta x_i},$$

де x_i – значення фактору на верхньому рівні;

x_0 – значення фактору на нульовому рівні;

Δx_i – інтервал вимірювання.

Математична модель в кодованому вигляді набуває вигляду:

$$\hat{y} = b_0 + b_1 \times x_2 + b_2 \times x_2 + b_3 \times x_1 x_2.$$

Визначивши вхідні фактори, які найбільше впливають на концентрацію мертвих клітин дріжджів, визначаємо їх рівні варіювання та інтервал вимірювання, які наведені у табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Вихідні дані

Фактор	0	Δ	+	-
x ₁	30	18	48	12
x ₂	4	2	6	2

За відповідними правилами складаємо матрицю планування експерименту, яка наведена у табл. 4.2.

Таблиця 4.2 – Матриця планування експерименту

№ досл.	x ₀	x ₁	x ₂	x ₁ x ₂	y ₁	y ₂	\bar{y}	S _i ²
1	+	+	+	+	3,8	4,27	4,035	0,0643
2	+	+	-	-	4,2	4,53	4,365	0,0545
3	+	-	+	-	4,7	5,14	4,92	0,0968
4	+	-	-	+	5,3	5,55	5,425	0,0313

$$\sum_{u=1}^N S_u^2 = 1,05$$

Статистична обробка даних. Розраховуємо коефіцієнти рівняння регресії за формулами:

$$b_0 = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N z_{0n} \times \bar{y}_n = \frac{1}{4} (4,035 + 4,365 + 4,92 + 5,425) = 4,68;$$

$$b_1 = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N z_{1n} \times \bar{y}_n = \frac{1}{4} (4,035 + 4,365 - 4,92 - 5,425) = -0,486;$$

$$b_2 = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N z_{2n} \times \bar{y}_n = \frac{1}{4} (4,035 - 4,365 + 4,92 - 5,425) = -0,209;$$

$$b_3 = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N z_{3n} \times \bar{y}_n = \frac{1}{4} (4,035 - 4,365 - 4,92 + 5,425) = 0,044.$$

Перевірка однорідності дисперсій. Дисперсію паралельних дослідів кожного рядка плану матриці розраховуємо за рівнянням:

$$S_n^2 = \frac{1}{m-1} \sum_{k=1}^m (y_{nk} - \bar{y}_n)^2$$

де $m = 2$ – кількість паралельних дослідів.

$$S \frac{2}{1} = [(3,8 - 4,035)^2 + (4,27 - 4,035)^2] = 0,0643;$$

$$S \frac{2}{2} = [(4,2 - 4,365)^2 + (4,53 - 4,365)^2] = 0,0545;$$

$$S \frac{2}{3} = [(4,7 - 4,92)^2 + (5,14 - 4,92)^2] = 0,0968;$$

$$S \frac{2}{4} = [(5,3 - 5,425)^2 + (5,55 - 5,425)^2] = 0,0313.$$

Найбільше значення $S_{n \max}^2 = S_2^2 = 0,0968$.

Сума дисперсії дорівнює:

$$\sum_{n=1}^N S_n^2 = S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + S_4^2 = 0,0643 + 0,0545 + 0,0968 + 0,0313 = 0,247$$

Проводимо розрахунок критерію Кохрена:

$$G_{\max} = \frac{S_{n \max}^2}{\sum_{n=1}^N S_n^2} = \frac{0,0968}{0,247} = 0,39.$$

Обираємо табличне значення критерію Кохрена $G_{кр}$ для значень ступеня свободи $f_1 = m-1 = 2-1 = 1$ та $f_2 = N = 4$, для рівня значущості $\alpha = 5\%$ та перевіряємо виконання умови відтворюваності рівняння:

$$G_{\max} = 0,39 < G_{кр} = 0,9065.$$

Отже, дисперсія вихідного параметру в паралельних дослідах - однорідна, отримане рівняння регресії є відтворюваним.

Загальна похибка дослідів становить:

$$S_0^2 = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N S_n^2 = \frac{0,247}{4} = 0,0618.$$

Перевірка значущості коефіцієнтів регресії. Визначення дисперсії коефіцієнтів регресії:

$$S_{bi}^2 = \frac{S_0^2}{N} = \frac{1}{4} \times 0,0618 = 0,0155.$$

Відхилення будь-якого коефіцієнту:

$$\Delta b_i \pm t_T \times \sqrt{S_0^2} = 2,78 \times \sqrt{0,0825} = 0,69,$$

де $t_T = 2,78$ - табличне значення критерію Стюдента для ступеню свободи $f_1 = N(m-1) = 4(2-1) = 4$ та рівня значущості $\alpha = 0,05$ (5%).

Значення критерію Стюдента для кожного коефіцієнту регресії:

$$t_{b0} = \frac{|b_0|}{S_{bi}^2} = \frac{|4,68|}{0,0155} = 301,94;$$

$$t_{b1} = \frac{|b_1|}{S_{bi}^2} = \frac{|-0,486|}{0,0155} = 31,5;$$

$$t_{b2} = \frac{|b_2|}{S_{bi}^2} = \frac{|-0,209|}{0,0155} = 13,48;$$

$$t_{b3} = \frac{|b_3|}{S_{b3}^2} = \frac{|0,044|}{0,0155} = 2,84.$$

Рівняння регресії в остаточному вигляді у формі поліному першого порядку матиме вигляд:

$$\hat{y} = 4,68 + (-0,486) \times x_1 + (-0,209) \times x_2 + 0,044 \times x_1 x_2;$$

$$\hat{y}_1 = 4,68 + (-0,486) + (-0,209) + 0,044 = 4,029;$$

$$\hat{y}_2 = 4,68 + (-0,486) - (-0,209) - 0,044 = 4,359;$$

$$\hat{y}_3 = 4,68 - (-0,486) + (-0,209) - 0,044 = 4,919;$$

$$\hat{y}_4 = 4,68 - (-0,486) - (-0,209) + 0,044 = 5,419.$$

Перевірка рівняння регресії на адекватність:

а) розраховуємо залишкову дисперсію:

$$S_{\text{зал}}^2 = \frac{m}{f_1} \sum_{u=1}^N (\bar{y}_u - \hat{y}_u)^2,$$

де f_1 – число ступенів свободи:

$$f_1 = (N \times m - (n + 1)) = 4 \times 2 - (2 + 1) = 5;$$

\bar{y}_u – середнє дослідне значення вихідного параметру в кожному досліді;

\hat{y}_u – розраховане за рівнянням регресії значення вихідного параметру.

$$S_{\text{зал}}^2 = \frac{2}{5} \times [(4,035 - 4,029)^2 + (4,365 - 4,359)^2 + (4,92 - 4,913)^2 + (5,425 - 5,419)^2] = 0,4 \times (0,000036 + 0,000036 + 0,000049 + 0,000036) = 0,0000628;$$

б) розраховуємо значення критерію Фішера:

$$F_p = \frac{S_{\text{зал}}^2}{S_0^2} = \frac{0,0000628}{0,0618} = 0,001016;$$

в) вибираємо табличне значення критерію Фішера за таблицями для ступеня свободи $f_1 = (N \times m - (n + 1)) = 4 \times 2 - (2 + 1) = 5$ для знаменника, та для рівня значущості $\alpha = 5\%$; $F_T = 5,19$;

г) перевіряємо умови адекватності:

$$F_p = 0,001016 < F_T = 5,19;$$

Отримана математична модель у формі рівняння регресії є адекватною реальному процесу. Отже, рівняння може бути підставою для пошуку оптимальних умов ведення процесу.

Переведення кодованих величин на натуральні за формулами:

$$z_1 = \frac{T - 30}{18};$$

$$z_2 = \frac{t - 4}{2};$$

$$y = C_{\text{МК}}.$$

Звідси, математична модель має вигляд:

$$C_{MK} = 4,68 + (-0,486) \times \left(\frac{T-30}{18}\right) + (-0,209) \times \left(\frac{t-4}{2}\right) + 0,044 \times \left(\frac{T-30}{18}\right) \times \left(\frac{t-4}{2}\right);$$

$$C_{MK_1} = 4,68 - 0,486 \times \left(\frac{48-30}{18}\right) - 0,209 \times \left(\frac{6-4}{2}\right) + 0,044 \times \left(\frac{48-30}{18}\right) \times \left(\frac{6-4}{2}\right) = 4,029;$$

$$C_{MK_2} = 4,68 - 0,486 \times \left(\frac{12-30}{18}\right) - 0,209 \times \left(\frac{2-4}{2}\right) + 0,044 \times \left(\frac{12-30}{18}\right) \times \left(\frac{2-4}{2}\right) = 4,029.$$

Похибки окремо взятих дослідів становлять:

$$\Delta_1 = \left[\frac{(4,029 - 4,029)}{4,029}\right] \times 100\% = 0\%;$$

$$\Delta_2 = \left[\frac{(4,029 - 4,359)}{4,359}\right] \times 100\% = 7,6\%.$$

Відносна похибка експерименту становить $\Delta = 3,8\%$.

Запишемо натуральні значення факторів до нашого рівняння:

$$C_{MK} = 4,68 + (-0,486) \times \left(\frac{T-30}{18}\right) + (-0,209) \times \left(\frac{t-4}{2}\right) + 0,044 \times \left(\frac{T-30}{18}\right) \times \left(\frac{t-4}{2}\right);$$

За допомогою звичних математичних операцій спростимо вигляд рівняння до такого вигляду:

$$\begin{aligned} C_{MK} &= 4,68 - 0,027T + 0,81 - 0,1045t + 0,418 + 0,0012 \times (Tt - 4T - 30t + 120) = \\ &= 4,68 - 0,027T + 0,81 - 0,1045t + 0,418 + 0,0012Tt - 0,0048T - 0,036t + 0,144 = \\ &= 6,052 - 0,0318T + 0,1405t - 0,0012Tt. \end{aligned}$$

Рівняння регресії:

$$C_{MK} = 6,052 - 0,0318T + 0,1405t - 0,0012Tt.$$

Висновок. За результатами статистичної обробки даних одержано рівняння регресії і є адекватним досліджуваному процесу. Отримана математична модель дає змогу розрахувати концентрацію мертвих клітин дріжджів в межах варіювання тривалості зберігання пивних дріжджів від 12 до 48 год та температури зберігання – від 2 до 6 °C із середньою відносною похибкою $\Delta = 3,8\%$.

5 СОЦІАЛЬНО-ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ РОБОТИ

Метою даної роботи було дослідити вплив температури приготування та зберігання пивних дріжджів на їх бродильну активність.

Результати дослідження показали, що використання температури 16 °С є найкращим варіантом для зброджування високогустого суслу з вмістом сухих речовин 16 %, оскільки при цьому спостерігається найвища бродильна активність без погіршення смакових якостей пива.

Соціально-економічний ефект від втілення результатів кваліфікаційної роботи є досить значним. В результаті такого температурного режиму досягається економія енергетичних та матеріальних ресурсів.

В таблиці 5.1 наведено розрахункову собівартість виробництва 1 дал пива.

Таблиця 5.1 - Вартість виробництва 1 дал пива

Найменування витрат	Одиниці виміру	Витрати на 1 дал напою	Ціна за одиницю, грн	Вартість 1 дал пива, грн	
				з використанням Н124b	з використанням Н124 LDA
Солод	кг	2,0	30	60,0	60,0
Хміль	кг	0,004	800	3,2	3,2
Дріжджі Н124b	кг	0,025	1800	45,0	-
Дріжджі Н124 LDA	кг	0,025	1200	-	30,0
Вода	м ³	0,015	30,39	0,46	0,46
Вартість виробництва 1 дал пива				108,66	93,66

Собівартість 1 дал пива, звареного на дріжджах Н124 LDA, склала 93,66 грн/дал, що на 15 грн/дал нижче, ніж вартість пива, звареного на дріжджах Н124b. Таке незначне зниження вартості на 1 дал пов'язане з тим, що 1 кг дріжджів Н124b дорожче за обрану расу на 50%, і в перерахунку на потужності виробництва дає суттєву економію матеріальних ресурсів. Як було визначено в кваліфікаційній роботі, оптимальна їх задача в суслу - 25 г/дал, тобто в перерахунку на грошову одиницю - 45,0 грн/дал. У підсумку отримуємо пиво з високими органолептичними показниками.

Враховуючи зниження ціни пива з додаванням дріжджів Н124 LDA, отримуємо також зниження його собівартості. Оскільки дріжджі Н124 LDA можна використовувати до 13 генерацій, на відміну від дріжджів Н124b (максимум 8 генерацій), також ми отримуємо значний відсоток економії енергетичних та матеріальних ресурсів на етапах бродіння та доброджування пива.

6 ОХОРОНА ПРАЦІ

Організація охорони праці в лабораторії. При виконанні робіт в лабораторії на працівника можуть впливати небезпечні та шкідливі фактори:

- фізичні (підвищений шум, електромагнітне та ультрафіолетове опромінення, недостатня освітленість, відхилення від встановлених норм температури і вологості повітря робочої зони, підвищений вміст шкідливих речовин у повітрі робочої зони, електричний струм)

- біологічні;
- хімічні (реагенти, дезінфікуючі засоби, подразнюючі речовини, мутагенні, алергенні, канцерогенні агенти);
- механічні;
- людські;
- пожежонебезпечні фактори.

На підприємстві та безпосередньо в лабораторії управління охороною праці покладається на роботодавця (керівника підприємства), спеціалістів з охорони праці та керівників; завдання служби охорони праці регламентуються Законом України "Про охорону праці", Кодексом законів України про працю, Типовим положенням про службу охорони праці, затвердженим наказом Державного комітету України по нагляду за охороною праці від 3 серпня 1993 року № 73 та Положенням про службу охорони праці в системі Міністерства сільського господарства і продовольства України.

Спеціаліст з охорони праці прирівнюється до фахівців основних виробничо-технічних служб. Він повинен відповідати кваліфікаційним вимогам, визначеним у Довіднику кваліфікаційних характеристик професій працівників, затвердженому наказом Міністерства праці та соціальної політики № 24 від 16 лютого 1998 року [37].

Навчання і перевірка знань з питань охорони праці працівника служби охорони праці проводяться в установленому порядку під час прийняття на роботу і один раз на три роки.

Працівник служби охорони праці підприємства у своїй роботі керується законодавством України, нормативно-правовими актами, колективним договором та актами з охорони праці, що діють на підприємстві.

Служба охорони праці на підприємстві здійснює постійний контроль за дотриманням працівниками правил технологічних процесів, правил поведінки з машинами, механізмами та обладнанням, виконанням різних видів робіт відповідно до вимог охорони праці [37].

Правила безпеки при роботі в хімічній лабораторії:

В хімічній лабораторії дозволяється працювати тільки за наявності справної припливно-витяжної вентиляції, обладнаних витяжних шаф, спецодягу, засобів індивідуального захисту, пожежогасіння і аптечки першої допомоги.

В хімічній лабораторії забороняється пити воду і приймати їжу.

Після закінчення роботи необхідно привести в належний стан своє робоче місце, помити та прибрати посуд, поставити на місце хімічні реактиви, виключити електроприлади, воду, газ, стисле повітря та освітлення [37].

Правила роботи з скляним посудом. При роботі з скляним хімічним посудом і скляними приладами необхідно дотримуватися певних правил безпеки. Необхідно пам'ятати, що хімічний посуд крихкий і, в основному, тонкостінний, а через це при необережній роботі його можна розбити і отримати порізи і травми. Скляний посуд і прилади потрібно тримати обережно, не стискаючи його сильно пальцями. Для попередження травматичних пошкоджень при роботі з скляним посудом необхідно дотримуватись таких застережних заходів:

1. Відразу ж прибирати скляні і відходи теплової обробки скла.
2. При збиранні скляних частин приладів суворо дотримуватися діючих правил, які наведені у відповідних інструкціях.
3. При розрізанні скляних трубок і паличок руки потрібно захищати рушником.
4. При митті посуду «йоршами» бути обережним, адже можна ними легко пробити днище або стінки посуду. Для попередження цього на оголений металевий кінець «йорша» або кінець скляної палички необхідно надіти шматочок гумової трубки.

Правила роботи з хімічними речовинами. Щоб запобігти нещасним випадкам під час роботи з хімічними речовинами необхідно керуватися такими правилами:

1. Токсичні рідини забороняється втягувати в піпетку ротом. В цьому випадку потрібно користуватися гумовою грушою.
2. Заборонено приливати концентровані кислоти до концентрованих лугів (або навпаки); їх необхідно попередньо розводити водою для проведення нейтралізації.
3. Нагрівання пробірок та іншого скляного посуду потрібно проводити поступово, направляючи їх отворами від працюючого та інших осіб.
4. Не можна змішувати киплячі розчини або додавати в них сухі реагенти на нагрівальних приладах.
5. Перед нагріванням води в колбі-промивалці з останньої виймають пробку.
6. Всі процеси, пов'язані з виділенням токсичних газів, пари та диму, проводять у витяжній шафі. З токсичними речовинами працюють в гумових рукавичках.
7. Використані розчини, які містять в собі токсичні речовини, виливають в раковину витяжної шафи. Посуд та раковину старанно миють.
8. Всі роботи з легкозаймистими речовинами або вогнебезпечними рідинами необхідно проводити у витяжній шафі при працюючій вентиляції.
9. Перегонку і нагрівання низькокиплячих вогнебезпечних речовин необхідно проводити в круглодонних колбах з тугоплавкого скла і на водяних банях.
10. Відпрацьовані кислоти та луги потрібно збирати окремо в спеціальний посуд і після нейтралізації зливати в каналізацію або інше спеціально відведене для цієї мети місце.

Протипожежні правила безпеки:

1. Забороняється залишати без догляду газові пальники і електронагрівальні прилади. При пожежі необхідно виключити рубильники, перекрити газовий кран, полум'я засипати піском.

2. При займанні одягу необхідно накрити потерпілого одягом або облили водою.

3. При розливі вогненебезпечної рідини необхідно відключити всі пальники і електронагрівальні прилади, а потім прибрати рідину.

4. При виявленні запаху газу заборонено запалювати вогонь і користуватись електронагрівальними приладами, необхідно добре провітрити лабораторію. [25]

Перша допомога при опіках та порізах:

1. При опіках водяною парою, гарячими предметами або відкритим полум'ям пошкоджене місце обробляють етиловим спиртом або 3-10 %-ним розчином перманганату калію і накладають стерильну пов'язку.

2. При попаданні гарячої олії на шкіру, обпечене місце обробляють бензином, далі змащують маззю від опіків. При опіках бромом шкіру промивають водою і змащують вазеліном або обробляють концентрованим розчином тіосульфату натрію і водою.

3. При попаданні на одяг та шкіру кислот вражене місце промивають спочатку водою і 3 %-м розчином гідрокарбонату натрію, а при попаданні лугу — водою та 1-5 %-м розчином оцтової кислоти.

4. При порізах склом необхідно переконатися у відсутності залишків скла в рані, а далі її обробити розчином йоду. Можна промити рану водою, присипати стрептоцидом і перев'язати. При сильній кровотечі рану обробляють 3 %-м розчином перекису водню і перев'язують.

Забезпечення санітарно-побутовими приміщеннями

Санітарно-побутові приміщення нормуються відповідно до галузевих санітарних норм.

Виходячи з нормативних даних для цехів виробництва необхідно передбачити гардеробні з шафами (по два відділення в кожній) з такою кількістю шаф, що забезпечить її індивідуальне використання кожним працівником окремо.

До гардеробних повинні примикати душові, що мають по два душових відділення. В гардеробних необхідно мати мінімум по одному умивальнику. При цьому повинна бути сушарка для робочого одягу.

Повітря робочої зони

Мікроклімат. Мікроклімат на підприємствах повинен забезпечуватись відповідно до ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. «Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

Параметри мікроклімату, що нормуються:

- температура, °С;
- відносна вологість повітря, %;
- швидкість руху повітря, м/с;
- потужність теплового потоку, Вт/м².

Запиленість повітря. Запиленість повітря – це присутність у повітрі робочої зони пилу, тобто дуже подрібнених частинок твердої речовини, які можуть мати різну форму та розміри.

У відповідності з ГОСТ 12.0.003-74 ССБТ «Опасные и вредные производственные факторы», підвищена запиленість повітря робочої зони відноситься до небезпечних і шкідливих виробничих факторів.

Запиленість нормується для відділення складу сировини та її полірування, оскільки тут є обладнання, яке виділяє пил.

Освітлення. Освітлення у виробничому приміщенні має відповідати нормам і правилам регламентованими в ДБН.В 2.5-28:2018 «Природне та штучне освітлення. Норми проектування».

Освітленість робочих місць здійснюється природнім світлом – в світлі години доби і штучним – у темні. Вимоги, які ставляться до раціонального освітлення: достатня освітленість робочого місця (нормована); рівномірне освітлення; відсутність тіней, особливо рухомих, на робочій поверхні; захист від сліпучої дії джерела світла; вірний вибір напрямку світла.

Природне освітлення поділяється на бічне одностороннє та двостороннє; верхнє, коли ліхтарі та світлові прорізи знаходяться в покритті або в стінах під ним; комбіноване, коли сполучається бічне і верхнє освітлення.

Штучне освітлення поділяється на робоче, аварійне, евакуаційне та охоронне. Розрізняють такі системи штучного освітлення: загальну, місцеву та комбіновану [25].

Електробезпека

Електробезпека – це комплекс організаційно-технічних заходів, які направлені на захист людини від ураження електричним струмом.

Виробничі приміщення за ступенем небезпеки ураження людини електричним струмом та в залежності від стану виробничого середовища «Правилами улаштування електроустановок» (ПУЕ) класифікуються як:

- приміщення з підвищеною небезпекою, що характеризуються наявністю в них одного із наступних факторів небезпеки: сирість (відносна вологість повітря перевищує 75%); присутній струмоведучий пил, що може осідати на провідниках, проникати в середину машин та апаратів; струмопровідна підлога (металева, земляна, залізобетонна, цегляна); висока температура повітря (постійно або періодично перевищує 35°C); існує можливість одночасного дотику людини до металоконструкцій, що мають з'єднання із землею, технологічних апаратів, механізмів, з однієї сторони і до металевих корпусів електрообладнання з іншої;

- особливо небезпечні приміщення, що характеризуються наявністю в них одного з наступних факторів небезпеки: особлива сирість (відносна вологість повітря до 100%; стеля, стіни, підлога та речі в приміщенні покриті вологою); присутнє хімічно-активне або органічне середовище (агресивні гази, речовини та рідини, які руйнують ізоляцію та струмоведучі частини електрообладнання); одночасно діють два або більше факторів небезпеки, що характеризують приміщення підвищеної небезпеки.

Щоб забезпечити захист працюючих від дії електричного струму треба застосовувати способи захисту, які передбачені «Правилами улаштування електроустановок» (ПУЕ) та «Правилами техніки безпеки споживачів».

Згідно з ПУЕ всі виробничі приміщення поділяються в залежності від небезпеки ураження людини електричним струмом на категорії:

- без підвищеної небезпеки;
- з підвищеною небезпекою;
- особливо небезпечні.

Розглядаючи приміщення цеху солодового виробництва можна визначити, що зони, де встановлене обладнання, відносяться, згідно класифікацією ПУЕ, до зон підвищеної небезпеки.

Пожежна безпека

Пожежна безпека нормується відповідно до ДСТУ 2272:2006 «Пожежна безпека. Терміни та визначення основних понять»:

Ступінь вогнестійкості будівлі для промислових будівель категорії Д, основних будівель, повинен бути не нижчим від другого ступеню.

Згідно з ПУЕ цех солодового виробництва за вибухонебезпечністю електричного обладнання відноситься до вологої зони.

Відділення обладнані автоматичною пожежною сигналізацією і забезпечені засобами пожежогасіння.

До комплекту засобів пожежогасіння слід включати: вогнегасники – 3 одиниці, ящик з піском – 1 одиниця, покривало 2х2 м – 1 одиниця, гаки – 3 одиниці, лопати – 2 одиниці, ломы – 2 одиниці, сокири – 2 одиниці (стандарт ISO 3941-77).

Згідно ДСТУ Б В.1.1-36:2016 по класу пожежі відділення відносяться до категорії А – пожежі твердих речовин.

Для пожежогасіння необхідно мати резервуар місткістю не менше 250 дм³.

Відділення повинне мати не менше двох шляхів евакуації. Вони не повинні перетинати приміщення, де розміщені виробництва категорії А, В за вибухонебезпечністю. В разі необхідності одним шляхом може бути вікно з пожежною драбиною або сходами, що ведуть на подвір'я [25].

Висновок. Під час виконання експериментальної частини кваліфікаційної роботи було дотримано усіх вимог техніки безпеки та охорони праці.

7 ЦИВІЛЬНИЙ ЗАХИСТ

Виробнича аварія - раптова зупинка або порушення устанавленого виробничого процесу на промисловому об'єкті, транспорті, які призводять до пошкодження або знищення матеріальних цінностей, травмування або загибелі людей.

Аварії у системі електропостачання. Основні причини виникнення аварій у системі електропостачання на харчових підприємствах [32]:

- пошкодження основного чи допоміжного устаткування (вимикачі, генератори, двигуни, трансформатори, лінії електропередачі тощо);
- пошкодження і неправильне спрацьовування комутаційних і автоматичних обладнань (пристрої релейного захисту, апарати вторинної комутації);
- пошкодження і помилкові показники вимірювальних приладів, що зумовлює неправильну інформацію.

Безаварійність роботи системи електропостачання підприємств досягається не тільки технічними, а й організаційними заходами. Основні з них: постійний нагляд і контроль за роботою обладнання; суворе дотримання режимів його роботи та технічних параметрів; усунення будь-яких відхилень параметрів під час експлуатації електрообладнання; неухильне дотримання інструкцій щодо обслуговування устаткування в нормальній роботі, під час пусків і зупинок; своєчасне профілактичне обслуговування устаткування.

Аварії у системі газопостачання. Причини аварій:

- раптове порушення нормальної роботи газопроводів, газового обладнання;
- вибух газоповітряної суміші. Тиск у момент вибуху газоповітряної суміші може дорівнювати 700 - 800 кПа.

Безаварійність роботи забезпечується:

- своєчасним вимкненням системи подачі газу під час загрози стихійного лиха (буревію, землетрусу, повені), раптового повного припинення подачі газу, несправності газопускового агрегату, проникнення газу в приміщення цеху, під час пожежі, вибуху та загрози їх виникнення;
- своєчасне виявлення газу у повітрі, визначення місць витікання газу і негайне його усунення.

Аварії у системі водопостачання. Такі аварії можуть спричинити появу вторинних небезпечних явищ - затоплення підвалів й інших заглиблених споруд, де встановлено енергетичне устаткування, розміщено сховища, протирадіаційні укриття, встановлено енергетичне обладнання або зберігаються матеріальні цінності.

Для системи водопостачання підприємств найхарактерніші аварії на трубопроводах і в арматурі водопровідної мережі. Ці аварії пов'язані переважно з пошкодженням розтрубних з'єднань і зварених стиковок, переломами труб, появою свищів і тріщин.

Безаварійність роботи системи водопостачання підприємств досягається: своєчасним виявом аварійних ситуацій і швидкої їх ліквідації; екстремим вимкненням насосної станції; будівництвом резервних заглиблених місткостей; завчасним створенням автономних джерел водопостачання.

Аварії від вибухів промислового пилю. Такі аварії ймовірні на підприємствах хлібопекарського, макаронного виробництв, з переробки і зберігання зерна (комбікормові заводи і цехи, млини, елеватори й хлібоприймальні підприємства). Цукрові заводи і пивоварні підприємства також є потенційними вибухонебезпечними об'єктами [32].

Заходи щодо запобігання та локалізації вибуху і займання мають бути спрямовані на усунення основних причин виникнення цих ситуацій.

Для того щоб вибух стався, необхідні дві умови: наявність вибухонебезпечної пилоповітряної суміші й джерела її займання.

Профілактичні заходи мають бути спрямовані на усунення можливості виникнення названих умов і особливо можливості їх одночасної і сумісної появи.

Отже, для попередження пилових вибухів на підприємствах необхідно ліквідувати вибухонебезпечну пилоповітряну суміш чи усунути можливість її утворення у виробничих приміщеннях; виключити наявність потенціальних джерел займання чи можливість їх виникнення.

Якщо уникнути можливості утворення вибухонебезпечних концентрацій пилю, то навіть за наявності джерела займання пиловий вибух не станеться.

Максимально можливе зниження запылювання виробничих підприємств досягається: зменшенням пиловиділення з технологічного і транспортного обладнання його герметизацією; зменшенням пиловиділення у виробничих приміщеннях аспірацією технологічного і транспортного обладнання; систематичним і своєчасним прибиранням пилю у виробничих приміщеннях.

З метою зниження руйнівної сили вибуху у вибухонебезпечних приміщеннях підприємств слід забезпечувати умову для швидкого скиду тиску повітря, для чого люки, вікна, двері мають самі розчинятися під тиском повітря, а окремі ділянки аспірації вимикатися системою засувок.

Аварії від вибухів газоповітряних сумішей. Одним із можливих пожежо- і вибухонебезпечних об'єктів на підприємствах є склади рідкого палива.

Для зменшення небезпечного впливу наслідків аварії на складах паливно-мастильних речовин наземні резервуари розміщують на ділянках, оточених валом. Ділянка має бути розрахована на вилив рідин з найбільшої місткості. Кожну місткість оснащують покажчиком рідини, витяжною трубою з вогнезахистом, сифонним краном для спускання сміття і води, зовнішніми сходами, замірним люком, люком-лазом і змійовиком для підігрівання (при зберіганні важкого палива).

На дахах підземних резервуарів висота витяжних труб має бути не менше 2 м. Насосні станції розміщують у будівлях не нижче третього ступеня вогнестійкості. Не допускається скупчення і застій таких речовин. Підземні резервуари і насосні станції мають бути обладнані системою пожежогасіння.

Вибухонебезпечні також приміщення на спиртових і виноробних заводах, на заводах безалкогольних напоїв, склади спирту, спиртових настоянок і есенцій. Тому приймання, зберігання, виробництво спирту, вина, відпускання спирту, настоянок і есенцій слід проводити у суворій відповідності з інструкцією про заходи пожежної безпеки на таких підприємствах.

Аварії з викидом (виливом) СДОР в атмосферу. Па підприємствах харчової

промисловості використовують як вихідні або допоміжні матеріали в технологічному процесі різні хімічні речовини. Багато з них небезпечні й токсичні. Хлор, аміак, сірчистий ангідрид, окис вуглецю тощо належать до сильнодіючих отруйних речовин (СДОР).

Утримують СДОР на виробничих майданчиках або транспортних засобах у стандартних ємностях. Такими можуть бути алюмінієві, залізобетонні й сталеві оболонки, газові балони. На підприємствах в технологічних лініях і установках використовують ресивери - ємності, в яких підтримується певний тиск відповідно до вимог технології.

Найчастіше на підприємствах виробничий персонал має справу з посудинами високого тиску у вигляді різноманітних балонів. Вони бувають різних розмірів, фарбування і призначені для зберігання стиснутих скраплених і розчинених під тиском газів.

Зберігають СДОР на складах підприємств:

у резервуарах під великим тиском (у даному разі розрахунковий тиск резервуара відповідає тиску пари продукту над рідиною при максимальній температурі навколишнього середовища);

у закритих місткостях при температурі навколишнього середовища (характерно для висококиплячих рідин);

у ізотермічних сховищах при тиску, близькому до атмосферного (низькотемпературне зберігання) або до 1 Па (ізотермічне сховище, з використанням кульових резервуарів великої місткості).

Ємності мають штучно охолоджуватись. Тиск насиченої пари скраплених газів залежить від температури: що нижча температура, то менший тиск пари. Саме спосіб зберігання СДОР визначає їх поведінку під час аварії (пошкодження, руйнування оболонок місткостей).

Дозиметричний контроль на об'єктах харчової промисловості. У випадку виникнення радіаційної аварії, зараження навколишнього середовища хімічними отруйними речовинами або бактеріологічними засобами об'єкти харчової промисловості можуть підпадати під дію радіоактивного, хімічного та бактеріологічного ураження. Це призводить до ураження незахищеного виробничого персоналу, забруднення території, споруд і приміщень об'єкта, транспорту, обладнання, напівфабрикатів, води та готової продукції на підприємстві [32].

З метою одержання даних для оцінки працездатності персоналу, визначення обсягу медичної допомоги і санітарної обробки людей (а на підприємствах м'ясної промисловості - ветеринарної обробки сільськогосподарських тварин), спеціальної обробки техніки та обладнання, знезараження продуктів харчування, води і об'єкта в цілому на підприємствах харчової промисловості організують і проводять дозиметричний, хімічний і бактеріологічний контроль.

Дозиметричний і хімічний контроль організують начальники управлінь з надзвичайних ситуацій, служб цивільної оборони підприємства харчової промисловості та командири формувань цивільної оборони.

Методика спостережень і оцінки радіаційної та хімічної обстановки, що визначає єдиний порядок спостережень щодо радіаційної та хімічної обстановки

у разі виникнення надзвичайних ситуацій техногенного та природного характеру затверджена наказом Міністерства надзвичайних ситуацій №186 від 06.08.2003 року. При повсякденній діяльності спостереження за радіоактивним, хімічним та бактеріологічним зараженням здійснюється за рахунок мережі спостереження та лабораторного контролю.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. На основі теоретичних та експериментальних досліджень встановлено, що пиво зброжене расою H124 LDA має кращі фізико-хімічні показники у порівнянні з пивом, зброженим расою H124b, а саме вищий ступінь зброжування, який становить 82,18% та найменший вміст віцинальних дикетонів – 0,14 мг/дм³.

2. Можна стверджувати, що у зразках суслу з вмістом сухих речовин 15, 16 і 17 % обрана раса H124 LDA має вищий показник бродильної активності, за масою виділеного CO₂ і становить від 9,7 до 11,1 г.

3. Визначено, що пиво зброжене расою H124 LDA за температури 16 °C, має кращі показники видимого ступеню зброжування та вмісту ВДК, ніж за температур 10, 13 і 19 °C.

4. Досліджено, що оптимальною температурою для дії дріжджів раси H124 LDA є 16 °C. За цієї температури отримано найвищу бродильну активність, оскільки маса виділеного CO₂ є найвищою - 11,1 г.

5. У результаті проведених експериментів встановленою оптимальною температурою зберігання раси H124 LDA IV генерації у суслі з вмістом сухих речовин 16 % протягом 48 год є 20°C, оскільки при ній маємо найменший показник частки мертвих клітин - 5,3 %, а при 4 і 6 °C маємо 6,8 і 9,1 % відповідно.

6. Розроблена математично-статистична модель залежності концентрації мертвих клітин дріжджів від тривалості та температури зберігання пивних дріжджів та доведена її адекватність.

7. Розрахунок собівартості 1 дал готового пива показав, що при застосуванні раси H124 LDA, з нормою задачі в сусло 25 г/дал, ми отримуємо ціну на 15 грн нижчу, ніж за використання раси расою H124b, що дозволяє як мінімум на 13,8% економити витрати на виробництво.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Абільтарова Е. Н., Корець М. С., Яшанов С. М. Основи охорони праці. Модуль 1 : Правові та організаційні питання охорони праці, основи фізіології, гігієни праці та виробничої санітарії : навч.-метод. посібник. Київ : Вид-во НПУ ім. М. П. Драгоманова, 2010. 409 с.
2. Біологія клітин: лабораторний практикум для студ. напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія» ден. та заоч. форм навчання / уклад. В. О. Красінько, І. М. Волошина. Київ: НУХТ, 2014. 147 с.
3. Вплив концентрації дріжджових клітин на зброджування високогустинного пивного сусла / Т.В. Харандюк, Р.Б. Косів, Н.І. Березовська, Л. Я. Паляниця. Науковий вісник Львівського *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*, 2016. Т. 18, № 1 (4). С. 133 – 137.
4. Вплив концентрацій сухих речовин та етанолу на бродильну активність пивних дріжджів / Т. Харандюк, Р. Косів, Л. Паляниця, Н. Березовська, Н. Паньків / *Наукові здобутки молоді – вирішенню проблеми харчування людства у XXI столітті* : матеріали 81 Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів. Київ, 2015. Ч. 1. С. 226 – 227.
5. Вплив норми внесення дріжджів на вміст ацетальдегіду та віцінальних дикетонів в молододу пиві / Полюжин Л. І. та ін. *Міждисциплінарні наукові дослідження: особливості та тенденції*: матеріали міжнародної наукової конференції, 4 грудня 2020 р. Чернігів: МЦНД, 2020. Т. 3. С. 33 – 36.
6. Домарецький В.А. Технологія солоду та пива: підручник. Київ: ІНКОС, 2004. 426с.;
7. ДСТУ 3888 : 2015. Пиво. Загальні технічні умови. [Чинний від 2015 – 11 - 01]. Київ: Держспоживстандарт України, 2015. 16 с.
8. Зброджування висококонцентрованого пивного сусла дріжджами різних рас / Косів Р. Б. та ін. *Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій*, 2015. Вип. 47 (2). С. 186 – 189.
9. Зниження вмісту віцінальних дикетонів при зброджуванні високогустинного сусла / Т. В. Харандюк Т. В. та ін. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*, 2017. Т. 19, № 75. С. 149 – 152.
10. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник / С. В. Іванов та ін. // за рег. ред. С. В. Іванова. Київ: НУХТ, 2012. 487 с.
11. Курсове і дипломне проектування: методичні рекомендації щодо складання принципів і апаратурно-технологічних схем та умовно-графічних зображень в апаратурно-технологічних схемах для студентів денної і заочної форми навчання спеціальності «Технологія продуктів бродіння і виноробства» за ОКР «бакалавр», «спеціаліст», «магістр» / уклад. П.Л. Шиян та ін. Київ: НУХТ, 2012. 67 с. (№8116);
12. Кодекс цивільного захисту України : Закон України від 14 травня 2013 р. № 224 – IV. *Відомості Верховної Ради України*. 2021. № 34 - 35. ст. 458.
13. Кошова В. М., Коломієць Т. В., Решетняк Л. Р. Динаміка фізіологічних

показників різних рас пивних дріжджів в процесі головного бродіння / *Перспективы развития научных исследований в 21 веке: материалы международной научно-практической конференции.* Москва, 2013. Ч. 3. С. 14 – 20.

14. Кошова В. М., Решетняк Л. Р., Куц А. М. Дослідження впливу різних рас дріжджів на зброджування пивного суслу і якість готового пива. *Наукові праці НУХТ*, 2015 р. Т. 21. № 1. С. 220 – 226.

15. Кунце В., Мит Г. Технология солода и пива; пер. с нем. Санкт - Петербург: Профессия, 2009. 1100 с.

16. Меледина Т. В., Давыденко С. Г., Васильева Л. М. Физиологическое состояние дрожжей: учеб. пособие. Санкт - Петербург: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. 48 с.

17. Мелетьев А. Є., Годосійчук С. Р., Кошова В. М. Технохімічний контроль виробництва солоду, пива і безалкогольних напоїв : підручник. Вінниця: Нова Книга, 2007. 392 с.

18. Методи контролю якості харчових виробництв: лабораторний практикум для студ. напряму 6.051701 «Харчові технології та інженерія» професійного спрямування «Технології харчування» ден. та заоч. форм навч. / уклад. А. В. Неміріч, О. О. Петруша, К. А. Науменко, О. М. Вашека. Київ: НУХТ, 2014. 116 с.

19. Методичні рекомендації до виконання магістерської роботи для студентів спец. 8.05170106 «Технології продуктів бродіння і виноробства» денної та заочної форм навчання / уклад. А.М. Куц, П.Л. Шиян, А. Є. Мелетьев. Київ: НУХТ, 2015. 43 с.

20. Нарцисс Л., Бак В. Краткий курс пивоварения; пер. с нем. А.А. Куреленкова. Санкт Петербург: Профессия, 2007. 640 с.;

21. Охорона праці в галузі: Метод. вказівки до вивч. дисципліни та викон. контрол. роботи для студентів напряму 0917 «Харчова технологія та ін-женерія» та 0906 «Хімічна технологія та інженерія» ден. та заоч. форм навчання / уклад. М.П. Гандзюк, М.П. Купчик, В.С. Гуць. Київ: НУХТ, 2001. 36 с.

22. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія : підручник. Київ: НУХТ, 2004. 471 с.

23. Прист Ф. Дж., Кэмпбелл Й. Микробиология пива / пер. с англ. под общ. ред. Т. В. Мелединой, Т. Сойдла. Санкт – Петербург : Профессия, 2005. 368 с.

24. Про правила пожежної безпеки для навчальних закладів та установ системи освіти України : Закон України від 15 серпня 2016 р. № 974. *Відомості Верховної Ради України.* 2016. № 1229/29359.

25. Про правила технічної експлуатації електроустановок споживачів : Закон України від 25 липня 2006 р. № 258. *Відомості Верховної Ради України,* 2017. № 132/30000.

26. Романова З. М., Прибильський В. Л., Дарменко Ю. Дослідження пивних дріжджів, які застосовують при зброджуванні у ЦКБА. *Харчова промисловість*, 2008. № 6. С. 59 – 61.

27. Сучасні способи активації процесів розмноження та ферментації пивоварних дріжджів / М. В. Карпутіна, З. М. Романова, В. М. Сидор, Д. Д. Карпутіна. *Обладнання та технології харчових виробництв*, 2012. Вип. 28. С. 125

– 130.

28. Цивільна оборона: курс лекцій «ЦО на підприємствах харчової промисловості» для студентів усіх спеціальностей денної та заочної форм навчання / уклад. О.П. Слободян, В.А. Заєць, Т.М. Чорна, Л.П. Нецадим. Київ: НУХТ, 2011. 125 с.;

29. Цивільний захист: курс лекцій для студентів усіх спеціальностей освітньо-кваліфікаційних рівнів «спеціаліст» і «магістр» денної та заочної форм навчання / уклад. О. В. Хіврич, Н. В. Володченкова. Київ: НУХТ, 2015. 207 с.

30. Цивільний захист на підприємствах харчової промисловості: навч. посіб. / заБ. Д. Харулова. Київ: «Центр учбової літератури», 2015. 192 с.

31. Vafncova P., Domy Z. Smogrovicova., *Folia Microbiol*, 2000. № 45. P. 335 – 338.

32. Impact of Serial Repitching on Lager Brewing Yeast Quality / C. L. Jenkins et al. *Journal-American society of brewing chemists*, 2003. Vol. 61, Issue 1. P. 1 – 9.

33. Net effect of wort osmotic pressure on fermentation course, yeast vitality, beer flavor, and haze / K. Sigler, D. Matoulková, M. Dienstbier, P. Gabriel. *Microbiol Biotechnol*, 2009. Vol. 82 (6). P. 1027 – 1035.

34. The Metabolism and Molecular Physiology of *Saccharomyces cerevisiae* / edited by J. R. Dickinson, M. Sweizer. London: CRC Press, 2004. 480 p.

35. Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи. Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях (відділах, відділеннях) мікробіологічного профілю : нормативний документ / Міністерства охорони здоров'я України. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0001588-02#Text> (дата звернення 11.01.2024).

36. Раси дріжджів : веб – сайт. URL : <https://studfile.net/preview/7878956/page:3/> (дата звернення 15.12.2023).

37. Раси пивних дріжджів : веб – сайт. URL : http://chemanalytica.com/book/novyy_spravochnik_khimika_i_tekhnologa/06_syre_i_produkty_promyshlennosti_or_ganicheskikh_i_neorganicheskikh_veshchestv_chast_II/5418 (дата звернення 14.12.2023).

38. Changes in the Yeast Metabolism at Very High-Gravity Wort Fermentation : веб – сайт. URL : <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02817557> (дата звернення 27.11.2023).

ДОДАТКИ

ДОДАТОК А

Затверджено на засіданні
кафедри біотехнології продуктів
бродиння і виноробства НУХТ,
протокол № ____
від « » _____ 2023 р.
Зав. кафедри _____ А. М. Куц

РОБОЧА ПРОГРАМА

кваліфікаційної роботи на тему:
**«ДОСЛІДЖЕННЯ УМОВ ПРИГОТУВАННЯ І ЗБЕРІГАННЯ ПИВНИХ
ДРІЖДЖІВ НА ЇХ БІОСИНТЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ»**

ВСТУП

1 ВПЛИВ ПОКАЗНИКІВ ПИВНИХ ДРІЖДЖІВ НА ЇХ БІОСИНТЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД)

- 1.1 Біологія дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*
- 1.2 Роль дріжджів у виробництві пива
 - 1.2.1 Пивні дріжджі та їх основні властивості
 - 1.2.2 Вплив стресів на пивні дріжджі
 - 1.2.3 Роль метаболізму пивних дріжджів в пивоварінні
 - 1.2.4 Вимоги, що пред'являються до дріжджів у пивоварінні для забезпечення високої якості продукту
- 1.3 Побічні продукти бродиння, які впливають на аромат і смак пива
 - 1.3.1 Характеристика основних побічних продуктів бродиння та їх роль у формуванні органолептичних показників пива
 - 1.3.2 Вплив деяких технологічних факторів на якісний та кількісний склад летючих речовин пива
- 1.4 Висновки, мета та завдання дослідження

2 МАТЕРІАЛИ, МЕТОДИ ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

- 2.1 Матеріали досліджень
- 2.2 Методи досліджень
- 2.3 Методика досліджень

3 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ТЕМПЕРАТУРИ НА БРОДИЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ДРІЖДЖІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА)

- 3.1 Дослідження впливу різних рас дріжджів на фізико-хімічні показники сусла
- 3.2 Дослідження впливу температури приготування на бродильну активність сусла
- 3.3 Дослідження впливу температури зберігання на фізіологічний стан дріжджів
- 3.4 Висновки до розділу

4 ОПТИМІЗАЦІЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ

5 СОЦІАЛЬНО-ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ РОБОТИ

6 ОХОРОНА ПРАЦІ

**7 ЦИВІЛЬНИЙ ЗАХИСТ
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ
ДОДАТКИ**

Магістрант

Анастасія КРАВЧУК

Керівник роботи, доцент, к.т.н.

Микола БОНДАР