

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему:

«Розроблення складу мікробної композиції для приготування червоного
фландрійського елю за прискореною технологією»

Рівень вищої освіти другий (магістерський)
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія

Виконала: студент групи МгБТ-23

Бондаренко В.Л.

Науковий керівник: к.б.н., доц. Юнгін О.С.

Рецензент: к.т.н., доц. Охмат О.А.

Київ 2024

КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ

Факультет хімічних та біофармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології, шкіри та хутра
Рівень вищої освіти другий(магістерський)
Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія
Освітня програма Біотехнологія

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри БШХ

_____ Олена МОКРОУСОВА

«___» _____ 20__ р.

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТУ
Бондаренку Валерію Леонідовичу

1. Тема кваліфікаційної роботи: **Розроблення складу мікробної композиції для приготування червоного фландрійського елю за прискороною технологією**

Науковий керівник роботи Охмат Олена Анатоліївна, к.т.н., доц.
затверджені наказом КНУТД від «03» вересня 2024 року № 188-уч

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: завдання на кваліфікаційну роботу; наукова література та інформація що до комерційних та некомерційних способів виробництва червоного фландрійського елю; історичні відомості щодо характеристик стилю

3. Зміст кваліфікаційної роботи: Огляд літератури, огляд компонентів для приготування сусла, об'єкт, мета та методи дослідження, експериментальна частина, висновки, список використаних джерел.

4. Дата видачі завдання _____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапу кваліфікаційної роботи	Орієнтовний терміни виконання	Примітка про виконання
1	Вступ	10.09.2024	
2	Розділ 1 Огляд літератури та історичні відомості	11.09.2024	
3	Розділ 2 Об'єкт, мета та методи досліджень	30.09.2024	
4	Розділ 3 Експериментальна частина	17.10.2024	
5	Висновки	21.10.2024	
6	Оформлення кваліфікаційної роботи (чистовий варіант)	4.11.2024	
7	Подача кваліфікаційної роботи науковому керівнику для відгуку	19.11.2024	
8	Подача кваліфікаційної роботи для рецензування (за 14 днів дозахисту)	21.11.2024	
9	Перевірка кваліфікаційної роботи на наявність ознак плагіату (за 10 днів до захисту)	23.11.2024	
10	Подання кваліфікаційної роботи на підпис завідувачу кафедри (за 7 днів до захисту)	26.11.2024	

З завданням ознайомлений:

Студент _____ Валерій БОНДАРЕНКО

Науковий керівник _____ Ольга ЮНГІН

АНОТАЦІЯ

Бондаренко В.Л. Розроблення складу мікробної композиції для приготування червоного фландрійського елю за прискороною технологією. – Рукопис.

Кваліфікаційна робота за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія. – Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, 2024 рік.

У кваліфікаційній роботі розглянуто основні існуючі варіанти комерційних та некомерційних рецептур червоного фландрійського елю, варіанти його виробництва та ферментації, технологія прискороного виробництва на основі отриманих даних та дані до неї. В результаті досліджень розроблена мікробна композиція для прискорення технології приготування червоного фландрійського елю. Також було вибрано оптимальний зерновий склад готового суслу на основі робіт різних авторів.

Після проведення ферментації за допомогою отриманої мікробної композиції та витримування пива впродовж 30 днів було отримано експериментальний зразок, який за даними досліджень був подібний до заводських еталонів. Данний продукт був отриманий після 30 днів витримки замість класичних 2 років в бельгійських пивоварнях, що дає змогу стверджувати, що отримання цього сорту пива можна зробити більш комерційно доступним.

Ключові слова: червоний фландрійський ель, ферментація, мікробна композиція

ABSTRACT

Bondarenko V.L. Development of the composition of the microbial composition for the preparation of red Flanders ale using accelerated technology. – Manuscript.

Qualification work in the specialty 162 Biotechnology and bioengineering. – Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, 2024.

The qualification work considers the main existing options for commercial and non-commercial formulations of red Flanders ale, options for its production and fermentation, the technology of accelerated production based on the data obtained and data to it. As a result of the research, a microbial composition was developed to accelerate the technology of preparing red Flanders ale. The optimal grain composition of the finished wort was also selected based on the works of various authors.

After fermentation using the obtained microbial composition and aging of beer for 30 days, an experimental sample was obtained, which, according to research, was similar to factory standards. This product was obtained after 30 days of aging instead of the classic 2 years in Belgian breweries, which allows us to argue that obtaining this type of beer can be made more commercially available.

Keywords: red Flemish ale, fermentation, microbial composition

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

IBU - International Bitterness Unit (Міжнародні одиниці гіркоти,)

SRM - Standard Reference Method (стандартний еталонний метод,)

OG - Original Gravity (початкова щільність)

FG - Final Gravity (кінцева щільність)

ABV -Alcohol by Volume (об'ємна частка спирту)

ABW – Alcohol by Weight.

BJCP - Beer Judge Certification Program (програми сертифікації пивних суддів)

LAB - *Lactobacillus*

PGI - Protected Geographical Indication (захищене географічне зазначення)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	9
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	12
1.1 Світова популярність пива, популярність пива в Україні та вплив на економіку України.....	12
1.2 Історичні відомості про пиво, розвиток пивоваріння.....	13
1.3 Історія виникнення червоного фландрійського (фламандійського елю)	17
1.4 Червоний фландрійський ель та його традиційна рецептура.....	19
1.5 Розділення червоних та коричневих кислих елів, поява стилю червоний фландрійський ель.	20
1.6 Характеристика пива відповідно до Beer Judge Certification Program (програми сертифікації пивних суддів, BJCP).....	22
1.7 Огляд компонентів для варки сусла та огляд рекомендацій щодо виготовлення червоного фландрійського елю.	25
1.7.1 Вода	26
1.7.2 Джерело цукрів	26
1.7.3 Основні види і сорти пивоварного солоду. Базовий солод.	27
1.7.4 Хміль	31
1.8 Інші рекомендації та рецепти виробництва цього стилю дають пивовари та експерти з різних частин світу.....	36
Висновки до розділу 1	42
РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	43
2.1 Спосіб приготування сусла	43
2.2 Вибір оптимальної комбінації мікроорганізмів для ферментації	44
2.3 Вимірювання вмісту глюкози	45
2.4 рН зразків	45
2.5 Оптична густина зразків.....	45
2.6 Оцінка біоплівкоутворення	45
2.7 Визначення густини зразків вільних від клітин.....	46
2.8 Визначення кількості бактеріальних клітин	46
2.9 Визначення вмісту спирту.....	46

2.10 Оцінка органолептичних властивостей	46
2.11 Ферментація	46
2.12 Витримка та розлив	47
2.13 Дослідження впливу послідовності додавання компонентів інокуляту на показники ферментації	47
Висновки до розділу 2	47
3.1. Первинний скринінг інокуляту в малих об'ємах сусла.	48
3.2 Подальша розробка дріжджево-бактеріальної композиції	50
3.3 Вплив послідовності додавання компонентів смолки у виробництві кислого пива з використанням дріжджів і LAB за розробленої прискореної технології отримання молодого пива стилю червоний фландрійський ель	58
Висновки до розділу 3	62
ВИСНОВКИ	64
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	65
ДОДАТКИ	71

ВСТУП

Пиво є одним із найпопулярніших напоїв в світі. В деяких країнах споживання пива на людину в рік доходить майже до 200 літрів. Також пивна індустрія забезпечує великі надходження в бюджет країни у вигляді національної та іноземної валюти. В світі з'являється все більше малих крафтових пивоварень, які забезпечують людей робочими місцями та вироблять ексклюзивний продукт який може стати всесвітньовідомим та забезпечити популярність місцю його винекнення.

Крафтове пивоваріння також стимулює відродження забутих, випуск локальних та появу нових стилей за для поповнення асортиментів їх продукції. Одним із таких сортів пива є червоний фландрійський ель.

Актуальність роботи полягає в тому, що виготовлення деяких традиційних стилів пива є дуже довгим та трудомістким процесом, що не дає можливість маленьким пивоварням виробляти його, але за допомогою прискорення технологій виготовлення ці стилі пива, одним з яких є червоний фландрійський ель (термін виготовлення в Бельгії до 2х років), можуть вироблятись на маленьких або мікропивоварнях, тим самим розширюючи їх асортимент, збільшують їх авторитетність на міжнародній арені та допомагають зберігати та поширювати інформацію про нестандартні сорти пива серед населення, розвиваючи пивну культуру.

Науковою новизною моєї роботи є розробка мікробної композиції для прискорення технології приготування червоного фландрійського елю.

Метою роботи є розробка мікробної композиції для пришвидшення технології приготування стилю пива червоний фландрійський ель. Для досягнення мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. Дослідити інформацію та розробити зерновий склад затору та розрахувати вміст додаткових компонентів, які необхідно додати в сусло.
2. Розробити склад мікробної композиції для прискорення технології виготовлення червоного фландрійського елю.

3. Отримати експериментальний продукт, що має фізико-хімічні та органолептичні характеристики подібні до комерційних аналогів та стандартів, що наводять в ВІСР.

Об'єкт дослідження – сорт пива червоний фландрійський ель.

Предмет дослідження – процес розробки мікробної суміші для прискореної технології ферментації червоного фландрійського елю.

Методи досліджень, що використовували в роботі: культивацийні методи, фізіолого-біохімічні та методи органолептичної оцінки.

Практичне значення. Робота може бути основою для комерційного виготовлення пива в стилі червоний фландрійський ель за до допомогою мікробної композиції, що прискорює технологією виробництва та здешевлення виготовлення цього пива. Також може послужити основою для майбутніх досліджень цього пива з вивченням інших його характеристик.

За основу використовувалась інформація з відкритих джерел, дослідження відомих пивних експертів (Майкл Джексон), поради експертів з пивоварних журналів та книг (Джеф Спароф, Джаміль Зайнишев), а також інформація та поради від власників пивоварень та стандарти ВІСР.

Апробацію наукових результатів здійснено на міжнародній науковій конференції «Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування» 25-26 квітня 2024 року, Харків, Україна.

Публікації. Автор кваліфікаційної роботи є співавтором статті у фаховому виданні, що внесений до переліку видань категорії «Б».

Бібліографія опублікованих робіт: Бондаренко В. Л., Юнгін О. С. Дослідження оптимальної мікробної композиції для виробництва червоного Фландрійського (Фламандійського) елю за прискореною технологією. Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування: матеріали Міжнар. наук. конф., 25-26 квітня 2024 р. Харків: ДБТУ, 2024. С. 103-104. (ДОДАТОК А)

Bobyry I.M., Bondarenko V.L., Iungin O.S. Optimization of culture media for industrial cultivation of the recombinant strain Escherichia coli BL21. *Український*

<https://doi.org/10.32782/naturaljournal.9.2024.2> (ДОДАТОК Б)

Структура і обсяг кваліфікаційної роботи. Основна частина дипломної магістерської науково-дослідницької роботи викладена на 64 сторінці, і включає три основні розділи та висновки. В роботі представлено список використаних джерел, що налічує 72 найменування публікацій вітчизняних та зарубіжних дослідників.

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Світова популярність пива, популярність пива в Україні та вплив на економіку України.

Пиво є одним з найпопулярніших напоїв в світі. За даними різних джерел воно посідає третє або четверте місце за популярністю у світі. Так, наприклад, за даними отриманими компанією Bootstrap Beverages, які були опубліковані 16 липня 2022 року пиво зайняло 4те місце за популярністю, поступившись воді, чаю та каві [10].

В багатьох країнах світу люди споживають великі об'єми пива на рік. За даними японської пивоварної компанії Kirin, загальний обсяг споживання пива у світі становить 192,1 млрд літрів, що на 2,9 % більше, ніж 2021 року, і на 1% більше, якщо порівнювати з 2019 роком [3].

Найбільшим споживачем пива вже 20 років залишається Китай. Якщо порівнювати з 2021 роком, споживання там зросло на 2,5% і становить 42 млрд літрів. Це 21,9% усього світового пивного ринку. Друге місце посідають США, де споживання скоротилося до 20,4 млрд літрів. Це 10,6% усього споживання пива у світі. Третє місце – за Бразилією, де випили 14,9 млрд літрів пива. Мексика піднялася з п'ятого на четверте місце через зростання рівня споживання з 8,7 млрд до майже 10 млрд літрів [13].

Також до десятки країн увійшли Німеччина (7,8 млрд літрів), В'єтнам (5,3 млрд), Велика Британія (4,6 млрд), Іспанія (4,4 млрд) і Японія (4,3 млрд). Україна, яка з 2000 року входила до переліку 25 країн світу за споживанням пива, опустилася з 18-го місця 2021 року на 27-ме 2022 року.

За обсягом споживання на душу населення з 1993 року безперервно лідує Чехія, де показник становить 188,5 літра. Швидке зростання продемонструвала Ірландія, яка піднялася з 15-го на четверте місце з 99,3 літра на людину.

Також до десятки країн входять Австрія (зберегла друге місце з 101,2 літра), Польща (піднялася з четвертого на третє місце з 99,6 літра), Литва (97,6 літра), Іспанія (95,1 літра), Німеччина (93,3 літра), Естонія (93,1 літра), Румунія (91,6 літра) і Намібія (90,8 літра) (рисунок 1.1) [3].



Рисунок 1.1 Споживання пива на душу населення за рік, в літрах

В Україні споживають в середньому 50 літрів пива на рік, що майже в 2 рази менше, ніж у Польщі, Румунії. В Україні працює чотири компанії-виробники пива, які представляють великий бізнес (SAN InBEV Ukraine, Carlsberg Ukraine, Оболонь, Перша приватна броварня), 16 компаній-виробників, що відносяться до середнього бізнесу (Бердичівський пивзавод, Опілля, Уманьпиво, Броварня «Микуличин» та інші), і понад 200 міні- і мікропивоварень (Rebrew, VARVAR, Underwood Brewery, Molfar Brewery та інші). Виробництво пива має безпосередній вплив на вісім з чотирнадцяти галузей економіки, починаючи з сільського господарства і солодової промисловості до транспортних перевезень та логістики, торгівлі, машинобудування, енергетики, харчових та мікробіологічних досліджень, сфери громадського харчування та тимчасового розміщування, виробництва тари та упаковки[13].

1.2 Історичні відомості про пиво, розвиток пивоваріння.

Історія пивоваріння сягає епохи неоліту. Пиво - найдавніший напій, відомий людству. Висловлюється версія, що перше пиво з'явилося в результаті контрольованої ферментації врожаю, що дозволяла зберегти поживні речовини зерна за рахунок свіжості [1].

Відомо кілька місць, де пивоваріння могло йти у 8 тисячолітті до н. е. і раніше: у Гебеклі-Тепі (рисунок 1.1.3) виявлено пустотілі контейнери, в яких могла проходити ферментація диких злаків [1], у печері Ракефет в Ізраїлі (рисунок 1.1.2) є

сліди густого кашеподібного пива, звареного в 11 тисячолітті до н.е. [14, 15].

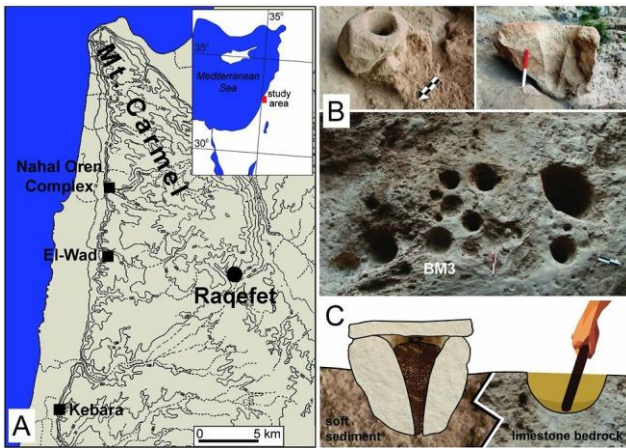


Рисунок 1.1.2 Печера Ракефет та артефакти з неї. [24]. А – географічне розміщення печери; В – пристосування, які використовувувались для пивоваріння; С – технологія виготовлення пива тих часів.



Рисунок 1.1.3 Гебеклі-Тепі. [25]

Точний час початку пивоваріння невідомий, проте археологічні дані свідчать, що пиво варили у Месопотамії у 6 тисячолітті до нашої ери [14]. Пивоварінням займалися жінки. Для приготування шумерського пива ячмінь пророщували, сушили на вогні чи повітрі, потім видаляли проростки, змолювали отриманий солод і додавали до випечених із простого ячменю з підсолоджувачами спецій які називались «пивним хлібом». Перше пиво пили з великих спільних чаш через довгі соломинки, що відфільтровували тверді частинки. До 1800 до н.е. пиво стали фільтрувати перед подачею, і соломинки вийшли із вживання [1].

Пиво користувалося великою популярністю: воно було безпечніше за воду, яку часто забруднювали відходи сільського господарства. До 3500 до н. е. в Уруці вже з'явилося понад 20 сортів пива: «міцне», «червоно-коричневе», «пресоване», «темне»,

«добре темне» та інші [1]. Пиво було дуже важливим для шумерів, його приготування описано в Епосі про Гільгамеш, а в Законах Хаммурапі містяться вказівки з пивоваріння та продажу готового напою [26]. Пивом платили зарплату: так, робітники отримували силу (сила – близько літра) пива на день, чиновники нижчих рангів – 2, найвищих – до 5 [26]. Пиво шумерів було дуже густим та поживним, воно виконувало важливу роль у шумерському суспільстві; їм завідувала окрема богиня Нінкасі [26].

У IX столітті пивоваріння поряд з медоваренням було поширене на землях Київської Русі, Новгородських, Псковських і Полоцьких князівств. Пиво та мед варилися всіма станами, обидва напої були предметами внутрішньої та зовнішньої торгівлі. Існує думка, що раніше, у VII-IX століттях східні слов'яни варили пиво з проса та жита, які були широко поширені, проте потім у X-XII століттях пиво все частіше починають виготовляти з ячмінного солоду та борошна. У Новгороді бочки для варіння напою з ячменю знайшли в більшості розкопаних будинків, новгородське віче приймало закон, який встановлював ціну пива і вимоги до якості пива. До XI століття на Русі почали поширюватися питні заклади — корчми. З розвитком пивоваріння у багатьох російських князівствах почало розвиватися хмелярство, вперше ж хміль згадується в Лаврентіївському літописі 985 року [6].

У Новгородській берестяній грамоті № 3 (1360-1380 роки) згадуються перевар і ячмінне пиво.

В Європі пиво широко вживалося як безпечна альтернатива воді. Більшість населення пило слабке ячмінне пиво, а багаті та знати могли собі дозволити пити міцніші сорти пива та солодку медовуху [1].

Алеманська правда свідчить, що у 719 року по закону всі германці могли варити пиво вдома; у Великій Британії домашнє пивоваріння поширилося у XII столітті. Вікінги брали пиво з собою у плавання у 800-х роках нашої ери [1].

Слово «ель» (англ. en, ale) існувало вже в давньоанглійській мові (у формі ealu), а там з'явилося із загальнонімецького кореня *aluth; при цьому до XVII століття воно означало напій, при виробництві якого не використовувався хміль, на відміну від слова beer. Британський ель до XVI століття готувався без хмелю, і пиво часто прокисало [1].

Монастирі стали першим великим центром пивоваріння в Середньовіччі. Відомо, що цей напій виготовляли у бенедиктинських монастирях - у швейцарському Монастирі Святого Галла та баварському Вайхенштефанському абатстві. Пиво для себе і на продаж варили у VII-VIII століттях. Траппістське пиво виробляється монастирями із Середніх віків та у XXI столітті [8].

У південній Німеччині монастирі були основними постачальниками пива в Середні віки, зокрема, в Баварії, яка залишалася переважно виноробним регіоном до Тридцятирічної війни [8]. Усі ранні види монастирського пива були елями, де за ферментацію зазвичай відповідають *Saccharomyces cerevisiae* - також відомі як «пекарські» або «винні» дріжджі - найбільша активність яких вимагала температури близько 21°C [14]. У лагерних сортів же бродили інші дріжджі, *Saccharomyces pastorianus*, які вимагали 5-12° С а також опускалися вниз ємності, залишаючи нагорі темну, прозору та газовану рідину замість світлої каламутної рідини в елях [1].

Кількість різновидів бельгійського пива дуже велика для країни такого невеликого розміру. Це обумовлено кліматом країни: виноград тут не виріває, і місцеве вино не виробляється. У Бельгії варять солодові елі-дубелі і -трипелі, блонд-елі, янтарний ель, «шампанське пиво», коричневий і червоний фландрійські елі, сезонне пиво, Б'єр-де-Гарди, а також ламбік, у якого є фруктові різновиди: вишневий крик, малиновий фрамбуаз, персиковий пещерес та інші [1].

Бельгійські пивовари так само, як і німецькі, переважно були ченцями, проте, на відміну від східних сусідів, продовжували виробляти переважно ель [14]. При цьому більшість бельгійських монастирів припинила існування під час Нідерландської революції і конфліктів XVI—XVIII століть, що послідували за нею, через що сучасні бельгійські «монастирські елі» в основному виробляються у відновлених з того часу абатствах. Особливий різновид монастирського пива - траппістський ель, який варили в абатствах ченців-трапістів, що відкололися від цистеріанського ордену в 1664; всі пивоварні трапістів, крім однієї, засновані після 1835 року [1].

Бурхливий розвиток техніки та технології пивоваріння призвели до повної індустріалізації галузі та практично витіснили з ужитку домашнє та кустарнє

виробництво. Однак останніми роками спостерігається повернення на ринок міні- та мікропивоварень, оснащених досконалим обладнанням.

1.3 Історія виникнення червоного фландрійського (фламандійського елю)

Фландрія — це північна частина Бельгії, яка нині визначається п'ятьма графствами або провінціями: Східна та Західна Фландрія, Фламандський Брабант, Лімбург і Антверпен. Офіційною мовою є голландська, на якій розмовляють різними місцевими фламандськими діалектами [7].

Спочатку «Фландрія» була назвою регіону, який приблизно охоплював сьгоднішні провінції Східна та Західна Фландрія в Бельгії, регіон Французька Фландрія у Франції та Зевс Фландрія в Нідерландах. Справа ускладнюється тим, що «Фландрією» тепер називають голландськомовною частиною Бельгії, яка включає регіони, які раніше не входили до складу Фландрії: провінції Антверпен, Фламандський Брабант і Лімбург (рисунок 1.3).



Рисунок 1.3.1 Сучасні території Фландрії [27]

Як і багато в чому в сучасній Бельгії, її традиції пивоваріння відрізняються від традицій франкомовного півдня, Валлонії, хоча вони зберігають певну спорідненість з іншими частинами старої Фландрії [7].

До прийняття хмелю як одного з основних компонентів пива, пивовари подовжували термін придатності свого пива, додаючи трав'яні суміші під назвою *gruut* (також *grut* або *gruit*), щоб зупинити окислення, зробити пиво гірким і замаскувати неприємні нотки псування.

Власники найкращих рецептів гріоту мали значну владу, особливо в середньовічному Брюгге, і донині фламандське пиво часто містить суміш трав і спецій, принаймні частково для продовження давньої традиції регіону.

Інша, цілком окрема практика, яка збереглася особливо в південній частині провінції Західна Фландрія, полягає в витримці (зазвичай коричневого) елю в дубових баках протягом тривалого часу, іноді до 2 років. Витримка в дубі дозволяє відбутися молочнокислому бродінню та додатковому кондиціонуванню за допомогою повільно діючих дріжджів, що робить пиво злегка кислим, як добре витримане вино, хоча багато сортів пізніше пом'якшуються додаванням молодшого пива [7].

Ця традиція має спільну історію з англійськими стоковими елями. Найчудовіші приклади – у Rodenbach у Roeselare (Рисунок 1.3.2А) та меншій сімейній пивоварні Verhaeghe у Vichte (Рисунок 1.3.2Б), на схід від Kortrijk [7].



Рисунок 1.3.2. Приклади пивоварень: А) пивоварня Роденбах Б) Верхаге [28, 29]

Rodenbach — бельгійська пивоварня, розташована в місті Розеларе, Західна Фландрія, відома своїми кислими червоними елями. У середині XVIII століття Фердинанд Роденбах мігрував до Фландрії з німецької Рейнської області. Його нащадки занурилися в місцеву торгівлю, політику та культуру, і їхні інтереси до

пивоваріння почалися, коли Педро Роденбах забезпечив партнерство в пивоварні Roeselare у 1821 році, ставши власником у 1836 році. Однак тон задав онук Педро, Ежен Роденбах. Для розвитку бізнесу, коли він подорожував до Англії та вивчав виготовлення портерів, дізнавшись більше про підкислення, старіння деревини та змішування [7].

1.4 Червоний фландрійський ель та його традиційна рецептура

Червоний фландрійський ель є фірмовим напоєм північно-західної провінції Бельгії, Західної Фландрії. Пиво характеризується червоно-коричневим відтінком і збалансованою, але наполегливою кислотністю. Процес бродіння зазвичай здійснюється шляхом змішаного бродіння дріжджів і лактобактерій з наступною тривалою витримкою в дубових бочках. Цей процес пивоваріння та бродіння тісно пов'язаний із бельгійським кислим коричневим елем, і хоча англомовні експерти [4, 5, 7] зараз розрізняють два стилі, бельгійські використовують термін «кисле коричневе пиво» для обох видів.

Червоні фландрійські елі — це регіональне пиво з вмістом алкоголю близько 5% за об'ємом і з легкою освіжаючою терпкістю. Пивоварня Rodenbach є однією з найвідоміших пивоварень, що виготовляють даний вид пива.

Традиційний технологічний процес розроблений Роденбахом включає два різних типи кислих елів. Обидва варяться з базового мюнхенського солоду з використанням карамельного солоду, кукурудзяної крупи та спецій. Їх злегка охмелюють для отримання гіркоти приблизно 12–20 міжнародних одиниць гіркоти на початку кип'ятіння. Важке пиво з початковою щільністю приблизно 13° проходить тижневу змішану лактобактерійно-дріжджову ферментацію. Дріжджі, що осіли, видаляються, і пиво проходить первинну витримку протягом 6-8 тижнів у горизонтальних резервуарах при температурі близько 15°C (59°F), щоб осіли залишки дріжджів і анаеробні бактерії виробили молочну кислоту. Вторинна витримка триває від 18 до 24 місяців у вертикальних дубових чанах, кожна з яких містить від 100 до 660 гл (від 85 до 560 барелів). За цей час в пиві утворюється молочна кислота, оцтова кислота та етанолові ефіри цих кислот, етиллактат і етилацетат. Деревина пориста і не може бути стерилізована, тому бактерії, що містяться в деревені відрізняються від

бочки до бочки, містить дріжджі *Saccharomyces* і *Brettanomyces*, а також молочно-оцтовокислі бактерії. Зверху пива утворюється міцна плівка (шкіра), зв'язана ниткоподібними дріжджами. Після вторинної витримки в дубі, пиво розливалось просто як Rodenbach Grand Cru. Сьогодні кислинку Grand Cru було зменшено шляхом розбавлення більш легким купажним пивом. Більш легке купажне пиво вариться при 11,5° з тим самим тижневим змішаним бродінням, після чого витримується протягом 4-6 тижнів у металевих резервуарах з нержавіючої сталі для подальшого розвитку молочної кислинки. Більш легке варіння, змішане у вищих пропорціях з пивом, витриманим у деревині називається просто Rodenbach [7].

До початку 20го століття пивоварня Rodenbach продавала свої дріжджі пивоварням у радіусі 50 км (30 миль) від Розеларе, і ці пивоварні виготовляли з них власне бельгійське червоне, кисло-коричневе або інше пиво. Спільне використання дріжджів було дуже поширеним на пивоварнях Європи. Змішану дріжджову суспензію використовували для змішаного бродіння в Ichtegems з пивоварні Strubbe, Liefmans і Goudenband з пивоварні Liefmans, Oerbier з Dolle Brouwers, Vichtenaar і Duchesse the Bourgogne з пивоварні Verhaeghe, Felix з Brouwerij Clarysse та Damy Brewery в Olsene [7].

1.5 Розділення червоних та коричневих кислих елів, поява стилю червоний фландрійський ель.

Головною складністю є різниця між коричневим фландрійським і червоним фландрійським елем. І «коричневий», і «червоний» ель є продуктами змішаного бродіння за участю лактобактерій, і їхні смаки дуже схожі. Більшість сортів пива, які сьогодні відносяться до червоних фландрійських елів, раніше ідентифікували себе як коричневий ель. Роденбах який вважається еталоном червоного фландрійського елю, називав себе «свіжим маленьким коричневим» на своїх етикетках до 1990 (рисунок 1.5). Ichtegems Oud Bruin досі називає себе саме так.



Рисунок 1.5. Етикетка пива пивоварні Роденбах за 1990 рік [30]

В традиційній літературі про бельгійське пиво немає згадки про «червоне» пиво у Фландрії чи в інших частинах Бельгії. Однак, у Всесвітньому путівнику по пиву Майкла Джексона (1977 рік) описано різноманітні сорти бельгійського пива та унікальний смак деяких традиційних сортів, наприклад ламб'ік.

Одним із сортів пива, який описав Джексон, був Rodenbach з Roeselare. «Це темне пиво, відоме просто за назвою свого виробника, краще відповідає епітету «червоне», ніж будь-яке англійське пиво мідного кольору, яке іноді подібно описують у континентальній Європі» [5].

У 1991 році Джексон у *The Great Beers of Belgium* розділив червоний та коричневий кислі елі на два різних сорти. У розділі «Коричнєве пиво» описано кисле пиво Ауденарде, таке як: Liefmans і Roman. У розділ червоне кисле пиво Західної Фландрії, він в основному розповідає про Rodenbach. Джексон описує різницю між двома сортами так: пиво Західної Фландрії «має дещо більш червонуватий вигляд, воно має або тонше, або щільніше «тіло», і в будь-якому випадку більш виражене кисле відчуття в роті (менше молочної кислоти, більше оцтової кислоти) [4].

Після книги Джексона 1991 року з'являється поняття про витримку червоного елю в дерев'яних чанах, які називаються фудерами, тоді як коричневий ель в них не витримується.

Деякі бельгійські пивоварні називають своє пиво «roodbruin» (червоно-коричневе): Rodenbach, Vander Ghinste, De Brabandere та Verhaeghe. Omer Vander Ghinste змінив стиль Bellegems Bruin на Vander Ghinste Oud Bruin у 2012 році, і у 2016 став Vander Ghinste Roodbruin (рисунок 7). De Brabandere зробив те саме, Petrus Oud Bruin перейменували в Petrus Roodbruin.

У 2011 році Rodenbach, Vander Ghinste, De Brabandere та Verhaeghe подали заявку на отримання захищеного географічного зазначення (PGI) для «фламандського червоно-коричневого пива». Проте, такий європейський знак ще не отриманий.



Рисунок 1.5.1. Етикетка пива Vander Ghinste Roodbruin у 2012 та 2016 роках [30]

1.6 Характеристика пива відповідно до Beer Judge Certification Program (програми сертифікації пивних суддів, ВJСР)

ВJСР – одна з найавторитетніших організацій в світі пива. Вона виникла ще в 1985 році, і їх стандарти використовують для різних міжнародних та локальних пивоварних конкурсів, а також опираються такі міжнародні видання як Wall Street Journal [31], журнал для членів Американської асоціації домашніх пивоварів [32, 33], та деякі інші видання. Тому при подальшому аналізі Фландрійського червоного елю, в даній роботі буде використана ця стандартизація.

ВJСР відносить червоний фландрійський ель до Європейських кислих елів. Йому присвоєний код 23В. Цифра «23» в коді означає, що даний стиль пива відноситься до Європейських кислих елів, літера «В» означає підгрупу фландрійський червоний ель. На 2021 рік в ВJСР Beer Style Guidelines налічується 31

основний стиль пива, кожен має багато підгруп. Також є стилі пива, які не відносяться до жодної групи і виділені в окремі розділи, наприклад New Zealand Styles [17]. Відповідно до програми сертифікації він повинен мати такі характеристики: [17]

Загальне враження

Червонувато-коричневий ель у бельгійському стилі, витриманий у дубі з кислінкою та фруктовими відтінками, із підсмаженим солодовим смаком і фруктову складністю. Сухий дубильний відтінок підтримує враження марочного червоного вина.

Зовнішній вигляд

Насичено-червоний, від бордового до червонувато-коричневого кольору. Хороша чіткість. Голова від білого до дуже блідо-коричневого. Утримання голови від середнього до хорошого.

Аромат

Складний фруктовий-кислий профіль з підтримкою солоду. Фруктовий смак високий і нагадує чорну вишню, апельсин, сливу, червону смородину або фруктову шкірку. Ванільний, шоколадний або перцевий фенол може бути присутнім для складності. Кислий аромат коливається від помірного до сильного. Домінуючий оцетовий характер недоречний, хоча вміст оцтової кислоти від низького до помірного допустимий, якщо він збалансований із солодом. Без хмелевого аромату.

Смак

Солодовий смак від помірного до помірно сильного часто має м'який підсмажений смак. Насичений фруктовий смак, ті самі описи, що й для аромату. Складний, від помірної до високої кислінки, підкреслений складними ефірами; не повинно бути простої молочної кислінки. Домінуючий оцетовий характер є недоречним, хоча оцтова кислота від низького до помірного є прийнятною, якщо вона збалансована з солодом. Як правило, із посиленням кислого характеру солодовий характер стає більш фоновим (і навпаки). Ваніль, шоколад або перцеві феноли за бажанням від низького до середнього. Без хмелевого смаку. Стримана гіркота. Кислоти і дубильні речовини можуть посилити відчуття гіркоти, забезпечити баланс і структуру. Деякі версії підсолоджують або змішують, щоб бути солодкими;

допускає широкий діапазон рівнів солодкості, що може пом'якшити кислий смак і оцтове сприйняття.

Відчуття в роті

Середнє тіло, часто посилене танінами. Карбонізація від низької до середньої. Низька або середня терпкість, часто з колючою кислінкою. Оманливо легкий і хрусткий на смак, хоча дещо солодкий смак не є рідкістю.

Характерні інгредієнти

Віденський або мюнхенський солод, різноманітні карамельні солоди, кукурудза. Континентальний хміль з низьким вмістом альфа-кислот. *Sacch*, *Lacto*, і *Brett*. Витримано в дубі. Іноді змішані та підсолоджені (натуральні чи штучні).

Порівняння стилів

Менш насичений солодом, ніж Oud Bruin, часто має більш фруктову-терпкий і оцтовий профіль.

Параметри:

International Bitterness Unit (Міжнародні одиниці гіркоти, **IBU**)

Демонструють ступінь охмеленості пива, кількість розчинених ізо-альфа-кислот (гірких смол хмелю). Варіюються від 0 до 120. Чим вищий показник, тим сильніша гіркота, яка залежить від сорту і кількості використаного хмелю, а також від тривалості кип'ятіння [18].

Standard Reference Method (стандартний еталонний метод, **SRM**)

Визначення інтенсивності кольору пива, прийнятий Американським товариством пивоварів-хіміків у 1950 році. SRM виражається в десятиразовій оптичній щільності пива, вимірної хвилею синього світла довжиною 430 нанометрів, що проходить через 1 сантиметр пива в спектрофотометрі [18].

Original Gravity (початкова щільність **OG**) [18].

Питома вага неферментованого суслу, який обчислюють перед початком бродіння. Вимірюється ареометром.

Final Gravity (кінцева щільність **FG**)

Кінцева щільність пива, що встановлюється після бродіння. FG завжди нижча, ніж OG [18].

Alcohol by Volume (об'ємна частка спирту **ABV**)

Показник міцності пива, об'ємна частка спирту в готовому напої, зазначеного у відсотках (%). На американських етикетках міцність пива іноді позначається буквами ABW – Alcohol by Weight. Показник ABV приблизно на 25% вище, ніж ABW, оскільки спирт легший, ніж вода. Отже, ABV 4% в США буде мати значення ABW 3,2% [18].

Для червоного фландрійського елю ці параметри мають бути такі: IBU 10 – 25, SRM 10 – 17, OG 1.048 - 1.057, FG 1.002 - 1.012, ABV 4.6% - 6.5% [17].

Комерційні приклади:

Cuvée des Jacobins Rouge, Duchesse de Bourgogne, New Belgium La Folie, Rodenbach Classic, Rodenbach Grand Cru, Vichtenaar Flemish Ale (рисунок 1.6) [11].



Рисунок 1.6. Комерційні приклади червоного фландрійського елю [34, 35, 36, 37]

1.7 Огляд компонентів для варки сула та огляд рекомендацій щодо виготовлення червоного фландрійського елю.

Основними компонентами пива є вода та джерело зброджуваних цукрів, наприклад ячмінний солод. Більшість пива зброджується пивними дріжджами та ароматизується хмелем [43]. Найпоширенішим джерелом цукрів є мелені зернові культури або «зернова крупа», також використовують просо, сорго та маніоку [44]. Вторинні джерела цукрів (додатки), такі як кукурудза, рис або цукор, використовують у процесі приготування, інколи для зниження вартості, але частіше для додання певних специфік готовому продукту. Додавання пшениці допомагає зберегти пінистість пива [45]. Пропорцію цукрів або зернових інгредієнтів у рецепті пива називають затором [7].

1.7.1 Вода

Основний компонент пива це вода. У різних регіонах світу вода має різний мінеральний склад; в наслідок цього, спочатку лише деякі регіони були придатні для виготовлення певних сортів пива, що надавало їм регіонального характеру [46, 47]. Наприклад, у Дубліні є жорстка вода, яка добре підходить для приготування такого сорту пива як стауту (Guinness); у той час як Пльзень має м'яку воду, яка добре підходить для приготування світлого пива, такого як Pilsner Urquell [46]. Води Бертона в Англії містять гіпс, який сприяє виготовленню світлого елю до такої міри, що пивовари світлого елю додають гіпс у місцеву воду в процесі, відомому як буртонізація (додавання до води сульфатів, часто в формі гіпсу) [7].

1.7.2 Джерело цукрів

Цукри, що містяться в суслі відповідають за смак та міцність пива. Найпоширенішим джерелом цукрів, що використовується в пиві, є солод.

Солод — продукт штучного пророщування злакових культур таких як жито, ячмінь, овес, пшениця, просо. Являє собою частково пророщені зерна із запущеним ферментативним природним ланцюгом перетворень ендосперму зерна, характерного для періоду проростання. Використовується як проміжний продукт у виробництві пива, квасу, спиртних напоїв. Як результат, у зернах хлібних злаків, при пророщуванні утворюються амілолітичні і протеолітичні ферменти, що сприяють процесу солодування [48].

1.7.3 Основні види і сорти пивоварного солоду.

Базовий солод.

Базовий солод становить більшу частину засипу. Він забезпечує основну масу ферментів, альфа- і бета-амілазу, які повинні перетворювати крохмаль в цукор, при цьому не тільки власний, але і спеціальних солодів. Базовий солод можна класифікувати за багатьма параметрами: за кількістю зерен ячменю на стеблі (2- і 6-ти рядний), сорту ячменю (Maris Otter, Golden Promise і т.д.) або регіону, в якому ячмінь був вирощений (американський, англійський, континентальний і т.д.). Але частіше його класифікують так:

Лагерний солод (Пілснер)/Pilsner Malt (3-3,5 EBC) - традиційний світлий солод з 2-рядного пивоварного ячменю, основа більшості лагерів, бельгійських елів і європейського пшеничного пива. Сушиться при температурі не більше 80-85°C. Солод пльзенського типу активно використовується у виробництві віскі. Сучасний лагерний солод підходить для затирання методом інфузії, хоч і вважається менш модифікованим (білкові зв'язки порушені слабо, через це залишається багато не ферментованих білком і складних цукрів), ніж елевий солод. Частка засипу: до 100%.

Елевий солод/Pale Ale Malt (7-10 EBC) - базовий солод з високою ферментативною активністю, основа більшості британських і гірких сортів пива, а також світлих елів. Виробляється із спеціального 2-рядного, добре модифікованого пивоварного ячменю з пророщуваністю мінімум 97%. Сушка проводиться при 90-95°C, завдяки чому Пейл Ель забезпечує пиву глибшу кольоровість, а також більш насичений солодовий присмак в порівнянні зі світлим елевим солодом. Частка засипу: до 100%.

Пшеничний солод/Wheat Malt (3-5 EBC) - солод із зерен пшениці, має гарну ферментативну активність. Використовується для приготування пшеничного пива, а також в якості добавки до багатьох легких сортів пива верхового бродіння (кельш, альтбір, блонд-ель і т.д.) - сприятливо впливає на щільність смаку і стійкість піни, надає напою характерний пшеничний аромат. Через невелику кількість лушпиння в пшениці, солод містить менше танінів і як наслідок, більше білка, тому пшеничне пиво часто каламутне (якщо не застосовується білкова пауза). Частка засипу: до 80%.

Віденський солод/Vienna Malt (6-10 EBC) - сушиться при більш високій температурі, ніж лагерний солод, але при цьому зберігається досить висока ферментативна активність для частки в засипу від 60% до 100%. Добре поєднується з більшістю спеціальних солодів. Віденський - це виразний солод, який надає напою теплий солодовий аромат, ноти карамелі та ірису в смаку, а також гарний, від світло-бурштинового до темно-оранжевого, колір. Підходить для багатьох німецьких сортів пива. Частка засипу: 60-100%.

Мюнхенський солод/Munich Malt (15-25 EBC) - умовно базовий солод, діастатична активність якого дозволяє оцукрити свій крохмаль, але зазвичай використовується в засипу з одним з основних типів солоду. Досить 5-15% мюнхенського солоду, щоб надати пиву яскраво виражений солодовий аромат. Відмінний вибір для темних і бурштинових лагерів, світлих елів. Важливий інгредієнт пива типу бок (Bock). Частка засипу: до 60%.

Спеціальний солод

Цей тип солоду необхідний, перш за все, для того, щоб впливати на колір, смак, аромат, присмак, щільність тіла і інші характеристики пива. На відміну від базового, спеціальний солод містить мінімум ферментів або не містить їх зовсім, тому в засипі використовується в обмежених кількостях і лише з базовим солодом. Майже будь-який стиль пива - це 1 вид базового солоду і до 7-8 видів спеціального. Найбільш часті види спеціального солоду:

Бісквітний солод/Biscuit Malt (47-49 EBC) - злегка підсмажений бельгійський пльзенський солод. Надає пиву смак теплого хліба, аромат печива і післясмак підсмаженої скоринки. Надає напою глибокий бурштиновий відтінок. Практично не містить ферментів. Частка засипу: 3-15%.

Солод Вікторі/Victory Malt (47-49 EBC) - це прожарений тип солоду, за смаком нагадує бісквітний, але з горіховим післясмаком. Додає пиву помаранчеві відтінки. Частка засипу: 3-15%.

Карамельний солод/Caramel (Crystal) Malts (5-236 EBC) - велика група спеціального солоду. Для його виробництва використовують свіжо-пророщену культуру високої вологості (до 50%), яку на останніх етапах пророщування

нагрівають до 50°C для отримання продуктів гідролізу білків і цукрів. Потім солод витримують в спеціальних барабанах при температурі 60-70°C, в результаті чого крохмаль розріджується і оцукровується. В кінці солод сушиться або обсмажується при високій температурі і, як результат, утворені раніше цукри карамелізуються. Солод даного типу використовують практично для всіх елів і стилів пива з високою щільністю суслу. Він надає пиву карамельні відтінки в смаку, збільшує його щільність, підвищує смакові якості продуктів. Частка засипу: 5-25%.

Залежно від технології сушіння і обсмажування на останньому етапі, карамельний солод може бути прозорим (Carapils або Dextrin Malt), світлим і темним. Класифікація карамельного солоду дуже складна та часто відносна. Континентальні пивовари називають його карамельним, англійські - кришталевим. Основний американський карамельний солод це: Caramel 10, Caramel 40, Caramel 60, Caramel 80 і Caramel 120, де цифра позначає кольоровість за шкалою Lovibond (лежить в основі шкали SRM). У Німеччині: Cara Hell, Cara Red, Cara Amber. У Великобританії: Cara Stan. У Бельгії: Cara Vienne, CaraMunich, Cara Blond, Special B і т.д.

Кислий солод/Acidulated - спеціальний німецький солод, який виробляється шляхом часткового молочнокислого бродіння на світлому солоді. Зазвичай використовується для регулювання кислотності суслу, але також активно використовується для поліпшення затирання і бродіння. Робить світлі сорти пива більш насиченими, покращує стабільність смаку. Обов'язковий для приготування деяких автентичних стилів, наприклад, берлінер вайсу. Частка засипу: до 5%.

Меланоїдиновий солод/Melanoidin Malt (до 80 EBC) – подібний до мюнхенського солоду, але більш ароматний і темний. Містить велику кількість меланоїдинів. Підсилює смак пива, створює більш повне тіло, надає пиву насичений червоний колір, тому є обов'язковим інгредієнтом червоних елів. Частка засипу: до 20%.

Палений солод

Фактично є спеціальним солодом, але його виділяють в окрему групу. Палений солод піддається сушці і прожарюванню при високих температурах, в результаті чого солод отримує високу кольоровість, але повністю позбавляється ферментів і навіть

крохмалів. Використовується в дуже невеликих кількостях для додання пиву більшої кольоровості, складності смаку і аромату, кавових, шоколадних і палених відтінків в смаку. Найпоширенішими паленими солодами є шоколадний і чорний, а також смажений ячмінь.

Шоколадний солод/Chocolate Malt (близько 800 EBC) - спеціальний палений солод, надає пиву темний колір і приємний смажений аромат. У невеликих кількостях надає напою горіхові ноти і глибокий, рубіново-червоний колір. У великих кількостях надає пиву чорний колір і гладкий, багатий смак обсмаженої кави і какаоподібний аромат. Є важливим інгредієнтом портерів, стаутів та інших темних сортів пива. У малих кількостях використовується в рецептах коричневих і старих елів. Частка засипу: 3-12%

Карафа і Чорний солод/Carafa і Black Malt (до 1800 EBC) – найтемніші представники паленого солоду, яким притаманні виразні, навіть трохи різкі, кавово-шоколадні відтінки в смаку. Зазвичай використовується в невеликих кількостях для додання пиву глибокого чорного кольору і складності смаку. Іноді використовуються в якості заміни шоколадного солоду в стауті. Німецький Carafa Special є важливим компонентом темних німецьких лагерів. Частка засипу: 1-10%.

Смажений ячмінь/Roast Barley (600-800 EBC) - це не солод, а саме смажені зерна ячменю. Володіє набагато більш сухим і зерноподібним смаком, який використовується для надання пиву солодкого, зернистого аромату, що нагадує каву, а також насиченого, від червоного до темно-коричневого, кольору. Часто використовується в поєднанні з шоколадним і чорним солодом. Використовується від 3% до 7% в портерах і стаутах для каво-подібного аромату; 2-5% - в коричневих елях для смаку і кольору. Існує і більш просмажена версія, так званий чорний ячмінь (Black Barley) з кольоровістю до 1200 EBC. Частка засипу: 2-7%.

Перераховані вище види базових і спеціальних солодів є найпопулярнішими серед крафтових пивоварів та на заводах, але, не єдиними. Є менш популярні і специфічні види солодів, такі як: житній, медовий і бурштиновий солод, копчений Rauchmalt, оторфованний солод і т.д. [51, 52, 53].

В основному, солод оцінюють за такими критеріями:

Екстрактивність - масова частка водорозчинних сухих речовин в солоді, один з найважливіших показників. Екстрактивність якісного пивоварного солоду вище 80%.

Вміст білка - сирий протеїн або вся кількість азоту, що міститься в солоді. Білок потрібен для життєдіяльності дріжджів, але його надлишок в готовому пиві призводить до помутніння напою. Якісний солод (за винятком пшеничного) містить не більше 11,5% білка.

Число Кольбаха - Показник ступеня білкового розчинення солоду, який визначається відношенням вмісту розчинного білка до загального, виражений у відсотках. Для якісного пивоварного солоду цей показник коливається від 36 до 42%.

Вологість - не більше 5%.

Діастатична сила - показник активності амілаз, ферментів, що розщеплюють крохмаль на цукри. В хорошому світлому базовому солоді цей показник повинен перевищувати 220 одиниць Віндіш-Кольбаха.

В'язкість сусла - показник, який характеризує цитолітичну розчинність солоду. В'язкість сусла впливає на дроблення солоду, фільтрування сусла, тривалість оцукрювання і освітлення пива. Не повинен перевищувати 1,55 мПа*с.

Колір солоду - показник, який дозволяє віднести солод до того чи іншого сорту.

Колір сусла після кип'ятіння - показник, який дозволяє спрогнозувати майбутній колір готового пива. [51, 52, 53].

1.7.4 Хміль

Хміль — це жіночі суцвіття або насінневі шишки лози хмелю *Humulus lupulus*, які використовуються як ароматизатор і консервант майже в усьому пиві, що виготовляється сьогодні [54]. З римських часів хміль використовувався в лікувальних і харчових цілях. До VII століття в монастирях Каролінгів на території сучасної Німеччини пиво виготовляли з хмелю [55], хоча лише в XIII столітті зафіксовано масове вирощування хмелю для використання в пиві [56]. До тринадцятого століття пиво ароматизували такими рослинами, як деревій, дикий розмарин і болотний мирт, а також іншими інгредієнтами, такими як ягоди ялівцю, насіння анісу та імбиру, які об'єднували в суміш, відому як грюйт, і використовували подібно хмелю. Між XIII і

XVI століттями, протягом яких хміль став домінуючою смаковою добавкою, пиво зі смаком грюйту було відомо як ель, а пиво з хмелем було відомо як пиво [57].

Хміль впливає на такі властивості в пиві: сприяє гіркоті, яка врівноважує солодкість солоду, забезпечує квіткові, цитрусові та трав'яні аромати та смаки; пригнічує ріст деяких видів бактерій, що сприяє активності пивних дріжджів порівняно з менш бажаними мікроорганізмами, впливає на піну [58]. Консервант у хмелі надходить із лупулінових залоз, які містять смоли з альфа- та бета-кислотами [59, 69].

Пиво поділяють на сорти залежно від типу бродіння.

Верхове бродіння

Штами елевих дріжджів найкраще використовувати при температурі від 10 до 25°C, хоча деякі штами не будуть активно бродити при температурі нижче 12°C. Елеві дріжджі, як правило, вважаються дріжджами верхового бродіння, оскільки під час бродіння вони піднімаються на поверхню, створюючи дуже густу дріжджову головку. Тому з елевими дріжджами асоціюється термін «верхове бродіння». Бродіння елевими дріжджами при цих відносно високих температурах дає пиво з високим вмістом складних ефірів, що багато хто вважає відмінною рисою елевого пива. Дріжджі верхового бродіння використовуються для варіння елів, портерів, стаутів, Altbier, Kölsch і пшеничного пива [19, 38].

Низове бродіння

Лагерні штами дріжджів найкраще використовувати при температурі від 7 до 15°C. При цих температурах дріжджі ростуть менш швидко, ніж елеві дріжджі, і з меншою поверхневою піною вони, як правило, осідають на дно ферментера, коли бродіння наближається до завершення. Кінцевий смак пива багато в чому залежатиме від штаму дріжджів і температур, при яких вони бродили. Деякі зі світлих сортів, виготовлених із дріжджів низового бродіння, це Pilsners, Dortmunders, Märzen, Bocks та Eurolager [19, 39].

Змішане бродіння

Пиво, в бродінні якого використовуються не тільки дріжджі, ай бактерії, є пивом змішаного бродіння. Одними з типових представників дріжджів є штам

Brettanomyces Lambicus. Пиво, вироблене таким чином, є кислим, нефільтрованим. Цей метод пивоваріння десятиліттями практикується в Західній Фландрії в Бельгії [19, 40].

Червоний фландрійський ель відноситься до пива змішаного типу бродіння.

У 2022 році було опубліковане дослідження що до технологій випуску пива на пивоварні Rodenbach.

Rodenbach варять з використанням порції сильно обпаленого в печі солоду Vienna або Crystal разом із 20% кукурудзи. Кукурудзу готують у зерноварці для желатинізації перед додаванням до основного сусла. Сусло варять протягом «тривалого» періоду часу, що забезпечує хорошу коагуляцію білка та, як вважається, сприяє мінімальній кількості піни в готовому пиві. Хміль використовується для досягнення не більше 10 IBU. Потім сусло ферментують в резервуарах, покритих епоксидною смолою, протягом 5-6 тижнів, а потім переносять у великий дерев'яний чан для витримки. Кислий смак Rodenbach походить від молочної та оцтової кислот. Витриманий дуб Роденбах містить 2500-5000 мг/л молочної кислоти та близько 1500 мг/л оцтової кислоти [2].

Класичний процес ферментації включає в себе такі етапи:

1. Семиденне спиртове бродіння при 21°C з домінуванням дріжджів роду *Saccharomyces* (також були присутні молочнокислі бактерії, популяція яких була мінімальною). Після цього семиденного бродіння дріжджі збирають і промивають для наступного варіння [2].

Бельгійський мікробіолог Г.Мартен у своєму дослідженні 1997 року проводив аналіз дріжджевих культур, що використовувались для першого етапу бродіння. Він досліджував «легке пиво» (це пиво, яке пройшло первинну ферментацію), так і «важке пиво» (пиво, яке витримувалось впродовж 2х років або більше в діжці). Пиво було засіяно дріжджовою суспензією кількох штамів *S. cerevisiae*. Невелика кількість *Candida guilliermondii* та *Candida datilla*, як повідомляється, була в дріжджовій суспензії, але їх ідентифікація була поставлена під сумнів у дослідженні, і вони не були знайдені під час первинного бродіння. Дріжджі у «важкому пиві» росли повільніше (3 дні) і досягли загальної кількості клітин, яка була нижчою, ніж у

«легкому пиві», яке досягло максимальної кількості клітин через 2 дні. Дріжджові суспензії з більшою кількістю молочнокислих бактерій зазвичай використовують для інокуляції «важкого пива», і це може сповільнити ріст дріжджів у «важкому пиві». Зібрану суспензію завжди беруть із «легкого пива», яке може бути менш пристосованим до бродіння «важкого пива». Крім того, через 1 тиждень дріжджі флокулювали та осідали краще в «легкому пиві», ніж у «важкому пиві». Хоча молочнокислі бактерії були в дріжджовій суспензії, їх ріст почався лише через 4 дні первинного бродіння. Під час цієї першої фази бродіння не було виявлено ентеробактерій або оцтовокислих бактерій [20].

Молочнокислі бактерії, виявлені в дріжджовій суспензії, склалися з 18 штамів *L. delbruekii ssp delbruekii* та 12 штамів *L. delbruekii ssp bulgaricus*. Невеликі кількості *Pediococcus* також були ідентифіковані в суспензії. Під час первинної ферментації ідентифіковано один штам *L. plantarum*, два штами *L. brevis* і один штам *Pediococcus parvulus* [20].

2. Молочнокисле бродіння протягом чотирьох-п'яти тижнів при 15–21 °С в резервуарах, покритих епоксидною смолою, де переважають лактобацили [2].

Після 7 днів первинного бродіння пиво перенесли у вторинний ферментер і залишали там протягом чотирьох-п'яти тижнів. Популяції як дріжджів, так і бактерій знижувались під час перенесення, а потім невелике та поступове зростання у вторинній системі з кінцевою кількістю дріжджів, яка становила $4,3 \times 10^5$ в «важке пиво» і $6,4 \times 10^3$ в «легкому пиві». Молочнокислі бактерії росли набагато швидше і стали домінувати в «легкому пиві», тоді як у «важкому» вони росли повільніше, і дріжджі залишалися домінуючим мікробом. Це пояснювалося тим, що у «важкому пиві» було більше цукру, що давало перевагу дріжджам. При вторинному бродінні оцтовокислі бактерії ще не виявлені [20]. Молочна кислота також почала вироблятися під час вторинного бродіння, причому близько третини її становила L-молочна кислота, а дві третини — D-молочна кислота [21].

Під час вторинної ферментації штами *L. delbruekii ssp delbruekii* домінували над іншими знайденими молочнокислими бактеріями. Додаткові штами *L. plantarum* і *L. coryneformis*, а також додатковий штам *L. brevis* були виявлені у «важкому пиві».

Крім домінуючих штамів *L. delbruekii ssp delbruekii*, лише кілька штамів *L. brevis* були знайдені в «легкому пиві»[20].

3. Потім «легке пиво» змішується з витриманим старим елем, пастеризується та упаковується (1/3 «легкого пива» на 2/3 старого елю), тоді як «важке пиво» переходить у великий дерев'яні чани (кормівниці). У Rodenbach цей змішаний і пастеризований продукт є Rodenbach Grand Cru [2].

4. «Важке пиво», яке стає Old Ale, потім витримується протягом двадцяти-двадцяти чотирьох місяців. Протягом цього часу пиво проходить тривале та повільне бродіння, в якому переважають такі роди дріжджів та бактерій: *Brettanomyces* , *Lactobacilli* , *Pediococcus* та *Acetobacter*. Більшість витриманого старого елю купажується зі свіжим «світлим пивом», але невелика кількість упаковується без купажування як «Rodenbach Vintage» [2].

На початку третьої фази бродіння кількість клітин *Saccharomyces* почала падати, тоді як почалася поява *Brettanomyces*. Через 10 тижнів у бочках кількість *Lactobacilli* значно зменшилася, що дало початок штамам *Pediococcus parvulus* . Після 12 тижнів для бочки А та 18 тижнів для бочки В, пиво більше не містило *Saccharomyces*, а *Brettanomyces* домінували. Зокрема, *B. lambicus* (зараз класифікується як штам *B. bruxellensis*[22]) і *B. bruxellensis* були домінуючими видами, але значно меншу кількість *B. intermedius* (зараз класифікується як *B. anomala*) і *B. custersianus* також було виявлено. *Brettanomyces* продовжували залишатися основними мікроорганізмами протягом 36 тижнів у бочці А та 50 тижнів у бочці В. Після цього періоду часу *P. parvulus* почав домінувати. У бочках також почали з'являтися оцтовокислі бактерії, які були виявлені на 27-му тижні в бочці А та на 40-му тижні в бочці В. Точна кількість оцтовокислих бактерій у цьому дослідженні не повідомлялася, оскільки вони здебільшого ростуть на поверхні пива всередині бочки та, можливо, на стінках бочки, де розсіяний кисень міг досягти їх, і проби не відбиралися з цих частин бочки. Встановлено, що на різницю в періодах часу для мікробних популяцій впливають самі бочки, які відрізняються за віком, розміром і, можливо, різною колонізацією мікробів усередині них перед заповненням [20] . Під час третьої фази бродіння молочна кислота значно зросла з ~600 ppm до ~4500 ppm

через 35 тижнів і продовжувала повільно збільшуватися до ~5200 ppm через 60 тижнів, коли L-молочна кислота була лише трохи меншою (~48%), ніж D-молочна кислота [21]. До кінця третьої фази рівень оцтової кислоти досяг 1600 ppm. Кінцевий рН «важкого пива» був приблизно 3,2-3,5.

1.8 Інші рекомендації та рецепти виробництва цього стилю дають пивовари та експерти з різних частин світу.

Такі рекомендації дає почесний член Американої гільдії пивоварів Нікролі Карр у своїй статті 26 вересня 2014 року [12].

Рецепт червоного фландрійського елю традиційно побудований на основі віденського або мюнхенського солоду, але можливе використання 2-рядного солоду, де віденський або мюнхенський солод відіграє меншу роль. Можна використовувати легкий або середній карамельний солод, а також невелику кількість солоду спеціальний В. Велика відмінність між цим стилем і іншими стилями полягає в великому (до 20%) використанні кукурудзи.

Хміль слід використовувати під 10 IBU. Хміль містить речовини, які перешкоджають росту бактерій, необхідним для виготовлення цього стилю [23]. Потрібно використовувати хміль з низьким вмістом альфа кислот. При високому вмісті альфа кислот молочнокислі бактерії не зможуть розвинути під час ферментації [23].

Процес виготовлення суслу стандартний, починається з підготовки солоду та інших потрібних компонентів. Кінцеве сусло повинно варитись близько 2 годин. Тип бродіння змішаний.

Суміш видів так дріжджів та бактерій як *Pedicoccus*, *Brettanomyces*, *Lactobacillus* і *Acetobacter* відіграє важливу роль у створенні смаку та аромату цього пива. Компанії по виробництву дріжджів та дріжджових сумішей (Wyeast, і White Labs) мають дріжджові суміші, які містять суміш дріжджів *Saccharomyces* і бактерій *Pedicoccus*, *Lactobacillus* та *Acetobacter*.

Для процесу ферментації краще використовувати ємність з відсутнім або дуже низьким доступом кисню – дубові бочки або ферментери зроблені зі скла. Для деревного характеру можна додати в ферментер дубову стружку, кубики або чіпси.

Перед використанням дубових чіпсів, кубиків або стружки їх слід витримати кілька днів в спирті для зменшення кількості дубильних речовин та танінів. Кінцева щільність цього пива може бути від 1000 до 1012.

Переможець конкурсу Американської Асоціації Домашніх Пивоварів у 2002 році, автор книги «Класика пивоваріння. Усі стилі та види пива від елю до лагера», Джаміль Зайнашеф на одному із радіовиступів The Jamil Show також дав свої рекомендації що до компонентів суслу: [16]

В класичних зразках стилю використовуюється або віденський, або мюнхенський солод як базовий солод з додаванням різноманітних кристалічних або карамельних солодів для додання кольору та смаку. При виготовленні деяких класичних зразків використовують кукурудзу як додаткове джерело цукру.

При виборі типу солоду для цього стилю потрібне розуміння, наскільки сильний солодовий характер буде готовому продукті. Джаміль Зайнашеф рекомендує не використовувати мюнхенський як єдиний базовий солод, оскільки він часто має нижчу діастатичну силу, що може ускладнити повне перетворення затору, він рекомендує таку пропорцію солодів: 75% мюнхенського солоду з 25% віденського базового солоду для пива. Для отримання більш слабкого солодового ефекту він рекомендує змішати Vienna з британським або американським блідим солодом або додати Pilsner, що може зробити дуже хороший внесок у цей стиль. Основа 50% Pilsner з 50% Marris Otter забезпечить пиву приємну зернистість та аромат печева. У невеликих масштабах виробництва Джаміль Зайнашеф рекомендує не використовувати кукурудзу, а додати 10% декстрази до суслу.

Вибір того, які типи та відсотки кристалічного/карамельного солоду використовувати в кислому червоному елі, є важливим. Незалежно від обраних типів, Джаміль Зайнашеф рекомендує підтримувати загальний відсоток кристалічного/карамельного солоду в зерновій масі до 15%. Кристалічний солод у діапазоні від 40 до 80 lovibond забезпечить пиву карамельний, ірисковий та цукерковий смаки. Кристалічний солод у діапазоні від 120 до 150 lovibond, а також Special B забезпечать смаки гірко-солодкої карамелі та зневоднених фруктових смаків, таких як родзинки, чорнослив, фруктовий кекс і смородина.

Кислі червоні елі, як правило, не мають значного хмелевого характеру. Традиційні або модернізовані версії стилю можна виготовляти без використання хмелю в рецепті. Джаміль Зайнашеф рекомендує використовувати хміль загальним IBU менше 10, щоб запобігти пригніченню бактерій *Lactobacillus* під час бродіння. Хміль слід додавати на початку кип'ятіння або під час затирання, щоб отримати легку гіркоту, не додаючи значного хмелевого смаку чи аромату пиву. Вибираючи хміль для використання, слід уникати хмелю з сильно ароматичними оліями. Хорошим вибором буде такий хміль, як Magnum, Goldings або Sterling.

Дріжджі, бактерії та бродіння:

Існує кілька комбінованих сумішей дріжджів і бактерій, вироблених різними дріжджовими лабораторіями для бродіння традиційного фландрійського червоного елю. До них належать:

Wyeast Roeselare Blend (3763), бельгійська кисла суміш White Labs (WLP655), White Labs Flemish Ale Blend (WLP665), ECY02, Gigayeast Sweet Flemish Brett (GB144) та інші.

Під час розкидання змішаної культури для бродіння кислого червоного елю співвідношення різних бактерій і штамів дріжджів уже було визначено лабораторією, яка виготовляла суміш. Це співвідношення значною мірою визначатиме баланс таких компонентів, як молочна кислота, оцтова кислота, складні ефіри та феноли в готовому пиві. Якщо використовується будь-яка з наведених вище сумішей, підійде стабільна температура, в діапазоні між 18 і 22 градусами.

При використанні доступних у продажу змішаних культур, які містять молочнокислі бактерії, дадуть пиво з низьким або середнім рівнем кислоти. Якщо пиво, що витримується, практично не контактує з киснем, то кислотність майже повністю складається з молочної кислоти. Зі збільшенням впливу кисню це пиво стане дещо більш кислим і ця кислотність буде складатись з суміші молочної та оцтової кислот. Якщо надто тривалий час буде багато кисню, рівень оцтової кислоти в пиві стане занадто високим, і пиво стане кислим, але водночас різким і їдким.

Для отримання вищого рівня молочнокислого скисання Джаміль Зайнашеф виявив, що найкращий спосіб досягти цього — додати чисту культуру *Lactobacillus* за

кілька днів до додавання змішаної культури, яка містить дріжджі. Ця перша стадія бродіння *Lactobacillus* не обов'язково створює високий рівень кислотності на ранній стадії, але забезпечує набагато більшу кількість клітин *Lactobacillus*, які значно скисають пиво протягом перших 3 місяців старіння. Таким чином, можна досягти того самого результату, просто вводячи більшу кількість клітин *Lactobacillus* одночасно з початковою змішаною культурою.

Також були опрацьовані поради та рецепти з журналу Brew Your Own, випуск за січень-лютий 2007 року: [9]

червоний західнофландрський ель

Джефф Спарроу

(5 галонів/19 л, цільнозерновий)

$I = 1,057$ $FG = 1,002-1,012$

$IBU = 11$ $SRM = 22$ $ABV = 6,5\%$

Інгредієнти

- 5 фунтів 5 унцій (2,4 кг) солод віденський
- 2 фунти 8 унцій (1,1 кг) Солод Pils
- 15 унцій (0,43 кг) ароматного солоду
- 15 унцій (0,43 кг) Солод CaraVienne
- 2 фунти 2 унції (0,96 кг) сирої пшениці
- 5,0 унцій (0,14 кг) солод спеціальний В
- 3 ААU хмелю Hallertau (60 хв.), (0,75 унції/21 г 4,0% альфа-кислот)
- 2,0 унції (57 г) кубики дуба

Wyeast 3763 (суміш Roeselare) або White Labs WLP655 (Belgian Sour Mix)

Для приготування потрібно 1,33 кварта води на фунт зерна (2,8 л/кг). Потрібно нагріти 90% солоду до 122 °F (50 °C) і витримати його 20 хвилин. Далі потрібно роздробити несоложену пшеницю та 10% солоду при 145 °F (63 °C) і витримати 15 хвилин, потім додати додаткове затирання до основного затирання. Традиційно пивовари використовують багатоетапний графік затирання: підвищують до 145 °F (63 °C) і тримають протягом 40 хвилин, потім підвищують до 162 °F (72 °C) і тримають

30 хвилин. Далі потрібно встановити температуру до 169 °F (76 °C) і витримати 10 хвилин. Кінець - 176 °F (80 °C).

Варити сусло потрібно 2 години при кипінні. Далі необхідно охолодити сусло до 70 °F (21 °C) і розлити його з дріжджовою сумішшю в ферментер. Культура Roeselare — це повна суміш усіх дріжджів і бактерій, необхідних для бродіння. Бродіння відбувається при 70 °F (21 °C). Після зникнення ознак бродіння, потрібно додати до суслу 57 г кубиків дуба на 5 галонів (19 л), поперельно перемістивши сусло у другу ємність. Витримувати необхідно при температурі навколишнього середовища. З часом на верхній частині пива утворюється тонка біла. Готовність визначається що до смакових вподобань споживача.

червоний фламандський ель

(5 галонів/19 л, цільнозерновий)

I = 1,062 FG = 1,012

IBU = 20 SRM = 30 ABV = 6,4%

від Paul Zocco

Інгредієнти

- 7,0 фунтів. (3,2 кг) світлого солоду
- 1,5 фунта (0,68 кг) кукурудзяних пластівців
- 1,0 фунта (0,45 кг) віденського солоду
- 1,4 фунта (0,64 кг) Солод CaraMunich®
- 3,0 унції (85 г) шоколадного солоду
- 8,0 унцій (0,23 кг) бісквітного солоду
- 10 унцій (0,28 кг) солоду підкисленого
- 2,0 унції (57 г) солоду спеціального В
- 12 унцій (0,34 кг) солоду пшеничного
- 1,0 фунта (0,45 кг) рисової лушпиння (в пюре)
- 2 AAU хмелю Styrian Goldings (60 хв.) (0,5 унції/14 г при 4,0% альфа-кислот)
- 4,6 AAU хмелю Northern Brewer (30 хв.) (0,5 унції/14 г 9,1% альфа-кислот)
- 2 AAU хмелю Styrian Goldings (5 хв.) (0,5 унції/14 г 4,0% альфа-кислот)

- Дріжджі Wyeast 1028 (London Ale) і Wyeast 3278 (Lambic Blend)
- Дріжджі Wyeast 5526 (*Brettanomyces lambicus*) або White Labs WLP653 (*Brettanomyces lambicus*)
- 1 1/4 склянки сухого солодового екстракту

Необхідно витримати сусло при 150 °F (66 °C) протягом 1 години. Далі сусло промивається водою 170 °F (77 °C), до досягнення 6 галонів (23 л). Далі сусло вариться до зменшення об'єму до 5 галонів (19 л). Після охолодження сусла додаємо дріжджі Wyeast 1028 (лондонський ель) і Wyeast Lambic Blend одночасно в ферментер. Первинна ферментація триває 4 тижні. Подальша - близько 6 місяців. Приблизно через 6 місяців вносимо пакет культури Wyeast *Brettanomyces lambicus* для подальшої ферментації. Витримуємо впродовж 12-24 місяців.

DewBrew Flanders Red

(5 галонів/19 л, цільнозерновий)

I = 1,056 FG = 1,011

IBU = 12 SRM = 16 ABV = 5,9%

Ден і Джоель Дюбері

Інгредієнти

- 6 фунтів 10 унцій (3,0 кг) Солод 2-рядний
- 2 фунти 6 унцій (1,1 кг) віденського солоду
- 2 фунти 6 унцій (1,1 кг) кукурудзяних пластівців
- 0,50 фунта (0,23 кг) спеціального солоду В
- 3.3 AAU Fuggles hops (60 хвилин)(0,73 унції/21 г для 4,5% альфа-кислот)
- Wyeast 3763 (суміш Roeselare)

Поетапне затирання з паузами при 122 °F (55 °C) протягом 20 хвилин, 145 °F (63 °C) протягом 40 хвилин, 162 °F (72 °C) протягом 40 хвилин. Сусло вариться 90 хвилин, хміль додається на останні 60 хвилин кипіння. Дріжджі та бактерії додаються прямо в охоложене сусло в ферментері. Бродіння проходить протягом 27 днів при 70 °F (21 °C), потім сусло переміщується в інший ферментер і витримується при 70 °F (21 °C) протягом 5,5 місяців.

Висновки до розділу 1

1. Червоний фландрійський ель залишається недостатньо дослідженим стилем пива. Обмеженість наукових робіт, присвячених детальному аналізу процесу його виробництва, пояснюється, зокрема, комерційною таємницею, що оточує рецептури основних виробників. Тим не менш, завдяки зусиллям крафтових пивоварів та дослідників, сформовано приблизний профіль цього стилю, включаючи склад інокуляту.

2. Розвиток пивоварної галузі сприяє диверсифікації сортів пива, відродженню локальних традицій та посиленню експортного потенціалу вітчизняної пивоварної продукції.

3. Червоний фландрійський ель та Oud Bruin демонструють значну стилістичну близькість, що в минулому ускладнювало їх чітке розмежування. В результаті, одне й те саме пиво могло класифікуватися різними виробниками як належне до різних стилів.

РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТ, МЕТА ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єкт дослідження – сорт пива червоний фландрійський ель.

Предмет дослідження – процес розробки мікробної суміші для прискореної технології ферментації червоного фландрійського елю.

2.1 Спосіб приготування сусла

Для приготування сусла для червоного фландрійського елю було використано метод настійного затирання. Затирання солоду - це процес приготування пивного сусла, при якому мелений солод змішують з водою і витримують при певних температурах. Це потрібно для активації різних ферментів з метою розщеплення ними глюканів, крохмалів та білків. Активність різних ферментів залежить від температури, але для ферментативних процесів потрібний певний час. З цим і пов'язана необхідність здійснення температурних пауз. Точна тривалість усіх температурних пауз залежить від рецепту пива та типу солоду. Усього можна виділити 4 види температурних пауз:

1. Кислотна пауза (35-45°C) слугує для зниження рН затора та часткового розщеплення глюканів. Хоча сучасні технології дозволяють оптимізувати кислотність без тривалої паузи, короткочасна пауза може бути необхідною для обробки сировини з високим вмістом глюканів (наприклад, жита, пшениці, вівса) задля запобігання утворення клейстеру.

2. В межах білкової паузи (44-59°C) відбувається ферментативне розщеплення білків, що позитивно впливає на органолептичні властивості пива. Протеази, активні в цьому температурному діапазоні, забезпечують як живлення дріжджів (44-50°C), так і покращення фільтраційних властивостей сусла та піноутворення (50-59°C).

3. Оцукрювання (61-72°C) є ключовою стадією пивоваріння, під час якої крохмаль розщеплюється до ферментів альфа- і бета-амілази на ферментовані цукри. Температурний режим впливає на активність цих ферментів та, відповідно, на характеристики готового пива. Бета-амілаза, активна при 61-67°C, відповідає за утворення ферментованих цукрів, що впливають на міцність пива. Альфа-амілаза (68-72°C) утворює неферментовані цукри, які надають пиву тіла і солодкості, але зменшують потенційний алкогольний вміст.

4. Мешаут або меш-аут (77-79°C, 5 хвилин). Пауза, яка використовується для деактивації дії усіх ферментів, зменшення в'язкості сусла та полегшення його фільтрації. При температурі вище 80°C в суслі утворюються таніни, наслідком чого у смаку з'являється терпкість. [60, 61, 62, 63].

Проаналізувавши наявні рецептури та технологічні процеси виробництва пива, було сформовано експериментальну рецептуру сусла для червоного фландрійського елю. Для приготування сусла використовували:

1. Очищену воду, придбану у спеціалізованій точці продажу.
2. Наступну зернову суміш (у масових частках на 10 літрів затора):
 - ❖ Солод Castle Malting Шато Пейл Ель (Pale Ale) – 1.2 кг
 - ❖ Солод Castle Malting Шато Кара Голд (Cara 120) - 0.3 кг
 - ❖ Солод Castle Malting Шато Еббі (Abbey) – 0.2 кг
 - ❖ Солод Castle Malting Шато Спецл Бі (SPECIAL B) – 0.05 кг
 - ❖ Кукурудзяні пластівці – 0.3 кг
3. В якості хмелю були використані такі сорти хмелю з таким вмістом α -кислот:
 - ❖ Хміль Голдінг (English Golding) α -4 % - 0.005 кг
 - ❖ Хміль Фаглес GBR (Fuggles), α -4 % - 0.005 кг
4. Як додаткові компоненти були використані бельгійський чорний цукор – 0.1 кг (додаткове джерело цукрів для дріжджів та лактобактерій) та дубові чіпси з амереканського дуба різних ступенів просмаження для подальшого дозрівання готового пива.

Для виготовлення сусла був використаний гідромодуль 3.5 л/кг та такі температурні паузи:

- ❖ Білкова пауза 56°C – 15 хв.
- ❖ Оцукрювання 67°C - 90 хв.
- ❖ Меш аут 78°C – 10 хв.

Час кип'ятіння готового сусла – 90 хв.

Процес затирання та кип'ятіння проводився в суслварні WD-30.

2.2 Вибір оптимальної комбінації мікроорганізмів для ферментації

З метою відбору оптимальної мікробіологічної культури для бродіння сусла було проведено попередній скринінг різних комбінацій дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* штам BR-8 та молочнокислих бактерій (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis*, *Lactobacillus reuteri*). Ферментацію проводили в невеликих об'ємах (10 мл) з подальшою оцінкою органолептичних та фізико-хімічних характеристик отриманих зразків (колір, аромат, кислотність, вміст глюкози, оптична густина). Після вибору оптимальної комбінації мікроорганізмів було проведено масштабування процесу бродіння до об'єму 250 мл, а згодом – до 1000 мл. Отримане пиво використовувалося для подальших досліджень та порівняння з промисловим аналогом.

2.3 Вимірювання вмісту глюкози

Вимірювання вмісту глюкози проводилось за допомогою глюкозооксидазного методу з використанням реактиву торгової марки Cormau.

Пробірки інкубували у термостаті при 37° 15 хвилин, потім колориметрували на ФЕК при зеленому світлофільтрі (510 нм) в кюветах з товщиною 5 мм проти холостої проби (вода)[64].

Колориметричне дослідження зразків проводили в біохімічному напівавтоматичному аналізаторі BS3000M VET (Китай) в пробірках типу епіндорф.

2.4 рН зразків

Для виміру рН використовувались тест смужки Norma. Ферментоване сусло наносили на смужку, виримували 1 хв та порявняли з еталонною шкалою кольорів [65].

2.5 Оптична густина зразків

Оптичну гуστину зразків вимірювали за довжини хвилі 600 нм, довжива оптичного шляху 10 мм за допомогою спектрофотометру ULAB 102 (Китай) [66].

2.6 Оцінка біоплівкоутворення

Біоплівкоутворення оцінювали комплексно – за приростом біомаси, силою біоплівки та ступенем прикріплення клітин. Кінетику росту біомаси оцінювали

спектрофотометрично за поглинанням світла при довжині хвилі 600 нм. Ступінь адгезії клітин до поверхні визначали за інтенсивністю забарвлення кристалічним фіолетовим при 570 нм. Міцність біоплівки оцінювали шляхом визначення критичної маси, яку здатна витримати біоплівка без руйнування. Для цього на поверхню біоплівки послідовно додавали скляні кульки діаметром 2 мм (~0,005 г) до моменту її розривання та занурення в середовище; приріст біомаси (продуктивність) та прикріплення клітин, що визначали спектрофотометрично за довжини хвилі 600 та 570 нм, відповідно. Для визначення прикріплення клітин до поверхні віали тричі промивали водою для видалення всієї біомаси, що не була прикріплена до поверхні скла, і фарбували 0,05 % водним розчином кристалічного фіолетового впродовж 15 хв., знову тричі промивали від барвника та змивали 20 % етиловим спиртом по меніску.

2.7 Визначення густини зразків вільних від клітин

Для випадку однорідних тіл, вільних від клітин, густина визначається як відношення маси тіла до об'єму який воно займає [67]. Для вимірювання густини зразків ферментованого суслу використовували ареометр АОН-2 1000-1080 та мірний циліндр на 100 мл.

2.8 Визначення кількості бактеріальних клітин

Визначення титру клітин проводили за методом Голда-Родомана – метода секторних посівів, що проводили на агаризованому суслі [68]. Через 18-24 години титр клітин перераховували за кількістю КУО.

2.9 Визначення вмісту спирту

Для визначення вмісту спирту було використано побутовий спиртометр та мірний циліндр на 100 мл.

2.10 Оцінка органолептичних властивостей

Оцінювання смаку, запаху та аромату проводилось відповідно до рекомендацій ВІСР [17].

2.11 Ферментація

Всі послідовні етапи ферментації проводили впродовж семи днів за температури 20-23°C градусів. В процесі підбору інокуляту процес ферментації

проводили в віалах об'ємом 20мл, наступні етапи ферментації масштабували і використовували колби об'ємом 200, 500, 1000 мл.

2.12 Витримка та розлив

Ферментацію 500 мл сусла проводили в колбах місткістю 500 або 1000 мл при температурі 20-23°C протягом 7 днів. Після завершення основного бродіння, зразки розливали в скляні пляшки об'ємом 330 мл, додаючи 30 мл незброженого сусла для вторинного бродіння та карбонізації. Пляшки герметизували кронен-пробками. Після 30 днів витримки проведені органолептична та фізико-хімічна оцінки отриманих зразків пива. Вимірювали такі показники: рН, вміст спирту, густину, оптичну щільність та вміст молочної кислоти. Результати порівнювали з еталонними зразками промислового виробництва (Rodenbach Grand Cru та Duchesse de Bourgogne). Органолептичну оцінку проводили відповідно до рекомендацій Анготті Фаусто, Метта Міллера та ВІСР [17, 69, 72].

2.13 Дослідження впливу послідовності додавання компонентів інокуляту на показники ферментації

Випробування проводилися за трьома процедурами:

- а – додавання бактерій з наступним додаванням дріжджів,
- б – додавання дріжджів з подальшим додаванням бактерій,
- в – одночасне додавання дріжджів і бактерій.

У випробуваннях а та б було визначено вплив часу – 24, 48 та 72 години – між першим і другим додаванням. Ферментацію проводили при 20°C протягом 7 днів.

Висновки до розділу 2

Аналізуючи результати попереднього дослідження, було розроблено детальний експериментальний план, який включав вибір методів дослідження, необхідного обладнання та реагентів, а також оптимізацію рецептури та умов ферментації фландрійського червоного елю. До обраних методів входили культиваційні методи, фізіолого-біохімічні та методи органолептичної оцінки.

РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРЕМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1. Первинний скринінг інокуляту в малих об'ємах сусла.

Для розробки дріжджево-бактеріального інокуляту для зброджування червоного фландрійського елю за прискореною технологією було проведено первинний скринінг комерційно доступних мікроорганізмів за здатністю формувати біоплівки на розділі фаз повітря-рідина-тверда поверхня. В якості дріжджів було використано пивні дріжджі Fermentis BR-8 (*Brettanomyces bruxellensis*). В якості лактобактерій було використано такі комбінації бактерій, які були знайдені в продажу: «Грецький йогурт VIVO» (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*), «Сир кисломолочний VIVO» (*Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis.*), БіоГая ПроТектіс ОРС (*L. reuteri*).

Оцінку результатів тестів та придатність комбінацій для наступних випробувань оцінювали за параметрами ВІСР.

Дослідження проводили на десяти віалах, що містили по 10 мл свіжого сусла. В дев'яти віалах співвідношення лактобактерій до дріжджів варіювалося (1:10, 1:4, 1:2), а в контрольній віалі були присутні лише дріжджі. Результати первинного скринінгу представлені в Таблиці 3.1.

Таблиця №3.1.

Первинна оцінка співвідношення компонентів інокуляту

№ зразка	Назва дослідної комбінації	Номер кульки на якій потонула біоплівка	Густина сусла (оптична)	Тест з кристалічним фіолетовим	Органолептичні показники
1	Сир кисломолочний VIVO 1:10	5	-0.258	0.179	Приємний запах стиглих фруктів
2	Сир кисломолочний VIVO 1:4	2	-0.243	0.170	

3	Сир кисломолочний VIVO 1:2	1	-0.277	0.194	
4	Грецький йогурт VIVO 1:10	1	-0.252	0.185	Неприємний запах, подібний до гниття або екскрементів
5	Грецький йогурт VIVO 1:4	1	-0.290	0.204	
6	Грецький йогурт VIVO 1:2	1	-0.289	0.245	
7	БіоГая ПроТектіс 1:10	1	-0.292	0.218	Приємний, злегка солонуватий запах, з нотами ванілі.
8	БіоГая ПроТектіс 1:4	4	-0.263	0.260	
9	БіоГая ПроТектіс 1:2	1	-0.297	0.292	
10	Контроль	1	-0.115	0.335	Зброженого сусла, солонуватий
-	Неферментоване сусло	-	0	-	

З усіх досліджених комбінацій варіант 1 (Сир кисломолочний VIVO 1:10) та варіант 7 (БіоГая ПроТектіс 1:4) показали найкращі результати по біоплівкоутворенню в процесі ферментації сусла, що включало міцність біоплівки, прикріплення клітин до поверхні та органолептичні показники після ферментації. Біоплівка є природною стратегією росту мікроорганізмів. Співіснування мікроорганізмів у формі біоплівки підтримує обмін інформацією між видами, підвищує видиваність клітин та їх адаптації до умов навколишнього середовища. Крім того, міжвидові біоплівки можуть мати переваги при здійсненні ферментації через залучення різних метаболічних шляхів та, як наслідок, синтезувати продукти різного спектру, що робить смак та аромат більш насиченим та багатим. Використання різних видів мікроорганізмів у процесі ферментації сусла для виробництва елю надає пивоварам широкий спектр можливостей для створення унікальних смакових профілів та ароматів – від фруктових та пряних до кислих та

солодових. Експериментально було відмічено, що проби з найміцнішою біоплівкою мали найбільш виражений та сформований аромат.

Динаміка зміни оптичної густини вказувала на успішне проходження процесу ферментації. Зниження оптичної густини порівняно з початковим значенням свідчить про розклад складних цукрів на більш прості сполуки, такі як етанол, вуглекислий газ та молочну кислоту.

Оскільки дослідні зразки не пройшли витримку та карбонізацію, то із органолептичних показників було оцінено лише початковий аромат невитриманого пива.

Отримані данні було порівняно з вимогами ВІСР до запаху червоного фландрійського елю [17] та з рекомендаціями що до оцінки кислих стилів пива від одного з співвласників амереканської броварні Mellow Mink Brewing, а також творця Sour Beer Blog (SBB) Мета Міллера [69].

Органолептична оцінка показала, що лише перші три зразки повністю відповідали стильовому профілю червоного фландрійського елю за органолептичними показниками. Зразки 7-9 виявили певні стильові атрибути, визначені в гайдлайнах ВІСР, що дозволило відібрати їх для подальших досліджень. Зразки 4-6 демонстрували небажані сенсорні характеристики та потенційну присутність небажаних сполук відповідно до спостережень Мета Міллера [69] та Маршала Скота [70].

3.2 Подальша розробка дріжджево-бактеріальної композиції

Після первинного скринінгу для подальшої ферментації в більшому об'ємі (200 мл) були відібрані комбінації «Сир кисломолочний VIVO» (співвідношення дріжджі:бактерії 10:1) та «БіоГая ПроТектіс ОРС» (співвідношення дріжджі:бактерії 4:1). Дослідними параметрами, окрім органолептичної оцінки, були значення рН, вміст глюкози, кількість живих клітин на мл сусла та показник маси седименту (Табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Фізіолого-біохімічні показники ферментації сусла обраними мікробними композиціями

Дослідний параметр	«Сир кисломолочний VIVO» 10:1	«БіоГая ПроТектіс ОРС» 4:1	Незброжене сусло (Контроль)
pH	4.5	4.5	5.5
Вміст глюкози в ммоль\л	0.3	0.7	21.8
Оптична густина зразків середнє значення	0.712	1.022	-
Визначення кількості бактеріальних клітин по методу Голда	5млн	5млн	0
Маса седименту в пробах середнє значення, г	0.20	0.41	-
Органолептичні показники	Стигли або карамелізовані фрукти.	Приємний, пряний, злегка фруктовий	-

Отримані значення pH відповідають значенням, які Метт Міллер наводить в своїй статті, щодо рекомендацій до виготовлення кислого пива [69]. В ВJCP відсутні рекомендовані значення pH для цього стилю пива. Низький вміст глюкози в зразках свідчить про закінчення процесу бродіння та перетворення основної кількості цукрів в метаболіти дріжджів.

Показники оптичної густини, кількість живих клітин та маса седименту свідчать про значну кількість активних дріжджевих клітин в молодому пиві та його подальшу можливість до перетворення вже наявних речовин на інші впродовж витримки через здатність дріжджів BR-08 в подальшому перетворювати етанол на оцтову кислоту за наявності невеликої кількості кисню та розчеплювати інші речовини з утворенням різноманітних ефірів [69]. Цікаво, що показники приросту біомаси за оптичною густиною та маси седименту було майже в 2 рази більшим для зразка «БіоГая ПроТектіс ОРС» 4:1 у порівнянні зі зразком «Сир кисломолочний VIVO» 10:1, проте кількість живих клітин в цих зразках була рівною. Незважаючи на

це, найбільш характерний аромат відповідно до ВІСР [17] мала комбінація «Сир кисломолочний VIVO» 10:1, тому було прийнято рішення продовжити дослідження з цією комбінацією для оптимізації кількісного складу інокуляту.

Для оптимізації кількісного складу інокуляту обраної композиції мікроорганізмів було взято пропорції інокуляту дріжджі до бактерій відповідно 10:1 та 2:1 в розрахунку до об'єму. Показники ферментації сусла обраними пропорціями інокуляту представлені в Таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Показники ферментації сусла обраними пропорціями інокуляту

Дослідний параметр	«Сир кисломолочний VIVO» 10:1	«Сир кисломолочний VIVO» 2:1	Незброджене сусло
рН	4.5	4.5	5.5
Густина, кг/м ³	1.029	1.026	1.057
Вміст спирту, ABV, %	~ 4.0	~ 4.5	-
Запах	Фрукти, карамель, дубові ноти, сухофрукти	Сухофрукти, дерев'яні ноти	стандарт
Смак	Кисло-солодкий, різкуватий	Солодовий, кисло-солодкий, з нотами стиглих фруктів	-

Початкові значення густини молодого пива та вмісту спирту не відповідали значенням, які наведені в ВІСР та Меттом Міллером [17, 69], але це пов'язано з відсутністю початкової витримки, тому ці данні не є остаточними. Початкова густина сусла відповідала значенню, що вказане в ВІСР. Однак, обидва досліджувані співвідношення інокуляту зразку «Сир кисломолочний VIVO» мали вміст спирту, наближений до нижньої границі норми, що зазначена в ВІСР, та відповідно до даних, які наводить Метт Міллер данне молоде пиво є безпечними для споживання [17, 69]. Крім того, значення рН обох зразків та органолептичні показники відповідали стандартам стилю пива [17, 69, 70, 71].

Зразок «Сир кисломолочний VIVO» 2:1 мав більш виражені органолептичні показники ніж зразок «Сир кисломолочний VIVO» 10:1, та більш відповідні фізико-хімічні показники. Отже, для подальшого масштабування ферментації було обрано співвідношення інокуляту дріжджі/бактерії як 2:1, відповідно.

Для отримання результатів ферментації витриманого пива було вирішено зробити 1 повноцінну пляшку готового напою та порівняти з заводськими еталонами, які рекомендує ВІСР. Отримані данні наведені в Таблиці 3.4

Таблиця 3.4

Порівняння результатів експериментального зразка з заводськими еталонами

Дослідний параметр	«Сир кисломолочний VIVO» 2:1	Rodenbach Grand Cru	Duchesse de Bourgogne
Густина, кг/м ³	1.034	1.012	1.012
Оптична щільність	0.9	0.49	0.39
Вміст молочної кислоти в ммоль/л	0.19	0.48	0.36
Вміст спирту в %	5.5	6.0	6.2
рН	4.5	4.0	4.0
Колір	Колір лакованої деревини, з червонуватим відтінком	Колір лакованої міді	Майже червоний
Запах	Молочний, легка кислість, фруктові солодкість	Кислий, з оцтовим відтінком, елементами бродіння, фруктові наливки.	Різкувато кислий, трохи молочний, недростиглої дикої вишні, не різкий
Смак	Легка кислість, фруктовість (стиглі фрукти),	Виразно кислий, оцтовий, виражена	Смак – помірно кислий, фруктовий

	трав'янистість, легка гіркота.	фруктовість (вишня), легка карамельна гіркота.	в'яжучий (вишня або слива), добре карбонізований
--	-----------------------------------	---	--

Для незалежної оцінки органолептичних показників експериментального зразка та заводських еталонів була проведена подвійна сліпа дегустація контрольної групою споживачів (14 студентів КНУТД). Отримані данні було переведено в форму діаграм (рисунок 3.2.1, 3.2.2, 3.2.3) для визначення ноти аромату, яка найбільше домінувала в кожному із досліджуваних зразків.



Рисунок 3.2.1. Результати оцінки аромату дослідного пива

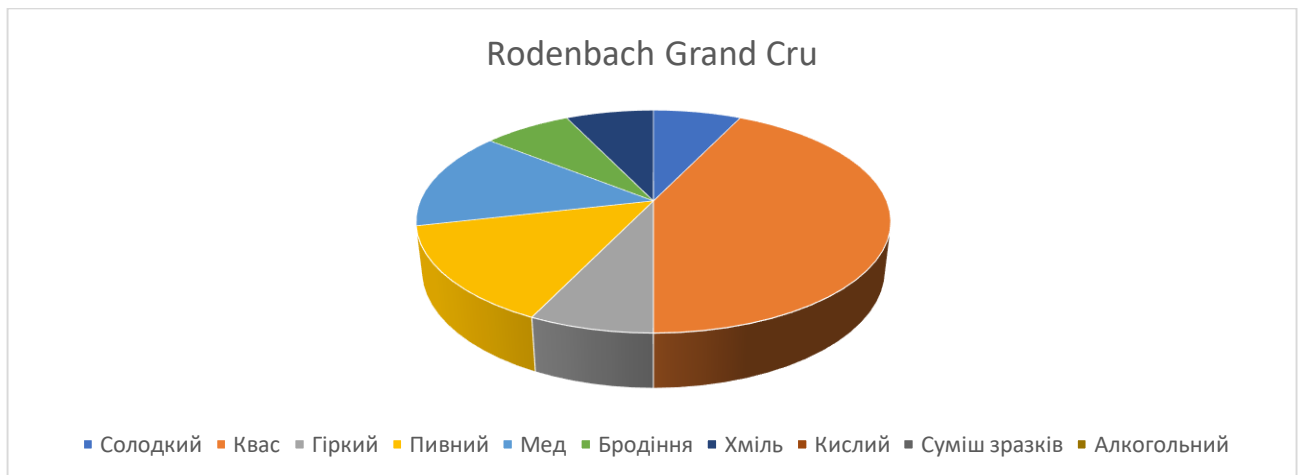


Рисунок 3.2.2. Результати оцінки аромату Rodenbach Grand Cru

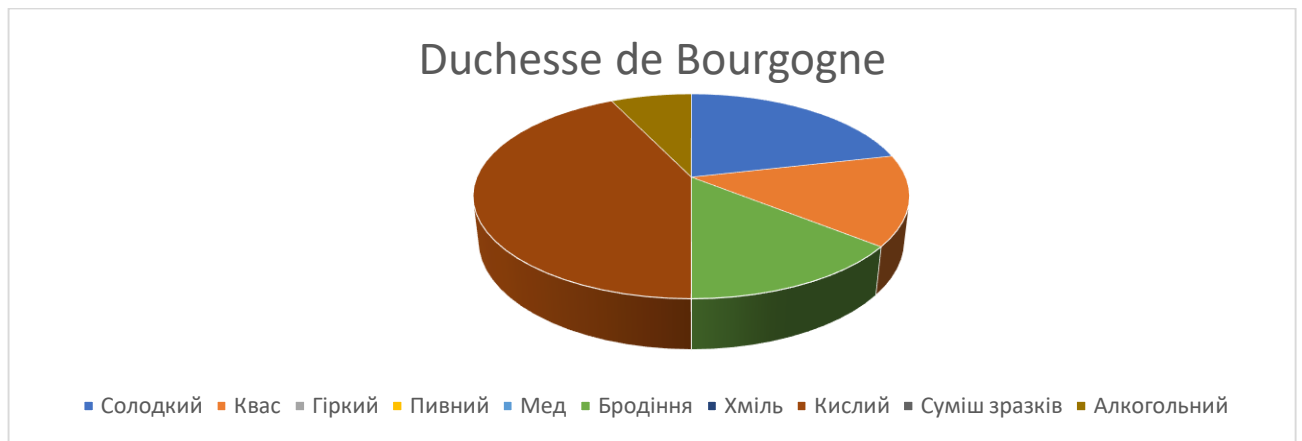


Рисунок 3.2.3. Результати оцінки аромату Duchesse de Bourgogne

Після аналізу даних, порівняння отриманих значень дослідного зразка з еталонними та даними які наводяться в ВІСР та іншими авторами [17, 69, 70, 71] було отримано такі результати:

1. Густина повністю не відповідала значенням які наведені в ВІСР, що свідчило про недостатній вміст інокуляту або недостатній термін витримки.
2. Оптична щільність отриманого пива, також значно перевищувала щільність заводських зразків.
3. Вміст молочної кислоти був значно менший, ніж вміст молочної кислоти в заводських зразках, що дає недостатню кислоту в профілі пива.
4. Вміст спирту відповідав вимогам ВІСР.
5. Колір відповідав вимогам та подібний до заводських зразків.

Данні про ароматичний профіль не відповідаюли вимогам ВІСР. Основна нота в ароматі у 50% випадків оцінки – наявність солодового аромату. Жоден з опитуваних не відчули кислоту в ароматичному профілі, на відміну від еталонних зразків. Смак також не відповідав даним, що наведені в ВІСР та іншими авторами та мав недостатньо кислий профіль.

Отримання недостатньо кислого профілю пива після витримки і карбонізації в пляшці свідчило про необхідність зміни співвідношення компонентів інокуляту, а саме зменшення кількості дріжджів на користь молочно-кислих бактерій. Пропорція дріжджів/бактерії в інокуляті складала 1:1. Після інокуляції сула і закінчення

бродиння було отримано нове молоде пиво. Характеристики пива наведені в Таблиці 3.5.

Таблиця 3.5

Результати оптимізації інокуляту для повної ферментції сусла та отримання молодого пива

Дослідний параметр	«Сир кисломолочний VIVO»1:1
pH	4.5
Густина, кг/м ³	1.024
Вміст спирту	~ 4.0
Глюкоза в ммоль\л	0.1
Запах	Виразно карамельним, з нотами перестиглих медових фруктів і легкою кислістю

Отримані данні після оптимізації інокуляту відповідали значенням, наведеним в ВІСР та у інших авторів [17, 69, 70, 71].

Також було вирішено додати 50 мг лактобактерій в пляшку для кращого формування кислого смаку під час карбонізації та витримування. Додаткова наважка 50 мг лактобактерій із суміші «Сир кисломолочний VIVO» було додано в праймер безпосередньо перед розливом в пляшку для збільшення вмісту лактобактерій в готовому пиві та формування кращого кислого профілю пива.

Після витримування впродовж 30 днів було проведено такі дослідження: вимірювання pH, густини, оптичної щільності, вмісту спирту, молочної кислоти та зібрано групу з 30 людей – студентів різних курсів КНУТД для оцінки органолептичних властивостей приготованого пива. Отримані данні наведено в Таблиці 3.6

Таблиця 3.6

Результати ферментації після оптимізації інокуляту

Дослідний параметр	«Сир кисломолочний VIVO»1:1
pH	4.5

Вміст спирту у %	5.5
Густина, кг/м ³	1.014
Вміст молочної кислоти в ммоль\л	0.44
Оптична щільність	0.40

Всі досліджувані показники відповідали значенням або були в межах значень, наведених в ВІСР та були подібні до показників заводських зразків.

Органолептичні характеристики були оцінені контрольною групою (студенти КНУТД) та викладені у вигляді діаграм для візуалізації отриманих даних. В параметрах смак та запах члени дослідної групи відмічала як одну так і декілька нот одночасно. Отримані данні наведено на рисунках 3.2.4, 3.2.5, 3.2.6.



Рисунок 3.2.4 . Оцінка кольору від дослідної групи



Рисунок 3.2.5. Оцінка запаху від дослідної групи



Рисунок 3.2.6. Оцінка смаку від дослідної групи

Було встановлено, що 53% опитуваних відмічали наявність світло червоних або бордових відтінків в зразках пива. Крім того, 47% відмічають темно-коричневий або бурштиновий колір.

Після проведення оцінки параметрів аромату було встановлене широке різноманіття нот аромату, однак нот подібні до запаху бродіння/квасу та ноти подібні до солоду та карамелі – 16% та 18% відсотків, відповідно. Також відмічали фруктовий смак в різних ступенях зрілості та чітку кислотність пива.

3.3 Вплив послідовності додавання компонентів смолки у виробництві кислого пива з використанням дріжджів і LAB за розробленої прискореної технології отримання молодого пива стилю червоний фландрійський ель

У випадку, коли дріжджі додавали в перший день або одночасно з бактеріями, спостерігалася значна втрата ваги суслу через 24 години. При додаванні дріжджів із затримкою спостерігалася затримка до того, як маса почала зменшуватися (на 2, 3 та 4 дні). Це показує, що перетворення цукрів у синтезі вуглекислого газу лактобактеріями є незначним порівняно з перетворенням цукрів дріжджами.

Відповідно, цей метод моніторингу ваги не можна застосовувати для оцінки молочнокислого бродіння.

Втрата маси при бродінні сусла. Мікроорганізми додавали відповідно до різних протоколів: спочатку бактерії, а потім дріжджі через 24, 48 або 72 години, перші дріжджі, за якими слідує бактерії через 24, 48 або 72 години; дріжджі та бактерії, додані одночасно.

У тих зразках, де дріжджі та бактерії були додані одночасно, втрата ваги була більш динамічною порівняно з тими зразками, для яких бактерії були додані із затримкою. Відповідно, присутність бактерій посилювало етанолове бродіння дріжджами. Лактобактерії і дріжджі не конкурують щодо джерела вуглецю, повідомляється про симбіоз між ними, який використовується в багатьох галузях, включаючи виробництво закваски, кефіру і молочних продуктів.

Коли дріжджі додавали через 24, 48 і 72 години після бактерій, спиртове бродіння було завершено за менший час, ніж з іншими зразками. Це спостерігалось під час порівняння зразків, через два дні після додавання дріжджів. У першій вибірці втрата ваги становила 1,5%, тоді як у другій вона була значно вищою і становила 2,8%. Відповідно, припускають, що коли лактобацили додають у сусло перед дріжджами, бактерії мають синергічний ефект на дріжджі. Це узгоджується з попередніми повідомленнями про те, що через обмін метаболітами, що виробляються обома мікроорганізмами, взаємодія між *Lactobacillus* і дріжджами може призвести до значних відмінностей у життєздатності, рості та активності бродіння. Однак деякі дослідження повідомляють, що взаємна взаємодія дріжджів і бактерій під час бродіння може бути або антагоністичною, або синергетичною. Відповідно, посилений ріст *Lactobacillus* можливий поряд зі зниженим ростом дріжджів. Дріжджі можуть забезпечити бактерії поживними речовинами (наприклад, вітамінами), необхідними для росту, але вони також можуть пригнічувати ріст бактерій шляхом виробництва етанолу. У досліджах, у яких спочатку додавали дріжджі, бродіння тривало шість днів; так само, як і там, де дріжджі додавали одночасно з бактеріями.

Повідомлялося, що молочна кислота, яку виробляє *Lactobacillus*, може негативно впливати на розвиток дріжджів. Підкислення середовища призводило до

затримки росту та зменшення кількості клітин дріжджів . Однак у цій роботі цього не виявлено. Коли бактерії додавали перед дріжджами, етанолове бродіння відбувалося швидше. Дійсно, чим довший період між додаванням дріжджів і додаванням бактерій, тим вище швидкість бродіння. Однак це призвело до нижчого кінцевого ступеня бродіння (як до меншої загальної втрати ваги).

Кисле пиво характеризується кислим смаком через молочну кислоту, головний метаболіт, що виробляється *Lactobacillus*, який знижує рН . Як правило, кисле пиво характеризується рН 3,3–3,9 і вмістом молочної кислоти приблизно 3–6 г/л..

Під час бродіння сула змінюється рН. Мікроорганізми додавали відповідно до різних протоколів: спочатку бактерії, потім дріжджі через 24, 48 або 72 години; спочатку дріжджі, потім бактерії через 24, 48 або 72 години (YB.24; YB.48; YB.72); Y + B, дріжджі та бактерії, додані одночасно.

Падіння рН під час бродіння до прибіл. рН 4 є наслідком метаболізму дріжджів. Значне зниження рН (від 5,5 до приблизно 4,5, $p < 0,01$) відбулося в Y+B та всіх зразках б через 24 години. Як і очікувалося, рН знизився з рН приблизно 5,5 до 4,4 у день 1 і рН до 4,0 у день 2. Інокуляція бактерій після дріжджів дала несподіваний результат: рН пива було виявлено бути значно вищим, ніж для пива, зброженого тільки дріжджами. У дослідженнях додавання бактерій не сприяло зниженню рН, оскільки рН був попередньо визначений метаболізмом дріжджів. Відповідно, виявляється, що зростання дріжджів і швидке вивільнення метаболітів пом'якшує здатність *Lactobacillus* здійснювати молочнокисле бродіння. Ймовірно, це відображає обмежену доступність моносахаридів через метаболізм дріжджів та/або присутність етанолу.

Порівняно зі зразками, де дріжджі додавали перед бактеріями, дослідження в показало подальше зниження рН на 3-5 дні. Це узгоджується з результатами втрати ваги, згідно з якими одночасне додавання дріжджів і бактерій до сула призвело до етанолового та молочнокислого бродіння. У тих дослідах, для яких дріжджі додавали на початку процесу, значення рН наприкінці бродіння становило 4–4,2, тоді як у в рН було 3,7. Можливо, це пов'язано з позитивною взаємодією між бактеріями та

дріжджами, яка не передбачала конкуренції між ними за мальтозу, а з дріжджами – гідролізу сахарози до глюкози та фруктози.

У дослідах, де бактерії додавали першими, значне падіння рН ($\text{pH} \approx 4,5$) спостерігалось через 48 годин процесу, хоча це зниження було нижче, ніж падіння рН, спричинене дріжджами. Лише через 72 години рН пива впав до <4 , а потім повільно знизився до 3,6. Однак ті зразки, в які спочатку додавали бактерії – і дозволяли почати молочнокисле бродіння – мали найнижчий рН ($\text{pH} \approx 3,4$).

Відповідно до класифікації, запропонованої Тонсмайром, кисле пиво характеризується $\text{pH} < 3,9$. З оцінених тут процедур розкидання лише ті випробування, де бактерії додавали до або одночасно з дріжджами, досягли $\text{pH} < 3,9$. Коли бактерії були додані в сусло після дріжджів, рН пива був $> 3,9$.

Lactobacillus виробляє багато сполук, включаючи спирти, альдегіди, кетони, складні ефіри, органічні кислоти, фенольні сполуки, однак основним продуктом є молочна кислота, яка є важливою ознакою кислого пива. Пивовари часто оцінюють вміст молочної кислоти на основі рН пива, припускаючи, що нижчі значення рН свідчать про вищий вміст молочної кислоти в пиві. У пиві, де дріжджі були присутні з початку бродіння або були додані через 24 години, вміст молочної кислоти досягав приблизно 2 г/л. Коли молочнокисле бродіння проводилося за відсутності дріжджів протягом щонайменше 48 годин, пиво містило до 6 г/л молочної кислоти та досягало найнижчого рН (3,4).

Концентрація молочної кислоти в пиві після семи днів бродіння. Мікроорганізми додавали відповідно до різних протоколів: спочатку бактерії, потім дріжджі через 24, 48 або 72 години; спочатку дріжджі, потім бактерії через 24, 48 або 72 години; дріжджі та бактерії, додані одночасно).

Реальний екстракт і вміст етанолу

Кисле пиво може мати низький вміст алкоголю (близько 3% об'єму) через несприятливі умови бродіння та відносно низький вміст екстракту в суслі. Ті сорти пива, які були вироблені з додаванням бактерій перед дріжджами, мали вищий реальний вміст екстракту порівняно з тим пивом, яке було виготовлено з використанням дріжджів, доданих на початку бродіння. Що дріжджі скористалися

доступним розчиненим киснем і використали цукор для зростання біомаси. І навпаки, ріст дріжджів був обмежений, коли дріжджі додавали після бактерій, що призвело до загального нижчого використання екстракту.

Ці дослідження показали вплив послідовності смолки у виробництві кислого пива з використанням дріжджів і LAB на основі продуктивності бродіння, рН і вмісту молочної кислоти. Було показано, що інокуляція бактерій перед інокуляцією дріжджів забезпечує належний вихід молочної кислоти та бажане зниження рН. Коли дріжджі додають перед бактеріями, рН пива є вищим, а вміст молочної кислоти в пиві нижчим (приблизно 2–3 г/л), ніж потрібно для кислого пива.

Висновки до розділу 3

На основі експериментальних даних було розроблено склад дріжджево-бактеріального інокуляту, який при масштабуванні ферментації та проведенні витримки та карбонізації ферментованого суслу забезпечувало отримання продукту, подібного до заводських еталонів червоного фландрійського елю.

Коли дріжджі додають перед бактеріями, рН пива є вищим, а вміст молочної кислоти в пиві нижчим (приблизно 2–3 г/л), ніж потрібно для кислого пива. Інокуляція бактерій перед інокуляцією дріжджів забезпечує належний вихід молочної кислоти та бажане зниження рН.

Джерелом мікроорганізмів для оптимального інокуляту було обрано комерційно доступна закваска «Сир кисломолочний VIVO» та дріжджі Br-8 у співвідношенні 1:1.

Для отримання показників молодого пива, подібні до заводських еталонів, додаткова наважка 50 мг лактобактерій із суміші «Сир кисломолочний VIVO» було додано в праймер безпосередньо перед розливом в пляшку для збільшення вмісту лактобактерій в готовому пиві та формування кращого кислого профілю пива.

Після витримання впродовж 30 днів зразки молодого пива, ферментовані за розробленою прискореною технологією, відповідали еталонним заводським зразкам за показниками рН, густини, оптичної щільності, вмісту спирту, молочної кислоти.

Молоде пиво стилю червоного фландрійського елю, отриманого за допомогою розробленого інокуляту та прискорення технології ферментації, відповідали стандарту за органолептичними показниками. Було встановлене широке різноманіття нот аромату, фруктовий смак в різних ступенях зрілості та чітку кислість пива, а також наявність світло-червоних/бордових відтінків та темно-коричневий/бурштиновий колір.

ВИСНОВКИ

1. Червоний фландрійський ель залишається недостатньо дослідженим стилем пива. Обмеженість наукових робіт, присвячених детальному аналізу процесу його виробництва, пояснюється, зокрема, комерційною таємницею, що оточує рецептури основних виробників. Тим не менш, завдяки зусиллям крафтових пивоварів та дослідників, сформовано приблизний профіль цього стилю, включаючи склад інокуляту.

2. Червоний фландрійський ель та Oud Bruin демонструють значну стилістичну близькість, що в минулому ускладнювало їх чітке розмежування. В результаті, одне й те саме пиво могло класифікуватися різними виробниками як належне до різних стилів. Або одне і теж пиво може міняти свій стиль залежно від року випуску, що ще більше ускладнює збір статистичних даних.

3. На основі експериментальних даних, які були отримані в ході досліджень було створено оптимальну комбінацію мікроорганізмів в інокуючій суміші для проведення прискореної ферментації. Також було вибрано оптимальний зерновий склад готового суслу на основі робіт різних авторів. Оптимальною мікробною композицією для прискорення технології ферментації виявилась комбінація комерційно доступної закваска «Сир кисломолочний VIVO» та дріжджі Br-8 у співвідношенні 1:1.

4. Після проведення ферментації за допомогою отриманої мікробної композиції та витримання пива впродовж 30 днів було отримано експериментальний зразок, який за даними досліджень був подібний до заводських еталонів. Даний продукт був отриманий після 30 днів витримки замість класичних 2 років в бельгійських пивоварнях, що дає змогу стверджувати, що отримання цього сорту пива можна зробити більш комерційно доступним.

5. Також встановлено, що додавання лактобактерій перед дріжджами та безпосередньо в праймер покращують органолептичні властивості пива та роблять їх більш подібними до заводських еталонів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. DeSalle R. A natural history of beer / R. DeSalle, I. Tattersall, P. Wynne. – New Haven: Yale University Press, 2019.
2. Александр Дюсар, Жан-Поль Рікерт, Соня Коллін. Порівняльне дослідження смаків червоного та коричневого фламандського пива: ключова роль *Brettanomyces* і торрефікованого солоду в появі етилфенолів. *Журнал Американського товариства хіміків пивоваріння*. 2022.
3. Beer Business. У яких країнах споживають найбільше пива. Напої. Технології та Інновації. 2024.01.11.
4. Майкл Джексон. *De grote Belgische bieren*. Антверпен, 1991.
5. Майкл Джексон. Всесвітній путівник по пиву. Лондон, 1977.
6. С.А. Рогатко. Пивоваріння і медоваріння в Стародавній Русі IX-XIII ст.// 2014. - С. 643-655.
7. Bouckaert, Peter, "Belgian red ale" in Oliver, Garrett (ed.), *The Oxford Companion to Beer* (Oxford University Press, 2012)
8. Katz Solomon H. *Encyclopedia of food and culture*. New York : Scribner, 2003.
9. Jeff Sparrow. Flanders Red Ale. *Brew Your Own*. January-February 2007.
10. 7 Most Consumed Beverages Around The World [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://blog.bootstrapbeverages.com/most-consumed-beverages-around-the-world/#>.
11. <https://www.bjcp.org/style/2021/23/european-sour-ale/> [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://www.bjcp.org/style/2021/23/>.
12. Flanders Red Ale: Style Characteristics, Brewing Tips & History [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://learn.kegerator.com/flanders-red-ale/>.
13. 50 літрів на рік кожному. Цікаві факти про українське пивоваріння до Міжнародного дня пива [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://biz.nv.ua/ukr/markets/skilki-piva-varyat-i-p-yut-v-ukrajini-cikavi-fakti-pro-ukrajinske-pivovarinnya-do-dnya-piva-50176116.html>.
14. 'World's oldest brewery' found in cave in Israel, say researchers. BBC. URL: <https://www.bbc.com/news/world-middle-east-45534133>.

15. 13,000-year-old brewery discovered in Israel, the oldest in the world [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://www.timesofisrael.com/13000-year-old-brewery-discovered-in-israel-the-oldest-in-the-world/>.

16. Зайнашев, Джаміль і Джон Пліс. “ The Jamil Show / Flanders Red Ale” The Jamil Show. Пивоварна мережа. Конкорд, Каліфорнія. радіо.

17. Gordon Strong, Kristen England. BEER JUDGE CERTIFICATION PROGRAM 2021 STYLE GUIDELINES Beer Style Guidelines. USA : BJCP, 2021.

18. Як читати пивну етикетку. *Напої. Технології та Інновації*. 30.09.2022.

19. Yeast Guide [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://www.beeradocate.com/beer/101/yeast/>.

20. Г. Мартенс, Д. Ізерентант, Г. Верахтерт. Мікробіологічні аспекти змішаного дріжджево-бактеріального бродіння при виробництві спеціального бельгійського кислого елю. 1997.

21. Scholtes, С.; Нізет, С.; Collin, S. Guaiacol і 4-метилфенол як специфічні маркери торрефікованого солоду. Доля летких фенолів у спеціальному пиві під час старіння. Дж. Агрік. Харчова хім. 2014

22. Мікробне різноманіття та склад метаболітів бельгійських червоно-коричневих кислих елів. / Ізабель Снауверт та ін. 2015.

23. The antimicrobial effects of hops by Sandro Cocuzza and Frank Peifer, Hopsteiner, Germany, HOPSTEINER Technical Support, September 2021

24. 13,000-Year-Old Brewery Found in Israel [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: https://www.sci.news/archaeology/raqefet-cave-brewery-06412.html#google_vignette.

25. Smithsonian map göbekli tepe [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Smithsonian_map_g%C3%B6bekli_tepe.jpg.

26. Юха Тахванайнен, Мика Риссанен, Історія пива. Від монастирів до спортбарів. 2017 рік.

27. Flanders [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу:
<https://en.wikivoyage.org/wiki/Flanders>.
28. Rodenbach [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу:
<https://conespuma.com/english-articles/2021/12/28/rodenbach>.
29. Verhaeghe [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу:
<https://www.yakimankagbu.ru/?u=brouwerij-verhaeghe-vichte-in-vichte-we-wanted-to-try-yy-D50NyYFp>.
30. Flemish brown, red or red brown? How Michael Jackson invented a beer style out of thin air [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу:
<https://lostbeers.com/flemish-brown-red-or-red-brown/>.
31. Wells, Ken, "Weekend Journal; Eating & Drinking: The Pursuit of Hoppiness; Seeking the Bitterest of Beer, We Try India Pale Ale; Why Bigger Brew Is In", Wall Street Journal. (Східне видання). Нью-Йорк, 13 серпня 2004 р.
32. «Ірландський червоний ель». Анонім. Зимурги. Боулдер: січень/лютий 2005 р. Том 28, вип. 1; стор. 13
33. Гласс, Гері, «Клуб знаходить кращий напій через суддівство». Зимурги. Боулдер: листопад/грудень 2002. Том 25, вип. 6; стор. 11
34. Пиво Duchesse de Bourgogne [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу:
https://rozetka.com.ua/ua/verhaeghe_5411364151355/p226207879/?gad_source=1&gclid=CjwKCAjwkuqvBhAQEiwA65XxQNfx32hJ8P_VaEUtrlOjsQSiZoGKh54rLZj1phd3WdAYqnCowsVK1RoC-3cQAvD_BwE.
35. La Folie [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу:
<https://www.newbelgium.com/beer/la-folie/>.
36. Пиво Rodenbach Grand Cru [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://goodwine.com.ua/ua/rodenbach-grand-cru-86753.html>.
37. Cuvée Des Jacobins [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу:
<https://www.omervanderghinste.be/en/onze-bieren/cuvee-des-jacobins>.
38. P. Christiaan Klieger. The Fleischmann yeast family. — Charleston, SC: Aradia, 2004.

39. Mary Ellen Snodgrass. Encyclopedia of kitchen history. — New York: Fitzroy Dearborn, 2004.

40. Класифікація пива за способом бродіння. [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <https://vse.ua/info/klassifikatsiya-piva-po-sposobu-brozheniya-luchshie-proizvoditeli-dannogo-napitka-732/>.

41. Еван Еванс (2011). Оксфордський супутник пива. Oxford University Press. стор. 236. ISBN 9780195367133 . Архівовано з оригіналу 23 грудня 2019.

42. Кріс Бултон (20 травня 2013). Енциклопедія пивоваріння. Джон Вайлі та сини. стор. 111. ISBN 9781118598122 . Архів оригіналу за 21 травня 2016.

43. Alabev.com Архівовано 23 січня 2016 року на Wayback Machine Інгредієнти пива. Процитовано 29 вересня 2008.

44. Майкл Джексон (1 жовтня 1997). «Хороше пиво — це складна проблема для Мексики». BeerHunter.com. Архів оригіналу за 4 грудня 2010 року. Процитовано 29 вересня 2008.

45. Beer-brewing.com Архівовано 27 жовтня 2007 року на Wayback Machine Тед Голдаммер, Довідник пивоварів, Розділ 6 – Додатки до пива, Apex Pub (1 січня 2000), ISBN 0-9675212-0-3. Процитовано 29 вересня 2008.

46. «Геологія і пиво». Geotimes. Серпень 2004. Архів оригіналу за 27 вересня 2007. Процитовано 5 листопада 2007.

47. Вода для пивоваріння». Архів оригіналу за 17 серпня 2016 року. Процитовано 18 червня 2016.

48. Технологія спирту. В. О. Маринченко, В. А. Домарецький, П. Л. Шиян, В. М. Швець, П. С. Циганков, І. Д. Жолнер /Під ред. проф. В. О. Маринченка. — Вінниця: «Поділля — 2000», 2003. 496с

49. How Malt is Made". www.ukmalt.com. Archived from the original on 17 July 2011. Retrieved 26 March 2011.

50. "UK Malt, the Maltsters' Association of Great Britain | How malt is made". www.ukmalt.com. Retrieved 24 February 2019.

51. Goldhammer, Ted (2008), The Brewer's Handbook, 2nd ed., Apex, ISBN 0-9675212-3-8, p. 31 ff.

52. Two-Row vs Six-Row Barley". Zymurgy, 1 May 2013, American Homebrewers Association. Retrieved 7 October 2020
53. <https://craftbeerclub.com.ua/articles/majzhe-wse-pro-solod---tonkoschi-wboru-golownogo-pwnogo-ingredinta>. [Електронний ресурс]
54. Гіл Маркс (2012). Енциклопедія єврейської їжі. Wiley. ISBN 9780470943540. Архів оригіналу за 28 травня 2016 року. Процитовано 31 липня 2012.
55. Річард В. Ангер (2007). Пиво в епоху Середньовіччя і Відродження. University of Pennsylvania Press. стор. 54. ISBN 978-0812203745. Архів оригіналу за 22 травня 2016 року . Процитовано 1 серпня 2012.
56. Мартін Корнелл (2003). Пиво: історія пінти. Заголовок. стор. 62. ISBN 978-0-7553-1165-1 .
57. Ян С. Горнсі (22 грудня 2003 р.). Історія пива та пивоваріння . Королівське хімічне товариство. С. 534–535. ISBN 9780854046300. Архів оригіналу за 6 травня 2016 року. Процитовано 1 серпня 2012.
58. Ніліма Гарг; К. Л. Гарг; KG Mukerji (1 березня 2010). Лабораторний посібник з харчової мікробіології. ІК International Pvt Ltd. с. 177. ISBN 9789380578019. Архів оригіналу за 24 квітня 2016 року. Процитовано 1 серпня 2012.
59. Ден Рабін; Карл Форжет (1998). Словник пива та пивоваріння. Тейлор і Френсіс. ISBN 9781579580780.
60. Кріс Бултон (20 травня 2013). Енциклопедія пивоваріння. Джон Вайлі та сини. стор. 317. ISBN 9781118598122. Архів оригіналу за 3 червня 2016.
61. Club C. В. Температурні паузи при затиранні солоду для пива. Температурні паузи при затиранні солоду для пива. URL: <https://craftbeerclub.com.ua/articles/temperaturni-pauz-pr-zatranni-solodu-dlya-pwa> (дата звернення: 24.06.2024).
62. Dave Green. The Science of Step Mashing. BREW YOUR OWN. January-February 2008.
63. Mashing Systems: Infusion and Decoction. *The Brewer's Handbook: A Complete Book to Brewing Beer*. URL: <https://www.beer->

brewing.com/beer_brewing/beer_brewing_mashing/mashing_systems.htm (date of access: 24.06.2024).

64. Кількісне визначення глюкози в крові глюкозооксидазним методом. *StudFiles*. URL: <https://studfile.net/preview/6801989/page:10/> (дата звернення: 24.06.2024).

65. РН-тест – індикатор у формі смужок, 1-14: продаж, ціна у Житомирі. Акваріумна хімія від "Інтернет-магазин МуАquarium" - 1047183059. "Інтернет-магазин МуАquarium" - контакти, товари, послуги, ціни. URL: <https://myaqua.in.ua/ua/p1047183059-test-indikator-vid.html> (дата звернення: 24.06.2024).

66. Романюк М. О., Крочук А. С., Пашук І. П. Оптика. — Л. : ЛНУ ім. Івана Франка, 2012. — 564 с.

67. Д Г. Л., О С. О. ГУСТИНА. Фармацевтична енциклопедія. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3087/gustina> (дата звернення: 24.06.2024).

68. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія. У 2-х т. Том 1: навч. з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія» для студентів установ вищої. проф. освіти, які навчаються за спеціальностями 060101.65 Лікув. справа», 060103.65 «Педіатрія», 060104.65 «Медико-профілакт. справа» / за ред. В.В. Зверєва, М.М. Бойченка. - М.: Геотар-Медіа, 2011. - 448 с.: іл.

69. Miller M. Fundamentals of Sour Beer Fermentation. Sour Beer Blog. 2016.

70. Marshall Schott. A Tale of Two Sours: Reviewing 4 Year Old Flanders Red Ales. *Brülosophy*.

71. Sours, Coolships, Barrels, and the Aging Process – Wild Mind Ales. Wild Mind Ales. URL: <https://www.wildmindales.com/blog/sours-coolships-barrels-and-the-aging-process> (date of access: 26.09.2024).

72. Angotti, Fausto. "Top 20 Beer Tasting Tips." Top 20 Beer Tasting Tips. The Brühhaus, n.d.

ДОДАТКИ
ДОДАТОК А



ДОДАТОК Б

Український журнал природничих наук № 9



Ukrainian Journal of Natural Sciences
№ 9
Український журнал природничих наук
№ 9

ISSN: 2786-6335 print
ISSN: 2786-6343 online

UDC 579.663

DOI <https://doi.org/10.32782/naturaljournal.9.2024.2>

OPTIMIZATION OF CULTURE MEDIA FOR INDUSTRIAL CULTIVATION OF THE RECOMBINANT STRAIN *ESCHERICHIA COLI* BL21

I. M. Bobyr¹, V. L. Bondarenko², O. S. Iungin³

This study presents a comprehensive analysis of scientific literature published between 2019 and 2024, indexed in Web of Science and Scopus databases. The review focuses on identifying optimization strategies for culture media to enhance the industrial cultivation of Escherichia coli BL21 strain for the production of recombinant proteins. This strain is widely used in industry due to its lack of certain proteases, making it ideal for producing stable protein products. The research highlights key factors influencing protein expression and biomass growth, including carbon and nitrogen sources, trace elements, additional components, and pH levels. Altering these key factors can increase cell yield and product quality. The analysis revealed that optimizing the culture medium composition through the use of alternative carbon and nitrogen sources can significantly improve bacterial cell growth and impact the quantity and quality of the recombinant protein. Alcohols such as mannitol and glycerol, sugars like lactose, as well as sugar-containing by-products from the food industry can be used as alternative carbon sources (blackstrap molasses, corn-steep liquor and whey). Additionally, complex compounds like lignocellulose can be utilized. Many alternative carbon sources can also provide nitrogen. The use of alternative carbon and nitrogen sources, on the one hand, can reduce the cost of recombinant protein production and thus affect bioeconomy, but on the other hand, can influence metabolic pathways for the assimilation of other elements and alter the duration of growth phases, which is crucial for industrial microbial cultivation. Optimization of the culture medium has complex consequences, and this process should be considered holistically.

Key words: Escherichia coli BL21, media optimization, alternative carbon source, alternative nitrogen source, recombinant protein.