

**Міністерство освіти і науки України
Дніпровський державний аграрно-економічний університет**

ПІВОВАРОВ О.А., КОВАЛЬОВА О.С., КОШУЛЬКО В.С.

ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ ТА ОБЛАДНАННЯ БРОДИЛЬНИХ ВИРОБНИЦТВ

Навчальний посібник

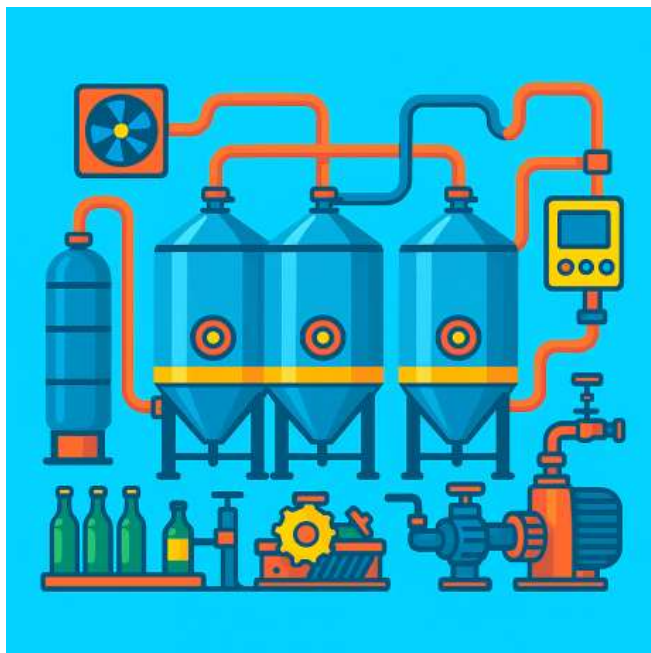
Дніпро 2025

Дніпровський державний аграрно-економічний університет

ПІВОВАРОВ О.А., КОВАЛЬОВА О.С., КОШУЛЬКО В.С.

ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ ТА ОБЛАДНАННЯ БРОДИЛЬНИХ ВИРОБНИЦТВ

Навчальний посібник



Дніпро 2025

УДК 664(075.8)

П 32

Рекомендовано до друку вченою радою ДДАЕУ
протокол № 5 від 27 лютого 2025 р.

Рецензенти:

Самойчук Кирило Олегович – доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри обладнання переробних і харчових виробництв імені професора Ф.Ю. Ялпачика Таврійського державного агротехнологічного університету імені Дмитра Моторного.

Кабат Олег Станіславович – доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри інноваційної інженерії, Навчально-науковий інститут Український державний хіміко-технологічний університет Українського державного університету науки і технологій.

Алієв Ельчин Бахтияр огли – доктор технічних наук, старший дослідник, професор, професор кафедри інжинірингу технічних систем Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

Півоваров О.А., Ковальова О.С., Кошулько В.С. Інноваційні технології та обладнання бродильних виробництв: Навчальний посібник. – Дніпро: ФОП Обдимко О.С., 2025. 396 с.
ISBN 978-617-95219-3-5

Навчальний посібник присвячено висвітленню основних напрямів та перспективам розвитку сучасної бродильної промисловості, розумінню проблем у формуваннях переробної галузі та вміння застосовувати зарубіжний та вітчизняний досвід профільних виробництв. Дозволяє ознайомитись з новітніми досягненнями галузі, перспективними інноваційними напрямками, сучасними технологічними процесами та обладнанням бродильних виробництв. Розглянуто виготовлення різноманітних видів харчової та технологічної продукції.

Посібник призначено для здобувачів вищої освіти, які навчаються за спеціальністю 181 Харчові технології першого (бакалаврського) і другого (магістерського) рівнів вищої освіти, а також для наукових працівників, аспірантів і фахівців, які цікавляться проблемами інноваційного інжинірингу харчових виробництв.

ISBN 978-617-95219-3-5

©Півоваров О.А., Ковальова О.С., Кошулько В.С.

2025

ЗМІСТ

Стор.

ВСТУП	11
Розділ 1. ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ БРОДІННЯ	14
1.1. Ферментація як елемент цивілізації	14
1.2. Передові технології для підвищення якості бродіння	15
1.3. Класифікація основних видів ферментованих харчових продуктів і напоїв	19
1.4. Еволюція процесу бродіння протягом років	21
1.4.1. Стартові культури	23
1.4.2. Стартові культури кількох штамів та адаптація до спільного існування	24
1.4.3. Генетичне вдосконалення заквасок	26
1.5. Технологія CRISPR/Cas9 для генетичного вдосконалення стартових культур	28
1.6. CRISPR-опосередкована мікробіомна інженерія та ферментація	30
1.7. Мультиоміка та динаміка мікробіоти ферментації їжі	31
1.7.1. Приклади використання мета-оміки для вивчення мікробної динаміки ферментації їжі в новітніх дослідженнях	34
1.8. Функціональна активність мікробіому ферментації їжі	37
1.9. Прецизійне бродіння	40
1.9.1. Наукові принципи прецизійної ферментації	44
1.9.2. Роль генної інженерії	44
1.9.3. Обладнання та технологія	45
1.9.4. Переваги прецизійної ферментації в сільському господарстві	45
1.9.5. Майбутні перспективи	49
Питання для самоконтролю	50
Рекомендована навчальна література	51

Розділ 2. МІКРОБІОЛОГІЯ ФЕРМЕНТОВАНИХ ХАРЧОВИХ

ПРОДУКТІВ	53
2.1. Ферменти, походження процесів бродіння для їстівних продуктів	53
2.2. Мікробіологія ферментованих харчових продуктів	57
2.3. Основні мікроорганізми в екосистемах ферментованих продуктів.....	62
2.3.1. Бактерії	62
2.3.2. Гриби	63
2.3.3. Дріжджі	65
2.4. Види ферментованої їжі	67
2.4.1. Ферментоване м'ясо	67
2.4.2. Кисломолочні продукти	69
2.4.3. Закваска	70
2.4.4. Закваска у виробництві хліба	71
2.4.5. Ферментовані напої	75
2.5. Значення ферментованих продуктів для здоров'я	76
2.6. Питання безпеки	78
2.7. Бактеріоцини	78
2.8. Стійкість до антибіотиків	80
Питання для самоконтролю.....	83
Рекомендована навчальна література.....	84

Розділ 3. ВИРОБНИЦТВО ПИВА ТА ХІМІЯ СМАКІВ

І АРОМАТІВ	85
3.1. Ферментовані перетворення у виробництві пива	85
3.2. Нові технологічні тенденції у виробництві пива	85
3.3. Пивоварна сировина	92
3.4. Антиоксиданти пива та користь для здоров'я	94
3.5. Методи охмеління, температура бродіння, якість солоду та фенольний склад	99

3.5.1. Альтернативне застосування хмелю	102
3.6. Додавання в пиво інноваційних інгредієнтів	103
3.6.1. Виробництво безглютенowego пива	105
3.7. Сучасне використання деревини у виробництві пива	106
3.8. Інноваційні технологічні заходи на стадії бродіння та пастеризації пива	108
3.8.1. Імпульсні електричні поля PEF	108
3.8.2. Технології ультразвуку US	112
3.8.3. Технології високого тиску HPP	116
3.8.4. Омічний нагрів	123
Питання для самоконтролю.....	127
Рекомендована навчальна література.....	128
Розділ 4. ФЕРМЕНТАЦІЯ ВИНА: НОВІ ПІДХОДИ ДО ТРАДИЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ	129
4.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> не є єдиним мікроорганізмом у ферментації вина.....	129
4.2. Генетична модифікація дріжджів і виноградної лози.....	132
4.3. Мікрооксигенація.....	132
4.4. Виробництво слабоалкогольних вин	133
4.5. Інші види бродіння у виноробстві	134
4.6. Ємності для бродіння.....	135
4.7. Перетворення відходів вина на паливо	136
4.8. Ігристі вина	136
4.9. Вплив дріжджів та посівного матеріалу на процес бродіння	138
4.10. Витримка на осадах	141
4.11. Вплив типів цукру	145
4.12. Ефект базового вина	146
4.13. Нові сорти	147
4.14. Інноваційні енологічні технології	149
4.15. Вплив деревини на якість вина	153

Питання для самоконтролю.....	157
Рекомендована навчальна література.....	158
Розділ 5. ІННОВАЦІЙНЕ БРОДІННЯ ПІД ЧАС ВИРОБНИЦТВА	
АЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ	160
5.1. Бродіння і дистиляція	160
5.2. Дистильовані спиртні напої	161
5.2.1. Віскі: світ насичених смаків	161
5.2.2. Горілка: нейтральний спирт	162
5.2.3. Ром: солодкість цукрової тростини	165
5.2.4. Джин: настояний на ягодах ялівцю	167
5.2.5. Текіла: культовий алкоголь Мексики	169
5.2.6. Мескаль: мексиканський дух предків	170
5.2.7. Бренді: дистильований з вина	171
5.2.8. Коньяк: французька елегантність	173
5.2.9. Арманьяк: сільський бренді	175
5.2.10. Кальвадос	176
5.2.11. Піско: південноамериканський бренді	178
5.2.12. Аквавіт: скандинавський дух	179
5.2.13. Медовуха як продукт бродіння медового сусла.....	180
5.3. Особливості процесів бродіння сусла у виробництві горілки і джину	184
5.3.1. Відбір та покращення штаму дріжджів	188
5.4. Деревина у виробництві лікero-горілчаних виробів	190
5.4.1. Сучасне використання деревини у виробництві лікero-горілчаних виробів	191
5.4.2. Ароматичні сполуки, які природно присутні в деревині	193
5.4.3. Ароматичні сполуки, що утворюються в результаті термічної обробки деревини	195
5.5. Інноваційні технології використання деревини для надання якісних характеристик алкогольним напоям	198

5.6. Особливості дозрівання віскі і бренді у дерев'яних бочках	200
Питання для самоконтролю.....	204
Рекомендована навчальна література.....	204
Розділ 6. ЯБЛУЧНІ ФЕРМЕНТОВАНІ ПРОДУКТИ – ТЕХНОЛОГІЇ, ВЛАСТИВОСТІ І ВПЛИВ НА ЗДОРОВ'Я	206
6.1. Споживчі властивості яблук, ферментовані яблучні продукти.....	206
6.2. Технологія ферментації у переробці яблук і яблучної сировини.....	208
6.2.1. Яблучні вичавки	209
6.2.2. Сидр	210
6.2.3. Оцет	213
6.2.4. Яблучний дух (кальвадос)	217
6.3. Пробиотичні ферментовані яблука	218
6.4. Властивості ферментованих яблучних продуктів	219
6.4.1. Особливості ферментації яблучного соку	221
6.4.2. Мікробіологічний склад сидру	224
6.5. Вплив ферментованих яблучних продуктів на здоров'я	226
Питання для самоконтролю.....	233
Рекомендована навчальна література.....	234
Розділ 7. ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ БРОДІННЯ У ВИРОБНИЦТВІ НАПОЇВ	235
7.1. Історія приготування хлібного квасу	235
7.2. Існуючі способи приготування хлібного квасу	237
7.2.1. Приготування білого цукрового сиропу	237
7.2.2. Приготування квасного сусла	239
7.2.3. Приготування закваски	242
7.2.4. Зброджування квасного сусла	246
7.2.5. Купажування квасу	247
7.2.6. Розлив квасу	248
7.3. Придання хлібному квасу функціональних властивостей.....	249

7.3.1. Приклади застосованої рослинної сировини у виробництві квасу.....	249
7.3.2. Вплив добавок на деякі сенсорні характеристики квасів.....	252
7.4. Овочевий (буряковий) квас. Основні показники і властивості.....	255
7.5. Ферментація чайного грибу	259
7.5.1. Хімічний склад	263
7.5.2. Мікробіологічний склад	263
7.6. Фактори, що впливають на ферментацію чайного гриба	267
7.6.1. Підкладка	267
7.6.2. Ефект часу	268
7.6.3. Температурний вплив	269
7.6.4. Вплив рН	269
7.6.5. Швидкість передачі кисню та процес збільшення	270
7.6.6. Біологічна активність	272
7.6.7. Потенційна токсичність	273
Питання для самоконтролю.....	274
Рекомендована навчальна література.....	274
Розділ 8. ІННОВАЦІЙНЕ ТЕМНЕ БРОДІННЯ У ВИРОБНИЦТВІ	
БІОГЕННОГО ВОДНЮ (bioH₂)	276
8.1. Мікробна екологія процесу темного бродіння, керованого лактатом, що виробляє водень в умовах обмеження вуглеводів	276
8.2. Біологічне утворення водню (bioH ₂)	281
8.3. Метаболічний шлях темної ферментації	283
8.4. Параметри, що впливають на темну ферментацію	288
8.4.1. Інокулят і попередня обробка	288
8.4.2. Субстрати, що використовуються в темній ферментації	291
8.4.3. Лігноцелюозна біомаса	292
8.4.4. Залишки промислової переробки	295
8.4.5. Харчові відходи	297
8.4.6. Біомаса водоростей	299
8.4.7. Гній із тваринництва	301

8.5. Температура	302
8.6. Вплив рН	304
8.7. Час гідравлічного утримання	305
8.8. Частковий тиск біоН ₂	306
8.9. Швидкість органічного навантаження	307
8.10. Біореактори, що використовуються для виробництва біоН ₂	308
8.10.1. Резервуарні реактори безперервної дії з перемішуванням	309
8.10.2. Мембранні біореактори	310
8.10.3. Реактори з упакованим шаром	311
8.10.4. Анаеробні реактори з псевдозрідженим шаром	312
8.10.5. Анаеробні мулові реактори з висхідним потоком	313
8.11. Технології збільшення виробництва біоН ₂	314
8.11.1. Інтегровані виробничі стратегії	314
8.11.2. Темне бродіння-фотобродіння	314
8.11.3. Темна ферментація – клітини для мікробного електролізу	316
8.11.4. Наночастинки (НЧ)	317
8.11.5. Генна та метаболічна інженерія	318
8.12. Переваги та недоліки темної ферментації та інших методів виробництва відновлюваного водню	320
Питання для самоконтролю.....	321
Рекомендована навчальна література.....	322
Розділ 9. ІННОВАЦІЙНІ БІОРЕАКТОРИ І ФЕРМЕНТОРИ	323
9.1. Перше знайомство з біореакторами	323
9.2. Типи біореакторів	325
9.3. Проблеми моніторингу біопроцесів у біореакторах	333
9.4. Удосконалення оптичних сенсорів у біореакторах	335
9.5. Удосконалення електричних датчиків у біореакторах	337
9.6. Інноваційні досягнення в застосуванні біореакторів	338
9.6.1. Виробництво біофармацевтичних препаратів	338
9.6.2. Виробництво біопалива	339

9.6.3. БіореMediaція	340
9.6.4. Клітинна культура та тканинна інженерія	341
9.6.5. Виробництво харчових продуктів	347
9.7. Майбутні перспективи: тенденції майбутнього біореакторних систем і вплив досягнень біореакторів на суспільство та промисловість	349
Питання для самоконтролю.....	351
Рекомендована навчальна література.....	352
Розділ 10. ІННОВАЦІЙНІ ДОСЯГНЕННЯ У ЗАСТОСУВАННІ	
БІОРЕАКТОРІВ	353
10.1. Окремі види біореакторів	353
10.1.1. Ерліфтні біореактори	353
10.1.2. Біореактори з бульбашковою колоною	356
10.1.3. Біореактори безперервної дії з резервуаром з перемішуванням.....	359
10.1.4. Біореактори з псевдозрідженим шаром	362
10.1.5. Біореактори з упакованим шаром	363
10.1.6. Фотобіореактори.....	366
10.2. Компактне технологічне обладнання для бродіння та дозрівання пива..	372
10.2.1. Типи компактних озерно-дозрівальних одиниць пива	374
Питання для самоконтролю.....	376
Рекомендована навчальна література.....	377
ЗАКЛЮЧЕННЯ	379
ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА	381

ВСТУП

Навчальний посібник задуманий авторами як інформаційна книга, наповнена сучасними технологічними прийомами з бродильних технологій та окремого для них технологічного обладнання, які мають стати у нагоді здобувачам освіти, аспірантам і викладачам у здобутті нових знань та їх застосуванні у практичній інженерній діяльності у навчанні, науковій діяльності і на виробництві. Для розуміння бродильних процесів необхідні додаткові знання у галузі мікробіології, харчової хімії та інших дисциплін, пов'язаних з харчовою галуззю. Багато мікроорганізмів використовується у процесі бродіння та важливим є той факт, що за багато віків свого існування процеси бродіння увійшли в наше життя вже на новому технологічному рівні з широким колом різноманітних кінцевих споживчих продуктів. Крім харчових продуктів і напоїв, деякі додаткові продукти створені в процесі бродіння, серед яких на перший план виступають молочна кислота, етанол та газоподібний водень. Особливе місце займають технології прецизійного бродіння та інноваційне темне бродіння. Сьогодні саме ці технології та супутнє з ними технологічне обладнання здатні змінити технологічну культуру бродіння і створити велику кількість продуктів бродіння у тому числі продуктів функціонального призначення.

Незважаючи на багато років, які видатний мікробіолог і хімік Луї Пастер витратив на вивчення процесу бродіння, він не зміг витягти фермент, який викликав бродіння, з клітин дріжджів. Лише через багато років німецький хімік Едуард Бюхнер зміг здійснити цей науковий прорив. У 1897 році він добув рідину з мелених дріжджів. Вчений виявив, що рідина здатна зброджувати своєрідний розчин цукру. Це вважалося першим успішним експериментом у галузі біохімії.

Є чітке розуміння основних механізмів мікробіального впливу на процеси ферментації, встановлених дослідниками з країн, де процеси бродіння пов'язані з виробництвом споживчої харчової продукції. Саме в розвинутих країнах у першу чергу існує достатня кількість прецизійного аналітичного обладнання, за допомогою якого досліджуються біохімічні процеси ферментації і формуються

сталі шляхи промислового виробництва. Достатньо зайти в продовольчій універсам і можна побачити велику кількість продуктів, які були вироблені ферментативним способом, не кажучи про неабиякий асортимент алкогольних напоїв.

Щоб освоїти бродіння, потрібно зрозуміти науку, що стоїть за хімічними процесами. Коротко їх можна сформулювати наступним чином:

- ✓ мікроорганізми виживають, використовуючи вуглеводи (цукри, такі як глюкоза) для отримання енергії та палива;
- ✓ такі органічні хімічні речовини, як аденозинтрифосфат (АТФ), за потреби доставляють енергію до кожної частини клітини;
- ✓ мікроби виробляють АТФ за допомогою дихання;
- ✓ бродіння подібне до анаеробного дихання – типу, який відбувається, коли недостатньо кисню;
- ✓ залежно від умов середовища окремі клітини та мікроби мають здатність перемикатися між двома різними способами виробництва енергії;
- ✓ організми зазвичай отримують енергію анаеробним шляхом бродіння.

Бродіння відбувається за відсутності кисню (анаеробні умови) і в присутності корисних мікроорганізмів (дріжджів, цвілі та бактерій), які отримують свою енергію шляхом бродіння. Деякі дріжджі, зокрема *Saccharomyces cerevisiae*, у середовищі з високою концентрацією глюкози віддають перевагу бродінню (анаеробному розщепленню глюкози) замість більш енергетично вигідного аеробного дихання, навіть якщо кисень присутній у достатній кількості. Під час процесу бродіння ці корисні мікроби розщеплюють цукор і крохмаль на спирти та кислоти, роблячи їжу більш поживною та зберігаючи її, щоб люди могли використовувати її довше. Продукти бродіння забезпечують ферменти, необхідні для травлення. Це важливо, оскільки люди народжуються зі обмеженою кількістю ферментів, і з віком їх кількість зменшується. Ферментовані продукти містять ферменти, необхідні для розщеплення компонентів їжі. Ферментація також сприяє попередньому

травленню. Під час процесу бродіння мікроби харчуються цукрами та крохмалем, розщеплюючи їжу ще до того, як хтось її спожив.

Кожний процес ферментації це ціла наука. Вважаємо, що навчальний посібник допоможе читачам відкрити нові знання про бродильні технології на початковій стадії процесу, які у подальшому можуть слугувати базою для наукових досліджень. Окремі види сучасного технологічного обладнання, надають змогу читачеві познайомитись з новітніми конструкційними рішеннями в переробній галузі, компаніями, які сьогодні присутні на ринку і завдяки яким реалізується створення і виробництво сучасного обладнання. Технічне оснащення процесу бродіння прогресує і дивує оригінальними рішеннями, які забезпечують високу якість продукції, енергозбереження та екологічність технологічних процесів. Такий підхід має за мету ініціювати у читачів, будь то студенти, аспіранти, науковці або виробники бажання творчо підходити до створення новітнього технологічного обладнання не тільки в бродильній галузі, але і в будь-яких інших напрямках харчових виробництв.

Посібник призначено для здобувачів вищої освіти, які навчаються за спеціальністю 181 Харчові технології, першого (бакалаврського) і другого (магістерського) рівнів вищої освіти. Він може бути корисним в процесі вивчення дисциплін «Інноваційний інжиніринг харчових виробництв», «Новітні технології бродильних виробництв», «Мікробіота, пробіотики та пребіотики», «Технологія бродильних виробництв», «Основи виноробства», «Виноробство», «Пивоваріння». Також доцільно користуватись ним для роботи на аудиторних заняттях та для самостійної підготовки здобувачів денної і заочної форм навчання. Крім того, його доцільно використовувати для наукових працівників, аспірантів і фахівців, які цікавляться проблемами інноваційного інжинірингу харчових виробництв.

Автори висловлюють щиру подяку колегам за зауваження та корисні поради у період підготовки посібника до друку.

Розділ 1. ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ БРОДІННЯ

1.1. *Ферментація як елемент цивілізації*

Мистецтво бродіння таке ж давнє, як і людська цивілізація на Землі, оскільки воно традиційно розвивалося стародавніми суспільствами для збереження їжі в суворі пори року, для ритуальних бенкетів і для покращення сенсорної якості їжі. Історичні записи показують, що бродіння кількох субстратів, включаючи молоко та зернові культури, є корінним для багатьох частин світу. Найдавніша форма бродіння була відкрита шляхом аналізу кам'яних ступок із натуфійських поховань напівосілого населення, яке шукало їжу, що надає археологічні докази варіння пива із зернових і вони датуються 13000 років тому.

У стародавньому Єгипті молочні продукти, ферментований хліб і пиво були основними продуктами харчування. У Китаї хімічний аналіз стародавніх гончарних глеків вказує на існування ферментованих продуктів рису, меду та фруктів ще в сьомому тисячолітті до нашої ери. Цей освячений часом процес, який колись обмежувався галузями консервування їжі та покращення смаку, тепер розгорнувся у широкому діапазоні застосувань. Особливо він відіграв ключову роль у трансформації та формуванні майбутнього харчової промисловості.

Ферментація була невід'ємною частиною інших стародавніх цивілізацій; приклади включають пивоваріння у Вавилоні, виробництво соєвого соусу у Східній Азії та бродіння фруктів у Греції (греки описували Діоніса як бога бродіння фруктів).

Найбільш поширеним типом ферментованої їжі є йогурт (зроблений з молока), який вироблявся та споживався на Близькому Сході та в Європі та став основним компонентом раціону людини в усьому світі. У Східній Азії була розроблена серія ферментованих харчових продуктів, в основному на основі рису, сої, овочів і риби, які все ще виробляються та споживаються щодня;

приклади таких продуктів включають корейський кімчі та японський натто, які здобули популярність у всьому світі завдяки своєму унікальному смаку та підтвердженій користі для здоров'я.

Ферментація продовжує практикуватися завдяки доказам подовженого терміну зберігання та покращення органолептичних властивостей ферментованих харчових продуктів. Існує велика варіація ферментованих продуктів і напоїв, які готуються та споживаються в усьому світі, хоча нам бракує детальних знань про мікробні властивості, що лежать в основі таких варіацій. У минулому ферментація базувалася на природних мікробах у харчовому субстраті, на які значною мірою впливали навколишні умови та навколишнє середовище, що призводило до характеристик ферментованих продуктів відповідно до їхнього географічного розташування. У зв'язку зі зростаючою увагою в усьому світі та зростаючим попитом на ферментовані продукти, а також підвищенням обізнаності про аспекти безпеки харчових продуктів була необхідна стандартизація процесу, що призвело до промислового контролю виробничих процедур, таких як використання заквасок і контроль протоколів бродіння в промислових масштабах.

1.2. Передові технології для підвищення якості бродіння

У сучасних умовах визначено *п'ять передових технологій*, які пропонують потенційні рішення для подолання існуючих перешкод у трансформації зростаючих галузей виробництва біомаси та точного бродіння:

1. Розвиток штаму організму з потенціалом підвищення продуктивності в 10 разів. Різні методи, такі як алгоритми, навчені штучним інтелектом/машинним навчанням, або підходи методом проб і помилок, обіцяють покращення продуктивності мікроорганізмів, важливого аспекту досягнення економічної ефективності біопроцесу. Стверджується, що продуктивність мікроорганізмів обмежує точність і економіку ферментації біомаси. Крім того, нещодавно розроблені штами не мають встановлених

«готових» процесів і потребують адаптації для ефективної роботи в комерційних масштабах.

2. Безперервна ферментація для посилення біопродукції. Визначається, що компанії, які розробляють надійні, універсальні рішення для безперервної ферментації, які можна легко інтегрувати в поточні операції, мають потенціал суттєво змінити галузь. Безперервна ферментація має вирішальне значення для розвитку біоекономіки, і її широко досліджують у фармацевтичній промисловості. Однак широке впровадження у великих масштабах було складним через забруднення та генетичні зміни в організмах, що ферментують. Підприємства, які розглядають перехід від періодичного виробництва з підживленням до безперервних систем, повинні зважити витрати на модернізацію існуючого обладнання та придбання новітнього обладнання, адаптованого до нового процесу.

3. Покращене та дешевше обладнання для подальшої обробки. Подальша обробка після виробництва продукту може бути дорогою, при цьому процеси сушіння є ключовими факторами вартості. Сучасні методи сушіння є енергоємними та можуть вплинути на якість харчування. Замінюючи стандартні методи, нові технології потенційно можуть покращити бродильну галузь.

4. Стандартизація промислових потоків відходів для ферментаційних середовищ. Багато компаній прагнуть використовувати потоки промислових відходів, щоб зменшити витрати на сировину для виробництва біомаси та точного бродіння. Однак перехід на вихідну сировину, що базується на побічних або потоках відходів, представляє проблеми, оскільки це може змінюватися залежно від сезону та джерела. Компанії, які можуть оптимізувати та стабілізувати потоки відходів без збільшення витрат, можуть отримати значну вигоду та масштабуватися для досягнення економічних показників.

5. Технології, керовані даними, для ідентифікації та відстеження змін у сенсорних характеристиках продуктів протягом усього виробничого процесу. Однією з головних проблем є визначення параметрів у виробничому процесі, які впливають на смак (небажані присмаки) і загальну якість

альтернативних білкових інгредієнтів або кінцевих продуктів. Вивчаючи кореляцію між параметрами біопроцесу та сенсорними параметрами, виробники можуть краще оптимізувати та покращити сенсорний досвід своїх продуктів.

Зазначено, що ферментація ще не повністю реалізувала свій потенціал у задоволенні потреб альтернативних протеїнів і біоекономічних застосувань. Однак, використовуючи потужність стратегій, що керуються даними, синтетичної біології та сучасної біоінженерії, створено унікальні можливості для просування продуктів, отриманих шляхом бродіння, до безпрецедентного рівня повсюдності та впливу.

Перша модель розуміння ролі мікробів у ферментації їжі була створена, коли німецький вчений Коршельт у 1878 році відкрив роль гриба *Aspergillus oryzae* у приготуванні коджі.

Коджі відноситься до різних цвілевих грибів роду *Aspergillus sp.*, які традиційно використовуються в східноазійській кухні для бродіння їжі. У японській мові «коджі» відноситься як до закваски *Aspergillus sp.*, так і до суміші *Aspergillus sp.* з пшеничним і соєвим шротом. Його можна смажити і їсти безпосередньо або обробляти до соусу.

Це відкриття супроводжувалося ідентифікацією різноманітних додаткових ферментаційних мікробів і стартових культур, що досягло нещодавнього прогресу в методах молекулярної біології, секвенуванні наступного покоління (NGS), інструментах мультиоміки та біоінформатики, а також передових статистичних підходах.

Секвенування — метод визначення первинної структури нерозгалужених біополімерів (ДНК, РНК, білків та вуглеводів), результатом якого є рядок символів, що позначає послідовність, у якій мономери складають дану молекулу-біополімер.

Секвенування нового покоління (NGS - Next Gen Sequencing) – це високопродуктивний метод, який досягається шляхом секвенування клонально ампліфікованих ДНК-матриць у масовому масштабі. Метод має широке застосування та відкриває науковцям нові можливості у вивченні геномів, транскриптомів чи екземів будь-якого організму. Висока продуктивність, швидкість та масштабованість технології NGS дозволяють досліджувати біологічні системи на новому рівні.

Мультиоміка, мульти-оміка, інтегративна оміка – це підхід до біологічного аналізу, спрямований на використання та інтеграцію великої кількості даних, наданої дослідженнями «-омами», щоб розвинути комплексне та цілісне розуміння біологічних систем.

Ці досягнення виявили мікробіомний склад ферментованих продуктів і повну послідовність геному біотехнологічно важливих мікробів. Ці знахідки дозволили глибоко зрозуміти процес бродіння та різноманітність мікроорганізмів, ролі та метаболічні шляхи та результати, що призвело до значного розвитку ферментаційної промисловості.

Дослідження мікробіоми кишківника людини виявило зв'язок між мікробіомом кишківника та різними аспектами здоров'я та хвороб людини. Цей висновок зумовив необхідність вивчення ферментованих продуктів та їх ролі в покращенні мікробіому. Цей розділ має на меті обговорити еволюцію процесу бродіння та внесок сучасних біотехнологічних інструментів у вдосконалення процесу бродіння їжі. Крім того, розглядаються сучасні досягнення в підходах мультиоміки разом із їх застосуванням у вивченні мікробіома, пов'язаного з ферментацією, мікробної взаємодії в екосистемі ферментованої їжі та ролі мікробів у наданні ферментованим харчовим продуктам і напоям унікальних

властивостей. Нарешті, висвітлено майбутні перспективи ферментації харчових продуктів з урахуванням сучасних інноваційних підходів.

1.3. Класифікація основних видів ферментованих харчових продуктів і напоїв

Ферментація включає в себе дію ферментів і каталізаторів, отриманих з мікроорганізмів, таких як бактерії, дріжджі та цвілі, для хімічного перетворення складних органічних сполук в субстраті в простіші, біоактивні, функціональні та поживні сполуки. Існує кілька методів класифікації ферментованих харчових продуктів і напоїв, в основному на основі використовуваної категорії субстрату, наприклад, ферментоване молоко, злаки, бобові, овочі, фрукти, м'ясо, риба та трави. Різноманітні комбінації різних типів харчових субстратів і мікробіоти, що беруть участь у ферментації, створюють тисячі ферментованих продуктів у всьому світі.

Бродіння також можна класифікувати, відповідно до основного біохімічного шляху, на чотири основні категорії: **спиртове, молочнокисле, оцтове та лужне бродіння**. При спиртовому бродінні цукри в субстраті перетворюються на спирт і вуглекислий газ; прикладами такого бродіння є виробництво хліба, пива та вина. Дріжджі є переважаючим мікробом, відповідальним за цей тип бродіння. Під час молочнокислого бродіння цукор перетворюється на молочну кислоту, як у випадку йогурту, кімчі та ферментованих злаків. Молочнокислі бактерії (LAB) в основному відповідають за цей тип бродіння. Під час оцтового бродіння органічні сполуки, такі як спирти та цукри в субстраті, перетворюються на оцтову кислоту бактеріями, які в основному належать до роду *Acetobacter*, як у випадку виробництва водного кефіру, чайного гриба, какао, кислого пива та оцту. Органічні кислоти, які утворюються мікроорганізмами під час ферментації кількох ферментованих харчових продуктів і напоїв, відіграють ключову роль у визначенні аспектів якості та безпеки продуктів. Наприклад, пропіонова кислота, що виробляється

Propionibacterium, і глюкуронова кислота, що виробляється в основному *Gluconacetobacter*, надають чайному грибу антиоксидантні властивості та сильну антимікробну дію проти шкідливих мікробів. Молочнокислі бактерії також можна класифікувати на дві основні фізіологічні групи залежно від шляху бродіння: гомоферментативні та гетероферментативні. Різниця полягає в тому, що основним продуктом бродіння цукрів є переважно молочна кислота. В гомоферментативній групі – молочна кислота, відповідно CO₂, оцтова кислота та етанол у гетероферментативній групі.

Під час лужного бродіння білки в субстраті гідролізуються на амінокислоти та пептиди, вивільняючи аміак, який підвищує рН (8–9), пригнічуючи мікроби, пов'язані з псуванням. Аміак, що утворюється під час лужного бродіння (бере участь у приготуванні японського натто та африканських ферментованих бобових і яєць), відповідає за сильний смак і аромат уамі.

Уамі – смак білкових речовин, «п'ятий смак», смак м'яса, що традиційно й широко використовується в японській кулінарній культурі, і в деяких інших країнах сходу. Відчуття «уамі» створюють розчинні амінокислоти та їхні аніони – глутамат та інші. Це харчова добавка групи E600-E699.

Мікроби, відповідальні за лужне бродіння, в основному належать до *Bacillus spp.* і коагулазонегативний *стафілокок*, який може виробляти позаклітинну протеїназу для гідролізу білка. На відміну від ферментованих продуктів, які залежать від певної групи мікробів для бродіння, існують ферментовані продукти харчування та напої, такі як корейський дуенджан і чайний гриб, які проходять різні стадії бродіння, на яких різні типи мікробів відповідають за багатоступеневу ферментацію процесу.

Процес бродіння охоплює біохімічну діяльність організмів протягом усього їх життєвого циклу, від росту до смерті. У промисловому виробництві харчових продуктів, фармацевтичних препаратів і алкогольних напоїв використовується технологія бродіння, що забезпечується такими організмами.

Технологія промислової ферментації базується на фундаментальному принципі культивування організмів в оптимальних умовах. Це досягається шляхом забезпечення необхідної сировини, включаючи вуглець, азот, солі, мікроелементи та вітаміни, необхідні для їх росту. Крім того, необхідно контролювати температуру, рН і концентрацію кисню, щоб забезпечити максимально можливий вихід бажаного продукту.

Процес бродіння також ретельно контролюється, щоб переконатися, що організми не піддаються впливу будь-яких токсинів або патогенів, які потенційно можуть вплинути на результат. Посилення уваги до збереження навколишнього середовища та відновлюваних джерел енергії викликало сплеск інтересу до вилучення продуктів бродіння, включаючи промислові хімікати, органічні кислоти, а також кормові та харчові добавки. Цей підйом спричинив розповсюдження продуктів за межі звичайних дорогоцінних ліків у невеликих обсягах, причому бродіння тепер конкурує із синтезом самих товарних хімічних речовин. Компанії повинні оптимізувати ефективність і скоротити відходи побічних продуктів, щоб залишатися конкурентоспроможними у виробництві недорогих хімічних речовин у великих обсягах. Зараз наукові спільноти активно досліджують біотехнологічний потенціал відходів агропромислового виробництва.

1.4. Еволюція процесу бродіння протягом років

Ферментовані харчові продукти та напої традиційно виробляються на основі мікробіоти, яка природно зустрічається на харчовому субстраті. Спонтанне бродіння, що залежить від автохтонних мікробів, було основним методом виробництва ферментованих продуктів харчування та напоїв протягом всієї історії, і воно залишається основним методом невеликих і домашніх виробництв.

Автохтонна мікробіота – сукупність мікроорганізмів, що постійно мешкають й розмножуються у воді.

Частково ця група поповнюється мікроорганізмами прибережної зони: ґрунту, мулу та повітря.

У цьому типі бродіння умови регулюються, щоб забезпечити ріст бажаних мікробів бродіння, які надають унікальні сенсорні властивості продукту та запобігають росту мікробів, пов'язаних із псуванням. Умови бродіння часто потребують коригування – наприклад, створення анаеробних умов необхідних для виробництва солінь; склад інгредієнтів може також потребувати коригування (наприклад, шляхом додавання солі або оцту під час бродіння), щоб придушити конкуруючу небажану мікрофлору. Багато типів ферментованих продуктів, таких як квашена капуста та кімчі, все ще виробляються за допомогою спонтанних підходів без використання заквасок, особливо в невеликих масштабах і в країнах, що розвиваються, оскільки процес повністю залежить від посилення росту мікробів, доступних на субстратній сировині. Початок процесу бродіння може передбачати перенесення невеликої кількості, попередньо успішно ферментованої партії, у свіжі інгредієнти як інокулят для полегшення початкової фази бродіння наступної партії, навіть без знання типів активних мікробів; цей процес називається зворотним нахилом.

Інокулят – певна кількість живих мікроорганізмів, які вносять у поживне середовище.

Під час спонтанного бродіння успішний процес досягається, коли бажані мікроби можуть витіснити та домінувати над шкідливими мікробами, пов'язаними з псуванням, через їх адаптацію до субстрату та переважаючих умов бродіння. Зворотне відкидання зменшує ризик невдачі та сприяє конкурентоспроможності мікробів бродіння; повторення процесу забезпечує подальший відбір корисних мікробів, які найкраще адаптуються до харчового субстрату та умов бродіння, забезпечуючи доступні на даний момент закваски.

1.4.1. Стартові культури

З прогресом у мікробіологічних методах ізоляції, ідентифікації та збереження мікробів, специфічні закваски були виділені та охарактеризовані з ферментованих харчових продуктів. Ці культури в даний час використовуються, особливо в промислових масштабах, щоб забезпечити контрольований процес і стабільність якості та властивостей результату бродіння. Використання чітко визначених заквасок спочатку було прийнято для виробництва пива, алкоголю, оцту та хліба, а потім молочних та м'ясних продуктів. Основна роль заквасок полягає в прискоренні процесу бродіння та перетворенні вуглеводів у субстраті на спирти та органічні кислоти, які діють як природні консерванти, обмежують ріст шкідливих мікробів і надають чіткі та бажані органолептичні властивості продукту. Зведення до мінімуму ризику хвороб харчового походження було підтверджено раніше в природних умовах і при штучній інокуляції збудниками. Виділення вуглекислого газу під дією заквасок має важливе значення для процесу бродіння, оскільки сприяє підйому тіста під час випікання хліба, утворенню піни пива та пахти та утворенню вічок у сирі.

Закваски, які в основному використовуються для виробництва ферментованих харчових продуктів і напоїв, зокрема кислих ферментованих продуктів, належать до LAB. Такі бактерії включають представників *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Oenococcus* і *Pediococcus*, і деякі з них можуть мати прямий сприятливий вплив на здоров'я як живі пробіотичні мікроби. Крім того, не-LAB бактерії, такі як ті, що належать до *Bacillus*, *Micrococcaceae*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium* і *Brachybacterium*, діють як вторинна група мікроорганізмів у процесі бродіння. Разом із бактеріями, дріжджі та плісняви, включаючи декілька видів *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* та *Rhizopus*, є важливою частиною заквасок у різноманітних ферментованих продуктах харчування та напоях, таких як сир та кава, у яких мікробіота суттєво впливає на зовнішній вигляд та органолептичні властивості. Для виготовлення вина

Saccharomyces cerevisiae традиційно використовується в процесі бродіння. Крім того, зростає обізнаність про енологічні характеристики інших дріжджів, що не є *Saccharomyces*, у наданні вина особливого смаку та аромату.

1.4.2. Стартові культури кількох штамів та адаптація до спільного існування

Стартові культури не завжди містять один штам; у багатьох випадках бере участь консорціум різних організмів і штамів. Модельним прикладом ферментованих напоїв є чайний гриб із консорціумом заквасок із кількох видів, які добре пристосовані до спільного існування. У випадку чайного гриба, ферментованого, підсолодженого напою, отриманого з чорного чаю, який виник у Китаї тисячі років тому і зараз набуває популярності в усьому світі завдяки своїм оздоровчим і терапевтичним ефектам, симбіотична культура бактерій і дріжджів використовується для ініціювання бродіння. Бродіння чайного гриба складається з трьох основних типів бродіння (тобто спиртового, молочнокислого та оцтового) завдяки присутності різних типів бактерій і дріжджів, які співіснують у середовищі та відповідають за різні стадії бродіння; процес ініціюють осмоотолерантні мікроби, а кислотостійкі бактерії переважають і домінують.



Рис.1. Чайний гриб – важливий інгредієнт для комбучі (фото: Freepik) [1]

У цьому випадку мікроби добре пристосовані до субстрату та співіснують з іншими мікробами, що утворюють симбіотичну культуру бактерій і дріжджів. Вони діють злагоджено; субстрат містить цукрозу, яка спочатку розщеплюється під дією дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae*) на фруктозу та глюкозу, які потім використовуються для росту бактерій у консорціумі (наприклад, *Acetobacter* та *Gluconobacter* spp.), що виробляють різні органічні кислоти, такі як оцтова, глюконова та глюкуронова кислоти. Дріжджі в чайному грибі зброджують цукор на етанол і CO₂; етанол згодом окислюється в оцтову кислоту оцтовокислими бактеріями. Ці органічні кислоти разом зі спиртами, що виробляються дріжджами, діють як антимікробні агенти, які пригнічують ріст небажаних мікробів у чайному грибі. Рівень поліфенолів і флавоноїдів, спочатку знайдених у чорному чаї, прогресивно зростає з ферментацією, швидше за все, через роль дріжджів у ферментативному розкладанні поліфенолів на менші молекули, збільшуючи антиоксидантну активність чайного гриба та стимулюючи виробництво бактеріальної целюлози.

Мікробна целюлоза, яку виробляє *Komagataeibacter xylinus* є основою для формування плаваючої біоплівки як твердої фази чайного гриба. Утворення цієї біоплівки посилює асоціацію між бактеріями та дріжджами та відіграє важливу роль у регулюванні умов бродіння для підтримки виживання важливих мікробних груп, утримуючи бактерії та дріжджі на поверхні рідини для забезпечення достатнього надходження кисню та дифузії поживних речовин (шляхом утворення reticulation) до бактерій, що мешкають. Роль мікробних агентів в екосистемі чайного гриба не обмежується їхньою біологічною активністю; навіть після смерті залучених дріжджових клітин вони вивільняють вітаміни та поживні речовини, стимулюючи ріст важливих бактерій. Це феноменальне співіснування різних взаємодіючих мікробів, що утворюють консорціум бродіння чайного гриба, являє собою модель спільної еволюції мікробіоти ферментації, потужного симбіозу та стабільності екологічної системи; цей консорціум може переносити імітацію марсіанських умов

навколишнього середовища та відновлювати свою біологічну активність після впливу.

1.4.3. Генетичне вдосконалення заквасок

Процес бродіння отримав подальший розвиток, оскільки використання заквасок зазнало значних удосконалень із розвитком методів молекулярної біології. Раніше відбір заквасок базувався на скринінгу багатьох ізолятів, і відбирали ті, які добре показали себе при ферментації в промислових масштабах, даючи кінцеві продукти з прийнятними органолептичними характеристиками. Нещодавно передові інструменти, що дозволяють проводити високопродуктивний скринінг для специфічного націлювання на гени та метаболічні шляхи, привели до відбору кращих і добре адаптованих заквасок для покращення ферментації та полегшили відбір мутантів і генної інженерії для кращих заквасок із бажаними властивостями.

Успішна плазмідна трансформація *Lactococcus lactis*, важливого мікроорганізму для ферментації молочних продуктів, за допомогою методів рекомбінантної ДНК у 1982 році вважалася поворотним моментом для використання генної інженерії, для покращення заквасок, для приготування ферментованої їжі. Після цього прогресу кілька промислово важливих LAB, таких як *Streptococcus thermophilus* і представники роду *Leuconostoc*, були генетично модифіковані для покращення ознак, пов'язаних з метаболізмом, ефективністю протеолізу та захистом від бактеріофагів. Зараження заквасок бактеріофагами є основною проблемою для ферментації молочних продуктів, оскільки це спричиняє значні економічні втрати, через швидке накопичення бактеріофагів, що призводить до повного припинення підкислення та подальшого псування. Прогрес у молекулярній біології призвів до характеристики бактеріофагів у поєднанні з секвенуванням усього геному *L. lactis*, полегшуючи розуміння процесу зараження бактеріофагами та механізмів захисту бактерій. Це відкриття було перетворено на конструювання штамів з

компонентами бактеріофагів, які пригнічували проліферацію фагів і забезпечували значний захист *L. lactis*. Крім того, генна та метаболічна інженерія LAB відкриває шлях для подальшого використання молочної лактози під час бродіння з можливістю генерації нових корисних продуктів (як простих, так і складних) разом з молочною кислотою, з різними корисними застосуваннями.

Стартові культури генерувалися за допомогою технології рекомбінантної ДНК протягом десятиліть і можуть забезпечити покращені процеси бродіння та пропонувати продукти кращої якості з бажаними властивостями. Незважаючи на такий потенціал, жоден із розроблених штамів не використовується в промисловості через суворі державні правила та відсутність споживчого сприйняття генетично модифікованих харчових інгредієнтів. Таким чином, методи покращення штаму без використання технології рекомбінантної ДНК, такі як випадковий мутагенез, спрямована або адаптивна еволюція та домінантний відбір, разом із природними механізмами, такими як трансдукція бактеріофагів, природна компетентність та кон'югація, широко використовуються в харчовій промисловості.

Трансдукція – форма горизонтального перенесення генів, при якій передача генетичного матеріалу від однієї клітини до іншої відбувається за допомогою вірусу (бактеріофага у випадку бактерій), що, як і у випадку інших форм горизонтального перенесення генів, призводить до зміни спадкових властивостей. Вірус, що переносить клітинну ДНК або РНК, називається трансдукційною частинкою. Розрізняють два види трансдукції: загальну (генералізовану), за якої може переноситись будь-яка ділянка геному клітини, та спеціалізована, під час якої завжди переноситься один і той самий набір генів.

Кон'югація – це різні форми статевого процесу, за якого клітини одноклітинних (частина видів бактерій, водоростей тварин) чи багатоклітинних (деякі гриби,

нитчасті зелені водорості) організмів обмінюються спадковим матеріалом.

Випадковий мутагенез, викликаний класичними методами (наприклад, УФ-обробка) і подальший відбір корисних варіантів, успішно використовувалися для отримання заквасок із бажаними властивостями. Однак недоліком цього методу є те, що він викликає ненавмисні мутації, які можуть погіршити придатність штамів і вплинути на їх ефективність, про що свідчать дослідження повного геному бактерій. Удосконалені штами кваліфікуються як «загалом безпечні» FDA (*Food and Drug Administration* – Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів США). Воно відповідає за регуляцію та нагляд над безпечністю харчових продуктів, біологічно активних добавок, ліків, вакцин, медичних приладів, ветеринарної продукції та косметики, якщо вони мають генетичну стабільність, відсутність чужорідної ДНК, генів-маркерів стійкості до антибіотиків і відсутність глобальних змін у порівнянні з батьківським штамом; такі покращені штами були створені та зареєстровані для використання. Одним із прикладів зареєстрованого покращеного штаму як закваски є метаболічно сконструйований дріжджовий штам *Saccharomyces cerevisiae*, що руйнує сечовину, створений для зниження вмісту етилкарбамату, потужного канцерогену у вині; штам знижує етилкарбамат у вині на 89,1% і був запатентований і зареєстрований для виробництва алкогольних напоїв.

1.5. Технологія CRISPR/Cas9 для генетичного вдосконалення стартових культур

Революційна нова технологія CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9) є надзвичайно точним методом редагування генів; вона вивела генну інженерію на новий рівень із широким спектром біотехнологічних застосувань у багатьох галузях, а її першовідкривачів було обрано на Нобелівську премію з хімії у 2020 році.

Коротко кажучи, CRISPR/Cas9 заснований на механізмі «адаптивного імунітету», який природним чином зустрічається в бактеріях і археях, і складається з двох компонентів: химерної направляючої РНК (gRNA) і РНК-керованої ДНК-ендонуклеази (наприклад, Cas9); набір інструментів CRISPR/Cas9 можна використовувати для точного редагування геному будь-якого організму. Застосування набору інструментів у харчовій промисловості є численним, і його було застосовано для покращення штамів стартових культур шляхом отримання безмаркерних, генетично стабільних штамів із покращеними властивостями.

Технологія була вперше застосована в 2013 році для геномної інженерії *Saccharomyces cerevisiae*, промислово важливого штаму дріжджів і закваски для кількох ферментованих продуктів. З того часу було кілька застосувань інструментарію CRISPR/Cas9 для покращення застосовності *S. cerevisiae*. Нещодавно були успішно реалізовані інженерні дріжджі для зменшення виробництва сечовини, попередника етилкарбамату, і модуляції виробництва гліцерину у вині. Застосування набору інструментів CRISPR/Cas9 було досліджено для покращення заквасок ферментованих харчових продуктів і напоїв разом із дріжджами. *Leuconostoc citreum*, пов'язаний з кімчі, був сконструйований з використанням набору інструментів CRISPR/Cas9 для усунення загадкових плазмід, і цей процес було запропоновано як харчовий метод для розробки безпечного штаму молочнокислих бактерій без залишкових маркерів антибіотиків.

Дослідниками використано набір інструментів CRISPR/Cas9 для розробки функціонального та універсального методу редагування геному для ефективного націлювання на мутагенез у *A. oryzae*, який є промислово важливим ниткоподібним грибом, що використовується в японській та корейській традиційній ферментації. Нова технологія CRISPR для редагування генів є перспективною для харчових продуктів; вона дуже точна, стабільна і її слід розглядати поза сферою генетично модифікованих організмів (ГМО), оскільки модифікація відбувається в природі. Однак вона все ще підпадає під визначення

ГМО згідно з судом Європейського Союзу, оскільки стосується організмів, отриманих за допомогою мутагенезу *in vitro*. Наукове співтовариство докладає зусиль для перегляду таких правил і прийняття технології в харчовій промисловості. Тим не менш дослідження, щодо покращення властивостей заквасок для ферментованих харчових продуктів і напоїв, мають вирішальне значення для підвищення якості продуктів і зменшення потенційної небезпеки, спричиненої небажаними мікробами чи їхніми метаболітами.

1.6. CRISPR-опосередкована мікробіомна інженерія та ферментація

Активність мікробів у ферментованих харчових продуктах і напоях є основним фактором, відповідальним за якість і безпеку продукту. Отже, маніпуляції з мікробним складом, особливо на початку бродіння, є ключовими для контролю процесу та формування властивостей продукту. Нещодавні досягнення в біотехнологічних інструментах і розвиток технологій, заснованих на CRISPR, можуть бути задіяні не тільки в генетичному вдосконаленні конкретних штамів у стартових культурах, як пояснювалося раніше, але технологія також має великий потенціал у мікробіомній інженерії. Цей кращий метод може націлюватися на конкретні групи небажаних мікробів у екосистемі ферментованої їжі та контролювати складання мікробіоти для посилення бажаних мікробів ферментації, що призводить до оптимізації ферментованих харчових продуктів. Маніпуляції мікробіомами, опосередковані CRISPR, досліджувалися в кількох останніх дослідженнях. Головним пріоритетом маніпуляції з мікробіомами ферментованих харчових продуктів і напоїв є вибірковий контроль небажаних мікробів, пов'язаних із псуванням, або мікробів, які конкурують з мікробами, бажаними для бродіння, для підвищення якості продукту та продовження терміну зберігання.

Специфічне націлювання на конкретні індивідуальні мікробні штами в мікробних консорціумах раніше проводилося за допомогою інструментарію

CRISPR/Cas9 у *Escherichia coli* як модельного мікроба шляхом націлювання на конкретні послідовності. Таке специфічне націлювання на окремі штами в змішаних культурах і диференціація між патогенними та корисними мікробами були майже неможливі за допомогою адаптованих умов росту або традиційних антибіотиків; таке націлювання дозволяє використовувати подальші програми шляхом вибіркового очищення мікроорганізмів, що забруднюють, і кількісного контролю складу середовища або промислового мікробного співтовариства. Специфічні послідовності ДНК, відповідальні за небажані особливості, які є унікальними для патогенних мікробів або мікробів, що псують, такі як фактори вірулентності, стійкість до антибіотиків або продукція токсинів, можуть бути спрямовані на усунення. Хоча більшість досліджень із застосуванням інноваційних селективних протимікробних підходів на основі CRISPR зосереджуються на патогенних мікробах, включаючи вибіркоче маніпулювання мікробіомом ферментації їжі шляхом націлювання на генотип мікробів, що псують.

Мікробіом – сукупність усіх мікроорганізмів та їхніх генів у певному середовищі (частіше, у всьому організмі). До можливих представників екосистеми мікробіому відносять бактерії, археї, гриби, водорості, дрібні найпростіші, фаги, віруси, плазмиди та їх відокремлений генетичний матеріал.

Еволюція процесу бродіння протягом історії, починаючи від використання природних місцевих мікробів і закінчуючи інноваційним підходом мікробіомної інженерії з використанням передових технологічних інструментів.

1.7. Мультиоміка та динаміка мікробіоти ферментації їжі

Безперервно взаємодіюча мікробіота екосистем ферментації харчових продуктів, що охоплює різні типи бактерій, дріжджів і грибків, відіграє важливу роль у формуванні якості та безпеки ферментованих харчових продуктів і напоїв.

Мультиоміка, мульти-оміка, інтегративна оміка – це підхід до біологічного аналізу, спрямований на використання та інтеграцію великої кількості даних, наданої дослідженнями «-омами», щоб розвинути комплексне та цілісне розуміння біологічних систем.

Попередні дослідження, що вивчали мікробний склад ферментованих продуктів, ґрунтувалися на традиційному методі культивування на пластинах на основі культури, який не зміг надати точної інформації про мікробні профілі головним чином через переважну більшість мікробів, які не можна культивувати, і наявність життєздатних, але не культивованих мікробів. особливо в екосистемах ферментованої їжі. Нещодавній прогрес технології NGS, що включає колективні дослідження мікробних геномів і метагеноміки, метатранскриптоміки, метапротеоміки та метаболоміки для вивчення мікробних спільнот, дозволив точно ідентифікувати мікробний склад різних екосистем, включаючи ферментовану їжу та детальне вивчення взаємодії мікроб-мікроб і мікроб-середовище під час бродіння їжі екосистеми, включаючи експресію мікробних генів, діяльність і метаболічну взаємодію. Ці підходи наступного покоління на основі нуклеїнових кислот і білків замінили традиційні методи, засновані на культурі, для профілювання мікробної спільноти і є наріжним каменем для детального розуміння процесу ферментації. Завдяки цьому є можливість маніпулювати складом спільноти і покращувати процеси ферментації для отримання продуктів більш високої якості з бажаними властивостями і зі збільшеним терміном зберігання.

Одним із найбільш широко застосовуваних методів у останніх дослідженнях для профілювання мікробіоти під час ферментації їжі є використання меташтрихкодування на основі високопродуктивного секвенування шляхом аналізу сукупних геномних маркерів із застосуванням універсальних праймерів і внутрішніх транскрибованих спейсерів для бактерій і грибів відповідно.

Праймер – короткий фрагмент нуклеїнової кислоти або пов'язана молекула, що служить початковим пунктом реплікації ДНК.

Спейсери – ділянки ДНК, що не транскрибуються та розташовані між генами, які тандемно повторюються (наприклад, генами рибосомальної РНК у евкаріот). Їх функція, найімовірніше, полягає в забезпеченні високого рівня транскрипції в пов'язаних генах.

Транскрипція в біології – процес синтезу РНК з ДНК, один з етапів біосинтезу білків при синтезі мРНК, чи синтез нкРНК.

Обмеження цього методу полягає в тому, що він може не ідентифікувати задіяні мікроби на видовому рівні, хоча в багатьох випадках вид можна було б визначити через обмежену кількість ідентифікованих видів у багатьох родах ферментації їжі. Крім того, цей метод може забезпечити лише якісну та псевдокількісну оцінку наявної мікробіоти, яка буде виражена як «відносна чисельність», і це обмеження можна подолати шляхом інтеграції цільових методів підрахунку молекулярних клітин, щоб забезпечити абсолютну оцінку чисельності. Покладання на ампліфікацію з ДНК-матриць може обмежити оцінку фактичних активних мікробних груп, чого можна уникнути, використовуючи підходи на основі РНК, включаючи зворотну транскрипцію змішаної РНК з наступною ампліфікацією кДНК, яка може профілювати активні мікробні популяції та кількісну ПЛР для мікробний підрахунок.

Ампліфікація в молекулярній біології – збільшення кількості певних фрагментів ДНК за допомогою ПЛР (Полімеразна ланцюгова реакція) або молекулярного клонування.

Більш комплексним підходом до вивчення мікробіома ферментованої їжі є застосування метагеномних перетворень DNA-seq, які надають точнішу таксономічну інформацію про мікробні спільноти зразків високої складності,

дозволяючи профілювати функціональний потенціал шляхом виявлення глобального вмісту генів і визначення невідомих видів.

Метагеноміка – галузь генетики та мікробіології, що вивчає генетичний матеріал спільнот мікроорганізмів, отриманий безпосередньо зі зразків навколишнього середовища, таких як ґрунт, вода чи мікробіом тіла людини

Застосування підходу ДНК-seq у вивченні харчових матриць включає виявлення харчових патогенів і моніторинг змін у вмісті генів під час процесу бродіння. Тим не менш, метод меташтрихового кодування є потужним інструментом для профілювання мікробіоти харчової ферментації та успішно застосований для дослідження різних типів харчових продуктів бродіння та моніторингу мікробної динаміки та можливих змін у мікробіоті шляхом коригування зовнішніх збурень, таких як умови бродіння, інгредієнти та точки відбору проб. Серед застосувань підходу меташтрихового кодування було досліджено мікробіоту, яка бере участь у процесі бродіння, і вплив маніпулювання інгредієнтами бродіння на структуру мікробної спільноти.

1.7.1. Приклади використання мета-оміки для вивчення мікробної динаміки ферментації їжі в новітніх дослідженнях

Серед модельних прикладів для досліджень із застосуванням підходу меташтрихкодування для профілювання структури мікробної спільноти та оцінки впливу інгредієнтів бродіння на склад мікробної спільноти та функціональний потенціал є кімчі, ферментовані соєві продукти та чайний гриб. Кімчі є найвідомішою корейською ферментованою їжею, яка набула всесвітньої популярності завдяки своїм корисним властивостям. Кілька досліджень присвячено визначенню походження мікробного співтовариства та їх динаміку в кімчі, а також ідентичність основних мікробів, які беруть участь у процесі бродіння. Основними мікробами ферментації кімчі є LAB, які ініціюють

бродиння шляхом метаболізму рослинного цукру в молочну кислоту, що знижує рН і обмежує ріст більшості мікробів. Домінуючими мікробами в кімчі є представники родів *Leuconostoc*, *Lactobacillus* і *Weissella*. Під час початкової стадії бродиння *Leuconostoc mesenteroides* зазвичай домінує в мікробному співтоваристві, а *Lactobacillus sakei* та *Weissella koreensis* починають домінувати на стадіях ферментації оптимального дозрівання та перезрівання; хоча останні важливі для бродиння кімчі, їх швидке зростання та активність сприяють кислотному руйнуванню, зменшують свіжий смак і зменшують термін зберігання.

Розуміння процесу бродиння та налаштування оптимальних умов вимагає дослідження ролі інгредієнтів бродиння у формуванні ферментаційного мікробіому. Додавання коріандру призвело до значного зниження (~45% зменшення) відносної кількості *Chromohalobacter beijerinckii*, який домінував у мікробній спільноті в контрольній групі. Зменшення *C. beijerinckii* вважається корисним для ганджангу, оскільки він відповідає за підвищення рівня біогенних амінів, таких як гістамін, путресцин і тирамін, які вважаються потенційними факторами ризику для здоров'я у ферментованих солоних продуктах і повинні бути зведені до мінімуму. Це дослідження поєднало метаболомічний аналіз з використанням ¹H-ЯМР для оцінки вмісту біогенних амінів, що утворюються в ганджангу, що виявило значне зниження рівнів цих біогенних амінів. Це дослідження демонструє перевагу інтеграції інструментів мультиоміки для оцінки впливу інгредієнтів на процес бродиння та кінцевий продукт, припускаючи, що додавання коріандру під час бродиння позитивно впливає на якість і корисність продукту.

Подібним чином, ефект додавання різних видів трав під час бродиння для виробництва доенджангу досліджували за допомогою метабаркодування 16S рРНК на основі HTS та метаболомічних досліджень.

Доенджанг, або приправа, можна описати як суміш спецій та трав, яка надає особливий смак та аромат

стравам. Ця приправа зазвичай використовується в азіатській кухні.

Результати показали, що додавання трав, особливо перцевої та корейської м'яти, під час бродіння дуенджанга позитивно вплинуло на структуру мікробного співтовариства, оскільки рівень небажаних мікробів, таких як *Sphingobacterium* та *Pantoea*, був значно знижений, тоді як потенційно корисний біоактивний метаболіт- мікроби-продуценти, такі як *Saccharopolyspora* і *Buttiauxella*, були присутні на значно вищих рівнях. Ці результати були додатково підтверджені та узгоджувалися з результатами нещодавнього дослідження, у якому використовувався аналіз первинного та вторинного метаболітів для оцінки впливу додавання трав на властивості доенджангу.

Метаболоміка – наукова дисципліна, яка зосереджена на комплексному аналізі та кількісному визначенні масиву різноманітних малих молекул (метаболітів) у біологічній системі, який в сукупності називають метаболом.

Результати показали, що додавання трав спричинило значні зміни в метаболічному складі як первинних, так і вторинних метаболітів, з більш глибоким позитивним впливом на вторинні метаболіти, особливо при додаванні м'яти перцевої та корейської; рівні ізофлавоноів, соєвих сапонінів і лізофосфоліпідів були значно збільшені разом із значно вищою антиоксидантною здатністю порівняно з доенджангом, виготовленим без трав.

Метагеномні підходи були застосовані для вивчення мікробного складу чайного гриба шляхом поєднання цілого метагеномного секвенування, 16S рРНК і внутрішнього транскрибованого аналізу ампліконів спейсера-1. Результати показали, що *Komagataeibacter* і *Zygosaccharomyces* були домінуючими в різний час бродіння. Крім того, спостерігалася функціональна комплементарність між обома мікробними групами, що пояснює стійкість екосистеми чайного гриба завдяки забезпеченню мікробних метаболічних перехресних переговорів. Така взаємна метаболічна взаємодія між мікробними групами, що входять до

консорціумів чайного гриба, може пояснити їх стабільність і здатність переносити суворе середовище. Екологічну стійкість мікробіоти чайного гриба до тривалого впливу надзвичайно суворих умов, схожих на марсіанські, на низькій навколоземній орбіті було підтверджено дробовим метагеномним аналізом, оскільки ядро мікробної структури було збережено, і не було значних змін у функції спільноти, такі як здатність виробляти плівки на основі целюлози, що дозволяє виживати спільноті мікробів у позаземних умовах.

1.8. Функціональна активність мікробіому ферментації їжі

Кілька досліджень комбінували мета-транскриптомічний аналіз, який спрямований на активно експресовані гени в певних умовах, з мета-штрих-кодуванням для розшифровки основних функцій виявленої мікробіоти, які пов'язані з метаболомічними змінами, що впливають на якісні властивості ферментованих продуктів. Два підходи були об'єднані для вивчення структури та функції основної мікробіоти у китайському виробництві спиртного напою з ароматичним соєвим соусом і полегшення розуміння розвитку смаку в продукті як двоетапного процесу за участю дріжджів спочатку для виробництва етанолу, а потім функціональний зсув для виробництва органічних кислот під дією *Lactobacillus*. Було використано комбінаторний підхід із залученням мета-транскриптомного аналізу, щоб полегшити розуміння процесу дозрівання італійського сиру та можливостей прискорення дозрівання. Отримані результати показали роль нестартерних LAB у діяльності, пов'язаній з дозріванням і з підвищенням температури модуляції на структурі та функції мікробіоти під час дозрівання для оптимізації ефективності виробництва та якості продукції.

Хоча мета-транскриптомний аналіз може надати цінні знання про експресію генів і потенційну функціональну активність, він може не вдатися до встановлення прямих зв'язків між мікробіотою та навколишнім середовищем, оскільки експресія мРНК може не бути безпосередньо пов'язаною з експресією білка і регуляція активності клітин відбувається на рівні білка. Таким чином,

прямий аналіз білків є важливим, як додатковий підхід разом із мета-транскриптомікою, для вивчення функціональної активності мікробного співтовариства. Метапротеомний підхід, який забезпечує широкомасштабне дослідження всіх білків, що експресуються мікробною спільнотою у зразку навколишнього середовища, є корисним для ідентифікації та кількісного визначення мікробної активності на посттрансляційному рівні та може бути ланкою між метагеномікою дослідження та біологічні функції для розуміння складних взаємодій субстрат-мікробіом. Порівняно з іншими мета-омічними підходами, мета-протеомний аналіз мало досліджується для вивчення ферментації їжі через обмеження, включаючи високу вартість, складність мікробних зразків і високу схожість між багатьма зчитуваннями послідовностей білків.

З роками процес бродіння зазнав значного вдосконалення. З технологічним прогресом стало можливим маніпулювати початковою культурою ферментації та пов'язаним з нею мікробіомом для стандартизації стабільності продукту, покращення сенсорних властивостей їжі та забезпечення безпеки. Інструменти редагування генної та мікробіомної інженерії швидко розвиваються та стають дуже ефективними для покращення мікробної функціональності. Ця сучасна технологія в основному застосовується в дослідженнях клітин людини, а генна терапія на основі CRISPR/Cas9 має клінічний потенціал. Однак ця технологія все ще має великі перспективи для широкого спектру застосувань, у тому числі в промисловості харчової ферментації. Індустрія ферментованих харчових продуктів і напоїв може отримати значну вигоду від застосування революційних інструментів редагування геному на основі CRISPR і маніпулювання мікробіомами, що призведе до покращеного контролю процесу та властивостей кінцевого продукту шляхом просування бажаних функцій, пов'язаних із сенсорними властивостями: аспекти якості, термін придатності, харчовий склад та безпека ферментованої їжі. Це покращення буде поєднане зі збільшенням сприйняття споживачами та меншою кількістю урядових обмежень на використання редагування генів CRISPR/Cas9 у маніпуляціях з мікробами,

особливо якщо не передбачається введення чужорідної ДНК. Наукові дослідження постійно доводять безпеку та точність сучасних інструментів геномної маніпуляції без використання маркерів резистентності та генетичної стабільності створених штамів, що стає прийнятним як харчовий процес.

Однак важливо підкреслити всесвітню популярність і визнання ферментованої їжі, а також її природний і кустарний характер. Тому спонтанні та традиційні методи підготовки й надалі будуть основною частиною практики. Отже, точна характеристика всього процесу та гігієнічні аспекти важливі для розуміння традиційної ферментації та забезпечення безпеки споживання ферментованої їжі. Наявні інструменти, засновані на технології NGS, і розвиток піонерських інтегрованих підходів мультиоміки дозволили глибоко зрозуміти та проаналізувати процес бродіння з високою роздільною здатністю з багатьма новими знаннями про мікробіом ферментованої їжі та роль у фізико-хімічних і сенсорних властивостях ферментованої їжі.

Удосконалення інструментів, доступних для вивчення процесу бродіння, виявило успадковану мудрість стародавніх суспільств. Вибір відповідних ферментаційних субстратів, для комбінування та створення умов традиційної ферментації, привів до приготування здорових продуктів із покращеними сенсорними властивостями. Комбіновані мультиомічні підходи забезпечили передові відкриття в різних областях мікробіологічних досліджень, тоді як їх застосування у вивченні бродіння обмежене. У більшості досліджень використовується єдиний підхід для вивчення певного аспекту, особливо через високу вартість поєднання різних підходів omics і потребу в складних навичках біоінформатики та біостатистики для аналізу таких великих наборів даних. Комбінований мультиомічний підхід полегшить розуміння процесу, забезпечить нові перспективи системної біології та розшифрує взаємодію між ферментаційною мікробіотою, субстратом і навколишнім середовищем. Загалом, найближче майбутнє принесе ширший діапазон застосувань мультиоміки у вивченні ферментації харчових продуктів, що призведе до детальної

характеристики та ефективного та сталого виробництва ферментованих продуктів харчування та напоїв.

1.9. Прецизійне бродіння

У прецизійній ферментації використовуються генетично модифіковані мікроорганізми для виробництва специфічних білків, ферментів та інших сполук. Це досягається шляхом введення генів у ДНК мікроорганізмів, щоб дозволити їм виробляти бажаний продукт. Термін «точність» означає здатність точно контролювати процес, від генетичної модифікації мікроорганізмів до оптимізації умов бродіння. Основна відмінність між прецизійним бродінням і загальним бродінням полягає в тому, що мікроорганізми, які використовуються в прецизійному бродінні, призначені для створення конкретного кінцевого продукту.

Прецизійне бродіння є стійкою харчовою технологією, оскільки її можна використовувати для виробництва високоцінних сполук, не покладаючись на традиційне сільське господарство чи тваринництво. Це зменшує вплив харчових продуктів і біофармацевтичного виробництва на навколишнє середовище, оскільки воно потребує менше землі, води та інших ресурсів. Крім того, прецизійне бродіння також можна використовувати для виробництва продуктів, які є більш екологічно чистими, ніж їх традиційні аналоги, наприклад, альтернативи м'ясу рослинного походження.

Однією з переваг прецизійного бродіння є можливість виробляти високоцінні суміші з точністю та послідовністю, що може призвести до економії коштів та покращення якості продукту. Крім того, прецизійне бродіння має потенціал для зменшення впливу харчових продуктів і біофармацевтичного виробництва на навколишнє середовище, оскільки вимагає менше ресурсів і може використовуватися для виробництва більш стійких альтернатив традиційним продуктам. Прецизійне бродіння також може бути використано для

виробництва нових методів лікування з високою специфічністю та ефективністю, включаючи біопрепарати, вакцини та генну терапію.

Є занепокоєння щодо безпеки та нормативних аспектів продуктів прецизійного бродіння. Особливо на біофармацевтичному ринку необхідні ретельні процеси тестування та схвалення. Крім того, можуть існувати етичні та суспільні проблеми щодо використання генетично модифікованих мікроорганізмів для виробництва харчових продуктів і ліків.

Точне бродіння є результатом еволюції традиційних методів бродіння; це революційний стрибок, який став можливим завдяки значним досягненням у точній біології. Ця технологія використовує потужність мікроорганізмів, створених для виробництва специфічних білків, ферментів та інших складних органічних молекул з небаченим досі рівнем точності. За своєю суттю прецизійне бродіння використовує природний процес бродіння, під час якого мікроби розщеплюють органічні речовини, такі як цукор, на цінні продукти, такі як білки та жири, залежно від їхнього генетичного складу. Однак поява прецизійної біології підштовхнула цей процес до нової ери, дозволивши створювати персоналізовані молекули, які можуть значно підвищити якість і функціональність їжі. Наслідки точної ферментації для сталого сільськогосподарства є глибокими. Забезпечуючи виробництво альтернатив продуктів тваринного походження безпосередньо з мікроорганізмів, прецизійна ферментація вирішує ключові проблеми сталого розвитку, включаючи скорочення викидів парникових газів, землекористування та споживання води, пов'язаних із традиційним тваринництвом. Мозковий центр RethinkX (це аналітичний центр, який зосереджується на виявленні руйнівних інновацій, які незабаром можуть вплинути на суспільство) підкреслює руйнівний потенціал прецизійного бродіння, прогнозуючи, що поряд з іншими інноваційними технологіями воно може значно скоротити чисті викиди парникових газів у всьому світі більш ніж на 90% протягом наступного десятиліття. Цей технологічний зсув стосується не лише пом'якшення зміни клімату; мова йде про

перетворення харчової промисловості на більш ефективний, стійкий і етичний сектор.

Аналіз показує потенціал прецизійної ферментації, щоб зробити традиційні тваринницькі та аквакультурні галузі застарілими, оскільки це обіцяє виробляти білки та інші продукти харчування дешевше, ефективніше та стійкіше, ніж поточні методи. Це не лише економія коштів; мова йде про створення якісних продуктів, які є чистішими, безпечнішими та послідовнішими, ніж аналоги тваринного походження. У звіті передбачається значне скорочення поголів'я худоби, передбачаючи майбутнє, коли галузі тваринництва можуть зіткнутися з серйозними економічними проблемами через конкурентоспроможність технологій прецизійної ферментації. Крім того, прецизійне бродіння та клітинне сільське господарство віщують появу нової моделі виробництва, яка отримала назву «**Їжа як програмне забезпечення**». Ця модель передбачає майбутнє, де харчові продукти розроблятимуться з такою ж гнучкістю та інноваціями, що й програмні додатки, використовуючи молекулярні кулінарні книги для постійного покращення якості продуктів і зниження витрат. Децентралізація виробництва харчових продуктів за допомогою точної ферментації може призвести до більш стійкої та стабільної харчової системи, де ферментаційні ферми працюють поблизу міських центрів, подібно до пивоварень сьогодні.

Перетворення, обіцяне прецизійним бродінням, виходить за межі технологічної та екологічної сфер і приносить користь для суспільства. Завдяки звільненню величезних масивів землі, які зараз використовуються для тваринництва, з'являється безпрецедентна можливість для збереження, відновлення дикої природи та лісовідновлення, що може значно сприяти зусиллям із поглинання вуглецю. Точне бродіння, наріжний камінь сучасних сільськогосподарських технологій (AgTech), знаменує значний відхід від традиційних методів бродіння, інтегруючи останні наукові досягнення для задоволення нагальних потреб сталого виробництва продуктів харчування. Цей розділ заглиблюється в суть прецизійного бродіння, його історичне коріння та

те, як воно контрастує зі звичайними методами бродіння, готуючи основу для майбутнього, де сільське господарство та технології плавно збігаються.

Ферментація це процес, який сягає тисячоліть, спочатку служив як метод збереження їжі та покращення її смаку. Протягом століть люди використовували бродіння для виробництва хліба, сиру, вина та пива, покладаючись на природний процес мікроорганізмів, які перетворюють цукор на спирт або кислоти. Перехід від цих традиційних застосувань до точного бродіння відбувся завдяки прогресу в генній інженерії та біотехнології. Останні кілька десятиліть стали свідками експоненціального зростання нашої здатності маніпулювати генетичним складом організмів, дозволяючи точне виробництво бажаних молекул шляхом бродіння. Ця еволюція відображає перехід від пасивного до активного контролю над процесом бродіння, де результати – специфічні білки, ферменти та інші молекули – можна точно передбачити та оптимізувати для різних видів використання в харчовій промисловості та за її межами.

Різниця між традиційним бродінням і сучасним прецизійним бродінням полягає в рівні контролю та специфічності процесу виробництва. Традиційне бродіння спирається на природні метаболічні шляхи мікроорганізмів, які можуть змінюватись залежно від умов навколишнього середовища та призводити до невідповідності кінцевого продукту. Навпаки, прецизійне бродіння передбачає навмисну модифікацію мікроорганізмів для отримання специфічних речовин з високим ступенем консистенції та ефективності. Це досягається за допомогою таких методів, як генна інженерія, коли гени, відповідальні за отримання бажаного результату, вставляються в мікробну ДНК. Сучасне прецизійне бродіння також використовує досягнення в області штучного інтелекту, машинного навчання та технологій біообробки для оптимізації виробничих процесів, зниження витрат і розширення операцій для задоволення комерційних потреб.

Прецизійне бродіння являє собою зміну парадигми у виробництві харчових продуктів, втілюючи злиття сільського господарства та технологій для вирішення деяких із найнагальніших викликів нашого часу. Оскільки

продовжено дослідження можливості та потенціалу цієї технології, її роль у формуванні майбутнього сталого сільського господарства стає все більш очевидною, обіцяючи більш ефективну, стійку та екологічно чисту продовольчу систему.

1.9.1. Наукові принципи прецизійної ферментації

Наукові принципи прецизійної ферментації поєднують біотехнологію та генну інженерію для інновацій у виробництві харчових продуктів, зокрема в секторі сільськогосподарських технологій (AgTech). Цей вдосконалений підхід використовує мікроорганізми, програмуючи їх для виробництва конкретних бажаних молекул – від білків до жирів – спеціально розроблених для різних застосувань, особливо для створення стійких харчових альтернатив.

В основі прецизійного бродіння лежить процес, у якому генетично перепрограмовані мікроби, такі як дріжджі, бактерії чи гриби, використовуються для перетворення субстратів (зазвичай простих цукрів) на цінні продукти. Цей метод є значним кроком у порівнянні з традиційним бродінням, де кінцеві продукти часто обмежувалися тим, що могли виробляти природні мікроби, наприклад спирт або молочна кислота. У прецизійній ферментації сфера застосування значно розширена, щоб включити широкий спектр сполук, у тому числі ідентичних тваринним білкам, але вироблених у більш екологічний та етичний спосіб.

1.9.2. Роль генної інженерії

Генна інженерія відіграє ключову роль у покращенні можливостей мікроорганізмів, які використовуються в прецизійній ферментації. За допомогою таких методів, як CRISPR-Cas9 та інших форм редагування генів, вчені можуть вставляти, видаляти або змінювати ДНК цих мікробів, щоб запрограмувати їх на виробництво певних молекул. Цей процес включає ідентифікацію та

маніпулювання генами, відповідальними за бажаний результат, чи то для створення білків, які імітують смак і текстуру м'яса, чи жирів, які повторюють ті, що містяться в молочних продуктах, без участі тварин. Саме цей рівень контролю та налаштування відрізняє прецизійне бродіння від його традиційного аналога, відкриваючи нові можливості для сталого та етичного виробництва їжі.

1.9.3. Обладнання та технологія

Обладнання та технології, що лежать в основі точного бродіння, є складними та різноманітними, причому біореактори займають центральне місце в цьому процесі. Біореактори – це посудини, в яких генно-інженерні мікроби ростуть і виробляють цільові молекули. Ці контрольовані середовища мають вирішальне значення для оптимізації умов (таких як температура, pH і поживні речовини), необхідних для максимізації ефективності виробництва та врожаю. Поряд з біореакторами, обладнання для очищення та розділення є життєво важливим для виділення бажаних продуктів із ферментаційного бульйону, гарантуючи, що вони відповідають необхідним стандартам чистоти та якості для використання в харчових продуктах. Поєднання біотехнології та AgTech через точне бродіння є перспективним напрямком для вирішення глобальних проблем харчової стійкості. Використовуючи генну інженерію та передову технологію ферментації, цей підхід пропонує масштабовану, стійку альтернативу традиційному виробництву їжі тваринного походження з потенціалом значного зменшення впливу наших харчових систем на навколишнє середовище.

1.9.4. Переваги прецизійної ферментації в сільському господарстві

Прецизійне бродіння, як воно з'являється в сільськогосподарських технологіях, являє собою суміш старовинної практики та сучасних наукових інновацій, пропонуючи значні переваги для створення більш стійкої та ефективної харчової системи. Цей метод, за своєю думкою, вирішує критичні

проблеми стійкості, ефективності, поживних переваг і впливу на навколишнє середовище, розсуваючи межі традиційної сільськогосподарської практики.

Процес прецизійної ферментації є ключовим переходом до більш екологічних методів виробництва їжі. На відміну від звичайного сільського господарства, яке є суттєвим джерелом глобальних викидів парникових газів і потребує великих земельних і водних ресурсів, прецизійне бродіння пропонує альтернативу, яка суттєво зменшує вплив на навколишнє середовище. Використовуючи мікроорганізми для виробництва харчових інгредієнтів, ця технологія обходить потребу у великих сільськогосподарських угіддях, тим самим зменшуючи тиск на природні екосистеми та сприяючи зменшенню вирубки лісів і втрати біорізноманіття. Крім того, притаманна ефективність прецизійного бродіння в перетворенні вихідної сировини на високоцінні продукти призводить до значного зниження споживання води та викидів парникових газів.

Ефективність прецизійної ферментації полягає в її здатності виробляти специфічні високоцінні компоненти, такі як білки та ферменти, у темпі та масштабі, недосяжних для традиційного тваринництва. Після генної інженерії мікроорганізми можуть виробляти ці сполуки за лічені години, а не за тижні чи місяці, і процес можна швидко розширити, щоб задовольнити зростаючий попит. Ця ефективність не тільки забезпечує постійне постачання основних поживних речовин, але й дозволяє локалізувати виробництво, зменшуючи потребу в транспортуванні та, як наслідок, вуглецевий слід виробництва харчових продуктів.

Харчові переваги. Точне бродіння відкриває нові шляхи для розробки багатих на поживні речовини харчових продуктів. За допомогою цієї технології можна виробляти білки з покращеними властивостями, такими як гіпоалергенні властивості, покращена стабільність і чудовий смак. Ці інновації не тільки задовольняють харчові потреби населення світу, але й відповідають зростаючому споживчому попиту на харчові продукти, які підтримують здоров'я та благополуччя. Крім того, метод дозволяє створювати інгредієнти, які раніше

було важко або дорого отримати, розширюючи спектр доступних поживних речовин і біологічно активних сполук у продуктах харчування. Інтеграція прецизійної ферментації в сільськогосподарську технологію проголошує нову еру виробництва харчових продуктів, яка є не тільки більш стійкою та ефективною, але й здатною забезпечувати покращені харчові переваги. Оскільки ця технологія продовжує розвиватися, її потенціал трансформувати глобальну продовольчу систему стає все більш очевидним, обіцяючи майбутнє, де їжа вироблятиметься в гармонії з навколишнім середовищем, пропонуючи різноманітні та поживні варіанти для зростаючого населення світу.

Прецизійне бродіння дедалі більше демонструє свій потенціал за межами традиційних секторів, проникаючи у сферу виробництва харчових продуктів і навіть біопестицидів і добрив, знаменуючи значну зміну нашого підходу до сільського господарства та сталого розвитку продуктів харчування.

У харчовому секторі прецизійне бродіння відіграло важливу роль у розробці альтернативних білків і молочних продуктів. Одним з переконливих прикладів є компанія «Живильні інгредієнти», австралійська компанія, що зосереджується на створенні жирів без тваринного походження для покращення смаку та текстури білків рослинного походження. Спочатку створений завдяки початковому фінансуванню Main Sequence Ventures і Horizon Ventures, Nourish Ingredients є прикладом того, як точне бродіння може подолати розрив між уподобаннями споживачів щодо сталості та сенсорним досвідом традиційних продуктів тваринного походження. Найбільше потужні світові компанії, які працюють у цьому напрямку:

1. ReMilk (Тель-Авів, Ізраїль) зосереджується на створенні альтернатив молочному молоку, які за складом і смаком ідентичні звичайному коров'ячому молоку, щоб звернути увагу на широку аудиторію, включно з тими, хто не хоче переходити на безмолочні заміники.

2. Formo (Берлін, Німеччина) використовує прецизійне бродіння для виробництва молочних білків, які потім використовуються для виготовлення

різноманітних сирів. Цей метод дозволяє відтворити смак, текстуру та поживний профіль традиційного молочного сиру

3. "Ідеальний день" (Берклі, Каліфорнія, США) відома своїм сироватковим протеїном, отриманим шляхом точного бродіння, який отримав схвалення регуляторів у 2019 році. Відтоді компанія випустила такі продукти, як морозиво, демонструючи застосування технології у створенні молочних продуктів без тваринного походження.

4. «КОЖНА Компанія» (Південний Сан-Франциско, Каліфорнія, США) працює над розробкою прецизійних яєчних білків, отриманих шляхом бродіння, для використання в різних харчових продуктах, щоб створити альтернативу традиційним інгредієнтам на основі яєць.

5. МеліБіо (Окленд, Каліфорнія, США) створює альтернативу рослинному меду, використовуючи точну ферментацію, щоб імітувати смак, текстуру та поживні властивості звичайного меду, зосереджуючись на стійкості та інноваціях.

Крім продуктів харчування, прецизійне бродіння поширюється на нехарчові сільськогосподарські продукти. Хоча конкретні тематичні дослідження біопестицидів або добрив оприлюднюються рідше, потенціал загальної технології революціонізувати ці сектори є відчутним. Здатність технології ефективно виробляти певні сполуки може призвести до розробки цільових, екологічно чистих рішень для боротьби зі шкідниками та добрив, мінімізуючи використання хімікатів та їхній вплив на навколишнє середовище.

Прецизійна ферментація являє собою трансформаційний зсув у сільськогосподарських технологіях (AgTech), пропонуючи стійку альтернативу традиційним методам виробництва їжі. Цей підхід, що використовує потужність сконструйованих мікроорганізмів для виробництва складних органічних молекул, стоїть на передньому краї харчової науки та біотехнології. Однак інтеграція цієї інновації в основне сільське господарство та забезпечення її прийняття споживачами та галузями промисловості створює кілька проблем, а також відкриває горизонт майбутніх можливостей.

Технологічні виклики. Основна перешкода на шляху впровадження прецизійної ферментації полягає в її початковій стадії розвитку. Масштабування технології від лабораторних умов до великомасштабного виробництва потребує значних успіхів у біообробці та інженерії.

Регуляторні перешкоди. Регуляторний ландшафт для продуктів, отриманих шляхом точного бродіння, все ще розвивається. Навігація цими регуляторними шляхами вимагає чітких інструкцій, які гарантуватимуть безпеку та ефективність цих продуктів, не стримуючи інновації.

Прийняття ринку. Незважаючи на свій потенціал, ринкове впровадження продуктів прецизійної ферментації стикається зі скептицизмом як з боку споживачів, так і з боку промисловості, частково через занепокоєння щодо генетично модифікованих організмів (ГМО) і новизни технології.

1.9.5. Майбутні перспективи

Майбутнє прецизійного бродіння в AgTech насичене інноваціями, які обіцяють вирішити проблеми глобальної продовольчої безпеки та сталого розвитку. У міру розвитку технології очікуються розробки більш ефективних процесів бродіння, які могли б значно зменшити вплив виробництва харчових продуктів на навколишнє середовище, пропонуючи стійкі альтернативи продуктам тваринного походження та навіть нехарчовим сільськогосподарським продуктам, таким як біопестициди та добрива.

Вже сьогодні за допомогою прецизійного бродіння можливе виробництво наступних продуктів: антибіотики; антитіла; пробіотики та культури; активні дріжджі або пекарські дріжджі; ферменти; такі як амілаза, целюлаза, ксиланаза, пектиназа, протеаза, ліпаза; білки; амінокислоти, такі як лізин, глутамат натрію; органічні кислоти, такі як лимонна кислота, молочна кислота, оцтова кислота; PUFA (у біохімії та дієтології поліненасичений жир – це жир, який містить поліненасичену жирну кислоту, яка є підкласом жирної кислоти, що характеризується основою з двох або більше вуглець-вуглецевих подвійних

зв'язків), такі як ДНА (докозагексаєнова кислота – поліненасичена жирна кислота класу Омега-3), ЕРА (ейкозапентаєнова кислота Омега 3); вітаміни, такі як бета-каротин, вітамін В₁₂, вітамін В₂; натуральний колір, наприклад колір Monascus; цукрові спирти, такі як ксиліт, еритрит; камеді, такі як ксантанова камедь, гелланова камедь; етанол; ацетон і бутанол; гліцерин

Готовність до ринку. Поступово зростає готовність ринку прийняти продукти, отримані шляхом прецизійної ферментації. Це визнання викликано зростанням обізнаності про вплив традиційного сільського господарства на навколишнє середовище та зростаючим попитом на екологічно чисті варіанти харчування..

Роль освіти та прозорості. Покращення сприйняття споживачами та промисловістю залежить від зусиль, спрямованих на навчання громадськості про переваги та безпеку продуктів прецизійного бродіння. Прозорість виробничих процесів і активна участь регулюючих органів можуть допомогти зміцнити довіру та розвіяти міфи, пов'язані з цією технологією.

Незважаючи на те, що виклики існують, шлях вперед для точної ферментації в AgTech висвітлюється перспективою стійких, ефективних та інноваційних рішень для актуальних проблем виробництва харчових продуктів. Завдяки безперервним дослідженням, прозорому діалогу та адаптивній нормативній базі прецизійна ферментація може відіграти ключову роль у формуванні майбутнього сільського господарства та харчових систем у всьому світі.

Питання для самоконтролю

1. Якими якостями володіє процес ферментаційного бродіння?
2. У чому полягають інноваційні технології бродіння?
3. Як безперервна ферментація впливає на виробництво біопродукції?
4. Яку роль відіграють мікроби у ферментації їжі?
5. За яким головним принципом класифікують бродіння?

6. Що таке субстратна сировина і інокулят?
7. Що таке закваска і з якою метою її запроваджують?
8. Що таке стартові культури?
9. У чому полягає революційність нової технології CRISPR/Cas9?
10. Який основний фактор є відповідальним за якість і безпеку ферментованого продукту?
11. Які комплексні підходи застосовують для визначення мікробіому ферментованої їжі?
12. Що таке прецизійне бродіння?
13. У чому полягає різниця між традиційним і сучасним прецизійним бродінням?
14. У чому полягає ефективність прецизійної ферментації?
15. Які види харчових продуктів можливе виробництво за рахунок впровадження прецизійного бродіння?

Рекомендована навчальна література

1. Єгорова А.В., Капрельянц Л.В., Труфкаті Л.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Одес. нац. акад. харч. технологій. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.
2. Пирог Т.П., Антонюк М.М.,Скроцька О.І., Кігель Н.Ф. Харчова біотехнологія: підручник. К.: Видавництво Ліра-К,2016. 408 с.
3. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
4. Ковалевський К.А., Валько М.І., Мамай О.І. Інноваційні технології виноробства. Бродильні апарати і установки: навчальний посібник. Херсон: ХНТУ, 2018. 148 с.

5. Гуменюк О.Л. Технологія бродильних виробництв: тексти лекцій для студентів спеціальності 181 «Харчові технології» заочної форми навчання. Чернігів: НУЧП, 2020. 143 с.
6. Українець А.І., Калакура М.М., Романенко Л.Ф., Домарецький В.А. Загальні технології харчових виробництв: підруч. К. : Університет «Україна», 2010. 814 с.
7. Товажнянський Л. Л. Загальна технологія харчової промисловості у прикладах і задачах : підручник. Харківський політехнічний ін-т, нац. техн. ун-т. К. : Центр учбової літ-ри, 2011. 832 с.
8. Stanbury P. F., Allan Whitaker, and Stephen J. Hall. Principles of fermentation technology. Elsevier, 2013.

Розділ 2. МІКРОБІОЛОГІЯ ФЕРМЕНТОВАНИХ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

2.1. Ферменти, походження процесів бродіння для їстівних продуктів

Ферментовані продукти ідентифікують культури та цивілізації. Історія, клімат і особливості місцевого виробництва сировини спонукали людство використовувати різні шляхи бродіння для виробництва різноманітних традиційних їстівних продуктів, які є адаптованими до конкретних умов. Сьогодні промислове виробництво наповнило ринки ферментами. Згідно з останніми оцінками поточний розмір світового ринку ферментованих продуктів становить близько 30 мільярдів доларів США з тенденцією до зростання. Сучасні проблеми включають спеціалізовані ферментовані продукти для людей з особливими дієтичними потребами, наприклад пацієнтів, які страждають на хворобу Крона чи інші захворювання. Інша серйозна проблема стосується безпеки крафтових ферментованих продуктів. Це питання можна вирішити за допомогою молекулярної біології та стосується не лише наявності патогенів, але й резистентності харчових мікробів. Основою всього цього є, звичайно, мікробіом, сукупність різних видів бактерій і дріжджів, які процвітають завдяки вуглеводам сировини.

У цьому розділі мікробіологія ферментованих харчових продуктів обговорюється з особливою увагою до груп продуктів і конкретних продуктів, що вказує на різноманітність, яку може прийняти процес бродіння. Їхній вплив також обговорюється з акцентом на здоров'я людини. Від Гіппократа до сучасних підходів до лікування захворювань, дієта вважалася одним з найважливіших факторів стабільності здоров'я природного мікробіому людини. Зрештою, цитуючи Пастера: «Панове, за мікробами буде останнє слово щодо здоров'я людини». У цьому сенсі саме мікробіоми ферментованих харчових продуктів набудуть провідної ролі в майбутньому харчуванні та терапії.

Луї Пастер обговорював питання бродіння. Вочевидь, він підозрював, а в деяких випадках і знав, що процеси бродіння є різноманітними та складними. Дійсно, хоча сучасна наука визнає більше ніж один тип бродіння, загальне визначення має визначати бродіння як біохімічний процес, за допомогою якого більшість мікроорганізмів розкладають вуглеводи для виробництва енергії в анаеробних умовах. За словами Пастера: «Бродіння – це життя за відсутності кисню». Цей дещо незрозумілий і феноменологічний термін включає різні типи бродіння, такі як дріжджове бродіння, молочнокисле бродіння, маслянокисле бродіння, пропіоновокисле бродіння та оцтовокисле бродіння. Різноманітність явища призводить до різноманітності кінцевих продуктів, які включають CO_2 , етанол, органічні кислоти та інші органічні молекули. Саме багато з цих продуктів роблять бродіння настільки корисним і цікавим, як для науки, так і для промисловості. Процес розкладання вуглеводів створює потік протонів і електронів. В аеробних умовах кінцевим рецептором є кисень (дихання), а в анаеробних умовах кінцевими рецепторами є інші органічні молекули, такі як піруват або ацетил-КоА (бродиння). Бродіння дає набагато менше енергії, ніж дихання. Поступове окислення цукрів включає перенесення іонів водню від проміжних продуктів на шляху до кінцевого рецептора. Шлях Ембдена-Мейєргофа-Парнаса (ЕМР) використовується в більшості випадків для розкладання глюкози до пірувату (гомоферментні штами).

Гліколіз або шлях Ембдена–Мейєргофа–Парнаса – ланцюг із десяти реакцій, внаслідок яких глюкоза $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ перетворюється на піруват, $\text{C}_3\text{H}_3\text{O}_3$ з утворенням аденозинтрифосфату та відновленого нікотинамідаденіндинуклеотиду.

Шлях Ентнера-Дудорова розкладає молекули лактози, тоді як гетероферментні штами розкладають пентози та інші цукри через фосфоацетилазний шлях.

Шлях Ентнера-Дудорова утворює ядро центрального метаболізму і є єдиним способом окиснення вуглеводів в анаеробного організму *Zyotomonas mobilis*, в якого відсутній гліколіз та пентозофосфатний шлях. Утворений в цьому шляху піруват вступає у реакції спиртового бродіння.

Кінцеві продукти залежать від субстрату, а також від виду та штаму мікроорганізму. Різні види та різні роди мають різну здатність до бродіння. Наприклад, *кишкова паличка* має обмежену ферментаційну здатність щодо різноманітності кінцевих продуктів порівняно з молочнокислими бактеріями (МКБ). З іншого боку, можна створити корисні властивості бродіння. Завдяки вставці гена дегідрогенази молочної кислоти з м'язів великої рогатої худоби *Saccharomyces cerevisiae* може виробляти молочну кислоту в рівнях, подібних до рівня LAB.

У природі багато мікроорганізмів та вуглеводів і бродіння відбувається в кожному анаеробному середовищі. Звідси випливає, що питання не в тому, «якщо», а в тому, «коли» і «як» ранні люди відкрили та відчули переваги бродіння у сфері їжі та напоїв. Біля озера Невшатель у Швейцарії археологи виявили залишки виробництва сиру з 6000 року до нашої ери. Гомер називає циклопа Поліфема виробником сиру, тоді як у багатьох культурах, таких як монголи, туареги, бедуїни, тибетці, багато центральноафриканських племен і місцеві жителі Амазонки, серед інших, існують вагомі докази виробництва ферментованого сиру в давнину. Хліб зображений у стародавніх єгипетських сувоях 2700–2500 років до нашої ери. У третьому столітті нашої ери в Афінах було перераховано 72 види хліба. Нарешті, вино, мабуть, було «винайдено» десь між Чорним морем і Кавказькими горами з 6000 до 3500 років до нашої ери. Очевидно, хтось випадково залишив у ємності розбитий виноград і спробував його значно пізніше. Подібна теорія представлена для пивоварня, але в цьому випадку зернові крупи з водою залишилися в контейнері. У Стародавньому

Єгипті заводи для змішування та випікання хліба були поруч із пивоварнями, в обох, очевидно, використовували *Saccharomyces cerevisiae*.

З перших спроб стародавніх культур емпірично використати явища бродіння були створені міцні традиції, що призвело до дуже широкого розмаїття ферментованих продуктів харчування та напоїв у всьому світі. Навіть сьогодні така продукція користується попитом і високо цінується на кожному продуктовому ринку. Тим не менш, місцева традиційна продукція обмежена і стикається з різними проблемами безпеки (особливо для молочних продуктів і ферментованого м'яса). Харчова промисловість використовує інші методи бродіння, ніж кустарні виробники. Замість так званих «диких» або «спонтанних» ферментів, основний традиційний метод, бродіння в промислових масштабах, досягається шляхом додавання спеціальних «стартових» культур, які ініціюють процес бродіння. Для деяких продуктів вторинні культури повинні бути додані в процесі. Промислові ферменти критикували за «плоский» смак у порівнянні з насиченим смаком їхніх крафтових аналогів. Причина цього очевидна: для ферментації ремісничих продуктів використовується широкий спектр мікроорганізмів, що походять із місцевого середовища, тоді як промислові продукти ферментуються штучними культурами значно меншої кількості бактерій і грибків. Конкуруючі виробники критикують вироби ремісників не лише за їхню сумнівну безпеку, але й за коливання сенсорних характеристик, які змінюються залежно від численних факторів, таких як середовище, мікроклімат та багато інших.

Ця дискусія підживлюється поведінкою та характеристиками мікробіома, відповідального за бродіння, «дикого» чи промислового. Справа в тому, що харчові продукти підвищують цінність завдяки тому, що процес бродіння:

- сприяє збереженню продуктів;
- активно бере участь у розвитку їх текстури, смаку та аромату;
- сприяє знищенню патогенів і токсичних речовин;
- покращує засвоюваність;
- створює нові продукти відповідно до вимог ринків;

- підвищує дієтичну цінність.

Не випадково більшість пробіотичних штамів походять із мікробіомів ферментації. Протягом історії ці мікробіоми були доведені безпечними та корисними. Позитивний вплив харчових продуктів, що містять пробіотики, на здоров'я людини широко обговорюється в науковій літературі, і доведеним фактом є те, що пробіотики сприяють позитивному контролю та лікуванню запальних захворювань кишківника, а також різних захворювань шлунку та кишківника, для полегшення стану пацієнтів, які страждають на хворобу Крона, для контролю деяких алергій, для профілактики та лікування інфекцій сечовивідних шляхів, а також для контролю та зниження високого рівня холестерину в крові.

Хвороба Крона – хронічне неспецифічне гранулематозне запалення шлунково-кишкового тракту, яке може уражати всі відділи шлунково-кишкового тракту від ротової порожнини до ануса.

Багато спеціальних дієт і, звичайно, більшість функціональних продуктів містять такі мікроорганізми, не кажучи вже про добавки. Очікується, що світовий ринок пробіотиків досягне 77 мільярдів доларів США до 2025 року, і деякі майбутні тенденції вже сформовані, такі як адаптовані та персоналізовані пробіотики на основі власної флори людини для посилення колонізації травного тракту.

Метою цього розділу є обговорення та опис певних питань, що стосуються ферментованих харчових продуктів, а саме їх мікробіології, різноманітності та безпеки.

2.2. Мікробіологія ферментованих харчових продуктів

Процес бродіння, поряд з процесами сушіння, копчення та соління, є одним із найдавніших методів збереження харчових продуктів і напоїв, а також підвищення їх харчової цінності.

Ферментація – це біотехнологія, яка сприяє та контролює ріст мікроорганізмів та їхню метаболічну активність для збереження та перетворення харчової сировини.

Таким чином, сьогодні, коли хтось розглядає ферментовані харчові продукти, не дивно, що увага приділяється харчовим продуктам, у яких мікробна активність відіграє важливу роль у отриманні необхідної стабільності, безпеки та сенсорних властивостей. Це обговорення виключає ті продукти, які часто описують як ферментовані, але в основному є продуктом немікробних, ферментативних процесів, таких як чорний чай і рибні соуси Південно-Східної Азії, але має включати такі продукти, як темпе та оцет, в яких основна мікробна активність не є ферментативною. Однак, коли мова заходить про переваги бродіння як консерванту, це майже завжди пов'язано з тими продуктами, де молочнокислі бактерії (LAB) відіграють центральну роль у процесі виробництва.

Під час ферментації харчових продуктів метаболіти, що виробляються бажаними ферментуючими організмами, такі як молочна кислота, оцтова кислота, вуглекислий газ, етанол, перекис водню, бактеріоцини та антимікробні пептиди, діючи окремо або в комбінації, пригнічують ріст псування та патогенних організмів. Таким чином досягається продовження терміну придатності чутливих продуктів.

Ферментація харчових продуктів і напоїв, на рівні ноу-хау, має минуле щонайменше 6000 років і ймовірно є результатом природних і спонтанних мікробних взаємодій. Сьогодні ферментація харчових продуктів може бути досягнута двома основними методами виробництва. При першому способі виробництва процес бродіння керується автохтонною (рідною/місцевою) мікрофлорою харчової сировини або середовища обробки, наприклад, квашена капуста, кімчі та деякі ферментовані соєві продукти. Ці типи ферментованих продуктів часто називаються дослідниками або харчовими технологами «дикими ферментами» або «спонтанними ферментами». Іншим методом, щоб досягти бродіння необхідно додати закваски, відомі як «закваски, залежні від культури», наприклад, кефір, йогурт, чайний гриб і натто. Одним із методів здійснення

ферментації, що залежить від культури, є «заквашування», при якому невелика кількість попередньо ферментованої партії додається до сиров'язі, наприклад, хліба на заквасці. Закваски, які використовуються для ініціювання бродіння, можуть бути або натуральними (наприклад, зворотним відкиданням), або відібраними комерційними заквасками для стандартизації органолептичних характеристик кінцевого продукту. Складаючи географічний список, ми можемо розмістити Європу, Північну Америку, Австралію та Нову Зеландію в областях, де ферментовані продукти виробляються в основному з використанням певних заквасок, тоді як Азія та Африка є надзвичайними послами спонтанної ферментації.

Крім того, традиційні процеси бродіння харчових продуктів можна в цілому класифікувати на

- молочнокисле бродіння;
- грибкове бродіння;
- лужне бродіння.

Приклади продуктів молочнокислого бродіння, тобто продуктів, переважно ферментованих молочнокислими бактеріями, включають йогурт, ковбаси, сир, квашену капусту (квашену капусту зі Східної та Центральної Європи), кімчі (ферментовану капусту Напа з Кореї з прянощами) і соєвий соус (Ganjang). Дріжджі також беруть участь у ферментації багатьох продуктів молочнокислого бродіння, включаючи кефір (злегка алкогольний молочний напій з Кавказу) і чайний гриб (ферментований підсолоджений чай з Китаю). Більшість добре відомих ферментованих продуктів на основі сої з Азії, таких як темпе та соєвий соус, виробляються шляхом грибової ферментації, за винятком натто, який виробляється шляхом лужної ферментації. У промислових процесах бродіння використовуються занурені або твердотільні біореактори, які використовуються в періодичному, напівперіодичному або безперервному режимі. Більшість процесів бродіння харчових продуктів, від квашеної капусти та кімчі до місо та темпе, використовують твердофазні процеси бродіння, що проводяться в періодичному режимі, коли мікроорганізми культивуються на

поверхні нерозчинного у воді субстрату. Процеси зануреного бродіння використовуються у виробництві йогурту та інших напоїв на основі молочних продуктів, алкогольних напоїв і харчових приправ, таких як оцет.

Розрізняють два типи бродіння (за способом утилізації мікроорганізмів бродіння):

1. **Природне бродіння:** ферментація, під час якої мікроорганізми бродіння вже є частиною природної мікрофлори, присутньої в продуктах харчування, тому їх не потрібно додавати. Єдине, що потрібно, це створити необхідні умови для їх розвитку (наприклад, створення анаеробних умов, як при виробництві солоних огірків або оливок), або придушення конкуруючої мікрофлори (наприклад, додаванням солі або оцту в продукт). продуктів).

2. **Контрольоване бродіння за допомогою заквасок:** бродіння, яке починається з додавання відповідної інокуляції з великою популяцією бажаних мікроорганізмів бродіння, необхідних, якщо сировину пастеризовано (наприклад, пастеризоване молоко) або коли реалізувати процес важко для бажаних мікроорганізмів бродіння, що переважають над конкуруючими мікроорганізмами (наприклад, у пивоварінні, де дикі дріжджі можуть перешкоджати бродінню штамами *Saccharomyces*). Закваска містить природні агенти бродіння, які вже присутні в мікрофлорі харчових продуктів, але в набагато вищій концентрації, ніж зазвичай, щоб гарантувати, що вони легко переважають над конкуруючими та патогенними мікроорганізмами. Тому з додаванням закваски ми краще забезпечуємо плавний процес бродіння, запобігаючи псуванню та стандартизуючи продукцію (стабільні якісні та органолептичні показники).

Сьогодні ферментація вже не вважається просто методом консервування їжі. З часом людині вдалося контролювати процес бродіння і ферментована їжа тепер становить окремий сектор харчової промисловості. У Німеччині, наприклад, приблизно 25% споживачів віддають перевагу ферментованій їжі. В результаті бродіння смак, запах, зовнішній вигляд, структура, текстура, час придатності та безпечність ферментованих харчових продуктів мають інші

якості порівняно з сировиною, з якої вони виготовлені. Наприклад, зниження рН м'ясної пасти може бути досягнуто додаванням глюконо-дельта-лактону або шляхом ферментації. В обох випадках продукти є безпечними для споживачів і мають однаковий термін придатності та стабільність когерентності, але характерний бажаний смак кінцевого продукту може бути досягнутий лише шляхом бродіння.

Крім того, споживачі вживають ферментовану їжу та напої протягом дуже тривалого часу, усвідомлюючи, що в процесі вони поглинають мільярди живих клітин певних мікроорганізмів або продукти метаболізму цих мікроорганізмів, не побоюючись за своє здоров'я і безпеку. Цей факт підкреслює стійкість споживання ферментованої їжі протягом тривалого часу та заохочує дослідників продовжувати свої нескінченні зусилля, щоб задокументувати мікрофлору ферментованої їжі та знайти антимікробні сполуки, які можуть природним чином бути присутніми в такій їжі. Потім вони можуть досліджувати можливе використання таких консервантів як природних біоконсервантів замість хімічних консервантів в інших харчових продуктах.

Бібліографічні посилання щодо мікробної екології ферментованих харчових продуктів і напоїв у різних регіонах, таких як Азія, Африка, Європа, Південна Америка та Північної Америки численні і багато видів мікроорганізмів були задокументовані. В останні кілька років використання молекулярних методів і інструментів допомогло прояснити, принаймні частково, плутанину, присутню в іменуванні нещодавно виділених мікроорганізмів, і узагальнення, яке спричинене використанням загальноприйнятої класифікаційної інтерпретації задокументованих фенотипових характеристик. Простими словами, ці молекулярні методи пропонують надійні рішення для ідентифікації мікробів у ферментованих продуктах і часто використовується для аналізу мікробної флори ферментованих харчових продуктів.

Хоча деякі ферментовані харчові продукти містять лише кілька домінуючих консорціумів мікроорганізмів, динаміка мікробної популяції під час процесу ферментації може перетворитися на надзвичайно складне явище. У

певних харчових продуктах навіть невеликі зміни в різноманітності та кількості бактерій можуть призвести до значних відмінностей у кінцевих продуктах порівняно з початковим плануванням та до варіацій у їхній якості і органолептичних (сенсорних) властивостях. Таким чином, стабільність і витривалість використовуваних консорціумів мікроорганізмів, у свою чергу, призводять до процесів бродіння та процедур, що характеризуються їх послідовністю, що гарантує виробництво високоякісних харчових продуктів.

2.3. Основні мікроорганізми в екосистемах ферментованих продуктів

2.3.1. Бактерії

Бактерії є домінуючими мікроорганізмами не лише в харчових продуктах, які пройшли природну ферментацію, але й у тих, які ферментовані з використанням заквасок. Серед бактерій молочнокислі бактерії (МКБ) частіше зустрічаються у виробництві кислих ферментованих продуктів. Не-LAB бактерії, такі як *Bacillus*, *Micrococcaceae*, *Bifidobacterium*, *Brachybacterium*, *Brevibacterium*, *Propionibacterium* тощо, також беруть участь у ферментації харчових продуктів, головним чином як вторинна група мікроорганізмів, які використовуються для сприяння плавному розвитку процесу бродіння.

Незважаючи на різноманітність бактерій, які прямо чи опосередковано беруть участь у виробництві ферментованих харчових продуктів, на даний момент усі вони класифікуються в один із трьох типів: *Firmicutes*, *Proteobacteria* та *Actinobacteria*. LAB бактерії, які є комплексом або з'єднанням грампозитивних бактерій і одними з основних мікроорганізмів, що використовуються у виробництві ферментованого продукту, можна знайти в групі *Firmicutes*. Слід підкреслити, що *Phyla Cyanobacteria* знайдено у ферментованому маслі та рисовому коржі під назвою Idli, але дослідники припустили, що ізольовані послідовності ціанобактерій відповідають хлоропластам злаків.

2.3.2. Гриби

Незважаючи на те, що пліснява в харчових продуктах є ознакою того, що вони заражені, і їх слід викинути, є деякі продукти, у яких присутність видимого грибкового міцелію значною мірою є частиною харчової динаміки.

Існують різні види грибів, такі як *Actinomucor*, *Amylomyces*, *Aspergillus*, *Bjerkandera*, *Brettanomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Cyberlindnera*, *Cystofilobasidium*, *Debaryomyces*, *Dekkera*, *Fusarium*, *Galactomyces*, *Geotrichum*, *Cladosporium*, *Guehomyces*, *Hanseniaspora*, *Hansenula*, *Hyphopichia*, *Issatchenkia*, *Kazachstania*, *Kluyveromyces*, *Lecanicillium*, *Lachancea*, *Metschnikowia*, *Monascus*, *Mucor*, *Neurospora*, *Penicillium*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Rhizopus*, *Saccharomyces*, *Saccharomyces*, *Saccharomycopsis*, *Schizosaccharomyces*, *Schwanniomyces*, *Sporobolomyces*, *Scopulariopsis*, *Sporendonema*, *Starmerella*, *Torulaspora*, *Trametes*, *Trichosporon*, *Trigonopsis*, *Torulopsis*, *Ustilago*, *Wickerhamomyces*, *Yarrowia*, *Zygosaccharomyces* і *Zygotulasporea*.

Нитчасті гриби: кілька видів нитчастих грибів стають основним засобом для отримання необхідної мікробіоти для виробництва сухих закусок, ферментованого молока та сирів для виробництва алкоголю, і вони зазвичай використовуються в Азії та Європі. Зокрема, нитчасті гриби, присутні в традиційних заквасках з Азії, мають кілька функціональних можливостей, таких як оцукрювання, розрідження та виробництво етанолу для виробництва різних типів слабоалкогольних напоїв і високоалкогольних спиртних напоїв. У Європі вони використовуються при розробці різних молочних продуктів, дозріванні різних видів сиру (наприклад, Рокфор, Камамбер) і виробництві ферментів.

Дані для деяких важливих родів грибів:

У межах роду *Aspergillus*, *Aspergillus acidus*, *A. oryzae*, *A. sojae*, *A. niger*, *A. sydowii*, *A. Flavus* і *A. Versicolor* використовуються у виробництві ферментації м'яса та соєвого соусу, лікерів, саке та аваморі, а також у ферментації чаю пуер відповідно.

Aspergillus є фенотипічним політетичним родом і широко поширений у навколишньому середовищі, причому деякі його види мають спороутворювальну здатність. Останні два вищезазначені види викликають скептицизм у багатьох дослідників. Їх можна знайти в традиційних заквасках, але добре відомо, що *A. flavu* виробляє афлатоксин і токсичні метаболіти *A. versicolor*. Виникає питання, чи є присутність цих специфічних видів бажаною, оскільки вона надає специфічні органолептичні характеристики кінцевому ферментованому продукту, а також чи може співіснування інших видів ниткоподібних плісняви та молочнокислих бактерій відігравати антагоністичну роль проти видів *Aspergillus* всередині структури харчової матриці, що потенційно призводить до зниження виробництва афлатоксину. Рід *Fusarium* в даний час містить майже менше 200 прийнятих видів, з найбільш поширеними в харчовій промисловості (бродиння сиру), *Fusarium domesticum*, *F. solani* і *F. venenatum*. Види з родів *Fusarium* визнані перспективними джерелами кількох ферментів для промислового застосування, а також «помічниками», які сприяють виробленню ароматів і пігментів для кінцевих продуктів. Деякі з вторинних метаболітів, що продукуються *Fusarium* sp. штами є мікотоксинами, які впливають на здоров'я людей і тварин, але дослідження показали, що виробництво мікотоксинів припиняється в промислових умовах.

У межах роду *Rhizopus*, *Rhizopus oligosporus*, *R. microsporus*, *R. stolonifer*, *R. arrhizus*, *R. delemar*, *Rhizopus oryzae*, *R. delemar*, *Rhizopus* sp. Штами були виявлені в уаоқи з Китаю і banh men з В'єтнаму, які є потужними продуцентами амілази. Також використовується в процесі бродиння темпе, ферментованого соєвого продукту, *R. oryzae* вважається ниткоподібним грибом GRAS, який зазвичай використовується для виробництва деяких азійських ферментованих продуктів.

У межах роду *Penicillium*, *Penicillium camemberti*, *P. biforme*, *P. fuscoglaucum*, *P. palitans*, *P. commune* (як дикого типу «предка» *P. camemberti*), *P. biforme*, *P. fuscoglaucum*, *P. palitans*, *P. caseifulvum*, *P. nalgiovense*, *P. chrysogenum*, *P. commune*, *P. solitum*, *P. nordicum* і *P. expansum* є

найпоширенішими видами, залученими до мікробіоти кількох типів сирів, таких як камамбер, брі та «блакитні сири», а також ферментованих ковбас середнього дозрівання (наприклад, салямі) і сирих м'ясних продуктів або м'яса копченого типу (як шинка). Усі сири з блакитною пліснявою завжди виготовляються з *P. roqueforti*, яка є щепленням і росте всередині продукту. *P. camemberti* використовується в м'яких сирах, дозрілих у плісняви, таких як камамбер і брі. Він інокулюється разом з молочнокислою культурою або, альтернативно, розпилюється на продукт і росте на поверхні шматка сиру.

P. roqueforti може виробляти компоненти вторинних метаболітів, які належать до категорії мікотоксинів. Сьогодні доступні закваски, які не мають здатності виробляти більшість цих мікотоксинів, а присутність рокфортину С та ізофумігаклавінів у кількостях, які зазвичай містяться в сирах, здається, не становить ризику для здоров'я людини. Крім того, вони нестабільні в сирі та перетворюються на PR-імін.

Як відповідь на основне занепокоєння щодо використання грибів, як агентів дозрівання, та можливості виробництва мікотоксинів, закваски не мають здатності виробляти більшість із зазначених вище мікотоксинів.

2.3.3. Дріжджі

Загалом, дріжджі та продукти їх метаболізму використовуються в різних формах обробки та консервації харчових продуктів у всьому світі, головним чином для випічки та пивоваріння. В даний час дріжджова біотехнологія є частиною комерційно важливих секторів, включаючи продукти харчування, напої, фармацевтичні препарати та промислові ферменти, серед інших.

Виділено штами *Candida etchellsii*, *C. intermedia*, *C. maltosa*, *C. versatilis*, *C. zeylanoides*. *Candida famata* (анаморфа *Debaryomyces hansenii*), *Cyberlindnera jadinii*, *Cyberlindnera mrakii*, *Kazachstania unispora*, *Kazachstania exigua*, *Pichia kudriavzevii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia membranefaciens*, *Zygorhizoglyphus florentina*, *Clavispora lusitanae*, *Cystofilobasidium infirmominatum*, *Hanseniaspora*

uvarum, *Kazachstania turicensis*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia occidentalis*, *Rhodospiridium* sp., *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Saturnisporus saitoi*, *Sporobolomyces roseus*, *Torulasporadelbrueckii*, *Trichosporon cutaneum*, *Trichosporon brassicae*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Yarrowialipolytica*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Z. rouxii* і *Dekkera bruxellensis* (анаморфа *Brettanomyces bruxellensis*), *Candida krusei*, *C. parapsilosis*, *Candida rugose*, *P. anomala*, *Pichia membranifaciens*, *R. glutinis*, *S. cerevisiae*, *Candida boidinii*, *P. anomala*, *P. membranifaciens*, *T. delbrueckii*, *K. marxianus* і *D. Hansenii*. Вони є найбільш репрезентативними дріжджами, виділеними з іспанських зелених оливок і грецьких чорних оливок. *Candida humilis*, *Kazachstania exigua*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Candida famata* та *S. cerevisiae* є найпоширенішими штамами дріжджів, які відповідають за бродіння.

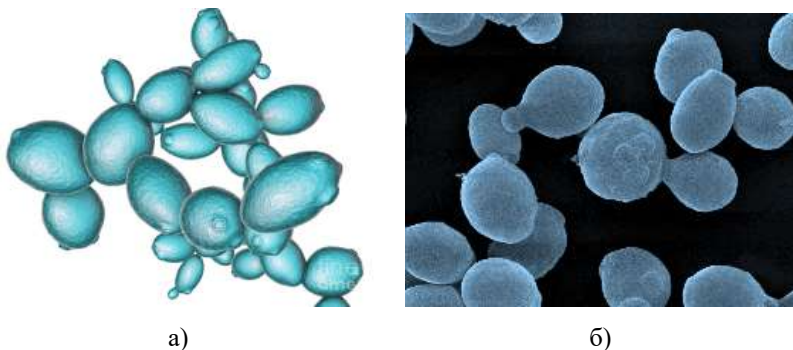


Рис. 2. *Saccharomyces cerevisiae* (а) [2] та *Pichia* (б) [3]

Внесок дріжджів у виробництво ферментованих напоїв важко переоцінити. Широкий асортимент цієї продукції поширюється від різних етнічних ряжанок до алкогольних напоїв, вин і пива. Такі види, як *Saccharomycopsis*, *Pichia*, *Candida*, *Torulopsis* і *Zygosaccharomyces*, беруть участь у цих ферментаціях. *Kluveromyces*, *Saccharomyces* і *Torula* як частина суміші мікроорганізмів сприяють розвитку сенсорних характеристик під час процесу бродіння таких продуктів, як кефір. *Debaryomyces hansenii* і *Yarrowia lipolytica* дуже важливі для формування аромату сирів Мюнстер і Пармезан. *Saccharomyces cerevisiae*,

Hanseniaspora uvarum, *Kluyveromyces marxianus* та *Pichia fermentans* надзвичайно важливі для розвитку тонкого аромату какао-бобів.

Короткий акцент повинен бути зроблений на взаємодії між дріжджами та бактеріями, які згортаються в матриці ферментованої їжі. Щоб підтвердити це припущення було вивчено життєздатність пробіотика *Lactobacillus rhamnosus* HN001 у ферментованому молоці з і без *Saccharomyces cerevisiae* var. *Bayanus* EC-1118. Також продемонстровано, що супернатант дріжджів здатний підвищити виживаність досліджуваних бактерій у процесі, і висловлено надію, що результати допоможуть розробити нову технологію мікробної закваски для ферментованого молока, стабільного за умов навколишнього середовища, із живими пробіотиками.

2.4. Види ферментованої їжі

Кілька категорій класифікації ферментованих харчових продуктів і напоїв можна запропонувати шляхом оцінки основної сировини, часу процесу бродіння, місця процесу бродіння (використовуючи термін «територіальність», а також певні умови навколишнього середовища та навмисне застосування певних мікробів).

З практичних міркувань для цього огляду було обрано класифікацію, засновану на сировині та кінцевих продуктах, оскільки вона показує широкий вибір ферментованих харчових продуктів і напоїв. Крім того, вона підкреслює різноманітність мікробіомів у сфері продуктів харчування та напоїв.

2.4.1. Ферментоване м'ясо

Ферментація змінює сире м'ясо і перетворює його на інший продукт з новими органолептичними характеристиками. Ключовим моментом є підкислення, яке посилює коагуляцію білка (підсилює смак і м'якість тканин) і сушіння (зниження рН також знижує активність води, a_w). На місцеву флору

м'яса впливає низка факторів, таких як вид тварин, порода, харчування, утримання, умови забою та збереження після забою. Вона складається з молочнокислих бактерій (головним чином *лактобактерій*), коагулазонегативних стафілококів (CoNS), мікрококів і дріжджів, які можуть ініціювати бродіння. Розмір їхньої популяції значно варіюється від партії до партії, і це робить контроль процесу, особливо для виробів ремісників, здається майже неможливим. Типовим прикладом є *луза*, ферментоване м'ясо свинини, яке виготовляють на островах Егейського архіпелагу в Греції. Корейку поміщають в оболонку (зазвичай виготовлену з товстої кишки), а потім залишають на повітрі на 2 або 3 тижні для висихання та ферментації власною мікрофлорою. Зазвичай перед оболонкою додають невелику кількість солі та спецій. Весь процес традиційно відбувається взимку, під час якого сильні північні вітри та відносно низька температура оптимізують умови бродіння. Південні вітри з підвищеною вологістю повітря та високою температурою відхиляють шлях бродіння через надмірний ріст дріжджів і або руйнують продукт, або принаймні значно затягують процес.

Промислове виробництво не може покладатися на місцеву мікрофлору м'яса для виробництва сухих чи напівсухих ферментованих ковбас (найтипівіший і найпопулярніший ферментований м'ясний продукт на ринку), оскільки зі зрозумілих причин не може дозволити собі ці коливання. Цей процес у багатьох аспектах значно відрізняється від ремісничого виробництва. У дрібно подрібнене м'ясо додають сіль і спеції, а також невелику кількість нітритів (щоб уникнути розмноження *Clostridium*) і невелику кількість зброджуваних вуглеводів. Останнє додавання є необхідним, тому що вуглеводів м'яса недостатньо для живлення ферментаційної флори. Основним технологічним втручанням є додавання заквасок мікроорганізмів (10^7 КУО/г), які швидко підкислюють і ферментують у контрольованому режимі. *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus pentosus*, *L. casei*, *L. curvatus*, *L. plantarum* і *L. sakei* є найпоширенішими бактеріями цих заквасок. Продукт анаеробно

закривають і залишають для бродіння. Значення рН у комерційній формі менше 5,0.

Загалом, мікробіом ферментованого м'яса забезпечує тривалий період зберігання, забезпечує безпеку від патогенів завдяки своїй захисній активності, підвищує м'якість і смакові якості, забезпечує високий поживний статус завдяки своїм ферментативним активність і скорочує час приготування.

2.4.2. Кисломолочні продукти

У 2018 році в ЄС було отримано 172,2 мільйона тон молока, 37,7% (64,9 мільйона тон) з якого було сквашено в сир, а 4,3% (7,4 мільйона тон) було сквашено в інші продукти (кисле молоко). Цифри самі по собі вражають і поза всяким сумнівом демонструють динаміку ринку молочної ферментації. Однак ця статистика не розкриває різноманіття цих продуктів. По всій Європі виробляють кілька тисяч сортів сирів, які відрізняються вражаючою різноманітністю мікробіомів. З подібної сировини (97% коров'ячого молока) різні мікробіоми ведуть різні шляхи бродіння для отримання тисяч різних продуктів.

Будь-яке бродіння молока не призводить до сиру. Наприклад, кефір – це кисломолочне молоко, яке спочатку виготовляли на Кавказі з козячого молока, але зараз також виготовляють з овечого або навіть коров'ячого молока. Кефірна культура зазвичай містить кефір *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus* і *Saccharomyces* і зазвичай зберігається у зневодненій формі у вигляді зерен (кефірних зерен). Сучасні кефірні продукти містять збагачену флору такими пробіотиками, як *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus* та іншими. Кінцевими продуктами бродіння є молочна кислота, етанол і CO₂, а також деякі інші сполуки, що додають смак і аромат.

Грецький йогурт є надзвичайно популярним продуктом на західних ринках. Його також називають зцідженим йогуртом, оскільки для його виробництва із традиційного йогурту видаляють сироватку та інші рідини. В результаті грецький йогурт містить більше білків, менше цукру і майже стільки

ж жиру на 100 гр. Основна культура є гомоферментною і містить *Streptococcus thermophilus* і *Lactobacillus bulgaricus*, але в багатьох продуктах під цією комерційною назвою мікробіом, збагачений додаванням пробіотичних бактерій родів *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* і *Lactococcus*. Основним продуктом бродіння є молочна кислота і, в менших концентраціях, інші сполуки, такі як діацетил, ацетальдегід, леткі жирні кислоти та вільні амінокислоти. Ці сполуки відповідають за його виняткові сенсорні характеристики.

2.4.3. Закваска

Закваски – це технологічне втручання, яке широко використовується в промислових масштабах для досягнення певного результату бродіння, але кустарні сири повинні покладатися на навколишнє середовище. «Цалафуті» – це грецький сир, виготовлений переважно з овечого молока, а в деяких випадках він також може походити з козячого молока. Його технологія дуже проста і служить прикладом ферментаційної здатності природної мікрофлори. Молоко нагрівають до роздування і після додавання невеликої кількості солі залишають у прохолодному та затіненому місці на 5–6 днів для підкислення та перетворення на сирну масу за допомогою природного мікробіому середовища. Сир білий і кремовий, і його флора складається в основному з молочнокислих бактерій, а саме лактобактерій.

Збагачення мікробіома навколишнього середовища може бути складнішим, як у «Копаністі», традиційному грецькому сирі, виготовленому на островах Егейського архіпелагу. Молоко після помірного підігрівання (40–50 °C) і додавання солі та сичужного ферменту залишають на 3–4 дні для утворення сирної маси, яку виносять у підвал або будь-яке інше прохолодне й затінене місце. Додатково додається сіль і ретельно перемішується в сирну масу «рухами, схожими на випічку». Через 2–3 дні тонкий шар *Penicillium* вегетує по всій поверхні сирної маси. «Рухи, схожі на випікання», повторюються, і шар *Penicillium* змішується з сирною масою. Цей крок повторюється ще два-три рази,

і на той час сир готовий. Мікробіом «Koranisti» складається з вражаючого розмаїття молочнокислих бактерій (виділено 17 видів лактобацил), а також *Penicillium spp.* Молочнокислі бактерії походять із сирого молока, а також із навколишнього середовища, подібно до *Penicillium spp.* Таке збагачення навколишнього середовища робить ремісничі сири «чутливими індикаторами» мікробіологічної екосистеми, в якій вони виробляються. Саме це збагачення відрізняє ремісничі сири від промислових, надаючи їм оригінальний смак і аромат, створюючи серйозні проблеми з безпекою.

Ці чотири продукти були обрані серед багатьох інших як парадигми різноманітності бродіння молока та підкреслюють роль екологічного збагачення мікробіому. Молочні продукти вважаються дуже корисними для здоров'я не лише через їх харчову цінність, але й через мікробіом, який виконує кілька пробіотичних функцій, таким чином зміцнюючи здоров'я споживачів.

2.4.4. Закваска у виробництві хліба

Чудово, коли два прості інгредієнти, борошно і вода, і мінімальна підготовка і процес – це все, що потрібно, щоб створити такий елегантний і «живий» кінцевий продукт – закваску. Ця унікальна простота, як основна характеристика бродіння, є «від мистецтва до науки». Однак за простотою криється складна мікробна екосистема, представлена в основному видами LAB і дріжджами, симкомбіотою, яка шляхом бродіння надає смаку, аромату, стабільності при зберіганні та навіть поживних властивостей отриманим продуктам, тісту та приготування хліба. Закваска є відомим мандрівником світу, з версіями закваски в Північній Італії, Мілані та Сан-Франциско, а також selroti та “dhokla” в Індії; idli в Індії та Шрі-Ланці; dosa в Індії та Шрі-Ланці; kiswa в Судані; «джалебі» в Індії, Непалі та Пакистані; і trahana in у Туреччині, на Кіпрі та в Греції.

Закваска, як зазначалося вище, являє собою суміш борошна і води, яка ферментується під впливом молочнокислих бактерій і переважно

гетероферментативних штамів (при використанні методу зворотного відкидання) і при взаємодії утворених молочної та оцтової кислот в суміші, сприяючи чіткому кислому смаку кінцевого продукту.

Підкислення тіста є важливим і навіть обов'язковим етапом для дезактивації α -амілази борошна та активації фітаз злаків, завдяки чому поживні сполуки стають біодоступними. Крім того, на шляху бродіння закваски та після цього на стадії тіста «оживають» кілька метаболічних процесів, таких як розчинення пентозанів жита (посилене зв'язування води в тісті), утворення летких ароматичних сполук і попередників аромату та виробництво певних сполук, що володіють антимікробною та протигрибковою активністю, що потенційно впливає на текстуру хліба, черствість та/або термін зберігання.

Бактеріальні та грибові види, присутні в заквасці, походять від мікрофлори борошна, мікробіоти середовища пекарні, використовуваної води та, на думку деяких дослідників, самих пекарів (їхнього тіла). Як правило, у біомасі закваски переважно штами *Lactobacillus*, що виробляють кислоту, і дріжджі, які виробляють вуглекислий газ. Деякі дослідження, однак, підкреслюють іншу динаміку популяції та вказують на більшу різноманітність бактерій і дріжджів, крім *Lactobacillus* і *Saccharomyces*. Інші дослідження показали, що на рівні роду *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* і *Weissella* пов'язані з утворенням закваски. У зазначеній вище мікроекологічній ніші домінує рід *Lactobacillus*. Рідний штам *S. cerevisiae* є основними дріжджами для більшості бродінь хліба. Проте деякі дріжджі, не належать до *Saccharomyces*, зустрічаються в грибових консорціумах під час бродіння закваски, такі як *Candida*, *Rhodotorula*, *Pichia*, *Trichosporon*, *Sporobolomyces* і *Yarrowia*. Поширені штами демонструють біорізноманіття в різних географічних зонах, включаючи: *L. plantarum*, *L. sanfrancicensis*, *L. pontis*, *L. brevis*, *L. curvatus*, *L. sakei*, *L. panis*, *L. alimentarius*, *L. paralimentarius*, *L. pentosus*, *L. helveticus*, *L. casei*, *L. amylovorus*, *L. buchneri*, *L. farciminis*, *L. fructivorans*, *L. homohiochii*, *L. hilgardii*, *L. johnsonii*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. acidophilus*, *L. vaginalis*, *L. gallinarum*, *L. graminis*, *L. lactis*, *L. mesenteroides*, *Leuc.*

dextranicum, *Lc. holzapfelii*, *P. pentosaceus*, *W. cibaria*, *W. confuse*, *W. viridescens*, *S. cerevisiae*, *S. exiguus*, *C. humilis*, *C. milleri*, *Issatchenkia orientalis*, *Kazachstania barnettii* та *Saccharomyces bayanus/Kazachstania sp.*

Хоча деякі закваски містять кілька домінуючих таксонів, відмінності штамів та їх динаміка під час обробки можуть бути надзвичайно складними. Фактичний шлях бродіння залежить від кількох ендегенних та екзогенних факторів, таких як тип зерна, закваска та температура підтримки. У дослідженні екології бактерій під час приготування житніх та пшеничних заквасок використано піросеквенування гена 16S рРНК. Кілька сортів борошна спочатку були заражені метаболічно активними родами (*Acinetobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Comamonas*, *Enterobacter*, *Erwinia* та *Sphingomonas*), що належать до типу *Proteobacteria* або *Bacteroidetes* (під *Chryseobacterium*). Через день початкова популяція була майже повністю інгібована, за винятком *Enterobacteriaceae*. Хоча представники типу *Firmicutes* були присутні в популяціях борошна в дуже низькому або середньому розмірі, вони стали домінуючими після першого дня. Молочнокислі бактерії були майже ексклюзивними представниками *Firmicutes* і (після *Saccharomyces cerevisiae*) стали домінуючими протягом усього поширення закваски.

Інше дослідження досліджувало основну проблему хлібопекарської промисловості, грибкове зараження хліба, стан псування, що становить загрозу безпеці через негативний вплив на сенсорні якості продукту та потенційну появу мікотоксинів. У цьому дослідженні різні цвілі, що належать до родів *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* і *Fusarium* використовувалися для штучного зараження хліба, виробленого двома експериментальними способами: інокуляція тіста комерційним штамом *Saccharomyces cerevisiae* (контроль) і спільна інокуляція тіста комерційним штамом *S. cerevisiae* і *L. plantarum* UFG 121. Результати вказують на потенційне використання *L. plantarum* UFG 121 в біомасі тіста як агента біоконтролю у виробництві хліба та припускають залежну від виду або штаму чутливість цвілі до тієї самої стратегії контролю на основі мікробів.

I, нарешті, є дослідження, яке заслуговує на особливу згадку і яке обговорювало природні мікробні спільноти, які проникають у масу закваски через навколишнє середовище, зокрема, з рук пекарів. Пекарі з двох континентів використовували стандартизований рецепт і однакові інгредієнти для приготування закусок, які потім запікали в хліб. Гриби та бактерії, пов'язані із заквасками, руками пекарів та інгредієнтами, були охарактеризовані за допомогою секвенування ампліконів гена 16S та внутрішнього транскрибованого спейсера (ITS). Спільноти заквасок були набагато менш однорідними, ніж очікувалося, і ця різниця проявилася в смаку хліба. Мікробіота заквасок була більше схожа на мікробіоту борошна, але деякі види схожі на шкіру пекарів. Навпаки, люди, швидше за все, сприяють присутності мікроорганізмів у заквасках, і також здається, що деякі з них походять з тілесного мікробіому пекарів. Цей двонаправлений обмін мікроорганізмами між заквасками та хлібопекарями підкреслює важливість різноманітності мікроорганізмів в організмі та в нашому середовищі, оскільки це пов'язано з їжею. Закваски – це складні спільноти дріжджів і бактерій, які надають хлібу на заквасці характерний смак і текстуру. Результати показують, що пекарі можуть бути джерелом дріжджів і бактерій у хлібі, або що професія цих пекарів відображається на мікробіомі їх шкіри.

Було досліджено виробництво біомаси *S. cerevisiae* на оптимізованому середовищі з використанням екстракту фініків як єдиного джерела вуглецю для отримання високого виходу біомаси. Виробництво біомаси здійснювалося відповідно до центрального композитного експериментального плану як методології поверхні відгуку.

2.4.5. Ферментовані напої

Ферментовані напої включають широкий спектр дуже популярних і дуже відомих продуктів. Залежно від субстрату та мікроорганізмів задіяні ферментації можуть проходити різними шляхами, що призводить до різних кінцевих продуктів. Один із способів їх класифікації полягає у двох основних категоріях: алкогольні (понад 0,5% об. алкоголю) і безалкогольні напої (менше 0,5% об. алкоголю). Особливу категорію алкогольних напоїв складають слабоалкогольні (не більше 1,2% об. спирту).

Однак інший, можливо, більш продуктивний спосіб класифікації – це на основі джерел (субстратів), з яких вони походять. Існує п'ять основних категорій ферментованих напоїв залежно від сировини:

- із зерна (ячмінь, кукурудза, жито, просо тощо), що призводить до таких продуктів, як ірландський віскі, пиво, віскі бурбон, боза, квас і горілка;
- із фруктових соків (яблук, бананів, вишні, винограду, імбиру тощо), виробництво сидру, вин, вишневого вина, імбирного пива та імбирного елю, серед інших продуктів;
- з овочів (картоплі, цукрової тростини, квашеної капусти тощо), виробляючи горілку, ром, сік квашеної капусти тощо;
- з молока отримують багато напоїв, таких як айран, кумис, кефір і пахта;
- інша сировина, така як чайне листя, мед, цукор та пальмовий сік, для виробництва різноманітних напоїв (комбуча, медовуха тощо).

Деякі з цих ферментів, наприклад, вина, зазвичай споживаються в рекреаційних цілях, хоча, якщо споживати їх у розумних кількостях і часто, вони можуть мати певний благотворний вплив на здоров'я. Однак інші ферменти, такі як асайран, кефір або боза, мають виняткові поживні якості.

Різні ферментовані овочі були описані в літературі, наприклад, соєвий темпе та інші продукти з соєвої пасти, квашена капуста, ферментовані оливки, ферментований огірок і кімчі. Крім того, були пояснені процедури засолювання та роль молочнокислих бактерій у ферментованих овочах. Стосовно квашеної

капусти використовували секвенування ампліконів 16S рРНК для профілювання мікробної спільноти природно ферментованої квашеної капусти протягом усього процесу бродіння та аналізу бактеріальної спільноти вихідних інгредієнтів і виробничого середовища. Вони показали, що мікробіом квашеної капусти швидко формується після початку бродіння і що спільнота є стабільною під час бродіння та пакування для комерційного продажу.

Крім того, було підкреслено роль ферментованих харчових продуктів і напоїв для кишкової мікробіоти та необхідність міждисциплінарних сфер Єдиного здоров'я, якщо потрібно покращити комунікацію.

2.5. Значення ферментованих продуктів для здоров'я

Пробіотики та пребіотики зараз широко використовуються як у медицині (наприклад, для зниження ризику раку та захисту здоров'я шлунково-кишкового тракту, сечовивідних і піхвових шляхів), так і в стоматології (для зменшення розвитку карієсу, зниження ризику зубної ерозії, покращення стану пародонту, зменшення ротової порожнини). неприємний запах тощо). Таким чином, глибоке розуміння їхніх ризиків і переваг є важливим.

Від загального здоров'я кишківника до імунної підтримки, здоров'я шкіри, контролю холестерину, непереносимості лактози та, можливо, навіть сенсомоторної поведінки, дослідження постійно розвиваються. Протягом останнього десятиліття на тваринних моделях проводилася велика робота щодо того, як пробіотики та пребіотики модулюють метаболізм господаря. Дослідження на тваринах показали, що кишкова мікробіота може регулювати запалення, ожиріння, насичення, витрати енергії та метаболізм глюкози. У міру того, як з'ясовується все більше знань про механізми експериментів *in vivo*, зростає потреба в перекладі результатів, щоб виявити потенційну користь для здоров'я людини. Проте існує дуже мало достовірних, подвійних сліпих, плацебо-контрольованих клінічних досліджень, які довели вплив про- та

пробіотиків на модуляцію метаболізму людини. В даний час високоякісні випробування на людях продемонстрували потенціал мікробіоти кишківника в маніпулюванні та профілактиці або лікуванні таких захворювань, як гіперхолестеринемія та ожиріння. Було додатково досліджено, що *B. breve*, *B. bifidum*, *B. pseudolongum* і *Lactobacillus* перетворюють лінолеву кислоту (LA) в кон'юговану лінолеву кислоту, яка пригнічує багатоступінчастий канцерогенез на різних ділянках. Також повідомлялося, що *L. helveticus* і *B. longum* виробляють і реагують на серотонін ссавців і впливають на модуляцію поведінки. Здатність цих бактерій виробляти нейрохімічні речовини та реагувати на них підтверджує потенціал пробіотиків впливати на психологічне здоров'я та загальну поведінку. Таким чином, ймовірно, що модулювання кишкової мікробіоти за допомогою таких біотерапевтичних засобів може бути націлене на пов'язані зі стресом розлади ЦНС, включаючи спричинений стресом когнітивний дефіцит. Проте з'ясування механізмів та обґрунтування досліджень на тваринах і на людях залишаються важливими цілями досліджень і потребують подальшого розгляду.

Механізми дії, що пояснюють корисні пробіотичні ефекти, включають модуляцію імунної відповіді господаря, що призводить до посилення стійкості до патогенного виклику та зміни складу та метаболічної активності мікрофлори господаря в певному місці. Пробіотики пропонують: адгезію та колонізацію (принаймні тимчасову) в організмі людини. Адгезія може збільшити час утримування пробіотика та створити тісний контакт між бактеріями та поверхнями господаря (рідини організму та епітеліальні клітини), таким чином сприяючи подальшій пробіотичній активності. Посилення неспецифічної та специфічної імунної відповіді господаря. Виробництво антимікробних речовин і конкуренція з патогенами на етапі зв'язування. Вживання та стійкість до захисних механізмів людини під час оро-шлунково-кишкового транзиту і безпека для макроорганізму.

2.6. Питання безпеки

Можна стверджувати, що мікробіоми можуть самі захищати свої харчові екосистеми. Дійсно, здається, що мікробіоми можуть розгортати певні лінії захисту і, отже, швидко трансформувати своє середовище таким чином, що воно, нарешті, стає ворожим для більшості інших мікроорганізмів. Ключові слова: «нарешті» і «більшість». Це правда, що саме бродіння служить першою лінією захисту шляхом швидкого зниження значень рН (здіяні мікроорганізми також називаються «швидкими підкислювачами») через виробництво органічних кислот (наприклад, молочної кислоти), а також шляхом усунення вуглеводів з навколишнього середовища, таким чином позбавляючи конкурентні бактерії поживних речовин. Однак цей процес – незалежно від того, наскільки швидко він протікає – займає деякий час, і це дає можливість для різноманітних зловмисників або збудників псування. Особливо це стосується свіжих сирів кустарного виробництва. Різним штамам *Brucella* вдається виживати в таких продуктах, викликаючи серйозні харчові захворювання, хоча вони усуваються в сирах з періодом дозрівання більше 2 місяців. Як правило, до кінця процесу дозрівання більшість патогенів і бактерій псування буде знищено або остаточно інактивовано через низький рН, дефіцит поживних речовин і антибактеріальну активність певних речовин, що виробляються ферментаційною флорою. Стафілококові види, з іншого боку, виживають протягом процесу бродіння, хоча здоровий мікробіом може ефективно контролювати їх популяції.

2.7. Бактеріоцини

Окрім органічних кислот, певні види мікробіомних спільнот, зокрема молочнокислі бактерії (LAB), виділяють молекули з антимікробною дією, такі як перекис водню, ацетальдегід і бактеріоцини. Ці молекули – продукти метаболізму бактеріальних клітин – доведено, що вони ефективні проти патогенів і бактерій, що псують організм, як *in vivo*, так і *in vitro*. Виробництво

бактеріоцинів є одним з критеріїв штаму, який можна охарактеризувати як пробіотичний.

Бактеріоцини – це білкові молекули (пептиди), здатні знищувати інші бактерії. Вони синтезуються в рибосомах і виділяються позаклітинно, вбиваючи головним чином, але не виключно, грампозитивні бактерії. Вони мають вузький або широкий спектр дії залежно від кількості чутливих видів. Усі бактеріоцини не володіють однаковою антибактеріальною здатністю, і всі бактеріоцин-продукують бактерії не виробляють однакову кількість бактеріоцинів однакової потужності. Їхня активність залежить від їх точної хімічної структури, а також від чутливості клітини-мішені. Ці речовини привертають все більшу увагу в харчовій промисловості, оскільки є природним засобом захисту продуктів від хвороботворних мікроорганізмів і бактерій псування.

Використання бактеріоцинів потенційно може призвести до більш м'якого лікування або мінімальної обробки. Бактеріоцини нетоксичні і не змінюють сенсорні характеристики продуктів. Ці переваги відповідають очікуванням споживачів щодо «натуральних» продуктів харчування та меншої кількості хімікатів. Вони також задовольняють потреби харчової промисловості в задоволенні цих вимог. Таким чином, бактеріоцини ідеально вписуються в концепцію «біоконсервації».

Бактеріоцини можуть бути додані або безпосередньо як хімічні речовини до продуктів, або можуть бути додані опосередковано через культури LAB, хоча здається, що останній випадок не є оптимальною стратегією, оскільки додаткові LAB можуть ферментувати вуглеводи продукту, таким чином змінюючи його властивості. Нізин, педіозин, ентероцини AS-48 і 416K1, біфіцин C6165 і бовіцин є бактеріоцинами, антимікробну дію яких вивчали. Поки що лише педіозин і нізин отримали офіційне схвалення як харчові добавки, але дослідження в цій науковій галузі тривають, і майбутнє бактеріоцинів у харчовій промисловості багатообіцяюче.

2.8. Стійкість до антибіотиків

Стійкість до антибіотиків (AR) у всьому світі визнана новою серйозною загрозою для здоров'я людини та проблемою безпеки харчових продуктів (FAO/WHO 2018, WHO 2020). Термін відноситься до штамів бактерій (патогенних чи ні), стійких до одного або кількох антибіотиків (множинна лікарська стійкість, MDR). Підраховано, що AR викликає щонайменше 700 000 смертей у всьому світі. В ЄС офіційно висловлено занепокоєння щодо підвищеної стійкості до антибіотиків першого ряду, таких як карбапенеми та хінолони. У звіті CDC про AR за 2019 рік було підраховано, що в США 2,8 мільйона людей інфіковані резистентними бактеріями, а 35 000 помирають внаслідок цих інфекцій.

Їжа, особливо ферментована їжа, є екосистемою, що сприяє росту бактерій. Екологія харчової природної флори дуже складна і може походити з різних ніш. Мікробіоми ферментації є гетерогенною групою в тому сенсі, що види бактерій, що колонізують такі продукти харчування, мають різне походження, наприклад, рослини та їхній ґрунт, вим'я чи кишківник тварин, середовище, в якому живуть тварини (наземне чи водне), об'єкти харчової промисловості (молочні заводи, бійні та ін.) і роздрібні та збутові мережі. Таким чином, у біоті кисломолочних, м'ясних та овочевих продуктів представлені різноманітні екологічні ніші. У цих нішах спільно циркулюють бактерії та гени AR. Так звані мобільні генетичні елементи (MGE), R-плазмід, інтегрони та транспозони, а також бактеріофаги несуть генетичні детермінанти AR і розповсюджують їх серед бактеріальних спільнот. Отже, AR набувається від патогенних і непатогенних бактерій. У першому випадку загроза здоров'ю споживача є простою та представляє невідкладну медичну допомогу. Однак саме останній випадок становить менш помітну та потенційно більш небезпечну небезпеку для здоров'я. Непатогенні та симбіозні бактерії, такі як ці, що знаходяться в мікробіомах, можуть легко отримати гени резистентності від інших бактерій через MGE і передавати їх

кишковому мікробіому споживача. Таким чином, навіть нерезистентний патоген (харчовий чи ні) може отримати гени резистентності в травному тракті людини.

Види бактерій LAB домінують у флорі ферментованих харчових продуктів, і більшість із них, наприклад *Lactobacillus spp.*, як було показано, стійкі до різноманітних антимікробних речовин, що представляють усі категорії антибіотиків, що становить потенційну небезпеку. Щоб вирішити цю проблему, необхідне законодавче регулювання обережного використання антибіотиків у сільському господарстві, тваринництві та аквакультурі. У харчовій промисловості слід також запровадити регулювання щодо стійкості до антибіотиків.

Антибіотики використовуються як терапевтичний засіб проти інфекційних захворювань людей, тварин і аквакультури. Однак випадкове та інтенсивне використання антибіотиків може призвести до стійких до антибіотиків бактерій. Розвиток резистентності до антибіотиків може бути встановлено кількома механізмами, тобто ферментативною деградацією, модифікацією мішені антибіотика, впливом на проникність стінки бактеріальної клітини та створенням альтернативних шляхів для уникнення активності антибіотика. Деякі види демонструють успадковану або вроджену стійкість до певних антибіотиків, але така стійкість не може передаватися іншим бактеріям. Набута резистентність до антибіотиків спостерігається, коли бактерії отримують гени, що кодують механізм резистентності, від інших бактерій або шляхом мутацій.

Ферментовані харчові продукти та напої виробляються по всьому світу, і вони цінуються за свої сенсорні та поживні характеристики. Численні дослідження показали, що корисні бактерії цих ферментів також є носіями стійкості до антибіотиків. Харчовий ланцюг – це величезний шлях, а ферментована їжа – підшлях, через який детермінанти резистентності до антибіотиків передаються патогенним мікроорганізмам і бактеріям-коменсалам. LAB особливо багато в ферментованих продуктах і може діяти як резервуар генів стійкості до антибіотиків, які, у свою чергу, можуть горизонтально передаватися патогенам і мікробіому споживачів через харчовий ланцюг.

Гени антимікробної стійкості можуть бути передані в мікробні спільноти мобільними генетичними елементами, такими як плазміді, транспозони, інтегри, касети або бактеріофаги. Європейський науковий комітет з годівлі тварин і Європейське агентство з безпеки харчових продуктів рекомендують, щоб штами LAB, які споживаються щодня, не мали набутих або переносних генів протимікробної резистентності, щоб вважатися безпечними для споживання людиною та тваринами.

Ферментація домінує в історії та сучасності харчування в тому сенсі, що в тій чи іншій формі більшість людей щодня їдять (або п'ють) ферментовані продукти. У всьому світі існує велика різноманітність ферментованих продуктів і напоїв, деякі з яких були орієнтовно обговорені. Безліч мікроорганізмів, які беруть участь у бродінні, пов'язаному зі складними метаболічними шляхами, є більш ніж вражаючою. Окрім поживних властивостей, ферментовані продукти покращують і захищають здоров'я споживача кількома способами. Більшість із цих мікроорганізмів поширюють свою дію на шлунково-кишковий тракт споживача, надаючи серйозну користь його здоров'ю. Цей пробіотичний ефект був широко перевірений *in vivo* та *in vitro* численними звітами. Регулярне вживання ферментованих продуктів знижує ризик деяких видів раку, захищає здоров'я шлунково-кишкового тракту та сечостатевої системи, полегшує симптоми таких захворювань, як хвороба Крона та подразненого кишківника, а також зміцнює імунну систему. Існують вагомі ознаки позитивного впливу на певні психологічні та поведінкові розлади. Зниження значення pH ферментованих продуктів є захисним механізмом мікробіому, оскільки більшість бактерій-антагоністів не можуть вижити при низьких значеннях pH. Бактеріоцини є ефективним засобом подолання інших бактерій. Ці речовини є дуже перспективним засобом у харчовій промисловості, оскільки є природним способом збереження, повністю сумісним з очікуваннями споживачів щодо м'якої обробки харчових продуктів. Тим не менш, збільшення кількості резистентних штамів у мікробіомах є тенденцією, на яку має звернути увагу наукове співтовариство.

Питання для самоконтролю

1. Які порівняння можна зробити між промисловим і кустарним бродінням, плюси і мінуси?
2. Які нові властивості набувають харчові продукти за рахунок бродіння?
3. Що собою являють пробіотичні штами, їх утворення?
4. В чому полягає суть мікробіології ферментованих харчових продуктів?
5. Якими основними методами виробництва може бути досягнута ферментація харчових продуктів?
6. Як можна в цілому класифікувати традиційні процеси бродіння харчових продуктів?
7. Які два типи бродіння застосовують у харчових процесах?
8. Що відомо про стійкість споживання ферментованої їжі протягом тривалого часу?
9. Які відомі мікроорганізми приймають участь у виробництві ферментованих харчових продуктів?
10. Яка роль відведена бактеріям в процесах ферментації?
11. Яку роль відіграють нитчасті гриби у виробництві харчових заквасок?
12. Яку роль відіграють дріжджі у виробництві харчових продуктів, таких як напої?
13. У чому полягають особливості виробництва ферментованої їжі?
14. У виробництвах яких відомих продуктів застосовується закваска?
15. Які інгредієнти мають бути присутніми в процесі бродіння напоїв?
16. Які основні категорії ферментованих напоїв залежно від сировини використовує харчова промисловість?
17. Що таке бактеріоцини, чи можна їх віднести до пробіотиків?
18. Яку роль відіграють кисломолочні бактерії у ферментативних процесах?
19. Чи можуть гени антимікробної стійкості бути передані в харчові мікробні спільноти?

Рекомендована навчальна література

1. Єгорова А.В., Капрельянц Л.В., Труфкаті Л.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Одес. нац. акад. харч. технологій. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.
2. Пирог Т.П., Антонюк М.М.,Скроцька О.І., Кігель Н.Ф. Харчова біотехнологія: підручник. К.: Видавництво Ліра-К,2016. 408 с.
3. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
4. Українець А.І., Калакура М.М., Романенко Л.Ф., Домарецький В.А. Загальні технології харчових виробництв: підруч. К. : Університет «Україна», 2010. 814 с.
5. ТОВАЖНЯНСЬКИЙ Л. Л. Загальна технологія харчової промисловості у прикладах і задачах : підручник. Харківський політехнічний ін-т, нац. техн. ун-т. К. : Центр учбової літ-ри, 2011. 832 с.
6. Ростовський В. С., Колісник А. В. Система технологій харчових виробництв : навч. посібник. К. : Кондор, 2008. 256 с.
7. Мелетьєв А. Є. Технологія продуктів бродіння і напоїв : укр.-рос. тлумач. слов. Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2011.192 с.
8. Куц, А. М., Кошова В. М. Технологія бродильних виробництв : конспект лекцій з дисц. «Загальні технології харчової промисловості» для студ. ден. та заоч. форм навч. напряму підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія». К.:НУХТ, 2011. 156 с.
9. Півоваров О.А., Ковальова О.С., Кошулько В.С. Інноваційний інжиніринг в окремих галузях харчового виробництва. Дніпро: ФОП Обдимко О.С., 2022. 407 с.
- 10.Stanbury P. F., Allan Whitaker, and Stephen J. Hall. Principles of fermentation technology. Elsevier, 2013.

Розділ 3. ВИРОБНИЦТВО ПИВА ТА ХІМІЯ СМАКІВ І АРОМАТІВ

3.1. Ферментовані перетворення у виробництві пива

Пиво – один із найстаріших і найбільш споживаних напоїв у світі, відомий своєю складністю та різноманітністю завдяки хімії, яка лежить в основі його виробництва. Від вибору інгредієнтів до процесу бродіння, на кожному етапі приготування пива впливають специфічні хімічні реакції, які визначають кінцевий профіль напою. Процес починається з солоду, де ячмінний крохмаль перетворюється на зброджуваний цукор за допомогою ферментів, таких як амілаза. Ці цукри необхідні для бродіння, під час якого дріжджі перетворюють цукор на етанол, вуглекислий газ і, що найважливіше, на смакові сполуки. Крім того, сполуки хмелю, такі як альфа-кислоти та ефірні олії, ізомеризуються під час кип'ятіння, додаючи пиву гіркоти та характерного аромату. Цей набір хімічних реакцій і ферментативних перетворень, який може змінювати кожна пивоварня, дозволяє пивоварам створювати широкий спектр смаків і ароматів, від легких і квіткових до міцних і гірких.

3.2. Нові технологічні тенденції у виробництві пива

Пивна промисловість зазнала значних змін завдяки впровадженню технологій. Ці досягнення дозволили пивній промисловості впровадити інновації у якісне виробництво пивних напоїв. Однією з найбільш помітних тенденцій є використання біотехнологій для розробки нових штамів дріжджів. Ці генетично модифіковані дріжджі можуть виробляти пиво з унікальними профілями смаку та покращувати ефективність бродіння. Крім того, вдосконалена аналітична хімія дозволяє пивоварам контролювати та точно регулювати хімічний склад пива в режимі реального часу, забезпечуючи постійну якість. Серед найбільш часто використовуваних технологій у пивній промисловості є автоматизовані системи бродіння, які дозволяють точно

контролювати температуру та умови бродіння. Ці системи не тільки покращують консистенцію продукту, але й підвищують енергоефективність і зменшують відходи. Застосування Інтернету речей (IoT) і штучного інтелекту (ШІ) також є помітним у цьому секторі. IoT дозволяє в режимі реального часу відстежувати кожен етап процесу виготовлення пива, від затирання до бродіння та розливу, що дозволяє миттєво коригувати якість продукту. З іншого боку, штучний інтелект і машинне навчання дозволяють пивоварам аналізувати великі обсяги історичних даних, щоб прогнозувати й оптимізувати результати бродіння, підвищуючи ефективність та інновації у створенні нових рецептів.

Сучасні пивоварні, від невеликих крафтових підприємств до транснаціональних корпорацій, використовують передові технології для підвищення ефективності, стійкості та якості. Ці досягнення у технології пивоваріння обіцяють еру, де якість, різноманітність і точність будуть у центрі уваги.

1. Системи автоматизації та управління. Сучасні пивоварні використовують автоматизацію та складні системи керування, що дозволяє точно та послідовно керувати процесом пивоваріння. Ці технології дозволяють пивоварам контролювати та регулювати температуру, рівень рН і прогрес бродіння в режимі реального часу, гарантуючи, що кожна партія відповідає точним смаковим профілям і стандартам якості. Автоматизація не тільки покращує ефективність, але й мінімізує людські помилки, що призводить до більш узгодженого продукту.

2. Екологічно чисті методи пивоваріння. Сталий розвиток став суттєвим акцентом у пивоварній промисловості, сприяючи розвитку екологічно чистих технологій. Такі інновації, як енергоефективні системи пивоваріння, процеси регенерації води та методи переробки відходів, значно зменшують вплив виробництва пива на навколишнє середовище. Впроваджуючи представлені зелені технології, пивоварні можуть зменшити свій вуглецевий слід, водночас виробляючи продукцію для споживачів.

3. Оновлення обладнання. Однією з найвизначніших інновацій у технології пивоваріння є впровадження ферментатора з юнітанком.



Рис. 3. Ферментаційна ємність (20 барелів – юнітанк) [4]

Ця універсальна ємність поєднує в собі функції традиційної ферментаційної ємності та кондиціонує ємності, дозволяючи первинній і вторинній ферментації відбуватися в одній ємності. Цей ферментер спрощує процес пивоваріння, знижує ризик забруднення та економить цінний простір у пивоварні. Його використання є значним кроком вперед у ефективності та універсальності пивоваріння.

4. Передові системи фільтрації. Прозорість і чистота є вирішальними якостями пива, і передові системи фільтрації продовжують революціонізувати шляхи досягнення пивоварами цих характеристик. Ці системи можуть видаляти частинки та домішки ефективніше, ніж традиційні методи, не впливаючи на профіль смаку пива. Використовуючи вдосконалені фільтри, пивовари можуть гарантувати, що їхня продукція буде найвищої якості, що відповідає зростаючим очікуванням споживачів щодо прозорості та смаку.

5. Інгрєдєнти та експерименти зі смаком. Технологічний прогрес також проклав шлях для дослідження інгрєдєнтів і нетрадиційних профілів смаку. Завдяки точному обладнанню, яке дозволяє контролювати додавання та впливати на кінцевий смак пива, пивовари можуть експериментувати з широким спектром компонентів, від екзотичних фруктів і спецій до нетрадиційних зерен. Ця тенденція призвела до вибуху креативності в індустрії, а крафтові пивоварні перебувають на передньому краї інновацій.



Рис. 4. Сучасна крафтова пивоварня з роботизованим пивоварним обладнанням [5]

Крафтове пиво – це пиво, зварене невеликими пивоварнями, за традиційними або авторськими рецептами. Виробники крафтового пива роблять акцент на якість, часто експериментують зі смаками та стилями.

Ці досягнення в технології пивоваріння не тільки свідчать про прогрес у галузі, але й дозволяють зазирнути у майбутнє виробництва пива. Постійне вдосконалення цих технологій призведе до більш екологічних практик, креативного варіння та підвищення насолоди для ентузіастів пива в усьому світі.

Технології бродіння в пивоварінні пройшли довгий шлях. Ось деякі досягнення, на які варто звернути увагу:

1. **Дріжджі, що не містять *Saccharomyces***: пивовари досліджують можливість використання різних типів дріжджів, таких як *Brettanomyces* і *Lactobacillus*, щоб надати своєму пиву унікальний смак і складність.

2. **Контроль температури**: за допомогою сучасних технологій пивовари тепер можуть точно контролювати температуру бродіння. Це дозволяє їм експериментувати з різними штамами дріжджів і отримувати стабільні результати.

3. **Бродіння під тиском**: за допомогою спеціального обладнання пивоварні тепер можуть бродити пиво під тиском. Цей метод зменшує виробництво складного ефіру, що забезпечує чистіший смак і коротший час бродіння.

4. **Техніка сухого охмеління**: сухе охмеління – це процес додавання хмелю безпосередньо до пива, що бродить. Пивовари експериментують із новими методами, такими як хмелеві гармати та системи хмелю, щоб максимізувати вилучення аромату без надмірної гіркоти.

5. **Управління дріжджами**: покращене розуміння поведінки дріжджів призвело до кращих методів їх розмноження та управління. Це допомагає пивоварам підтримувати здоров'я та консистенцію дріжджів протягом кількох партій.

6. **Виробництво кислого пива**: популярність кислого пива спонукала пивоварів до розробки спеціальних методів бродіння для виробництва цих

складних і терпких сортів пива. Такі методи, як сквашування в чані та змішане бродіння, використовуються для досягнення бажаних профілів смаку.

7. Витримка в бочках: бродіння пива в бочках існує вже багато століть, але останні досягнення дозволяють пивоварам точніше контролювати процес витримки. Це призводить до нюансів смаку від взаємодії деревини та інших мікроорганізмів, присутніх у бочці.

Наука про хміль постійно розвивається і веде до захоплюючих досягнень у світі пивоваріння. Ось кілька ключових подій, про які варто знати фахівцям з виробництва пива:

Технологія редагування генів: вчені використовують редагування генів для створення нових сортів хмелю з покращеними смаками та ароматами. Це дозволяє пивоварам створювати унікальні та характерні сорти пива.

Кріогенне заморожування: кріохміль виробляють шляхом заморожування хмелю при надзвичайно низьких температурах, що допомагає зберегти хмелеву олію та смоли. Це призводить до більш інтенсивних смаків і ароматів пива.

Розблокування тіолів: тіоли – це ароматичні сполуки, які надають пиву фруктовий і тропічний смак. Пивовари знайшли способи розблокувати тіоли під час бродіння, посилюючи аромат пива.

Пиво займає п'яте місце серед найбільш споживаних напоїв і наразі є найбільш споживаним алкогольним напоєм у світі. У 2021 році світове виробництво пива становило приблизно 1,86 млрд. гл., де Китай, Сполучені Штати та Бразилія виділяються як провідні виробники цього напою.

Пивоварна галузь – це глобальний бізнес, який складається з багатьох транснаціональних компаній і багатьох тисяч менших пивоварень, крафтових пивоварень. Домінуючі пивоварні групи, такі як Anheuser-Busch InBev (Льовен, Бельгія), Heineken (Амстердам, Нідерланди), Carlsberg (Копенгаген, Данія) і Asahi Group Holding (Японія), складають найбільшу частину ринку пива, консолідуючи таку тенденцію шляхом придбання та об'єднання великих комерційних пивоварень і менших пивоварень, таким чином збільшуючи їхній портфель. У 2021 році згадані раніше компанії виробили загальну кількість

близько 41% усього пива, що споживається в усьому світі. Незважаючи на високий попит, комерційне пиво, вироблене цими великими пивними групами, вважається дуже недиференційованим і позбавленим відмінного зовнішнього вигляду, смаку та аромату. Крім того, інформованість громадськості про такі теми, як стійкість навколишнього середовища та здоров'я, спричинила переваги споживачів до переходу на якісні, здорові та екологічно стійкі продукти, які відрізняються привабливими новинками та витонченістю. Ці фактори сприяють зростанню популярності та переваг споживачів у секторі крафтового пива. Такі стрімкі зміни вподобань були досягнуті головним чином завдяки зобов'язанню крафтових пивоварень перед споживачами віддавати пріоритет виробництву широкого спектру стилів пива з особливими органолептичними властивостями, які сприяють особливій методології пивоваріння та ретельному ручному відбору інгредієнтів.

Пивоварна промисловість є зрілим, добре організованим і конкурентоспроможним сектором діяльності. Вона добре відома своєю динамічною поведінкою, намагаючись реагувати на постійно змінювані споживчі тенденції. Крім того, вона намагається інтегрувати нові технології, які стають доступними в результаті досліджень, розробок та інноваційної діяльності, розробленої в усьому світі. Вкрай важливо отримати більш повне розуміння того, як налагодити ефективні та стійкі виробничі процеси, дотримуючись стандартів безпеки та найвищої якості. Інноваційні технології, засновані на зниженні теплового навантаження або непрямой теплопередачі, можуть сприяти зменшенню споживання енергії та використанню невідновлюваних ресурсів. Кілька хімічних і фізичних подій можуть бути викликані за наявності змінних обробки, таких як температура, електричні поля, тиск та інші, що сприяє унікальним властивостям на функціональному та сенсорному рівнях, які слід досліджувати.

3.3. Пивоварна сировина

Пиво традиційно виготовляється з використанням чотирьох основних інгредієнтів: води, солодових злаків, хмелю та дріжджів. Різні стилі пива виникають внаслідок поєднання різних інгредієнтів і технік пивоваріння протягом усього виробництва пива.

Вода є основною сировиною для пивоваріння, що становить близько 94% ваги пива. Термін «*солод*» визначає матеріал, який є результатом проростання в контрольованих умовах будь-яких злаків (наприклад, ячменю, рису, кукурудзи, пшениці тощо). Серед багатьох інших сполук солод містить три дуже цінні складові з точки зору пивовара: крохмаль, білки та гідролітичні ферменти. Крохмаль є основним джерелом вуглеводів у пивному суслі та гідролізується ферментами (тобто амілазами) для перетворення його на зброджуваний цукор, який, у свою чергу, визначає вміст алкоголю в кінцевому пивному продукті. Крім того, інші гідролітичні ферменти (тобто протеази) перетворюють частину білків в амінокислоти, необхідні для живлення дріжджів під час бродіння, а решта неущкодженої фракції білків відповідає за властивості пивної піни.

Хміль – це рослини, класифіковані як *Humulus lupulus*, типові для холодних регіонів і тому вимагають суворих умов вирощування. Ця рослина має залози, де виробляються гранули лупуліну, які містять цікаві для пивоваріння речовини, такі як α -кислоти та ефірні олії, що відповідають за типову гіркоту та аромат пива. Найпопулярніші сорти пивного хмелю: Cascade, Centennial, Чинук, Citra, Galaxy, Hallertau, Магнум, Жатецький, Simcoe, Tettnang, Amarillo, Columbus, Fuggle і Willamette.

Дріжджі – це еукаріотичний одноклітинний організм, який належить до царства грибів. В даний час пиво класифікується в одній з наступних категорій: ель, світле і ламб'ік. Основним критерієм, який поділяє ці категорії, є вид дріжджів, які використовуються у виробництві пива: штами *Saccharomyces cerevisiae* (тобто дріжджі верхового бродіння) відповідають за ельне пиво, *Saccharomyces pastorianus* (тобто дріжджі нижнього бродіння) створюють світле

пиво та місцеві штами дріжджів (тобто дикі дріжджі), присутні в атмосфері пивоварні та з пивної сировини створюють ламб'ік.

Процес пивоваріння можна розділити на дев'ять основних операцій, а саме: подрібнення, затирання, фільтрація сусла, кип'ятіння сусла, обробка сусла, бродіння, дозрівання, фільтрація та пастеризація. Деякі з цих етапів пивоваріння не є обов'язковими для виробництва пива; однак великі промислові пивоварні вважають за краще використовувати їх, прагнучи кращого сприйняття споживачами кінцевого продукту.

Пивоварна галузь вважається гостро конкурентною та ненаситною галуззю діяльності, що розвивається завдяки значним технологічним удосконаленням, які спостерігаються за останні роки, та останнім споживчим тенденціям, які вказують на гострий попит на сенсорно покращене пиво. Деякі нові та стійкі технології обробки харчових продуктів, такі як імпульсні електричні поля (PEF), ультразвук (US), термозвук (TS), обробка під високим тиском (HPP) і омичний нагрів (OH), показали потенціал сприяння розвитку застосовуваних методологій пивоваріння, як покращуючи якість пива, так і сприяючи ефективності обробки з обіцянкою бути більш екологічним. Деякі з цих технологій ще не знайшли свого шляху до промислового процесу пивоваріння, але вже демонструють потенціал для впровадження в безперервні термічні та нетермічні операції, такі як пастеризація, кип'ятіння та стерилізація, що призводить до отримання пива з покращеними органолептичними властивостями.

Етап бродіння диктує додавання дріжджів, які починають поглинати ферментовані цукри, амінокислоти, мінерали та інші поживні речовини. Після цього дріжджі, в результаті складних клітинних біохімічних шляхів, ініціюють виробництво великої різноманітності сполук, таких як етанол, CO₂, вищі спирти та складні ефіри, які вивільняються в матрицю пива. Широкий спектр сполук, що виробляються дріжджами, є основними продуктами бродіння пива, які впливають на хімічний склад, колір і, що найважливіше, сенсорну якість пива. Під час бродіння можуть утворюватися небажані сполуки (наприклад, ацетальдегід, діацетил, сірковмісні сполуки тощо), які негативно впливають на

профіль смаку та якість пива. З цієї причини виконується дозрівання (іноді його називають етапом кондиціонування), коли пиво поміщають у резервуари та охолоджують до температур від 0 до 10 °С, що дозволяє дріжджам повільно метаболізувати небажані смакові сполуки, які далі видаляються. Крім того, дозрівання також дозволяє твердим речовинам (нерозчинним при більш низьких температурах) осідати й випадати в осад, що призводить до прозорого пива. Загалом, дозрівання сприяє покращенню смаку та колоїдної стабільності пива та забезпечує важливі органолептичні характеристики кінцевого продукту.

3.4. Антиоксиданти пива та користь для здоров'я

Наявність і кількість поживних речовин і біологічно активних сполук у пиві залежить від інгредієнтів, включаючи солодове зерно і злаки (ячмінь, пшениця, овес і рис), хміль, добавки, такі як фрукти і спеції, і мікроорганізми, такі як дріжджі *Saccharomyces* або ко-ферментаційні бактерії роду *Lactobacillus*. Різні типи та стилі пива містять специфічні молекули з антиоксидантами і протизапальними властивостями. Хміль і солод є сировиною, яка використовується у виробництві пива, і є джерелами фенольних сполук, які є одними з основних сполук, пов'язаних зі здоров'ям. Насправді близько 30% поліфенолів у пиві походять із хмелю та 70–80% із солоду.

Основними антиоксидантними сполуками в пиві є фенольні сполуки та меланоїдин, які утворюються в результаті реакції Майяра. Крім того, деякі антиоксидантні добавки, що використовуються в пиві (наприклад, аскорбінова кислота), також можуть сприяти антиоксидантній здатності пива. Крім того, хміль містить смолу, яка містить моноацилфлороглюциноли, які стають гіркими кислотами в процесі виробництва пива, наприклад α -кислоти (гумулони) та ізо- α -кислоти. Структурні класи поліфенолів у пиві включають прості феноли, похідні бензойної кислоти та коричну кислоту, кумарини, катехіни, ди- та триолігомерні проантоціанідини, пренільовані халкони, α -кислоти та ізо- α -кислоти, отримані з хмелю.

Загальний вміст поліфенолів і фенольних кислот сильно відрізняється в різних типах пива, залежно від сорту використовуваного хмелю та способу виробництва. Однак споживачі дуже рідко знаходять інформацію про конкретний сорт використовуваного хмелю, що ускладнює ідентифікацію пива за вмістом поліфенолів. Ферулова кислота є найпоширенішою фенольною кислотою в різних комерційних типах пива, таких як абатство, ель, бок, пшеничне, лагер, пілзнер і деалкоголізоване. За нею йдуть синаптична, ванільна, кавова, р-кумарова і 4-гідроксифенілоцтова кислоти. Ферулова, кавова, синрингінова, синаптична та ванілінова кислоти присутні в пиві переважно у зв'язаних формах, тоді як п-кумарова та 4-гідроксифенілоцтова кислоти зазвичай однаково присутні як у вільній, так і у зв'язаній формах.

Фенольні сполуки позитивно впливають на пиво кількома способами, наприклад стабільністю. Деякі фенольні речовини діють як антиоксиданти, захищаючи пиво від псування, спричиненого окисленням. Крім того, деякі дослідження показують, що помірне споживання пива з високим рівнем певних фенольних сполук, таких як ферулова кислота, може мати деякі переваги для здоров'я.

Ксантогумол та його похідні є найпотужнішими антиоксидантними сполуками, знайденими в хмелі, за якими йдуть ізоксантогумол та інші пренілфлавоноїди, такі як 6-пренілнарингенін (6-PN) і 8-пренілнарингенін (8-PN), які отримують із хмелю. Ксантогумол відомий своїм широким спектром біологічної активності. Він також має антибактеріальні, противірусні та протигрибкові властивості, які також були продемонстровані *in vitro*. Недавні дослідження показали, що ксантогумол потенційно є протипухлинним засобом, особливо при таких захворюваннях, як гліобластома.

Високий вміст антиоксидантів не обов'язково означає, що споживачі пива зловживають алкоголем, як вчить «французький парадокс» ресвератролу (RSV) у винах. Помірне споживання алкоголю було пов'язане з меншим ризиком розвитку серцево-судинних захворювань порівняно як з людьми, які не п'ють, так і з людьми, які сильно п'ють. Ризик експоненціально зростає зі збільшенням

дози споживаного алкоголю. Помірне вживання пива може принести користь нашій судинній системі, зменшивши окислення ліпопротеїнів низької щільності, які є однією з п'яти основних груп ліпопротеїнів, які транспортують молекули жиру по всьому тілу у позаклітинній воді. Крім того, це може допомогти підтримувати цілісність і функціональність окислення кровеносних судин і зменшувати запальні явища в тканинах церебральних судин.

Антиоксиданти модулюють вироблення речовин, які регулюють артеріальний тиск і рівень глюкози, згортання крові та зменшують атерогенез, а також модулюють запальні процеси. Доведено, що помірне споживання алкоголю має нейропротекторний ефект, знижуючи рівні бета-амілоїду, білка, який бере участь у нейродегенеративних захворюваннях, таких як хвороба Альцгеймера та паркінсонізм.

Пиво містить мелатонін, отриманий із злаків і дріжджів (*S. cerevisiae*), які використовуються для його виробництва, особливо під час другого бродіння. Кількість мелатоніну в пиві змінюється залежно від умов бродіння, якості використовуваних злаків, міцності алкоголю в пиві та використовуваної системи обробки. Мелатонін є багатогранною речовиною, яка діє як поглинач вільних радикалів, антиоксидант і протизапальний засіб. Він також має профілактичну дію проти окисного стресу та має імуномодулюючу дію на імунну систему. Він також продемонстрував протиракові властивості *in vitro* та *in vivo*, діючи через різні механізми та в різних пухлинах. Крім того, було визнано ефективним для кісткової маси та як нейропротекторний засіб. Цікаво, що крафтове пиво має вищий рівень мелатоніну, ніж комерційне пиво з однаковим вмістом алкоголю.

Надмірне споживання алкогольних напоїв призводить до розладів здоров'я, таких як алергія, підвищення концентрації сечової кислоти в плазмі, мутації та рак, підвищений ризик деменції, ожиріння та соціальної поганої поведінки. Навпаки, легке або помірне споживання алкогольних напоїв, включаючи пиво з відносно низьким вмістом алкоголю, може мати різні сприятливі наслідки для здоров'я людини. До них належать поживні переваги, антимутагенні та антиканцерогенні ефекти, зниження серцево-судинних

захворювань (кардіопротекторний ефект), гіполіпідемічний ефект, стимуляція імунної системи, ефект проти остеопорозу та зниження ризику деменції.

Результати різних наукових досліджень свідчать про те, що помірне щоденне вживання алкоголю (тобто 24 г на день або приблизно 500 мл пива) може знизити ризик розвитку аліментарного діабету 2 типу. Це може бути пов'язано зі стимуляцією адипонектину, білка, який синтезується жировою тканиною. Адипонектин покращує чутливість клітин печінки та м'язів до глюкози, тим самим підвищуючи чутливість до інсуліну. Це може суперечити тому факту, що пиво має високий глікемічний індекс (близько 110), тому його не рекомендують вживати в раціон людям з цукровим діабетом або непереносимістю глюкози. Докази загальної антиоксидантної здатності *in vivo* після споживання пива все ще обмежені та непереконливі. Важливо зазначити, що узагальнення не можна робити через різний вміст залишкового цукру в різних видах пива. Діапазон залишкового цукру в різних сортах пива широкий, причому найсухіші сорти, такі як ламб'ік, деякі сезони та інші бельгійські делікатеси, мають менше 1% залишкового цукру за вагою. З іншого боку, деякі важкі сорти ячменю мають сиропоподібний вміст 10% залишкового цукру.

Пиво не підвищує рівень цукру в крові, але має тенденцію до зниження глікемічного піку, якщо його вживати під час або перед їжею, багатою вуглеводами. Цілком можливо, що алкоголь може зменшити вироблення глюкози в печінці, допомогти компенсувати глюкозу, яка надходить під час їжі. Тим не менш, діабетики можуть пити пиво і мати певні переваги для здоров'я через його здатність контролювати рівень цукру в крові та знижувати серцево-судинні ризики, пов'язані з діабетом.

Мета-аналіз виявив зворотний зв'язок між загальним споживанням алкоголю та ризиком діабету 2 типу. Були проведені дослідження, щоб дослідити зв'язок між певними видами алкогольних напоїв і захворюваністю на діабет 2 типу. Мета-аналіз включав 13 досліджень із 397 296 учасниками дослідження та 20 641 випадком діабету 2 типу. Порівняно з будь-яким або рідкісним споживанням алкоголю, споживання вина було суттєво пов'язане зі

зниженням ризику діабету 2 типу (загальний відносний ризик 0,85), тоді як споживання пива та алкогольних напоїв продемонструвало незначну тенденцію до зниження ризику діабету 2 типу з відносним ризиком 0,96 і 0,95 відповідно. Подальший аналіз залежності доза-відповідь виявив U-подібний зв'язок між усіма трьома типами алкоголю та діабетом 2 типу. Метааналіз показав, що максимальне зниження ризику спостерігалось при вживанні 20–30 г/день для вина (зниження на 20 %) і пива (зниження на 9 %), а також при споживанні 7–15 г/день для алкогольних напоїв (зниження на 5 %). Докази переконливо свідчать про те, що певні алкогольні напої по-різному впливають на зниження ризику діабету 2 типу. Зокрема, споживання вина було пов'язане зі значним зниженням ризику діабету 2 типу, тоді як споживання пива та алкогольних напоїв продемонструвало незначне зниження ризику діабету 2 типу.

Крім того, алкоголь безпосередньо впливає на ниркову систему і є значним сечогінним засобом (протягом 20 хвилин після прийому) через пригнічення гормону вазопресину, який сприяє реабсорбції води, що виділяється з сечею. Хоча це може здатися позитивним ефектом, у тих, хто постійно споживає, це може призвести до подальшого збою в роботі нирок і порушення регуляції рідин і мінералів організму, необхідних для виконання важливих основних функцій організму.

Здається, навіть імунна система отримує користь від помірного вживання алкогольних напоїв, багатих на поліфеноли. Кількість клітин і молекул, які беруть участь в імунній відповіді і їх здатність боротися з чужорідними агентами зросла, але важливо перевіряти кількість, оскільки надмірне споживання, особливо якщо воно є хронічним, має імуносупресивний ефект.

Вживання пива після спортивної активності вважається сприятливим через його чудовий вміст мінералів і вітамінів, корисність для відновлення водно-сольового балансу, а також антиоксидантні та протизапальні властивості. Тому вживання пива після тренування може бути контрпродуктивним через сечогінну дію алкоголю. Алкоголь не вважається поживною речовиною, оскільки, хоча він

забезпечує енергією (7 ккал/г), він не має конкретного функціонального та/або метаболічного призначення.

Алкоголь також визначається як потенційна соціальна небезпека, яка може призвести до фізичної та психологічної шкоди, підвищеного ризику серцево-мозкових захворювань, захворювань печінки та шлунково-кишкового тракту, а також інших патологічних станів. Однак існує й інша активність фенольних сполук, тобто протидія негативному впливу ацетальдегіду, що утворюється в результаті метаболізму алкоголю та класифікується Міжнародним агентством з дослідження раку (AIRC) як можливий канцероген для людини (група 2B). Зокрема, поліфеноли запобігають запальним явищам, проліферації ракових клітин і утворенню нових кровоносних судин, які несуть живлення до ракових клітин.

Було запропоновано новий екологічний і швидкий метод вилучення фітохімічних речовин із хмелю для їх використання в якості харчових добавок, таких як екстракція під високим гідростатичним тиском і екстракція за допомогою ультразвуку. Обидва методи мали кращий вплив на біологічно активні сполуки, приділяючи особливу увагу ультразвуковій екстракції через короткий час і низькі потреби в енергії.

3.5. Методи охмеління, температура бродіння, якість солоду та фенольний склад

Метод охмеління (кип'ятіння або сухий), температура бродіння (12–18 °C) і штам дріжджів впливають на сенсорні характеристики (гіркота, колір і вміст алкоголю), вміст фенолів і летких сполук пива. Згідно з різними дослідженнями, охмеління є фактором, який впливає на склад і сенсорні властивості пива. Зазвичай хміль поділяють на дві категорії: з гіркотою і ароматом. Гіркий хміль має вищі альфа-кислоти, що робить його більш економічно ефективним для гіркого пива, оскільки потрібна лише невелика кількість хмелю. Ароматний хміль, з іншого боку, як правило, має більше ефірних олій, які сприяють

характерним ароматам хмелю, таким як цитрусові, сосна, манго, смола та диня (люди розуміють це як «хміль»). Додаючи хміль на початку процесу пивоваріння, ефірні олії випаровуються і википають під час кип'ятіння або бродіння. Додавання хмелю пізніше в процесі пивоваріння посилює хмелевий аромат пива і робить його запах більш «хмелевим». Однак сильно охмелене пиво може з часом не зберігати свій аромат і смак. Аромати та смак пива з хмелем можуть розсіюватися, що призведе до того, що смак буде відрізнятися від запланованого пивоваром. Температура бродіння має значний вплив на вміст фенольних сполук, присутніх у пиві, виробленому шляхом охмеління, але пиво, вироблене методом сухого охмеління, характеризується більш квітковим і фруктовим ароматом.

Обсмажений (підсмажений) характер пива в основному залежить від обсмажування солоду та типу (стилю) пива. У виробництві пива ячмінний солод обсмажують при різних температурах для отримання різних смаків і кольорів. Інтенсивність смаженого характеру зростає з підвищенням температури смаження, що призводить до нот кави, шоколаду, тостів і солодки. До широко використовуваних смажених солодів відноситься карамельний солод, який надає бурштиновий колір і легкий карамельний аромат; шоколадний солод, який надає коричневий колір і смак чорного шоколаду; і смажений солод, який дає чорний колір і смак кави та солодки. Деякі види пива, природно, мають більш обсмажені тони смаку і аромату, ніж інші. Наприклад, стаути та портери – це темні сорти пива, у яких використовується велика кількість смаженого солоду, що надає їм інтенсивного смаженого характеру. На відміну від цього, для коричневих та бурштинових елів використовується менша кількість смаженого солоду для більш легкого смаженого характеру.

Деякі автори запропонували альтернативні методи охмеління для збільшення леткості та аромату хмелю, та для виробництва ароматизованого пива, такі як пізнє охмеління, вихрове охмеління та зворотнє охмеління. Три методи полягають у додаванні хмелю майже в кінці кип'ятіння, або лише в кінці

кип'ятіння, коли сусло стає холоднішим, але на відміну від сухого охмеління температура має бути високою.

Що стосується фенольного складу пива, слід зазначити, що воно в основному одержується з солодового ячменю та міститься у вільній або зв'язаній формах і в концентраціях на 50% нижчих, ніж у солодкому продукті. Використання смаженого солоду в поєднанні з належним помелом, високою температурою затирання та низьким рН призводить до вивільнення фенольних сполук через збільшення екстракції.

Основними фенольними сполуками в пиві є гідроксикоричні кислоти (наприклад, *n*-кумарова і ферулова кислоти), флаван-3-оли (наприклад, (+)-катехін і (-)-епікатехін) і олігомерні проантоціани. Темне пиво має рівень фенолів до трьох разів вищий, ніж інші типи пива, завдяки вивільненню зв'язаних фенолів під час термічної обробки та підвищеній екстракції, пов'язаній із крихкістю зерна. Крім того, фенольні сполуки можуть взаємодіяти з меланоїдинами, що утворюються під час обсмажування солоду, покращуючи їх розчинність і стабільність під час виробництва; отже, помел зерна також може збільшити вилучення фенолів. Кислотність, лужність і активність ферментів або води можуть викликати фенольну екстракцію, і це параметри, які контролюються пивоварами. Крім того, параметри виробництва, такі як фільтрація та пастеризація для промислового пива або сушка хмелю для крафтового пива, відповідають за вміст фенолу. Однак долю окремих фенольних сполук під час пивоваріння важко передбачити, оскільки вони можуть зазнавати різних процесів (наприклад, вивільнення, деградація, полімеризація, адсорбція або осадження). Встановлено, що загальний вміст фенолів у пиві на 50% нижчий, ніж у солодкому суслі, через значну втрату тепла під час процесу освітлення, оскільки поліфеноли утворюють комплекс із білками, а також полівінілполіпіролідон (PVPP) фільтрація, яка здатна видаляти великі поліфенольні молекули, які є попередниками терпких смаків.

Окрім традиційних методів, нові технологічні стратегії виробництва пива та солоду включають використання спеціальних дріжджів, маніпуляції

ферментативною активністю та сухого охмеління. Ці методи можуть мати велике значення для досягнення відповідних рівнів фенольних сполук на користь стабільності пива та здоров'я споживачів. Відомо, що кілька штамів дріжджів виробляють більш високий рівень фенольних сполук, ніж інші. Наприклад, нетрадиційні дріжджі *S. cerevisiae* var. було продемонстровано, що *diastaticus* підвищує концентрацію летких фенолів, які сприяють смаку гвоздики в деяких сортах пшеничного пива. Ферменти необхідні для розщеплення складних молекул солоду на простіші компоненти, які дріжджі використовують для бродіння, маніпулюючи активністю певних ферментів. Пивовари також можуть впливати на виробництво фенольних сполук, маніпулюючи активністю певних ферментів. Наприклад, підвищення активності β -глюкозидази, ферменту, який вивільняє зв'язані фенольні прекурсори, може призвести до вищих рівнів вільних фенольних сполук у пиві, що широко вивчається в галузі енології. Сухе охмеління підсилює аромат і смак пива шляхом введення летких сполук хмелю. Деякі з них є фенолами. Наприклад, сухе охмеління сортів хмелю, таких як каскад або цитра, надає цитрусових і тропічних фруктових ароматів, які походять від фенольних сполук, таких як мірцен і лімонен. Такі стратегії є вирішальними для досягнення належного рівня фенольних сполук у пиві.

3.5.1. Альтернативне застосування хмелю

Хміль є рослиною родини *Cannabaceae* і багатий леткими сполуками, які забезпечують гіркуватий і характерний смак. Він також складається з біологічно активних сполук, таких як феноли, флавоноїди тощо. Хміль продемонстрував функціональні та нутрицевтичні переваги, а також терапевтичне та фармацевтичне застосування. Хоча кип'ятіння при високій температурі змінює сенсорний профіль і хімічну структуру шляхом збільшення гіркоти, кожен сорт хмелю забезпечує специфічний аромат, залежно від урожаю, генотипу, клімату, вологості, висоти над рівнем моря та зрощення. Тому в попередній дискусії про охмеління ароматичний хміль додається до або після процесу бродіння, щоб

зменшити втрати летючих речовин. Завдяки своїй користі для здоров'я хміль також використовується в інших продуктах, крім пива, хоча кліматична криза скоротила виробництво та вирощування хмелю в основних районах виробництва. На міжнародній виставці Organic and Natural Exhibition (SANA) у вересні 2023 року в Болоньї, Італія, першій виставці в Європі, присвяченій органічним і натуральним продуктам, серед різноманітних інноваційних продуктів виділялися препарати на основі хмелю, альтернативні класичному пивоварному сектору. Зокрема, невелика сільськогосподарська компанія представила різні продукти на основі хмелю, які повністю валоризують італійське виробництво, такі як песто 100% з хмелем Романьоло, паростки хмелю, шоколад, тараллі та п'ядине зі смаком хмелю.

3.6. Додавання в пиво інноваційних інгредієнтів

Якість пива залежить від активності ферментуючих дріжджів, таких як *Saccharomyces cerevisiae* і *S. carlsbergensis* (*S. pastorianus*), які не тільки сприяють хорошій продуктивності бродіння, але також впливають на аромат пива, оскільки більшість ароматичних сполук є проміжними. метаболіти та побічні продукти метаболізму дріжджів. Вибір штамів залежить від їх адаптованості до харчового продукту та типу ферментації.

Пивні дріжджі *Saccharomyces* зазвичай поділяють на дві групи: елеві та світлі дріжджі, також відомі як дріжджі верхового та низового бродіння відповідно. Спочатку ці штами класифікували на основі їх властивостей флокуляції. Після бродіння ельні дріжджі піднімаються на поверхню зброженого суслу, тоді як світлі дріжджі осідають на дні ферментаційної ємності. Два типи пивних дріжджів також розрізняються за температурою росту та бродіння. Незважаючи на те, що оптимальна температура росту для *Saccharomyces* становить від 25°C до 30°C, ріст і бродіння низових дріжджів відбувається між 4°C і 12°C, а дріжджі верхового бродіння віддають перевагу температурі 14–25°C.

Незважаючи на те, що елеві дріжджі використовуються для виробництва пива з різними характеристиками, такого як ель, стаут або портер, штами, які використовуються для цього пива, належать переважно до видів *S. cerevisiae*. Однак сорти пива в групі *S. Cerevisiae* більш різноманітні, ніж штами вина. Було виявлено, що багато кращих штамів дріжджів за якістю є гібридами. 25% найпопулярніших штамів, виявлених у бельгійському пиві Trappist, могли бути результатом гібридизації між *S. cerevisiae* та *S. kudriavzevii*. Пивні дріжджі мають високу частоту поліплоїдії та анеуплоїдії, що, ймовірно, призводить до обмеженої або повної відсутності спороутворення. Аналіз геному та широкомасштабне фенотипування галузевих ознак виявили, що певні ознаки були відібрані під час одомашнення пивних дріжджів. Наприклад, надавали перевагу штамам дріжджів з більшою здатністю метаболізувати мальтотріозу. Крім того, також були відібрані штами дріжджів зі зниженим утворенням фенольних присмаків.

Щодо штамів дріжджів, які використовуються у виробництві світлого пива і які зараз віднесені до *S. pastorianus*, ситуація складніша, ніж з елевими дріжджами. Деякий час було відомо, що штами донних пивних дріжджів *S. pastorianus* є гібридами. Лагерні дріжджі насправді класифікуються як алополіплоїдні гібриди *S. cerevisiae* та *S. eubayanus*. Штам *S. eubayanus* був вперше виділений у Патагонії, демонструючи високу ідентичність (99,5%) з не *S. cerevisiae*, частиною геному *S. pastorianus*. *S. eubayanus* відомий своєю холодостійкістю, яка прямо корелює з часткою геному *S. eubayanus*. Однак його толерантність до високих концентрацій етанолу нижча, ніж у традиційних штамів, що продукують етанол.

В даний час пивоварна галузь відчуває зростаючу потребу в інноваційних продуктах. Як наслідок, нехарактеризовані автохтонні закваски, спонтанне бродіння або несахароміцети *закваски* частіше використовуються для виробництва унікальних і нетрадиційних продуктів. Щоб отримати продукти з більш складними сенсорними характеристиками, досліджуються нетрадиційні дріжджі, тобто дріжджі, що не містять *Saccharomyces*. Ці штами, як правило,

характеризуються низьким виходом бродіння і більш чутливі до етанольного стресу, але вони забезпечують характерний аромат і смак. Крім того, дослідники досліджували використання міжвидових гібридів *de novo*, створених із різних видів у межах роду *Saccharomyces*. Використання гібридних дріжджів пов'язане з декількома аспектами бродіння пива, такими як швидкість бродіння, утворення аромату, стійкість до температури та використання цукру, а також для виробництва слабоалкогольного пива (LAB), не-алкогольне пиво, світле пиво. Традиційні та нетрадиційні дріжджі в пивоварінні разом із їх широким вибором представляють новий біотехнологічний підхід до визначення характеристик пива та виробництва різних або навіть абсолютно нових стилів пива. Інші інновації стосуються упаковки, особливо для впливу на летючі та сенсорні характеристики або інгредієнти; деякі автори повідомили про використання фруктів, рослин або овочів у виробництві пива.

3.6.1. Виробництво безглютенового пива

Пиво є найпоширенішим алкогольним напоєм у світі, але воно не підходить для пацієнтів, які страждають на целиакію, оскільки його основні інгредієнти, ячмінь або пшениця, містять глютен. Приблизно 1% населення світу страждає від целиації, і розробка безглютенового пива є необхідною. Безглютенове пиво, вироблялось з використанням альтернативних матеріалів, таких як рис, сорго, кукурудза, просо, овес і псевдозлаки (наприклад, гречка, кіноа та амарант), Використання альтернатив солоду може вплинути на якість безглютенового пива та призвести до деяких негативних наслідків. Відповідно, обговорюються впливові фактори з точки зору повної заміни солоду іншими зерновими у виробництві пива. Результати досліджень забезпечили деякі нові альтернативні рішення для виробництва безглютенового пива, такі як використання солодового зерна для покращення активності гідролітичних ферментів, застосування нетрадиційних процедур затирання, що включають метод декокції (традиційно у пивоварінні виділяють два методи затирання

солоду та майбутнього варіння пива: настійний (*інфузія*) і відварний (*декокція*) та технології екструзійного приготування для збільшення виходу екстракту, використання екзогенних ферментів і азотних добавок для покращення спектрів цукру та амінокислот, необхідних для бродіння дріжджів, і застосування комбінації альтернативних зерен для покращення смаку, міцності та стабільності піни безглютенового пива.

3.7. Сучасне використання деревини у виробництві пива

Виробництво пива стало частиною культури і традицій багатьох країн (наприклад, Чехії, США, Німеччини та Великої Британії). До появи нержавіючої сталі бочки були типовою посудиною для зберігання та транспортування пива. Деякі сорти пива, наприклад портер, часто доводилося витримувати близько 6–12 місяців у дерев'яних резервуарах, щоб пом'якшити їх різкий смак.

Деякі види пива тісно пов'язані з витримкою в бочках. Бельгійці використовували і продовжують використовувати процес збагачення смакової композиції бочками. Зараз у всьому світі відбувається так звана пивна революція, коли стрімко розвивається виробництво пива на маленьких крафтових пивоварнях. Посилення розвитку цієї галузі змусило виробників посилити конкуренцію, тому пивоварні намагаються виділитися насамперед оригінальністю своєї продукції. З цієї причини, як і у випадку з винами, зростає інтерес до використання деревини для виробництва характерних напоїв із цікавими ароматичними властивостями, які можна отримати під час їх дозрівання в бочках або за наявності тріски. Дозрівання пива може здійснюватися як в нових бочках, так і в бочках, які раніше використовувалися для виробництва вина, віскі та інших напоїв. В останньому випадку пиво може набути смаку та аромату напою, який раніше був у бочці. Це надає деяким сортам пива більш насичений і привабливий смак. Крім того, пиво IPA традиційно зберігається та транспортується в бочках.

Сьогодні, у пошуках нових, цікавих і привабливих смакових композицій для пива, ці напої розливають у бочки або використовують інші методи для отримання ароматичної композиції, отриманої з деревини. У випадку пива солод і хміль є інгредієнтами, відповідальними за забезпечення ароматичних сполук, пов'язаних з характером певного стилю пива. Контакт з деревом може збагатити пиво смаковими нотками, пов'язаними з ваніллю, гостротою, кокосом, компонентом диму або самою деревиною. Значне збільшення концентрації галової кислоти, 5-HMF і фурфуролу було виявлено в пиві, витриманому в дубових кубиках, порівняно з пивом, витриманим у пляшках. Сильний ступінь підсмажування особливо збільшив концентрацію галової кислоти та 5-HMF, тоді як слабкий рівень підсмажування збільшив концентрацію фурфуролу майже в 10 разів. Спосіб введення ароматів, пов'язаних з деревиною, повинен бути збалансованим, щоб він не домінував над належними характеристиками пива. Дозрівання пива в присутності дубових кубиків погіршувало їх сенсорну оцінку. Інші дослідження показали, що витримка пива в присутності деревини, залежно від типу деревини, збільшила вміст поліфенолів і аромат паленого, пряного, ванільного, дубильного та смолистого смаків. Більшість деревини не заважала солодовому смаку. Винятком є ​​дереви́на дуба та амбурана, але учасники дискусії оцінили обидві деревини як найбільш ароматичні, що свідчить про те, що солодовий аромат був прихований серед інших. Зазвичай за аромат деревини відповідають фенольні сполуки. Під час дозрівання пива з деревиною концентрація багатьох монофенолів збільшується, і це збільшення є більш вираженим, коли додається більше деревної стружки. Крім того, рівні сполук, таких як 4-вінілгваякол і 4-стилгваякол, виявилися не пов'язаними з породою або кількістю деревини, яка використовувалася під час старіння. Видобутку монофенолів, отриманих із деревини, сприяли скоріше низький рН пива та високий вміст алкоголю. У випадку крафтового пива з використанням дубової стружки спостерігалось збільшення загального вмісту фенолу, що також призвело до вищої антиоксидантної активності цих напоїв. Однак у випадку комерційного пива такого збільшення не спостерігалось, що пов'язано з

застосуванням фільтрації з використанням полівінілполіпіролідону, який зв'язує низькомолекулярні фенольні сполуки, відповідальні за потемніння та гіркоту. Слід взяти до уваги, що екстраговані сполуки, такі як поліфеноли, можуть негативно впливати на колоїдну стабільність пива, викликаючи помутніння в результаті утворення білково-поліфенольних комплексів.

Крім того, використання деревини у виробництві пива може бути пов'язане з втратою деяких сполук в результаті їх поглинання деревиною або в результаті випаровування. Досить популярним у традиціях бельгійського пивоваріння є використання дерев'яних бочок як джерела різних мікроорганізмів, у тому числі дріжджів *Brettanomyces* і бактерій *Lactobacillus* і *Pediococcus*. Вони знаходяться в основному в порах деревини бочки, де їх важко видалити під час миття, але їх присутність необхідна під час виробництва традиційного кислого пива. Це також є причиною підтримки належної стерильності у виробництві комерційного пива. По відношенню до інших стилів, ці організми відповідають за дефекти пива, що робить тріску цікавою альтернативою бочкам. Використання чіпсів дозволяє швидше досягти ефекту дозрівання, пов'язаного зі смаковими відчуттями, які неможливо було б отримати в бочках.

3.8. Інноваційні технологічні заходи на стадії бродіння та пастеризації пива

3.8.1. Імпульсні електричні поля PEF

Останні технологічні досягнення в поєднанні з потребою у вищій ефективності виробництва, якості продукції та стабільності процесу створили можливості для розробки нових підходів до обробки. Нетермічні технології набули популярності та видатності в останні роки, обіцяючи мінімальну обробку та високу поживну якість. PEF (Pulsed Electric Fields) є однією з цих так званих нових нетеплових технологій, яка привертає увагу для кількох застосувань. PEF може одночасно сприяти інактивації мікробів, значно зменшуючи несприятливі

зміни сенсорних, фізичних і поживних властивостей (наприклад, кольору, смаку, текстури та поживної цінності) у широкому спектрі харчових матриць. PEF полягає в застосуванні коротких (тобто від мікро- до мілісекунд) імпульсів електричного поля високої інтенсивності (тобто порядку 10–80 кВ/см), що подаються в певний напівпровідний харчовий продукт, розміщений між набором електродів. Їжа дозволяє проходити електричний струм, оскільки містить кілька іонів і заряджених молекул. Коли застосовується PEF, електричний струм протікає через їжу та передається до кожної точки її матриці. Це може призвести до широкого діапазону явищ у харчовій матриці, що призводить до нетермічної інактивації мікробів через електропорацію. Електропорація полягає в утворенні постійних або тимчасових пор на клітинах внаслідок руйнування подвійного фосфоліпідного шару клітинної мембрани, викликаного прикладеним електричним імпульсом. Утворення цих пор у клітинних мембранах мікроорганізмів може змінювати їх проникність і, як наслідок, сприяти лізису клітин. З цієї причини комерційне використання PEF для інактивації вегетативних клітин мікроорганізмів у рідких харчових продуктах, таких як сік, молоко та яєчні продукти, стає популярним.

Обробка PEF за певних контрольованих умов (тобто кімнатна температура, інтенсивність електричного поля 45 кВ/см, 46 імпульсів і загальний час обробки 70 мкс) призвела до інактивації аскоспор *Saccharomyces cerevisiae* на 0,2 та 2,2 логарифмів зменшення для 0 і 7% об. пива, відповідно, у порівнянні з термічною інактивацією. Це дослідження також виявило, що коли ті самі умови обробки PEF поєднувалися з термічною обробкою (52–53 °C) пива з концентрацією 0 та 7% спирту/об'єму, спостерігалось принаймні додаткове зменшення популяції спор дріжджів на 0,7 та 1,8 log, відповідно. Інше дослідження було направлено на інактивацію вегетативних клітин *Saccharomyces cerevisiae* за допомогою нетермічної та температурної PEF-обробки світлого пива з вмістом алкоголю 3,5% алкоголю/об. Експерименти показали, що нетеплова обробка PEF 35 кВ/см протягом 574 мкс і 45 кВ/см протягом 402 мкс призвела до зменшення кількості клітин на 3,8 і $\geq 6,8$ log, відповідно. Термічна обробка PEF при 55 °C з

використанням 35 кВ/см із загальним часом обробки 1145 мкс призвела до $\geq 6,8$ логарифмічного зменшення клітин. Подальші докази впливу обробки PEF на вегетативні дріжджі були надані у дослідженнях, де використання 22 кВ/см протягом 216 мкс на пиві в кегах при 10 °C (без термічної обробки) призвело до 4,1 і 4,3 логарифму зниження *Saccharomyces uvarum* і *Rhodotorula rubra* відповідно.

Технологія PEF також довела свою ефективність проти інактивації вегетативних бактерій. Було виявлено, що нетеплова обробка PEF (35 кВ/см протягом неповідомленого періоду часу) у модельному пиві призвела до зменшення кількості вегетативних бактерій *Lactobacillus plantarum* $>3,0$ log. Крім того, було зроблено висновок, що нетеплова обробка PEF (41 кВ/см із загальним часом обробки 175 мкс) у розлитому пиві була ефективною для інактивації вегетативних клітин *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus damnosus* та *Bacillus subtilis* із 4,7, 5,8 та 4,8 логарифмічним скороченням, відповідно. Повідомлено, що нетеплова обробка PEF (35 кВ/см із загальним часом обробки 574 мкс) 3,5% спирту/об'єму пива призвела до зниження на 1,8, 2,0 та 1,8 log *Lactobacillus plantarum*, *Salmonella enterica* та *Bacillus subtilis* вегетативні бактерії, відповідно. Термічна обробка PEF також є надійною технікою для інактивації бактерій, оскільки було отримано 5,7 логарифмів зменшення кількості клітин *Salmonella enterica* при обробці пива при 49 °C з імпульсами 45 кВ/см протягом загальної тривалості 804 мкс; зменшення кількості клітин *Bacillus subtilis* на 3,4 log було отримано шляхом обробки пива при 49 °C з імпульсами 45 кВ/см протягом 402 мкс.

Що стосується смаку пива, пивоварні побоюються небажаного стороннього присмаку, який зазвичай називають «легким присмаком», який в основному викликається 3-метил-2-бутен-1-тіолом (МБТ) і легко виявляється в ароматі, коли він присутній вище порогу смаку. Формування такого характеру, описаного як «сканси», здебільшого спричинене деградацією ізо- α -кислот, присутніх у пиві під дією світла (350–500 нм), і це має негативний наслідок обмеження терміну придатності пива.

Ще одне багатообіцяюче застосування технології PEF пов'язане з розм'якшенням тканин і екстракцією широкого спектру сполук, що представляють інтерес для харчової промисловості, через широкий спектр матриць. Щодо пивоваріння, було оцінено здатність обробки PEF екстрагувати α -кислоти та β -кислоти (гумулони та лупулони), а також важливі ефірні олії (каріофілен, гумулен та β -мірцен) із гранул хмелю двох різних сортів хмелю (одного гіркого та один ароматний). Результати цього дослідження показали, що обробки PEF (1,5 кВ/см; 15 мкс і 1800 імпульсів) мали позитивний вплив на екстракцію α -кислот із гранул гіркого хмелю порівняно з екстракцією метанолом (контроль); швидкість вилучення цих кислот була збільшена на 20%, тоді як збільшення на 5,6 і 7,4% також було помічено в екстракції ефірних олій, таких як гумулен і каріофілен, відповідно. З іншого боку, обробка PEF не має помітного впливу на ароматичне різноманіття гранул хмелю. Ці результати свідчать про те, що технологія PEF має потенціал для вилучення α -кислот, β -кислот і ефірних олій, які можна використовувати для підвищення їх концентрації під час кип'ятіння суслу або скорочення часу обробки PEF в умовах пілотної установки перед її промисловим застосуванням. Крім того, пивоваріння генерує велику кількість побічних продуктів (тобто пивоварного відпрацьованого зерна (BSG), відпрацьованого хмелю та надлишку пивоварних дріжджів), які відомі своїм багатим хімічним і поживним складом з біоактивними властивостями. Різні дослідження, проведені кількома авторами, підкреслили внесок застосування технології PEF для відновлення широкого спектру цінних сполук, тобто фенольних сполук, білків, цукрів та інших сполук, присутніх у різних побічних продуктах пивоваріння. Такі дослідження підкреслюють, як технологія PEF може сприяти подоланню зростаючого дефіциту природних ресурсів і зростаючої нестабільності поводження з відходами, оскільки вона пропонує можливість повторного використання цих відходів більш ефективним способом, таким чином посилюючи циркулярну економіку пивоварної промисловості.

Загалом застосування технології PEF в пивоварній промисловості ще не налагоджено; однак його вважають перспективним на різних етапах процесу

пивоваріння. Пивовари визнають, що технологія PEF має великий потенціал для покращення смаку, гіркоти, каламутності та мікробіологічної стабільності пива, одночасно скорочуючи час обробки та витрати на виробництво. Кілька досліджень показали позитивний вплив технології PEF на якість пива, що може сприяти швидкому впровадженню в пивоварній промисловості в найближчі роки. Одним із основних недоліків додатків PEF все ще є відсутність добре стандартизованої інформації та конкретних протоколів щодо конкретної мети. Більшість описаних застосувань поєднують електричні поля в діапазоні від 20 до 40 кВ/см, загальний час обробки від 70 до 800 мкс і кількість імпульсів від 40 до 400. Крім того, результати PEF змінюються залежно від типу цільового мікроорганізму, середовища та складності і кількості розсіяного тепла, що ускладнює гармонізацію ефективних процедур.

3.8.2. Технології ультразвуку US

Технології ультразвуку трансформували харчову промисловість завдяки широкому застосуванню в різноманітних процесах, відносно низької вартості та стійкості. Ця нова технологія добре відома як «зелена та креативна» для операцій пастеризації та екстракції. Вона може використовувати відновлювану енергію, виробляти менше відходів і зменшувати використання води та розчинників. Під час цієї операції енергія передається певній рідині за допомогою поширення ультразвукових хвиль у діапазоні частот від 20 до 100 кГц протягом короткого періоду часу, який може досягати кількох хвилин. Ці хвилі чергують зони стиснення та розрідження, що призводить до створення та колапсу маленьких кавітаційних бульбашок. Вплив кавітації на стінки мікробних клітин лежить в основі мікробної інактивації, викликаной УЗ. Ці кавітаційні бульбашки створюють мікропотік і високі гідродинамічні напруги зсуву, які пошкоджують клітинні мембрани та, отже інактивують бактерії, цвіль і дріжджі, таким чином сприяючи передбачуваній безпеці харчових продуктів.

Зокрема, у пивоварній промисловості технологія ультразвуку викликала великий інтерес, враховуючи її багатообіцяючий вплив на переробку та збереження пива. Наприклад: збільшення виходу продукту; скорочення часу обробки; менші витрати на експлуатацію та обслуговування; поліпшення смаку, аромату і кольору; і знищення патогенів при більш низьких температурах. Крім того, ультразвукова технологія прискорює транспортування відпрацьованих матеріалів із клітин, а також кисню та поживних речовин, необхідних для росту клітин, що забезпечує швидший ріст мікробів і більш ефективне бродіння пива. В даний час ця інновація в основному використовується у виробництві пива в лабораторних масштабах для збільшення виходу пива на початку процесу затирання, прискорення бродіння та видалення запотівання пива перед розливом. Незважаючи на це, ще багато чого потрібно відкрити щодо використання цієї технології для пастеризації пива.

Ранні дослідження з 1994 року показали, що вплив ультразвуку на пиво з частотою 43 кГц зменшує час, необхідний для бродіння, на 64%. Крім того, методика США прискорила синтез складних ефірів і вищих спиртів і придушила збільшення загальної кислотності. Пізніше було задокументовано перше використання ультразвукової технології для пастеризації пива з метою інактивації аскоспор *Saccharomyces cerevisiae*. У цьому дослідженні пиво було піддано технології термічної пастеризації або термозвуку (TS) за допомогою ультразвуку, яка поєднує ефект тепла з ультразвуком. Згідно з дослідженням, обробка TS (з частотою 24 кГц і 161,6 Вт) може пастеризувати пиво до рівня 15 PU (одиниці пастеризації) (що відповідає 1,34 log-зниження) за 26,4 с на відміну від 37,7 хв, які використовуються лише для термічної обробки пива при 55 °C. Це було можливо лише з періодичною системою живлення США, оскільки безперервний TS викликав логарифмічне зниження на 0,2 і 1,0 при 0,0 і 4,8% об. відповідно, чого було недостатньо для пастеризації *S. cerevisiae* до необхідного мінімуму. Тим не менш результати показали, що при температурі від 50 до 55 °C пиво можна більш ефективно пастеризувати за допомогою TS незалежно від вмісту алкоголю. Крім того, було зроблено висновок, що при безперервній роботі

мінімальний час пастеризації для TS при 50 °C становив 3,0, 1,9 і 4,5 хв для пива з 0,0, 4,8 і 7,0% об. відповідно. Пізніше були проведені додаткові експерименти TS при 50, 55 і 60 °C (з використанням тих самих умов), і в цьому випадку лікування було успішним щодо інгібування аскоспор *S. cerevisiae*; зменшення спор на 2,5 log було легко досягнуто через 2,5 хвилини при 60 °C TS, тоді як 50 і 55 °C TS потрібно було більше 40 хвилин, щоб досягти того самого рівня інактивації. Цікаво, що було виявлено, що швидкість інактивації може бути знижена під час обробки, що вказує на те, що деякі аскоспори можуть розвинути стійкість до ультразвуку; незважаючи на це, УЗ виявився ефективним у інактивації патогенних мікроорганізмів.

Кілька досліджень показали, що загалом TS працює краще, ніж обробка ультразвуком без нагрівання та інші традиційні термічні обробки з точки зору інактивації мікробів. Однак важливо підкреслити, що надмірна обробка може змінити органолептичні властивості продукту. У цьому сенсі вивчено вплив TS на специфічні фізико-хімічні та сенсорні характеристики світлого пива, такі як рівень етанолу, вихідний екстракт, рН, колір і гіркоту. Окрім визначення, що обробка пива TS при 50 і 60 °C (частота 24 кГц і об'ємна потужність 2,7 Вт/мл протягом 2 хв) пригнічує ріст дріжджів і бактерій, що псують, протягом 12 місяців, вони також виявили помітне покращення кольору під час зберігання після обробки TS при 60 °C. Пиво, оброблене TS, показало помірне збільшення колоїдного помутніння та чутливості до білка. Пиво, оброблене при 50 °C, продемонструвало порівнянну стабільність смаку з необробленим зразком; однак при 60 °C обробка TS збільшила хімічні речовини, що надали ноти затхлості летючому профілю. Тому, застосовуючи TS до пива, необхідно враховувати вплив температури обробки на органолептичні та фізико-хімічні властивості продукту.

Існує два типи методів УЗД: пряме застосування за допомогою ультразвукового зонда/сонотрода та непряме застосування ультразвукової ванни. Непряме застосування пропонує кілька переваг. Наприклад, він дешевший, ніж ультразвукові зонди, і може використовуватися через контейнер

для зразків, дозволяючи герметично закрити зразок і запобігаючи забрудненню зразків і втраті летких речовин.

Досліджено вплив безперервної високоінтенсивної ультразвукової ванни (400 кГц з 120, 160 і 200 Вт вхідної потужності протягом 2, 6 і 12 годин) на початкове бродіння пива, звареного з шестирядного корейського ячменю. Тут було виявлено, що ультразвукова обробка дозволила прискорити процес пивоваріння та дозволити виробляти більше етанолу. Вища ультразвукова потужність і довший ультразвуковий період призвели до виробництва більшої кількості спирту, за винятком обробки 200 Вт, яка мала негативний вплив на життєздатність дріжджів. Зокрема, проміжні потужності (120 і 160 Вт) значно підвищили кінцевий вміст алкоголю на 13,18%. Зразок виробляв найбільше алкоголю під час обробки ультразвуком при 160 Вт протягом 12 годин. Окрім обробки 200 Вт, зразки, піддані УЗД, мали загалом прийнятні сенсорні якості; проте було виявлено певний прямий вплив на органолептичні характеристики пива, оскільки вони демонстрували сильніший смак карбонізації, аромат, відчуття у роті та післясмак, ніж молоде пиво.

Нарешті, у нещодавніх дослідженнях різні умови УЗД були протестовані шляхом застосування періодичної обробки з робочим циклом 6,67% і нижчою частотою 20 кГц. Бродіння глюкози в етанол проводили з використанням *Saccharomyces cerevisiae* з прямою та непрямою обробкою при різних інтенсивностях 23 Вт/л, 32 Вт/л та 1,4 Вт/л відповідно. Як пряме, так і непряме УЗД негативно вплинуло на продуктивність і життєздатність дріжджів, а також знизило швидкість поглинання глюкози та виробництво етанолу. Таким чином, ці результати показали, що застосування УЗ під час бродіння може бути інгібуючим і не очікується, що воно покращить обмеження масопередачі на застосованих рівнях і в умовах. Незважаючи на несприятливі висновки дослідження, попередні дослідження стверджували, що УЗД збільшує швидкість утворення етанолу під час ферментації глюкози *Saccharomyces cerevisiae*.

Результати огляду літератури підкреслюють, що існує очевидний зростаючий інтерес до технології УЗ в галузі харчової науки та технології через

її потенційно сприятливий вплив на обробку та збереження їжі. Зокрема, у пивоварній промисловості ця обробка може бути дуже вигідною, головним чином для прискорення процесу пивоваріння, виробництва більше етанолу або дегазації пива перед розливом. Крім того, вже було встановлено, що обробка ультразвуком забезпечує більш ефективну пастеризацію зі збільшенням виходу продукту та фізіологічної активності дріжджів і що при використанні TS швидкість знищення мікробів значно покращується. Крім того, TS може значно знизити інтенсивність, яка необхідна для досягнення мікробіологічної стабільності пива звичайними термічними обробками. Враховуючи всі ці багатообіцяючі переваги, техніка ультразвукової обробки повинна розглядатися в майбутньому як сильний кандидат для промислового застосування пива.

3.8.3. Технології високого тиску HPP

HPP – це унікальний метод обробки харчових продуктів високим тиском, досліджений і розроблений для отримання безпечних, свіжих і поживних продуктів без використання тепла або хімічних консервантів. HPP отримав визнання як життєздатна альтернатива термічній обробці для забезпечення безпеки та зменшення негативного впливу обробки на якісні характеристики. На відміну від термічної обробки, обробка HPP не погіршує якість їжі, а оскільки тиск миттєво та рівномірно розподіляється по всьому зразку, можна отримати продукти без надмірно оброблених ділянок.

Два загальні принципи мають прямий вплив на застосування HPP у харчовій промисловості. Перший заснований на ідеї, що, незалежно від розміру або форми продукту, харчові продукти, які піддаються HPP в посудині, дотримуються правила ізостатики. Це означає, що незалежно від того, чи зразок знаходиться в прямому контакті з середовищем під тиском, чи герметично запечатаний у гнучкій упаковці, тиск миттєво та рівномірно передається по всьому зразку. У результаті, на відміну від термічної обробки, час, необхідний для HPP, не повинен залежати від розміру вибірки. Другий стверджує, що

принцип Ле Шательє керує тим, як НРР впливає на харчову хімію та мікробіологію. Відповідно до цього принципу, коли стан рівноваги порушується, система реагує таким чином, щоб мінімізувати порушення. Тиск може прискорити кілька фізичних і хімічних подій, таких як хімічні реакції, фазові переходи та розташування молекул. НРР і гомогенізація високого тиску (НРН) є двома окремими методами, які підпадають під категорію НРР. З тиском від 100 до 600 МПа та часом від 3 до 30 хвилин НРР є періодичним процесом, заснованим на принципі Ле Шательє, який уже використовується в кількох галузях харчової промисловості. Попередньо упаковані продукти поміщаються в камеру тиску та стискаються протягом визначеного часу. НРН, також відомий як динамічний високий тиск (ДНР), є безперервним процесом, який краще підходить для рідин. Турбулентність, кавітація та сили зсуву виникають у рідині, коли вона проходить через невеликий отвір при високих тисках (до 1000 МПа) і швидкості потоку.

У пивоварній промисловості НРР може забезпечити численні переваги, такі як свіжість пива та збереження зовнішнього вигляду, висока поживна якість і високий вміст вітамінів. Тим не менш, були досліджені інші види застосувань, включаючи можливе використання як потенційної обробки для збереження нефільтрованого пива. Відповідно до результатів кількох проведених на даний момент досліджень, НРР не впливає на найважливіші критерії якості пива (рівень етанолу, рН, екстракт і гіркоту), і його можна ефективно використовувати як метод холодної пастеризації, забезпечуючи мікробіологічні стабілізація ідентична традиційній термічній пастеризації.

Термічна пастеризація все ще поширена як завершальний етап промислового виробництва пива; однак високий тиск десятиліттями досліджувався як потенційна альтернатива термічному підходу. Ранні дослідження виявили вплив НРР та пастеризації теплом на світлі та м'які елі. Після нагрівання протягом 10 хвилин при 60 °C зразки піддавали 600 МПа протягом 5 хвилин. Результати показали, що НРР і застосована термічна обробка не змінили колір або основні хімічні компоненти пива (були виявлені незначні

відмінності для рН, етанолу, екстракту, гіркоти, ізокислот і катехінів). Крім того, в обох оброблених зразках пива не було виявлено молочнокислих бактерій, а загальна кількість аеробних, дріжджових і цвілевих грибів зменшилася приблизно на чотири цикли $\log_{10}$. Мікробіологічні результати довели, що інактивація мікроорганізмів, спричинена як НРР, так і термічною обробкою, була еквівалентною. Протягом усього 49-денного періоду зберігання при 20 °С, термопастеризовані та НРР зразки не показали жодного помітного збільшення мікробіологічних показників, включаючи ріст молочнокислих бактерій. Відфільтроване світле пиво, оброблене НРР (350 МПа протягом 3 і 5 хвилин при 20 °С) або пастеризоване звичайним нагріванням (60 °С протягом 15 хвилин) протягом періоду зберігання 56 днів, продемонструвало мікробіологічну стабільність, і придушення молочнокислих і оцтовокислих бактерій. Крім того, наприкінці періоду зберігання зразки, оброблені НРР, також показали більші показники холодного помутніння та меншу гіркоту, ніж зразки, пастеризовані теплом.

Інші дослідження також повідомляли про ефективність цієї обробки при розгляді питання про інактивацію мікробів. Наприклад, було продемонстровано, що НРР призвів до більшої інактивації аскоспор *Saccharomyces cerevisiae* за менший час обробки, ніж звичайні термічні методи, і що він також потребував менше енергії для досягнення 2,5 логарифмічного зменшення аскоспор *S. cerevisiae*. НРР демонструє потенціал для використання як метод пастеризації та заміни традиційної термічної обробки. Вважається, що дія денатурації нуклеїнових кислот і білків, яка призводить до незворотних змін у формі клітин дріжджів і бактерій і врешті-решт до загибелі, забезпечує необхідну мікробіологічну стабільність НРР.

Щодо впливу НРР на якісні характеристики пива, було проаналізовано непастеризоване світле пиво, яке було піддано НРР (200, 250, 300 і 350 МПа протягом 3 і 5 хвилин при 20 °С) або традиційній термічній пастеризації (60 °С протягом 15 хвилин). Виявлено, що такі важливі характеристики пива, як вміст етанолу, щільність, екстракт, рівень бродіння та рН, не змінювалися жодною з

обробок; однак із збільшенням тиску та тривалості тиску спостерігався певний вплив на колір, холодний туман, чутливість до білка та гіркоту. Хоча тиск до 300 МПа не мав помітного впливу на гіркоту, цікаво відзначити, що варіації гіркоти були найбільшими під час традиційної теплової пастеризації. Окреме дослідження також продемонструвало ефективність технології НРР для пастеризації пива, в основному за допомогою процесу НРР при 600 МПа протягом 5 с, що призвело до семилогарифмічного зменшення аскоспор *S. cerevisiae*. Було встановлено як вміст спирту впливає на зменшення аскоспор дріжджів і виявлено, що загальний смак після НРР і необробленого світлого і елю пива помітно не змінився.

Обробка НРР може впливати на інші етапи процесу пивоваріння. Високий тиск може посилювати хімічні реакції, змінювати доступність молекул і впливати на фазові переходи. Як наслідок, НРР було використано в процесі солододорощення для повторення процесу, який має на меті забезпечити вологість, необхідну для зерна ячменю. Для цього до суміші ячменю і води протягом 20 хв застосовували тиск 40, 60, 100, 200 і 400 МПа. Результати при 400 МПа були порівнянні з результатами, отриманими з контрольним зразком (насіння ячменю регулярно мацерували при температурі навколишнього середовища), який показав збільшення вологи в ячмені з 12% до 20%. Життєздатність обробленого зерна також досліджували, і було виявлено, що ні перекис водню, ні методи фарбування не мали негативного впливу на зерно.

НРР може бути особливо корисним під час процесу затирання, оскільки він впливає на селективність α - і β -амілаз, які є ферментами, відповідальними за загальне розщеплення крохмалю, що призводить до активації/інактивації залежно від рівня тиску. Численні дослідження показали, що застосування високого тиску як для α -, так і для β -амілаз підвищує їх гідролітичну активність. Поведінку α -амілази в пивному суслі, обробленому під високим тиском, досліджували за умови встановлення взаємозв'язку між активністю ферментів і НРР. Виявлено, що ферменти можуть бути денатуровані за допомогою тиску навіть при кімнатній температурі, але тиск і температура мають антагоністичний

ефект до 200 МПа і синергетичний ефект вище цього значення. Завдяки синергії між НРР і температурою було помічено, що конверсія субстрату при 152 МПа і 64°C була на 25% вищою порівняно з температурами обробки 59°C при атмосферному тиску. Крім того, присутність іонів кальцію (3,8 мМ CaCl_2) і рН 6,1 може додатково підвищити стійкість α -амілази до температури та тиску. Оскільки α -амілаза є кальційзалежним металоферментом, було висунуто гіпотезу, що в присутності кальцію відбуватиметься більш висока активність ферменту. Також виявлено значну стабілізацію ферменту при 200 МПа порівняно з термоденатурацією щодо β -амілази ячмінного солоду. Однак для всіх досліджуваних температур (від 20 до 70°C) підвищений тиск заважав каталітичній активності цього ферменту. Оптимальні умови, тобто 106 МПа, 63°C і рН 5,6, призвели до підвищення активності, що призвело до 15% покращення виходу конверсії мальтози. Виробництво зброджуваного цукру та його зв'язок із прикладним тиском були об'єктами послідовних досліджень. Застосовуючи тиск вище атмосферного до англійського суслу Pale Ale встановлено, що оцукрювання було вищим. Крім того, ідеальна ситуація була знайдена при 2 МПа, але оцукрювання зменшувалося, коли прикладений тиск коливався від 50 до 100 МПа. Крім того, нижчий тиск призводив до застосування дешевшого обладнання або зменшував рівень амортизації обладнання, що робить НРР менш життєздатним для цього застосування. Було помічено, що 67°C (при 2 МПа) була ідеальною температурою для сприяння виробництву зброджуваних цукрів. Існує значний рівень інтересу до підвищення активності та стабільності ферментів для підвищення ефективності та промислового застосування, оскільки вони, як правило, нестабільні у своїх природних умовах і мають більші пов'язані витрати порівняно з хімічними реакціями. Хоча деякі ферменти демонструють стабільність під тиском, вони також можуть втрачати свою функціональність.

Кип'ятіння суслу визначає ізомеризацію α -кислот, що є критичним етапом, який надає пиву гіркий смак. Оцінюючи вплив НРР на пивне сусло, було виявлено, що ізомеризація була вищою при 700 МПа та більш ефективною при

30-хвилинній обробці, ніж при 5-хвилинній обробці. Через відсутність перемішування та коротший час обробки зразки, оброблені НРР, мали нижчі значення ізомеризації, ніж зразки, оброблені термічно. Зразки суслу, оброблені при 200, 400 і 600 МПа протягом 20 хв, продемонстрували нижчу ізомеризацію порівняно з вареними зразками. Крім того, досліджено вплив обробки при 600 МПа протягом 30 хвилин, оцінюючи ізомеризацію за допомогою високоефективної рідинної хроматографії, яка підтвердила утворення молекул, подібних ізо- α -кислотам, але відмінних від сполук, отриманих термічною обробкою. Ці дослідження продемонстрували необхідність температури для підвищення гіркоти під час процесу кип'ятіння, що вказує на можливість поєднання температури та НРР для досягнення бажаної ізомеризації α -кислот. Кип'ятіння суслу також призводить до швидкого випаровування небажаних летючих компонентів, таких як диметилсульфід, з виробленого пива. Як наслідок, ідентичні значення диметилсульфіду спостерігалися в необроблених і оброблених НРР зразках, що було подібно до випадку хмелем, але кип'ятінні зразки показали знижену кількість цієї сполуки. Комбінований метод також був би більш ефективним у цій ситуації для отримання бажаного результату летючого профілю. Крім того, під час кип'ятіння утворюються фарбувальні компоненти суслу. Було б цікаво поєднати НРР і температуру для отримання бажаного кольору. Було досліджено вплив НРР на колір суслу, яке піддавалося 200, 400 і 600 МПа протягом 20 хвилин, і зроблено висновок, що колір був на 25% менш інтенсивним, ніж той, що спостерігався у термооброблених зразках. Ймовірно, це тому, що НРР не забезпечує необхідних умов для виникнення реакції Майяра.

Фільтрація є важливим етапом у процесі пивоваріння, оскільки вона може вплинути на зовнішній вигляд, смак і термін зберігання пива. Ця операція відповідає за видалення осаду, дріжджів та інших бактерій з пива, таким чином запобігаючи забрудненню пива. Крім того, це запобігає тому, що пиво стане несмачним і туманним. У процесі пивоваріння присутність β -глюканів може збільшити в'язкість суслу та пива, що призводить до проблем з фільтрацією.

Проаналізовано два зразки пива, один з яких містить високомолекулярні білки, поліфеноли та β -глюкани, які можуть погіршити фільтрацію, а інший без них, щоб зробити висновок, чи може високий тиск впливати на речовини, видалені з пива під час фільтрації. Обробка при 300 МПа покращила їх здатність до фільтрації (з використанням целюлозного фільтра), що призвело до 50% скорочення часу фільтрації. Використання фільтра з діатомової землі також показало значне покращення. Тим не менш, при 500 МПа було показано кращий ефект. Цей факт стає ще більш примітним, оскільки утилізація відходів є обмеженням процесів фільтрації; отже, якщо збільшена здатність до фільтрації, утворюється менше відходів. Концентрації поліфенолів, антоціаногенних речовин, білкових фракцій і β -глюканів також були додатково досліджені. Виявлено знижені значення лише для β -глюканів після обробки НРР, коли вони були нижче межі визначення техніки, 10 мг/л, після обробки від 300 до 500 МПа.

Молекули β -глюкану стають розчинними при тиску понад 300 МПа, оскільки слабші сили Ван-дер-Ваальса можуть бути зруйновані. Крім того, різні концентрації β -глюкану призвели до зниження в'язкості пива, особливо при 500 МПа. Як наслідок, щодо фільтрації пива, оскільки основною проблемою, яка досліджується, є наявність β -глюканів, і оскільки β -глюканази можуть активуватися під тиском, обробка пива НРР під час етапу затирання може допомогти вирішити проблему. Це призведе до зниження концентрації цієї сполуки в кінцевому продукті.

Нарешті виявлено, що для підвищення вмісту ксантогумолу в пивному суслі можна використовувати високий гідростатичний тиск. Ізоксантогумол (IXN), ізомерний флаванон ксантогумолу (XN), екстрагований із хмелю під час кип'ятіння суслу, демонструє значну біологічну активність як функціональна молекула завдяки своїм антикарієсним, антиоксидантним, протизапальним та протиінфекційним властивостям. Пиво, оброблене НРР (250 МПа протягом 5 хв), мало більшу кількість XN, ніж пиво, оброблене виключно кип'ятінням. Таким чином, можна зробити висновок, що цей метод може бути використаний для

створення ХН-збагаченого пива з покращеними властивостями, що зміцнюють здоров'я.

3.8.4. Омичний нагрів

Омичний нагрів (ОН) є ще одним прикладом нової технології безперервної термічної обробки харчових продуктів, яка в даний час отримує більше уваги з боку наукового співтовариства та промислового сектора. Цю технологію часто називають «Джоулевим нагріванням», оскільки в 1841 році Джеймс Прескотт Джоуль виявив, що тепло, яке утворюється внаслідок потоку електричного струму, прямо пропорційно опору дроту, помноженому на один квадрат електричного струму. Ом (Ω) використовується для вимірювання електричного опору. Зараз ця технологія комерційно відома як «омичний» нагрів, оскільки залежить від електричного опору напівпровідникового матеріалу. Однак розсіювання тепла завжди є супутнім ефектом застосування електричного поля. У зв'язку з цим цю технологію також можна назвати помірним електричним полем.

Основи ОН є відносно простими. Принцип ОН полягає в утворенні тепла шляхом проходження змінного електричного струму через електрично резистивний матеріал, наприклад харчову систему з рідких частинок. На обох кінцях корпусу продукту до електродів подається напруга. Електропровідність і квадрат напруженості електричного поля визначають швидкість нагрівання. Регулювання відстані між електродами або прикладеної напруги змінить інтенсивність прикладеного електричного поля. Однак електропровідність продукту та його чутливість до температури є найважливішими факторами. У багатофазному продукті, наприклад у випадку суміші рідини та частинок, необхідно враховувати електропровідність усіх стадій. ОН можна використовувати для розігрівання їжі з електропровідністю в діапазоні від 0,01 до 10 См/м. Електропровідність сула та пива буде різною; це дуже залежить від мінерального складу води, а також від загальної концентрації розчиненої

речовини. Згідно з опублікованою літературою, пиво має електропровідність вище 0,1 См/м при 25 °С, що ідеально підходить для застосування технології ОН.

Завдяки можливості сприяти швидкому та рівномірному нагріванню продукту, використання ОН має значні переваги перед звичайними методами обробки напоїв. До переваг ОН можна віднести швидке рівномірне нагрівання, при цьому він може забезпечити одночасний нагрів твердої і рідкої фаз. Ця технологія може нагрівати їжу з високою в'язкістю, комбінації рідини–частинки та харчові частинки, і нею легко керувати завдяки системі миттєвого ввімкнення та вимкнення (немає залишкового тепла після вимкнення системи). Крім того, ОН має високу енергоефективність, оскільки близько 95% електричної енергії, що використовується в цьому процесі, перетворюється на тепло. Враховуючи, що ОН дозволяє прямий спосіб нагрівання – тепло розсіюється всередині зразка – немає потреби виробляти тепло (немає потреби в котлах) і передавати його, таким чином зменшуючи споживання води та втрати тепла. Оскільки немає гарячих поверхонь, ОН зменшує ймовірність забруднення, а ймовірність пригорання їжі також мінімізується. Однак слід використовувати високі частоти (>17 кГц), щоб уникнути корозії електродів і електролізу, які можуть сприяти появі білкових відкладень. Це зменшує витрати на очищення, що, відповідно, скорочує час обробки. Крім того, ОН вважається екологічно стійкою системою через її високу енергетичну ефективність, можливість використання відновлюваних джерел енергії (тобто фотоелектричної) та зменшення споживання води. Тим не менш деякі недоліки залишаються, такі як відсутність узагальнених знань для певних застосувань і дорогі інвестиційні витрати.

З точки зору його застосування в харчовій промисловості, використання ОН в харчовій промисловості стало в основному відомим завдяки електропастеризації молока в минулому столітті. В даний час ця технологія також промислово впроваджується для томатних продуктів, рідких яєць, соусів, тофу та обробки соку. Однак, згідно з оглядом літератури, немає жодних досліджень щодо застосування ОН до пива чи пивного сусла для пивоваріння. Тим не менш, потенціал технології ОН для проведення мікробної інактивації,

ферментації, екстракції, безперервної стерилізації та пастеризації харчових продуктів і напоїв висвітлюється в літературі. Потрібні додаткові дослідження впливу технології ОН на різних термічних етапах пивоваріння (таких як кип'ятіння та пастеризація), щоб повністю зрозуміти потенціал, який така технологія має для впровадження на великих пивоварнях. Технологія ОН була запропонована різними авторами як ефективний спосіб впливу на активність харчових ферментів на різних етапах обробки їжі. У сфері пивоваріння слід розглянути дослідження ефекту обробки ОН на стадії затирання, де задіяно кілька гідролітичних ферментів (наприклад, амілаз, пептидаз, глюканаз тощо), з метою розкриття впливу цієї технології на такі ферменти і, як наслідок, на якість і переробку пива.

Вже відомо, що на всьому етапі варіння сусла в процесі пивоваріння пивне сусло піддається високому тепловому навантаженню. Повідомляється, що висока температура обробки та час, необхідні для традиційного кип'ятіння сусла, спричиняють накопичення проміжних продуктів Майяра, що може призвести до розвитку небажаних присмаків під час витримки пива. Крім того, теплові ефекти кип'ятіння сусла вважаються одним із основних факторів, що призводять до деградації функціональних сполук, присутніх у пивному суслі, головним чином поліфенолів, витягнутих із солоду та хмелю, які відіграють вирішальну роль у антиоксидантній активності пива. Враховуючи ці події, слід провести дослідження, пов'язані з технологією ОН та її впливом на кип'ятіння сусла, щоб визначити, чи має ця техніка потенціал для зменшення як утворення проміжних продуктів Майяра, так і деградації поліфенольних біологічно активних сполук шляхом зменшення теплового навантаження, що застосовується до пива. сусло. Цю гіпотезу слід активно розглядати, враховуючи переважну кількість доказів, знайдених у літературі, що повідомляють про дуже високу енергоефективність та швидкість нагрівання, а також рівномірний розподіл тепла та відсутність гарячих поверхонь у системах, де застосована технологія ОН.

Харчові продукти часто пастеризують з використанням ОН, у результаті чого отримують харчові продукти високої якості, як повідомляється в кількох

дослідженнях, проведених з різними типами молока. У пивоварній промисловості термічна обробка в тунельних пастеризаторах або пластинчастих теплообмінниках часто використовується для продовження терміну зберігання пива. Замість використання звичайних методів обробки їжі можна використовувати ОН, оскільки він рівномірно та швидко розподіляє тепло по всьому продукту. ОН забезпечує краще збереження сенсорних якостей їжі, подовжуючи термін її зберігання без шкоди для якості аромату свіжого продукту. Наявність помірних електричних полів під час обробки також сприяє посиленій мікробіологічній інактивації, що означає, що немає необхідності досягати високих температур, щоб знизити мікробіологічну небезпеку до певного рівня. Враховуючи позитивні ефекти, про які повідомляється завдяки застосуванню технології ОН в різних харчових продуктах, очікується, що обробка пива ОН також може дати сприятливі та багатообіцяючі результати для її поширення в пивоварній промисловості. Систему ОН для безперервної обробки пива можна просто інтегрувати в існуючі технологічні лінії, забезпечивши присутність реактора, в якому електроди розташовані для встановлення контакту з метою застосування електричного поля, таким чином визначаючи секції нагріву під час потоку пива.

У цьому розділі розглянуто потенціал використання інноваційних технологій обробки, а саме PEF, US, TS, HPP та ОН, у процесі пивоваріння. Технологію PEF можна використовувати для безперервної холодної пастеризації пива та підтримки вилучення цікавих сполук із пивоварної сировини без шкоди для сенсорного профілю продукту. Крім того, потенціал екстракції цієї технології поширюється на побічні продукти пивоваріння, що робить їх економічно привабливими та сприяє створенню циклічної економіки в харчовій промисловості. Технології US і TS демонструють широкий спектр зручних функцій для пивоваріння, таких як прискорення процесу, більш ефективне виробництво етанолу під час бродіння та дегазація пива перед розливом, а також зберігають органолептичні властивості пива. HPP є ще однією технологією, яку можна вважати перспективною для переробки пива, враховуючи її ефективність

у знищенні мікроорганізмів. НРР не використовує тепло (або, принаймні, зменшує його потребу), і зберігає оригінальні характеристики напою. Нарешті, відомо, що технологія ОН, незважаючи на те, що про неї не повідомлялося в літературі для пивоваріння, сприяє вищій ефективності нагрівання, модулює активність ферментів та інактивує шкідливі мікроорганізми. ОН привертає увагу до процесів пивоваріння, і найближчим часом будуть розроблені більш фундаментальні та прикладні дослідження.

Загалом, ці інноваційні технології обробки ще не знайшли широкого застосування в процесі пивоваріння. Цей огляд надає надійну базу доказів, які підкреслюють переваги застосування таких технологій у виробництві пива, зокрема для мікробіологічної інактивації. Ці технології також мають потенціал для покращення сенсорних характеристик пива, а також його харчової цінності, функціональності та терміну придатності, а також вони мають потенціал для скорочення витрат і часу обробки. Ці передумови, разом із можливістю інтеграції нових технологій у безперервне виробництво пива, становлять значну можливість для прогресу та розвитку промислового пивоварного сектору.

Питання для самоконтролю

1. У чому полягають нові інноваційні тенденції при виробництві пива?
2. Які дії потрібно запровадити для забезпечення екологічно чистого виробництва пива?
3. Що таке крафтове пиво та крафтова пивоварня?
4. Яку сировину слід застосовувати для виробництва якісного пива?
5. У чому полягають етапи бродіння у виробництві пива?
6. Чи корисно пиво для людського здоров'я?
7. Які продукти бродіння забезпечують антиоксидантні властивості пива?
8. Яку роль відіграє мелатонін у складі пива?
9. У чому полягає метод охмеління у виробництві пива?
10. З якою метою запроваджують так сировину як хміль у виробництві пива?
11. Чи залежить якість пива від ферментуючих дріжджів, якими вони бувають?

12. Як присутність деревини впливає на якість пива?
13. Які інноваційні заходи застосовують на стадії бродіння пива?
14. Як імпульсні електричні поля впливають на якість бродіння пива?
15. Яку роль відіграє застосування ультразвуку у виробництві пива?
16. Які переваги має застосування технології обробки пива високим тиском у порівнянні з традиційним виробництвом?
17. З якою метою застосовують омичний нагрів у виробництві пива?

Рекомендована навчальна література

1. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
2. Пивоваріння. Терміни та визначення понять. На заміну ДСТУ 3139-95; Чинний від 2015-11-01. Київ: УкрНДНЦ, 2015. III, 27 с. (Національний стандарт України). Бібліогр.: 26 с.
3. Гуменюк О.Л. Технологія бродильних виробництв: тексти лекцій для студентів спеціальності 181 «Харчові технології» заочної форми навчання. Чернігів: НУЧП, 2020. 143 с.
4. Мелетьєв А.Є., Тодосійчук С.Р., Кошова В.М. Технохімічний контроль виробництва солоду, пива і безалкогольних. Вінниця: Нова Книга, 2007. 392 с.
5. Мелетьєв А. Є. Технологія продуктів бродіння і напоїв : укр.-рос. тлумач. слов. Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2011.192 с.
6. Bamforth C. W. Beer: tap into the art and science of brewing. Oxford University Press, 2023.
7. Garavaglia C., Swinnen J. Economic perspectives on craft beer: A revolution in the global beer industry. Springer, 2017.
8. Stanbury P. F., Allan Whitaker, and Stephen J. Hall. Principles of fermentation technology. Elsevier, 2013.

Розділ 4. ФЕРМЕНТАЦІЯ ВИНА: НОВІ ПІДХОДИ ДО ТРАДИЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ

Процес бродіння вина здійснювався протягом тисячоліть без втручання людини, окрім збору винограду, механічних процесів для отримання сусла та покладаючись на належний розвиток процесу для отримання вина прийнятної якості. За останнє століття технологія значно просунулася вперед, як щодо знань про метаболічні процеси, що розвиваються дріжджами, так і щодо технології виноробства. Існування все більш вимогливих споживачів, які прагнуть відкривати для себе нові вина, спонукало до впровадження нових технологій та їхнього вдосконалення на виноробнях. У цьому розділі розглянуто деякі з останніх інновацій, які привнесено у світ вина з різних аспектів його виробництва. Споживачі все частіше вимагають вин перевіреної якості, як з точки зору органолептичних характеристик, таких як аромат, смак і смакові відчуття, так і хімічного складу. Використання таких методів, як газова хромато-мас-спектрометрія (ГХ-МС) і рідинна хромато-мас-спектрометрія (РХ-МС), прискорило дослідження метаболічного профілю вин. Дані, створені цими аналітичними платформами, є складними, що вимагає використання статистичних методологій, здатних обробляти та аналізувати отриману інформацію.

4.1. *Saccharomyces Cerevisiae* не є єдиним мікроорганізмом у ферментації вина

У минулому *Saccharomyces* spp. дріжджі були чи не єдиним варіантом для використання в сучасному виноробстві завдяки їхній неперевершеній здатності перетворювати весь цукор виноградного соку в етанол. З цієї причини ще кілька років тому всі комерційні сухі дріжджі були *Saccharomyces* spp. На кілька років несахароміцети були забуті на промисловому рівні, а деякі з них навіть вважалися мікроорганізмами-псувачами. Несахароміцети відігравали значну роль лише в

обмеженому виробництві, яке здійснювало спонтанне бродіння після органічних процесів. Однак за останнє десятиліття кілька дослідників довели, що численні несахароміцети *здатні* покращувати якість вина та вирішувати деякі сучасні проблеми енології.

Енологія – наука та вчення про всі аспекти вина і виноробства, за винятком вирощування винограду, яке називається виноградарством.

Деякі з факторів, які можна покращити, це кислотність, ароматична складність, вміст гліцерину, зменшення концентрації етанолу, монопротеїнів, антоціанів і полісахаридів. Вони також можуть знизити концентрацію небажаних сполук, які впливають на безпечність харчових продуктів, таких як охратоксин А, етилкарбамат і біогенні аміни. Завдяки всім цим науковим досягненням основні виробники щойно почали комерціалізувати сухі несахароміцети, такі як *Torulaspora delbrueckii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Lachancea thermotolerans* і *Pichia kluyveri*. Інші види, що не належать до *Saccharomyces*, з особливими енологічними здібностями, такі як *Candida zemplinina*, *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora vineae*, *Hanseniaspora uvarum*, *Candida stellata*, *Kazachstania aerobia* або *Schizosaccharomyces japonicus*, можуть слідувати подібному прогресу. Мета розділу – показати основні можливості та переваги цих несахароміцетів у сучасному виноробстві.

У сучасному традиційному виноробстві *Saccharomyces cerevisiae* вважається основним видом, який використовується для виробництва якісних вин. Випадки невідібраних дріжджів *Saccharomyces* або не-*Saccharomyces* умовно-патогенних дріжджів під час бродіння зазвичай були пов'язані з побічними присмаками, такими як високий рівень оцтової кислоти, етилфенолів і великий вміст вищих спиртів. З іншого боку, в даний час вчені та винороби почали вірити в корисний вплив деяких несахароміцетів у виноробстві в таких питаннях, як складність аромату.

Основною проблемою використання несахароміцетів у енології є їх неефективність для належного завершення спиртового бродіння. Таким чином, у

більшості випадків комбіноване використання штамів *Saccharomyces cerevisiae* потрібне під час спиртового бродіння, щоб забезпечити належне завершення бродіння без будь-якого залишкового цукру на промисловому рівні. Виробництво чудових метаболітів не *Saccharomyces* у більших кількостях, ніж *S. cerevisiae*, таких як гліцерин, піровиноградна кислота та манопротеїни, пробудило особливий інтерес протягом останніх кількох років. Краща ефективність ферментативної діяльності несахароміцетів, таких як глікозидаза або β -ліаза є відносно новим питанням у сучасній енології. Використання не *Saccharomyces* також виглядає єдиним мікробіологічним способом виготовлення вин із меншим вмістом алкоголю в теплих регіонах.

Окремі дослідження проаналізували використання та вплив різних видів, що не належать до *Saccharomyces*, на якість вина. Деякі з цих видів дріжджів: *Kloeckera apiculata*, *Hanseniaspora uvarum*, *Hanseniaspora vineae*, *Torulospira delbrueckii*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Starmerella bacillaris*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Pichia guilliermondii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Lachancea thermotolerans* та *Hansenula anomala*.

Шанс змінити смак і елегантність ферментованих напоїв за допомогою різних методологій бродіння підвищує обізнаність у дослідженні найбільш уявних сумішей не-*Saccharomyces* і *Saccharomyces*. Що стосується цього питання, більшість наукових випробувань проводили бродіння зі штамами, відмінними від *Saccharomyces*, окремо, зі змішаним бродінням (синхронізованим) і послідовним посівом, порівнюючи їх із спиртовим бродінням, яке виконує *S. cerevisiae* самостійно. Більшість досліджень вважають послідовне щеплення найкращим варіантом у виноробстві.

Серед родів дріжджів, які не містять *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces* традиційно використовувалися для зниження кислотності у винах з високим вмістом яблучної кислоти. Цей факт пов'язаний з його унікальною здатністю перетворювати L-яблучну кислоту в етанол. Тим не менш, нові способи використання цих видів *Schizosaccharomyces*, пов'язані з різними здібностями, нажал, не настільки добре вивчені, тому до останніх кількох років, були

розроблені лише декілька видів дріжджів для підвищення якості вина та безпеки харчових продуктів. Сьогодні зусилля спрямовані на отримання нових штамів з ферментативною активністю, що забезпечує поліпшення аромату вин.

4.2. Генетична модифікація дріжджів і виноградної лози

Великий прогрес у виробництві вина зосереджується на величезних можливостях, які пропонує біотехнологія, зосереджена на генетичній модифікації як виноградної лози, так і мікроорганізмів, які втручаються у виробництво вина, головним чином дріжджів, а також молочнокислих бактерій. Технологічні можливості випереджають ринок, оскільки в даний час є досягнення, які дозволяють одночасне спиртове та яблучно-молочне бродіння. Інокуляція молочнокислих бактерій спільно з дріжджовими заквасками є перспективною системою підвищення якості та безпеки вина. Проте існують численні правові обмеження, як у випадку Європи, а також небажання деяких споживачів, які вирішили не споживати продукти, виготовлені повністю або частково з використанням генетичних маніпуляцій. У США та Австралії це не є проблемою, як і маркетинг цих вин в інших регіонах світу.

4.3. Мікрооксигенація

Ще одним досягненням у виноробстві є оксигенація.

Мікрооксигенація, вона ж **мікробульаж** – виноробний прийом, розроблений у 1990-х і полягає у «продуванні» виноматеріалу мікродозами чітко відміреної кількості кисню. Особливо корисний для пом'якшення агресивних танінів червоних вин.

У процесі виробництва вина є два етапи, де це особливо важливо — бродіння та витримка. Оксигенація нерозривно пов'язана з фенольними сполуками, що безпосередньо впливає на якість вина. Серед поліфенолів

антоціани та таніни сприяють органолептичним характеристикам вина, покращуючи як колір, так і терпкість. Оскільки феноли, екстраговані з винограду, змінюються поступово внаслідок біохімічних реакцій, що сприяє зниженню терпкості та стабілізації кольору, для покращення якості вина було запропоновано додавати невелику кількість кисню. Цей процес, званий мікрооксигенацією, прискорює перетворення фенолів. Кінцевою метою є отримання продуктів з більшим кольором і меншою терпкістю.

4.4. Виробництво слабоалкогольних вин

Помірне вживання вина корисно для здоров'я, але при надмірному вживанні етанол є цитотоксичним і викликає проблеми зі здоров'ям. Отримання вина з меншим вмістом алкоголю, зниження ризиків, пов'язаних із його споживанням, але дозволяючи споживачам зберегти свій спосіб життя, є одним із найбільш бажаних досягнень у енології. Існують методи виноградарства, як до, так і після самого бродіння, метою яких є виробництво вина з низьким вмістом алкоголю.

Існують різні методи як у виноградарстві, так і у виноробстві, кінцевою метою яких є зниження вмісту алкоголю в кінцевому вині. Виноградарство спрямоване на зменшення площі поверхні листя, тим самим зменшуючи накопичення цукру в ягодах. У процесі вініфікації можна змішувати виноградне сусло з високою концентрацією цукру з іншим суслом з низьким вмістом цукру. Також можна додавати ферменти, такі як глюкозооксидаза, отримана з гриба *Aspergillus niger*, яка каталізує перетворення глюкози в глюконову кислоту та перекис водню та знижує концентрацію етанолу в отриманому вині на 0,7% об. На технологічному рівні конструкція ферментера також використовується для контролю як температури аерації, так і температури бродіння. На мікробіологічному рівні було вирішено використовувати штами дріжджів, які виробляють нижчу концентрацію етанолу. Після завершення бродіння можна вжити заходів для фізичного видалення алкоголю з вина. Інженерні варіанти для точного зниження вмісту цукру в соку та концентрації алкоголю у вині

включають мембранні системи (такі як зворотний осмос), вакуумну дистиляцію та ротаційну конусну дистиляцію.

4.5. Інші види бродіння у виноробстві

Яблучно-молочне бродіння

Розвиток яблучно-молочного бродіння, біоконверсія L-яблучної кислоти в L-молочну кислоту, є складним і тривалим процесом, який не завжди протікає сприятливо в природних умовах вина. Замість дріжджів ключову роль у яблучно-молочному бродінні відіграють бактерії, перевага яких полягає в тому, що вони знижують кислотність і роблять смак вина м'якшим. Залежно від типу вина, який винороб збирається виробляти, яблучно-молочне бродіння може відбуватися одночасно з дріжджовим. Крім того, можна розробити деякі штами дріжджів, які можуть перетворювати L-малат на L-лактат під час спиртового бродіння.

Пляшкове бродіння

Коли ми говоримо про бродіння у вині, ми зазвичай маємо на увазі спиртове бродіння, яке здійснюється дріжджами у великих посудинах, виготовлених з різних матеріалів, але цей загальний термін охоплює інші процеси, які також мають те саме найменування. Так, наприклад, ми знаходимо бродіння в пляшці. Це типовий процес, пов'язаний з виробництвом ігристого вина, який розпочався в регіоні Шампань і поширився на інші регіони світу. Після першого бродіння, проведеного дріжджами, вино розливають у пляшки де відбувається друге бродіння, під час якого до вина додають цукор і додаткові дріжджі, відомі як ***тиражний лікер***. Це друге бродіння виробляє характерні бульбашки вуглекислого газу, які ідентифікують ігристе вино.

Вугільна мацерація

Цей процес характеризується індукцією бродіння всередині винограду без додавання зовнішніх дріжджів.

Вугільна мацерація – це техніка виноробства, яка складається з трьох етапів. У першому випадку цілий виноград поміщають у баки, наповнені вуглекислим газом, щоб створити безкисневу атмосферу, що призводить до спиртового бродіння всередині ягід.

Виробництво вина Божоле, яке полягає в зберіганні цілих грона винограду в закритій ємності, в якій кисень замінюється вуглекислим газом, є прикладом цього процесу. У цьому процесі ферменти всередині винограду розщеплюють клітинну речовину з утворенням етанолу та інших хімічних речовин. Вина, виготовлені за допомогою вуглекислотної мацерації, демонстрували вищу ароматичну якість завдяки вищому загальному вмісту складних ефірів і ацетатів, а також більшу інтенсивність кольору завдяки вищому вмісту фенолів і вищим рівням іонізації та полімеризації. Крім того, було помічено, що антиоксидантна активність, вміст у кумароїлових похідних антоціанів і вітізінів А і В були значно вищими у винах, виготовлених за допомогою вуглекислої мацерації.

4.6. Ємності для бродіння

Дозрівання вина вимагає використання бочок, придатних для кожного виду вина. Традиційно критерії вибору типу деревини, місця, де дерева були зрубані, або навіть типу деревини вважалися важливими для визначення кінцевих ароматів. Ці рішення стають все більш науково обґрунтованими, і тепер саме наукові дані є основою прийняття рішень. Vicard, французький кооператив, аналізує таніни за допомогою ближньої інфрачервоної спектроскопії, щоб підвищити консистенцію та зменшити кількість бочок, які винороби повинні розсекретити. Нові технології також вступили в дію. На ринку вже є пропозиції щодо створення посудин за допомогою 3D-принтерів, які претендують на заміну глиняним посудинам. Наполовину витримані гібридні бочки з дубовими головками та корпусами з нержавіючої сталі забезпечують правильне поєднання

смаків і насиченості киснем для підвищення якості, отриманої з використанням традиційних бочок.

4.7. Перетворення відходів вина на паливо

Інновації у світі вина йдуть ще далі, і сьогоденні тенденції є екологічними. Виноробні намагаються використовувати відходи пресованого винограду для створення альтернативних видів палива. Як і у випадку з виробництвом біопалива з інших сільськогосподарських відходів, створення біопалива з виноградних залишків базується на використанні мікроорганізмів для розщеплення цукрів на воду та водень. Потім водень перетворюється в енергію.

Було представлено новий двостадійний процес виробництва водню зі стічних вод, який включав попередню обробку темним бродінням з наступним процесом фотоферментації для отримання біоводню. Анаеробне темне бродіння вперше було застосовано з використанням культур активного мулу для розкладання фенольних сполук, після чого *Rhodobacter sphaeroides* використовувався анаеробно для виробництва біоводню.

4.8. Ігристі вина

Ігристі вина є дуже важливою категорією вин з високою економічною цінністю в різних виноробних районах світу. Світовий обсяг виробництва зосереджений (70–80%) у Європейському Союзі, особливо у Франції, Італії, Німеччині та Іспанії, за якими йдуть США. Інші країни менш важливі. В останні роки з'явилися нові країни-виробники, зокрема Великобританія, Португалія, Бразилія та Австралія. У Великій Британії ігристі вина складають понад 70% від загального внутрішнього виробництва вина.

В останні роки спостерігається тенденція для ігристих вин – це постійне збільшення та диверсифікація; виробництво ігристих вин зросло і не має жодних ознак скорочення. Зазвичай їх виробляють шляхом другої ферментації в

автоклавах (метод Шарма або Мартінотті) або пляшках (метод Традиційний або Шампенуаз). Надлишковий тиск вуглекислого газу (CO_2) ендogenousного походження в пляшці становить щонайменше 3,5 бар при 20 °C.

«Метод Champenoise» має офіційно використовуватися лише для ігристих вин, вироблених у регіоні Шампань у Франції (постанова Європейської Ради (ЄЕС) № 3309/85 від 18 листопада 1985 року та ЄЕС № 2333/92 від 13 липня 1992 року). Традиційний метод був широко вивчений через його потенціал старіння та складність. Навіть келих важливий для найкращої оцінки цих вин, і були вивчені нові форми келихів для дегустації шампанського та ігристих вин.

Так званий «метод Asti» є модифікованою версією процесу Charmat, у якому виноград збирають, подрібнюють і пресують. Отримане сусло потім фільтрується та ферментується в нержавіючій сталі під тиском. Другого бродіння немає.

Метод Шарма – це процес виробництва ігристого вина, при якому бульбашки у вині утримуються за допомогою карбонізації у великих сталевих резервуарах.

У Бразилії ігристі вина, вироблені за методом Асті, називаються «Moscatel Espumante», і вони повинні мати вміст алкоголю від 7,0 до 10,0 мл/100 мл і мінімальну концентрацію залишкового цукру 20,0 г/л.

Іншою можливістю виробництва ігристих вин є карбонізація (тобто безпосереднє додавання CO_2 у базове вино). У цих винах CO_2 частково або повністю має екзогенне походження. Існує також так званий метод перенесення, технологія виготовлення ігристого вина, за якої після другого бродіння в пляшці та короткого періоду витримки на ліжку (але перед заливкою) вино з осадом передається в бак під тиском. Потім вино фільтрують під тиском і розливають у пляшки.

Для виробництва ігристих продуктів з різними сенсорними профілями використовуються білі чи червоні, ароматичні чи неароматичні сорти винограду. Продукти можуть бути сухими або з цукровим залишком. Багато факторів впливають на сенсорний профіль ігристих вин, таких як сорт, процес

виноробства, витримка на осадах і дріжджах. Для ігристих вин важливі характеристики піни (пінність, стійкість, агресивність у роті, розмір бульбашок), колір, аромат і кислотність. У цьому розділі розглядаються найновіші дослідження (за останні 5 років) ігристих вин щодо інноваційних дріжджів, ароматичного профілю, витримки на осаді, типів цукру, базового вина, нових сортів та інноваційних енологічних технологій, які враховують вплив на сенсорні характеристики та споживчі переваги.

4.9. Вплив дріжджів та посівного матеріалу на процес бродіння

Дріжджі впливають на характеристики ігристих вин, етанол, вуглекислий газ, манопротеїни та попередники ароматичних сполук, а також їхню піну та сенсорні профілі. Штами *Saccharomyces cerevisiae*, які використовуються для другого бродіння, мають різні ступені флокуляції, які можуть створювати кількісні та якісні різні профілі летючих речовин у ігристих винах.

Було досліджено процеси виробництва ігристого вина за умови використання штамів *Saccharomyces* і не *Saccharomyces*, відповідних для приготування комерційних заквасок для першого і другого бродіння, а також визначення ролі молочнокислих бактерій. Крім того, розглядалась можливість застосування окремих місцевих штамів. Встановлено, що нетрадиційні сорти винограду та нові або місцеві дріжджові закваски пов'язані з інноваціями та диверсифікацією виробництва високоякісних ігристих вин. Ці два елементи можуть сприяти диверсифікації сенсорних профілів ігристих вин (традиційний метод).

Штами, які не належать до *Saccharomyces*, можуть підвищити сенсорні властивості ігристих вин, навіть тому, що існує відсутність різноманітності в комерційних дріжджах *Saccharomyces cerevisiae*, які використовуються для другого бродіння ігристих вин. Використано природну численність популяцій дріжджів, щоб ввести варіабельність ігристих вин протягом етапу повторного бродіння. Колекція 133 штамів *S. cerevisiae* була перевірена за технологічними

критеріями (потужність і енергійність бродіння, толерантність до SO₂, стійкість до спирту, флокуляція) та якісними ознаками (продукція оцтової кислоти, гліцерину та H₂S). Ці дії дозволили відібрати деякі дріжджі, здатні домінувати в бродінні в плящі в фактичних умовах підвалу порівняно з дріжджами, які зазвичай використовуються для заквасок. Результати хімічного аналізу та сенсорної оцінки зразків після 18 місяців витримки показали, що між штамами були присутні значні відмінності *за міцністю алкоголю, надлишковим тиском вуглекислого газу та приємністю*.

Навпаки, вони не спостерігалися щодо вмісту залишкового цукру, титрованої або летючої кислотності. Місцеві *S. cerevisiae* показали значення, порівняні з цінностями комерційних заквасок. Автори дійшли висновку, що використання нативних штамів дріжджів для етапу повторного бродіння можна вважати зручним способом введення диференціації в кінцевий продукт без модифікації традиційної технології, а вивчення біорізноманіття дріжджів може бути стратегічною діяльністю для покращення виробництва.

Недавнє дослідження про вплив дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* та дріжджів, які не належать до *Saccharomyces*, показали, що перші ігристі вина, ферментовані *S. cerevisiae*, характеризуються мінеральністю, і вони отримали проміжні бали за іншими дескрипторами.

Дескриптор – лексична одиниця (слово, словосполучення) інформаційно-пошукової мови, яка служить для опису основного смислового змісту документів.

Ігристі вина, отримані з *Starmerella bacillaris*, показали найнижчі бали за всіма розглянутими дескрипторами. *Torulaspora delbrueckii* дозволяла отримувати ігристі вина з проміжними балами за деякими дескрипторами, наприклад, «свіжість», «хлібна скоринка», «фруктовість», «мінеральність». Змішане бродіння показало найвищі бали за ароматичними дескрипторами («фруктовий», «квітковий» і «хлібна скоринка») порівняно з ігристими винами, інокульованими чистими культурами *S. cerevisiae* + *Starm. Ігристе вино*

bacillaris суттєво відрізнялося від інших завдяки високій оцінці за дескрипторами «пряний», «хлібна скоринка», «свіжість» і «квітковий». Ігристі вина *S. cerevisiae* + *T. delbrueckii* показали найвищі бали за фруктовість. Результатом сенсорного аналізу є згода з відмінностями, що спостерігаються щодо ароматичних сполук, оскільки ігристі вина були отримані з *S. cerevisiae* + *Starm. Bacillari*, що значно відрізнялися від інших.

Було також досліджено вплив штаму *S. cerevisiae* F6789A та його похідних мутантів, що містять делецію гена FLO1 (F6789A-ΔFLO1) і делецію гена FLO5 (F6789A-ΔFLO5) на вторинне бродіння, результат автолізу та виробництво ароматичних сполук.

Делеція (делеція гена) в генетиці – структурна мутація (хромосомна аберація), при якій вилучається частина хромосоми або послідовність ДНК.

Результати показали різну метаболічну поведінку, що призводить до виробництва ігристих вин з різними характеристиками. Квіткові та фруктові властивості були більш інтенсивними у ігристих винах, ферментованих за допомогою штаму F6789A-ΔFLO5, і вони були менш «трав'янистими», ніж ті, отримані з батьківським штамом F6789A. Ці дані узгоджуються з аналізом: зразки, отримані зі штамом F6789A-ΔFLO5, мали найвищий вміст ізоамілового спирту (запах «банану»), 1-бутанолу, 2-метилу (запах «трюфеля»), гексанової кислоти, етилового ефіру (запах «ананас»), октанова кислота та етиловий ефір (запахи «фруктів» і «квітів»). Враховуючи загальні характеристики, усі штами виробляють збалансовані ігристі вина з негативними та позитивними властивостями, розташованими в хороших пропорціях, демонструючи хороші дескриптори аромату.

Аромат вина є результатом великої кількості молекул, деяких летких і деяких нелетких, які можуть комплексно впливати одна на одну, тому нелегко віднести запахи «квітів» і «фруктів» лише до кількох сполук.

Використовуючи метаболомічний підхід, зовсім недавно було показано, що автохтонні штами дріжджів можуть бути впливовим інструментом для

інновацій та диференціації ринку. Було досліджено вплив чотирьох автохтонних штамів дріжджів і одного комерційного штаму *Saccharomyces cerevisiae* на леткі та хімічні профілі рожевих та ігристих вин (сорт Бомбіно), вироблених у Південній Італії (регіон Апулія) традиційним методом. Результати свідчать про те, що автохтонні штами дріжджів значно вплинули на склад ігристих вин щодо летких і нелетких сполук. Крім того, було показано значний специфічний для штаму вплив автохтонних штамів дріжджів на аромат і метаболізм ігристих вин порівняно з комерційним штамом.

Також важливий спосіб приготування сухих дріжджів для другого бродіння. Дослідження на кінцевих ігристих винах «Cava», вироблених з тим самим базовим вином та інокульованим тим самим штамом дріжджів, показали, що оцінка аромату була значно вищою у зразках, інокульованих дріжджами, приготовленими за допомогою пе-де-кюв, ніж у тих, які були інокульовані дріжджами. Підготовлена комісія (16 експертів) оцінювала візуальні, ароматичні та смакові характеристики за допомогою бального листа для ігристих та перлинних вин OIV – International Organisation of Vine and Wine, (Міжнародна організація виноградарства і виноробства). Інтенсивність кожного атрибута оцінювалася за шкалою від 0 (низька) до 10 (висока). Більш високі значення загальної кислотності, спінюваності, стійкості піни та вмісту загальних полісахаридів спостерігалися у винах, інокульованих дріжджами, вирощеними в умовах дріжджового екстракту. Ці вина також мали вищий вміст складних ефірів, спиртів і жирних кислот зі значенням активності запаху Odour Activity Value (OAV) > 1.

4.10. Витримка на осадах

Друге бродіння ігристих вин супроводжується автолізом дріжджів і періодом витримки на осаді (що складається з дріжджів, винної кислоти та неорганічних речовин). Витримка на осаді дозволяє підвищити якість ігристих базових вин. Дослідження, проведені в Чилі на ігристих винах, вироблених із

сорту червоного винограду Pais за традиційним методом Blanc de noirs, показали, що «фруктові»/«квіткові» нюанси можуть бути наслідком кількох сильнодіючих ароматичних сполук (етил ізо -бутират, ізоамілацетат, етилгексаноат, β -фенілетанол і діетилсукцинат). Їх вміст зменшувався під час старіння. «Хлібобулочні»/«підсмажені»/«дріжджові» нюанси сприймалися як більш інтенсивні в ігристих винах з більшим часом витримки (9–12 місяців) порівняно з менш витриманими ігристими винами.

Процес автолізу дуже повільний і дорогий. З цієї причини багато досліджень стосуються використання похідних дріжджів у ігристому вині.

В іспанському дослідженні сенсорні характеристики та прийнятність збагачених білих ігристих вин Verdejo – доданих β -глюканаз або похідних дріжджів (автолізованих дріжджів і дріжджових клітинних стінок) у фазі тиражування – були покращені після 22-місячного періоду витримки. Загальні та нейтральні концентрації полісахаридів були вищими в ігристих винах з добавками, ніж у контролі. Крім того, фруктові та квіткові характеристики були посилені за допомогою дріжджових похідних, тоді як їхній дріжджовий запах був вищим за допомогою β -глюканаз. Нарешті, дія цих допоміжних речовин була більш інтенсивною в ігристих винах тривалої витримки, ніж у коротковитриманих. Було також вивчено додавання похідних дріжджів. У цьому випадку додавання 5 г/г дріжджового протеїнового екстракту та інактивованих дріжджів *Torulaspora delbrueckii* NSC19 допомогло зберегти складні ефіри, відповідальні за «фруктові» відтінки у винах з 9 і 18-місячною витримкою на осаді. Додавання дріжджового автолізу досягає більшого збагачення полісахаридами та вищої антиоксидантної активності. Ігристі вина, оброблені 10 г/г дріжджового автолізу та Optimum White™, як правило, показали найвищу піноутворюваність і стабільність піни. Optimum White™ це комерційні інактивовані сухі дріжджі, що містять глутатіон і полісахариди. Необхідні подальші експерименти з більш високими дозами, щоб спостерігати чіткий вплив на сенсорні профілі.

Використання ультразвукової обробки осаду перед додаванням до базового вина може покращити вивільнення їх компонентів. Це нещодавнє дослідження показало, що оброблений ультразвуком осад зменшує терпкість для збільшення нейтральних полісахаридів у вині. Крім того, більша інтенсивність «квіткових» і «фруктових» ароматичних нот пояснюється більшим вмістом летючих сполук (ацетатів, ефірів і терпенів). Крім того, деякі спирти зросли, сприяючи ароматичній складності вин, особливо 2-фенілетанолу, спирту з трояндовим ароматом і С6-спиртів із зелено-трав'янистим ароматом.

Летючий склад ігристих вин Moscato Giallo, вироблених методами Traditional, Charmat та Asti, вивчався в Бразилії. Усі методи суттєво впливали на летючий склад кінцевого продукту. Аналіз PCA підтвердив вплив методів виробництва на леткий склад ігристих вин Moscato Giallo, що розділило зразки на три окремі групи.

Перший головний компонент (58,85% поясненої мінливості) відокремив зразки, отримані за допомогою традиційних методів і методів Charmat, від зразків, отриманих за допомогою методу Asti.

Другий основний компонент (32,30% поясненої мінливості) відокремив традиційні ігристі вина від зразків, вироблених методом Charmat.

У винах традиційного методу та методу Charmat найвища концентрація летючих сполук (етил октаноат, ліналоол, α -терпінеол, 2-фенілетанол, гексанова кислота та октанова кислота), а ігристі вина, виготовлені методом Asti, показали найменшу концентрацію. Традиційні ігристі вина корелювали з цитронеллолом, ліналоолом, гераніолом, гексановою кислотою, октановою кислотою, декановою кислотою, ізоамілацетатом і етил октаноатом, тоді як ігристі вина Charmat корелювали з гексан-1-олом і готрієнолом. Ігристі вина Asti показали позитивну кореляцію з оксидними формами ліналоолу (оксид А (*транс* -фуран), оксид В (*цис* -фуран) і оксид D (*транс* -піран)). Вищий спирт 2-фенілетанол був летючою сполукою, яка виявилася у найвищій концентрації у всіх ігристих винах (6118–8226 мкг/л). Естер октанової кислоти (аромат ананаса) мав високу концентрацію в усіх проаналізованих ігристих винах, але головним чином у зразках,

вироблених традиційним методом (1229 мкг/л), а щодо терпенів найвищі концентрації спостерігалися для ліналоолу та α -терпінеол та їх вміст значно сприяли ароматичним характеристикам ігристих вин (показник активності запаху OAV > 4). Іспанське дослідження на винах Кава суперечить очікуваному вивільненню полісахаридів і білків через автоліз осаду. Ці макромолекули одночасно вивільняються з осаду та видаляються шляхом осадження, поглинання та/або ферментативної деградації. Цей складний баланс стає ще складнішим, враховуючи неминучі варіації вихідної концентрації полісахаридів і білкових фракцій між різними урожаєми ігристого вина.

Застосовано новий експериментальний підхід, який передбачав відновлення осаду з ігристих вин дев'яти послідовних урожаїв і відтворення автолітичного процесу в модельному вині. Результати показали, що обидві макромолекули вивільняються з осаду, але тільки ігристі вина, витримані протягом декількох років, можуть отримати користь від збільшення полісахаридів і білків, отриманих в результаті автолізу дріжджів. У молодих ігристих винах частка цих сполук була низькою: 2–3% у перший рік витримки та ~7% через 3 роки. Вплив цих молекул на ігристі вина, дегоржовані до кінця першого року витримки в пляшці, має бути низьким. Висновки цього дослідження дуже цікаві для виробників вина, оскільки більшість традиційних ігристих вин витримують менше 1 року, а вироблені іншими методами витримують ще менше. Крім того, існує припущення, що виробники повинні враховувати, що якщо тривалість витримки надто велика, на якість ігристого вина може негативно вплинути надмірне окислення, про що свідчать сенсорні результати. Результати сенсорного дослідження показали, що після 6 років витримки в пляшках ігристі вина почали демонструвати надмірне старіння через надмірне окислення. Нарешті, контакт з осадом може підвищити рівень глутамату та загальну кількість вільних амінокислот у витриманому шампанському з тривалим контактом з дріжджами та сенсорним сприйняттям смаку «умами».

В італійських тихих та ігристих білих винах, витриманих у контакті з дріжджами, «умамі» також відіграє роль підсилювача смаку та продовжує післясмак.

4.11. Вплив типів цукру

Впливу різних типів цукрів (глюкози, фруктози та цукрози) у дозуванні на рівнях залишкового цукру *brut* або *demisec* на споживчі переваги, аромат і смакові властивості було приділено багато уваги. Незважаючи на те, що вина не витримували після додавання дози, фруктоза та цукроза вони показали вищі оцінки для ароматів карамелі, ванілі та меду порівняно з глюкозою. Крім того, результати показали перевагу споживачів винам, підсолодженим цукрозою порівняно з глюкозою або фруктозою.

Підвищення рівня цукрози (тростинного цукру) у дозуванні (від 0 до 31 г/л) було пов'язане з покращенням утворенням піни, але зниженою стабільністю, можливо, через зміни в'язкості вина. Продукція була виготовлена з базового купажу Сейваль–Шардоне 50:50. Різні продукти додавали до розчину вина з таким вмістом гранульованого тростинного цукру: 0 г/л (Brut Nature), 5 г/л (Extra Brut), 10 г/л (Brut), 13 г/л (Extra). Сухий і 31 г/л (Сухий).

Нещодавно біли продемонстровані нові знання про хімічний склад ігристих вин під час витримки. Продукти, пов'язані з реакцією Майяра, кількісно визначали за допомогою твердофазної мікроекстракції у вільному просторі в поєднанні з газовою хромато-мас-спектрометрією (HS-SPME-GC/MS), а попередники вимірювали за допомогою ферментативного аналізу та протонної (1H) спектроскопії ядерного магнітного резонансу (ЯМР).

Було вивчено додавання тростинного або бурякового цукру до базових вин Осерруа, вироблених у Канаді, підтвердивши, що тип цукру, який використовується для другого бродіння ігристих вин, може визначити вплив на вміст летючих речовин у вині, але незначний вплив на хімічний склад. Буряковий цукор збільшив вміст деяких летких сполук у ігристих винах після другого

бродіння, ймовірно, через жирні кислоти, отримані в процесі виробництва, що визначає високу концентрацію лінійних складних ефірів жирних кислот порівняно з тростинним цукром. Зокрема, буряковий цукор збільшив вміст 1-гексанолу та 2-фенілетового спирту у винах, хоча лише 2-фенілетовий спирт (аромати «троянди» та «квітки») перевищував свій поріг запаху (14 000 мкг/л в 10% розчині етанол/вода з 7 г/л гліцерину при pH 3,2). У дослідженні було оцінено лише 14 летких сполук із «фруктовим» запахом, і було зроблено висновок, що необхідні подальші дослідження, включаючи більшу кількість типів цукру та летких молекул, період витримки на осаді та сенсорний аналіз вина.

4.12. Ефект базового вина

Тип вина, доданий у дозуванні, мав більший вплив на летючі ароматичні сполуки та сенсорні властивості ігристих вин, вироблених традиційним методом, ніж додавання цукру під час витримки. Важливість складу базового вина у виробництві традиційних ігристих вин також підтверджена іншими дослідниками. Їхні результати показали, що рецептура базового вина є ключовим фактором, який суттєво впливає на такі параметри, як міцність алкоголю, летюча кислотність, надлишковий тиск вуглекислого газу, титрована кислотність і сухий екстракт. Інші результати показують важливість складу основного вина у впливі на профілі аромату ігристих вин. Важливість базового вина також було показано в дослідженні, проведеному в Аргентині з ароматичним сортом Torrontés щоб порівняти вина, вироблені з використанням двох дріжджів (*штами Saccharomyces EC1118, Saccharomyces bayanus C12 і IFI473I*) у другій ферментації. Сенсорні властивості цих ігристих вин більше залежали від властивостей основного вина, ніж від штаму дріжджів.

Зовсім недавно було порівняно ігристі вина, вироблені традиційними методами та методами Charmat з використанням того самого базового вина, штаму дріжджів, інокулята та витриманих на осаді протягом тих самих періодів.

Базовим вином був купаж Шардоне (36%), Рислінгу Італійського (30%) і Піно Нуар (34%), вініфікованих у білому. Сенсорний аналіз (трикутні тести та кількісний описовий аналіз (QDA)) підтвердив відсутність очевидних відмінностей, як показано за допомогою фізико-хімічного аналізу та аналізу летких сполук. Оскільки час витримки на осаді збільшується, менше експертів можуть відрізнити ігристі вина, особливо після 16 і 22 місяців. Було помічено, що більше половини учасників панелі не змогли диференціювати зразки на всіх етапах. Було зроблено висновок, що якість використовуваного базового вина відіграє ключову роль в обох методах. Крім того, метод, який використовується для другого бродіння, не є визначальним фактором можливих відмінностей, які зараз пов'язані з ігристим вином, виробленим за допомогою двох процедур.

4.13. Нові сорти

Останніми роками для виробництва ігристих вин експериментували з новими сортами. Існує зростаючий інтерес до виробництва червоних ігристих вин, альтернативи для виробництва та маркетингу в Іспанії та Бразилії.

У Бразилії розроблено ігристі вина з нетрадиційними сортами Villenave, Niagara, Manzoni та Goethe, вивчаючи фенольний склад, індекс потемніння та вміст глутатіону протягом 18 місяців витримки “sur lies”. Там же вивчали вплив манопротейнів на еволюцію рожевих ігристих вин, вироблених з винограду Мерло під час витримки на осаді з хімічною характеристикою поліфенолів, органічних кислот, макро- та мікроелементів, використовуючи комбінований аналітичний підхід. Червоний сорт Syrah використовується для виробництва ігристих вин в Австралії та Бразилії. Були також проаналізовані мускатні ігристі вина з традиційного регіону Асті (Італія) і нове географічне зазначення «IG Fagroupilha» (Бразилія). Мускатні ігристі бразильські вина відрізняються завдяки багатфакторному аналізу сполук ароматичного профілю. Кількісні відмінності вплинули на залишковий цукор, вміст сульфіту, ізоамілацетат, гексилацетат, лімонен, оксид троянди, ліналоол і цитронелол. Сенсорний аналіз підтвердив, що

бразильські вина були менш солодкими з більш освіжаючим ароматом, тоді як італійські вина були більш інтенсивними за ароматом, складністю та солодкістю. Ці різні стилі вина пов'язані з терруаром і технологічними процесами та виробляються для різних ринків.

Теруар – сукупність природних факторів конкретної місцевості, ділянки землі, що впливають на властивості вирощених сільськогосподарської продукції. Поняття походить з галузі французького виноробства і в першу чергу воно стосується продуктів, на якість котрих має великий вплив місцевість їх походження – вино, кава, чай, шоколад (какао), томати, сортова пшениця. Маються на увазі такі конкретні умови, як – місцевий мікроклімат та, мінералогічний склад ґрунтів.

Недавнє дослідження засвідчили нестійкий профіль запаху ігристих білих вин Durello промислового виробництва. Durello – це нова PDO (захищене найменування походження) ігристого білого вина (Charmat або традиційний метод) з регіону Венето (північно-західна Італія), і воно повинно бути виготовлене з принаймні 85% сорту Durella та решти 15% з інших сортів (Гарганега, Піно Гріджіо, Піно Нуар і Шардоне). Деякі ідентифіковані сполуки були сортовими маркерами (1,4-цинеол і група немегастигманових норізопреноїдів), а деякі інші були отримані в результаті основного та вторинного бродіння (Classico або Charmat) і формують старіння на осаді. Ці сполуки відрізнялися залежно від технології виробництва та старіння. Наприклад, у старих продуктах спостерігалось статистично значуще збільшення 1,4-цинеолу. Крім того, традиційний метод знизив вміст попередників терпену (цинеола). Вина були піддані сенсорній оцінці за допомогою методології завдання сортування, демонструючи комбінований вплив методу виробництва, а також віку або винтажності виноробства. Метантиол, складні ефіри та 1,4-цинеол в основному сприяли формуванню профілів запаху. Запахи 1,4-цинеолу та 1,8-цинеолу були описані за допомогою сенсорного описового аналізу як «сіно»,

«сушені трави» та «чорна смородина» в австралійських винах Каберне Совіньйон і можуть бути потенційними маркерами регіональної типовості цих вин, з порогом запаху 0,63 мкг/л у червоних винах. Також було визначено вміст 1,4-цинеолу в австралійських винах: у винах сорту Каберне Совіньйон він становив $0,6 \pm 0,3$ мкг/л, що значно вище, ніж у Ширазі ($0,07 \pm 0,04$ мкг/л) і Піно Нуар ($0,2 \pm 0,2$ мкг /л).

4.14. Інноваційні енологічні технології

Різні енологічні методи були вивчені на червоних ігристих винах Tempranillo. Попередня ферментативна холодна мацерація з сухим льодом і делестаж раннього врожаю винограду; зниження цукру в суслі та часткова деалкоголізація вина зі зрілого винограду.

Делестаж – це технологічний прийом у виноробстві, різновид ремонту, при якому все або частина сусла відбирається знизу ємності для бродіння в окремий резервуар і після збагачення киснем повітря подається назад у верх ферментатора, зрошуючи шапку вина. Делестаж, як прийом, дозволяє більшою мірою (порівняно з ремонтажем) витягти різні речовини з шапки вина в сусло. Застосовується цей прийом залежно від того, який стиль вина хоче отримати винороб.

Ремонтаж – технологічний прийом у виноробстві при якому проводять відбір сусла, що бродить, з нижньої частини бродильної ємності і перекачування його у верхню, для зрошення шапки вина. Такий прийом у виноробстві, як ремонт

аж, вирішує три завдання в процесі виготовлення вина: 1. Дозволяє зруйнувати шапку вина і значно посилюється контакт сусла з мезгою і відповідно підвищується екстрактивність майбутнього вина. 2. Запобігає появі хвороб вина (різні

цвілі, окиснення тощо) які можуть виникати, якщо шапка довгий час перебуває у статичному стані. З. Дозволяє підтримувати більш рівномірну температуру по всій ємності для бродіння.

Попередню ферментативну холодну мацерацію проводили шляхом додавання гранул сухого льоду (3 мм) до очищеного від гнізд і подрібненого винограду. Сухий лід додавали в кількості, необхідній для зниження температури до 5 ± 2 °C і підтримки цієї температури протягом трьох днів до початку спиртового бродіння. Використані енологічні методи показали меншу різницю у складі летючих речовин у винах, ніж у зрілості винограду та тривалості витримки. Враховуючи вміст летючих речовин і характеристики піни, базові вина, отримані з використанням зрілого червоного винограду, показали більш позитивні характеристики, ніж ті, що були отримані з винограду раннього врожаю, за винятком надмірного ступеня алкоголю, отриманого для цього типу вина. Зменшення вмісту цукру в суслах і часткова деалкоголізація вин дають базові вина з більш відповідним вмістом алкоголю, але висока вартість цих процесів не виправдовує їх використання. Зразки, вироблені з винограду раннього врожаю, показали вищі рослинні нотки та менший фруктовий аромат, ніж зразки, отримані зі зрілого винограду. Проте попередня ферментативна холодна мацерація дозволяє отримувати вина зі складом летких речовин, подібним до червоних ігристих вин, вироблених зі зрілого винограду, і з найкращим значенням інструментальних і сенсорних дескрипторів піни. Попередня ферментативна холодна мацерація з сухим льодом дала найкраще рішення для виробництва червоного базового ігристого вина.

Було перевірено вплив холодної попередньої ферментативної мацерації з використанням охолодження на нутрицевтичну якість і колір червоних ігристих вин, виготовлених із сорту Сіра. Антиоксидантна здатність і вміст фенолів були вищими в ігристих винах, виготовлених за допомогою мацерації, що також сприяло більш інтенсивному червоному та насиченому кольору.

Завдяки недавнім дослідженням було зроблено оцінку та порівняння складів летких сполук і сенсорних властивостей ігристих і традиційних вин (з і без SO₂), вироблених з грецького винограду «Grechetto», «Greco bianco» і «Greco di Tufo». Метабісульфіт калію (10 г/гл) додавали до очищеного від плодоніжок і подрібненого винограду після бродіння (15 г/гл). Перед розливом, після відділення осаду, вміст SO₂ доводять до 40 мг/л. Результати показали відмінності між SO₂-вмісними, без SO₂ ігристими винами з різним вмістом спиртів, складних ефірів, жирних кислот, фенолів і сенсорними характеристиками. Вино «Grechetto» без SO₂ показало летучі та сенсорні властивості порівняно зі зразками з SO₂.

Бразильські дослідження показали, що етанол і діоксид сірки мають синергічний ефект на дріжджі; це може бути основною причиною проблем, які іноді виникають на початку другого бродіння ігристих вин (відсутність старту, довгий період затримки або повільне бродіння). Цей негативний вплив етанолу, діоксиду сірки та етанолу/діоксиду сірки на дріжджі залежав від дози.

Надлишковий тиск CO₂, який виділяється під час цього другого бродіння, має важливий вплив на метаболізм дріжджів і профіль аромату вина. Це дослідження порівнювали вина з тиском CO₂ або без нього, підтверджуючи відмінності в профілях летючих речовин у відкритих або закритих пляшках. Надлишковий тиск CO₂ впливав на вміст етилових ефірів органічних кислот.

Мета підвищення якості південноафриканського ігристого вина полягала в тому щоб перевірити ідею про те, що коркова кришка замість коронної кришки під час другого бродіння та дозрівання на дріжджовому осаді може змінити кінцеві характеристики продукту. Було досліджено шість пар вин п'яти урожаїв, закритих корковою або коронною кришкою. Були виявлені деякі відмінності: вина з корковою кришкою показали нижчий тиск порівняно з винами з коронковою кришкою. Дані інфрачервоного спектру та профіль поліфенолів (концентрації галової, кафтрової, кавової та п-кумарової кислот) все ще відповідають вимогам законодавства. Інфрачервоні спектральні дані були різними, але природу цих відмінностей не вдалося з'ясувати. Менші бульбашки

та довший післясмак були описані у винах із пробковою кришкою, які, як правило, втрачали CO₂ із склянки повільніше після розливу, ніж продукти з коронною кришкою. Автори припустили, що виробники, які хочуть змінити свій стиль вина, можуть використовувати пробку замість коронної кришки під час другої ферментації, навіть якщо необхідні додаткові дослідження для з'ясування відмінностей.

У нещодавньому французькому дослідженні два альтернативних методи (ферментація в одному резервуарі) для виробництва ігристих вин порівнювалися з традиційними методами та методами Charmat. При родовому методі вино розливають з цукром 24 г/л, друге бродіння проводять у пляшках, контактують з осадом протягом 6 місяців. Кінцевий продукт – вино брют (цукристість < 12 г/л). Бродіння в одному резервуарі є різновидом методу Asti для виробництва ігристих вин з меншим вмістом цукру (приблизно 10,5% алкоголю). Летючі та сенсорні результати підтверджують можливість використання цих двох методів для отримання високоякісних вин. Їхні сенсорні профілі характеризувалися атрибутами запаху «квітковий», «тропічні фрукти» та «цитрусові».

Наведений огляд зазначив, що сектор ігристих вин постійно розширюється і є предметом вивчення в усіх виноробних регіонах світу. За останні 5 років більшість авторів вважають важливим органолептичний аналіз продуктів у своїх дослідженнях на додаток до визначення вмісту летких ароматичних речовин. Більшість робіт стосується традиційних ігристих вин та другого бродіння: дріжджів, витримки на осадах, базового вина та типу цукру. Інноваційні енологічні технології та використання нових сортів – білого, рожевого або червоного – експериментують не лише в країнах, що починають виробляти вино, як-от Бразилія, а й у традиційних виноробних країнах (Іспанія та Італія).

В останні десятиліття було вказано на інноваційні сенсорні методи: флеш-профіль, перевірка всього, що застосовується (CATA) і оцінка всього, що застосовується (RATA). Вони можуть бути використані споживачами або навченою комісією, і вони більш економічні, ніж традиційні QDA. Відомо, що сьогодні використовується метод RATA, але в майбутньому є надія, що ці

інноваційні сенсорні методи будуть використані в дослідженнях ігристих вин. Література з вивчення споживачів зосереджена переважно на перевагах ігристих вин незалежно від їх сенсорних властивостей. Як правило, враховуються інші фактори, наприклад, вік, стать, дохід і інформація про вино.

У майбутньому подальші дослідження повинні бути зосереджені на ігристих винах з низьким вмістом алкоголю або без алкоголю, зі зниженим додаванням SO₂ та органічних винах, щоб наблизитися до зміни споживчого ставлення. Рекомендуються також передові дослідження щодо диверсифікації виробництва ігристих вин за допомогою нових сортів, навіть рожевих чи червоних, або з використанням автохтонних дріжджів чи дріжджів, які не є *Saccharomyces*. Пропозиція полягає в тому, щоб включити сенсорний аналіз для оцінки експериментальних вин. Нарешті, важливим предметом для дослідження було б використання інноваційних та альтернативних контейнерів і оцінка терміну придатності вина, включно з сенсорними ефектами деяких ігристих вин, вироблених за методом Charmat, для нетрадиційних споживачів.

4.15. Вплив деревини на якість вина

Споживча цінність вина складається з багатьох факторів, насамперед сенсорних параметрів, тобто аромату, смаку, кольору. Якість вин значною мірою формується енологічними процесами, які виконуються як під час вирощування фруктів, так і під час виробництва вина. Склад фруктів, зокрема вміст цукрів, органічних кислот, поліфенолів, у тому числі антоціанів, і багатьох інших інгредієнтів, які є попередниками смакових і ароматичних компонентів, визначає якість і сенсорні характеристики вин. Букет вина формується в основному за рахунок летючих сполук, що утворюються в процесі бродіння та дозрівання напоїв. Наявність деревини під час дозрівання вин також може значною мірою формувати параметри їх якості. Більшість вин, які високо оцінюють споживачі, особливо червоні вина, завдячують деякими своїми специфічними сенсорними характеристиками старінню в контакт з деревом. Цей етап часто є ключовим

фактором у створенні високоякісних вин. Саме під час цього процесу, завдяки деревині, яка використовується, відбувається ряд фізичних і хімічних змін, які впливають на ароматичні сполуки, природно присутні в молодому вині, але також екстрагується багато компонентів, що містяться в деревині.

У процесі витримки існує багато змінних, які впливають на якість отриманого вина, включаючи час витримки та якість деревини, яка використовується для виробництва бочок або чіпсів. Суттєвий вплив також мають такі фактори: вміст етилового спирту у вині, спосіб витримки (статичний чи динамічний), співвідношення контактної поверхні бочки до об'єму вина. У свою чергу, ступінь підсмажування деревини впливатиме на профіль і концентрацію сполук, які формують аромат вина. Непідсмажена або злегка підсмажена деревина виділяє більше гідролізованих елагітанінів, які також можуть допомогти стабілізувати червоний колір вина. Середній і високий ступінь підсмажування буде стимулювати перехід димних і пряних фенолів у вино.

Дозрівання вина в дерев'яній бочці пов'язане з протіканням процесів окислення, в результаті яких змінюється колір, втрачається характер використаного сорту ягід чи фруктів, а також розвиваються нові аромати. Це відбувається за рахунок мікрооксигенації, тобто пропускання невеликої кількості кисню через стовбур. Це призводить до конденсації антоціанів і танінів, що містяться у вині, а також до вивільнення фенольних сполук з поверхні деревини. Ці реакції безпосередньо впливають на колір і терпкість вина і змінюють його аромат. Зокрема, елагітаніни прискорюють процес конденсації між антоціанами і танінами, наприклад вескалагіном і мальвідином, що призводить до зміни кольору вина від фіолетово-червоних відтінків, характерних для молодих червоних вин, до коричнево-червоних відтінків, характерних для зрілих вин. Крім того, елагітаніни реагують з продуктами конденсації флаванолів і антоціанів, і це модулює органолептичні властивості вина, зокрема терпкість, оскільки ці сполуки взаємодіють із білками слини.

У разі виробництва червоних вин сполуки, отримані з деревини, такі як фурфурол, гваякол, лактони віскі, евгенол, ванілін і сирингіальдегід, мають найбільший вплив на параметри аромату. Фурфурол, як одна з найважливіших сполук деревного походження, відповідає за надання вину смаку сухофруктів і смаженого мигдалю. Використання дубової деревини (бочки та тріски) під час дозрівання в першу чергу підвищує вміст фурфуролу у вині. Ця тенденція зберігалася до 6-го місяця витримки, після чого зі збільшенням терміну дозрівання вміст цієї сполуки знижувався, що може бути пов'язано з біологічним перетворенням фуранових альдегідів у відповідні спирти. Подібні тенденції спостерігалися у випадку 5-метилфурфуролу, однак його концентрація знизилася після 3 місяців старіння. Також було показано, що використання дубових бочок збільшило концентрацію 5-метилфурфуролу у винах порівняно з деревною стружкою.

Лактони віскі, отримані з деревини дуба, зустрічаються у вигляді двох стереоізомерів, *цис* і *транс*, які надають вину різні ароматичні нотки. Цис-форма відповідає за слабкі кокосові, земляні або іноді плісняві нотки, тоді як транс-форма надає вину пряні, селерові або кокосові нотки. У виноробстві лактони віскі зазвичай асоціюються з кокосовим, ванільним і пряним ароматами, але вони можуть змінюватися в залежності від використовуваного сорту винограду. Гваякол та його похідні в основному утворюються як продукт розкладання лігніну під час процесу підсмажування деревини та відповідають за смажені аромати вина.

Концентрація гваяколу та 4-вінілгваяколу залежить головним чином від часу дозрівання, а також від виду та дози дубової стружки. Ці сполуки також можна використовувати як індикатор ступеня прожарювання деревини через їх хімічне походження. Крім того, 4-вінілгваякол і 4-вінілфенол можуть утворюватися в процесі ферментативного або термічного декарбоксилювання з коричних кислот. Естери вважаються надзвичайно важливими сполуками у формуванні сенсорних властивостей вин; вони зазвичай сприяють формуванню свіжих фруктових і квіткових нот. Ферментований виноматеріал містить

невелику кількість ефірів; їх присутність у вині пов'язана з ферментативними та хімічними реакціями, які відбуваються під час бродіння та старіння вин. Деякі складні ефіри, ідентифіковані у винах, також походять із попередників, витягнутих із деревини під час витримки, і їх концентрація у вині може сильно відрізнятись. Так, наприклад, вміст етилфуроату, етилкоричної кислоти і етилваніліну істотно залежить від ступеня прожарювання деревини і збільшується з подовженням часу дозрівання. Ці ефіри формують важкий кокосовий і коричнево-ванільний аромати вин. З іншого боку, складні ефіри, відповідальні за легкі квіткові аромати, такі як 2-фенілетилацетат і етилдеканоат, зазвичай розкладаються або переестерифікуються під час витримки вин, і їх концентрація знижується.

Затвердження деревини каштана для виноробства призвело до збільшення різноманітності ароматів у винах. Використання каштана при витримці вин може сприяти утворенню більшої кількості фенолів і галової кислоти порівняно з деревиною дуба. Деревина каштана також характеризується більшою киснепроникністю, ніж деревина дуба, що обумовлює низький вміст у витриманому з її використанням вині катехинів, епікатехинів і антоціанів, які, швидше за все, піддаються прискореній полімеризації. Каштан надає вину фруктові нотки, а у випадку з деревиною дуба більш відчутні аромати ванілі, димності та пряності.

Типовий колір червоних вин зумовлений наявністю багатьох антоціанів та їх похідних. На жаль, зі старінням деревини загальний вміст антоціанів діаметрально зменшується. Причиною такого поступового зменшення мономерних пігментів є реакція нативних антоціанів винограду з компонентами деревини та з киснем, що проходить через мікропори деревини. Ці зміни проявляються зменшенням інтенсивності кольору вина та відмінностями у відтінку порівняно з винами, не витриманими в присутності деревини.

Білі вина традиційно рідко витримувалися в дубових бочках або в ємності з дубовою стружкою. Вважалося, що ця процедура знижує їх якість через маскування оригінальних фруктових і квіткових нот, які містяться в білих винах.

Естери, спирти та терпени відповідають за ці специфічні квіткові та свіжі нотки білих вин. Тому білі вина потребують спеціальної процедури витримки, щоб уникнути смажених і гірких ароматів фуранових сполук, отриманих із підсмаженої деревини. Крім того, у контексті білих вин екстракція сполук, що містяться в деревині, також сприяє негативним процесам, відповідальним за окислення, що, як наслідок, призводить до зміни їх кольору. Темніший, коричневий колір вина не є бажаним аспектом, тому що споживачі часто сприймають його як технологічний дефект.

В даний час використання деревини для виробництва і дозрівання білих вин є звичайною процедурою, яка також дозволяє створювати спиртовані вина з повним смаком і складним ароматом. Витримка білого вина в присутності деревини дуба сприяла значному збільшенню концентрації екстрактивних речовин з деревини: елагітанінів майже в чотири рази, фенольних кислот майже в два рази і флаван-3-олів більш ніж у чотири рази. Ці зміни залежали від часу витримки та ступеня підсмаження деревини, але не впливали негативно на якість вин. Хоча одним із найбільш підходящих сортів білого винограду для бродіння суслу та витримки вина в дубових бочках є Шардоне, існує багато публікацій, що описують витримку інших білих вин, таких як Вердехо, білий Лістан, Мускат, Совіньон блан, Енкрузадо або *Malvazija istarska*. Також було показано, що використання для дозрівання білих вин інших порід деревини, крім дуба (каштан, акація та вишня), значно знижує рівень фурфуролу та 5-метилфурфуролу, а також гваяколу та його похідних.

Питання для самоконтролю

1. Що вивчає така наука як енологія?
2. Які проблеми виникають у застосуванні несахароміцетів у енології в процесах спиртового бродіння?
3. У чому полягає генетична модифікація дріжджів у виноробстві?
4. Яку роль у процесі спиртового бродіння відіграє оксигенація?

5. У чому полягає сутність пляшкового бродіння?
6. Що таке вугільна міграція у виноробстві?
7. У чому полягає ефект дозрівання вина?
8. Які матеріали застосовують для дозрівання вина?
9. За якими принципами утворюються ігристі вина?
10. Як дріжджі та інший посівний матеріал впливають на процес бродіння вина?
11. Які штами мікроорганізмів впливають на метаболічну поведінку бродіння, що призводить до виробництва ігристих вин з різними характеристиками?
12. Що означає витримка на осадах?
13. Як різноманітні цукри впливають на якість вина?
14. У чому полягає ефект базового вина?
15. Як процеси бродіння впливають на якість новостворених сортів вина?
16. Як ферментація в одному резервуарі впливає на якість вина, що виробляється?
17. Як дозрівання у дерев'яних бочках впливає на якість вина?

Рекомендована навчальна література

1. Ковалевський К.А., Валько М.І., Мамай О.І. Інноваційні технології виноробства. Бродильні апарати і установки: навчальний посібник. Херсон: ХНТУ, 2018. 148 с.
2. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
3. Валуйко Г.Г., Домарецький В.А., Загоруйко В.О. Технологія вина. К.: Центр навчальної літератури, 2021. 592 с.
4. Білько М. В., Гречко Н. Я., Куц А. М., Бабич І. М. Технологія вина: задачі і приклади : навч. посіб. М-во освіти і науки України, Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2017. 290 с.

5. Гуменюк О.Л. Технологія бродильних виробництв: тексти лекцій для студентів спеціальності 181 «Харчові технології» заочної форми навчання. Чернігів: НУЧП, 2020. 143 с.
6. Мелетьєв А. Є. Технологія продуктів бродіння і напоїв : укр.-рос. тлумач. слов. Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2011.192 с.
7. Українець А.І., Калакура М.М., Романенко Л.Ф., Домарецький В.А. Загальні технології харчових виробництв: підруч. К. : Університет «Україна», 2010. 814 с.
8. Українець А. І., Домарецький В. А., Маринченко В. О., Білько М. В. Хімія і біохімія вина : підручник. МОН України, Національний університет харчових технологій. Київ : НУХТ, 2007. 261 с.
9. Ough Cornelius S. Winemaking basics. CRC Press, 2018.
- 10.Goode, J. Wine science: the application of science in winemaking. Mitchell Beazley. 2014.
- 11.Martinho V. J. P. D. Historical records of wine: Highlighting the old wine world. 2019.
- 12.Vine R. P., Harkness E. M., Linton S. J. (ed.). Winemaking: From grape growing to marketplace. – Springer Science & Business Media, 2012.

Розділ 5. ІННОВАЦІЙНЕ БРОДІННЯ ПІД ЧАС ВИРОБНИЦТВА АЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ

5.1. Бродіння і дистиляція

Всі міцні напої проходять як мінімум дві процедури – бродіння і дистиляцію. **Ферментація** – це місце, де утворюється весь алкоголь, **дистиляція** – це місце, де спирт відокремлюється та видаляється. Для того, щоб відбулося бродіння, необхідні дві речі: сировина в рідкому вигляді, що містить цукор, з подальшим додаванням дріжджів. *Дріжджі* – живий організм, що живиться цукром; побічним продуктом цього споживання є алкоголь і вуглекислий газ (CO₂).

Проста формула бродіння така:



По суті, дистиляція – це процес, за допомогою якого рідина, що складається з двох або більше частин, розділяється на менші частини бажаної чистоти шляхом додавання та віднімання тепла від суміші. Дистильовані пари/рідини відокремлюють інші інгредієнти, які мають нижчу температуру кипіння. Дистильовані спиртні напої виготовляють із сільськогосподарської сировини, такої як виноград, різні ягоди, фрукти, цукрова тростина, патока, картопля, зернові культури тощо. Як наслідок, для всіх спиртних напоїв процес дистиляції перетворює сировину настільки, що її більше немає в кінцевому спиртному напої. Це було переконливо продемонстровано, коли EFSA погодилося, що алергенний білок із сировини не міститься в спиртних напоях.

Європейське агентство з безпечності харчових продуктів (European Food Safety Authority) – агентство Європейського союзу, яке надає незалежні консультації та інформацію щодо існуючих та можливих ризиків, пов'язаних з харчовими продуктами й кормами.

Діяльність агентства охоплює всі питання прямого й непрямого впливу на безпечність харчових продуктів і кормів, а також здоров'я тварин і рослин.

Дистиляція – це мистецтво, яке вимагає оволодіння багатьма різними факторами: вибір зерна чи фруктів, використовувана вода, дріжджі, клімат (у якому виробляється напій), форма ємності, вибір бочки, час (проведений у бочці для тих продуктів, які витримали). Все це визначає особливий стиль і остаточний смак вироблених спиртних напоїв.

У Європі традиційні спиртні напої класифікуються в одну з 46 визначених категорій і відповідають традиційним і чітким практикам. Окрім всесвітньо відомих категорій бренді, джину, лікеру, рому, горілки чи віскі, у Європі виробляється велика кількість традиційних алкогольних напоїв, таких як фруктові спиртні напої, сидр, Aquavit, Pastis, Anis, Sambuca або Advocat. Вони представляють складність європейського сектору спиртних напоїв, успіх якого сягає корінням у традиції та якісні системи виробництва.

5.2. Дистильовані спиртні напої

5.2.1. Віскі: світ насичених смаків

Віскі, виготовлений із ферментованого зернового пюре, широко варіюється від солодкого ірландського віскі до димного шотландського та сміливого житнього віскі. Кожен тип розповідає історію свого походження, збагачену роками витримки в дерев'яних бочках.

Історичний контекст: історія віскі багата розповідями про стародавні монастирі в Ірландії та Шотландії. Процес дистиляції, який спочатку використовувався в медичних цілях, протягом століть перетворився на витончене ремесло, яке ми знаємо сьогодні. У певні періоди історії віскі навіть використовувався як валюта.

Технологія виробництва. Виробництво віскі передбачає затирання, бродіння, дистиляцію та витримку. Кожен тип використовує різні зерна: ячмінь

для скотчу, кукурудза для бурбону та жито для житнього віскі. Процес витримки в обвуглених дубових бочках надає унікальні смаки та характеристики. Такі інновації, як використання різних порід деревини для бочок і різні середовища витримки, додають складності смакам віскі.

Популярні бренди та етикетки: відомі бренди включають Glenfiddich для скотчу, Jameson для ірландського віскі та Maker's Mark для бурбону. Інші відомі бренди – Macallan для шотландського віскі та Jack Daniel's для віскі Теннессі, кожна з яких привносить свій унікальний відтінок у віскі.



Рис. 5. Популярні бренди віскі [6]

Віскі пройшов шлях від стародавніх монастирів до сучасних лікеро-горілчаних заводів по всьому світу, де витончені методи виробництва та тривала витримка в дерев'яних бочках завершуються багатим гобеленом смаків.

5.2.2. Горілка: нейтральний спирт

Горілка славиться своєю нейтральністю та універсальністю в коктейлях. Цей прозорий алкоголь, що походить з Європи, ідеально поєднується з такими

напоями, як Screwdrivers і White Russians, а ароматизовані різновиди надають додаткових вимірів.

Історичний контекст: витоки горілки сягають слов'янських регіонів, а Польща та Росія стверджують, що є її батьківщиною. Історично горілка використовувалася в лікувальних цілях, а згодом стала популярним напоєм. Вона набула популярності в 19 столітті та стала символом культурної самобутності в багатьох країнах Східної Європи.

Горілка – це чистий дистильований спирт, який виготовляється із зерна або картоплі та інших сільськогосподарських продуктів. Потім його фільтрують на деревному вугіллі, ректифікують або знову дистилюють, щоб зменшити рівень природних конгенерів і забезпечити дуже чистий смак.

Конгенери в алкоголі – хімічні речовини, що утворюються у процесі бродіння, відмінні від етанолу. Ці сполуки відповідають за надання смаку та аромату алкогольному напою.

Цей напій виробляють і споживають у всьому світі. Слово «горілка» походить від слов'янського «voda» або польського «woda», що означає вода. Історія горілки є предметом гарячих суперечок: у той час як перше задокументоване виробництво горілки було в Росії наприкінці 9 століття, Польща також стверджує, що почала дистиляцію горілки раніше, у 8 столітті. У середині 16 століття горілка стала національним напоєм у Польщі та Фінляндії. На Русі горілку також часто використовували як ліки.

Близько 1450 року горілку почали виробляти у великих кількостях, і перші зареєстровані експортери російської горілки були до Швеції в 1505 році. Польський експорт почався століттям пізніше з основних виробничих центрів у Познані та Кракові. Горілка продовжувала зростати в популярності протягом XIX століття, частково сприявши переміщенню солдат під час наполеонівських війн. Для задоволення попиту вироблялися нові продукти, багато з яких базувалися на дистильованому картопляному пюре.

Після російської революції 1918 року більшовики конфіскували всі приватні лікєро-горілочні заводи в Москві, а кілька російських горілочників емігрували, забравши з собою свої навички та рецепти, і напій продовжував набувати популярності в усьому світі.

Технологія виробництва. Виготовлена із зерна або картоплі, горілка проходить багаторазову дистиляцію та фільтрацію для досягнення своєї чистоти. У результаті виходить нейтральний алкоголь високої міцності, зазвичай близько 40%. Сучасні методи включають вугільну фільтрацію та використання сучасного дистиляційного обладнання для забезпечення максимальної прозорості та чистоти.

Популярні бренди та етикетки: впізнавані бренди включають Grey Goose, Absolut і Smirnoff. Інші, як-от Belvedere та Tito's Handmade Vodka, також зробили значний вплив, кожна з яких пропонує різні смакові профілі та м'яку обробку.



Рис. 6. Популярні бренди горілки [7]

Горілка походить зі слов'янських регіонів Європи, спочатку використовувалася в лікувальних цілях, перш ніж перетворитися на культурну спадщину. Виготовляється із зерна або картоплі, спирт кілька разів дистилюють

і фільтрують для виняткової чистоти. Сучасні методи, такі як вугільна фільтрація, покращують прозорість, забезпечуючи горілці місце в міксології.

Міксологія – мистецтво та наука в пошуках смаку.

5.2.3. Ром: солодкість цукрової тростини

Ром, отриманий з патоки або соку цукрової тростини, вловлює тропічну сутність у таких формах, як білий, темний і пряний ром. Його універсальність сяє як у акуратних ковтках, так і в яскравих коктейлях, таких як пінья-колада.

Історичний контекст: виробництво роμου почалося в Карибському басейні в колоніальну епоху, де було багато плантацій цукрової тростини. Він став основним продуктом для моряків і ключовим елементом у трансатлантичній торгівлі, його часто називають «грогом», коли його змішують з водою та вапном.

Ром і його двійник, тростинний спирт, виготовляються шляхом перегонки ферментованого цукру та води. Цей цукор походить із цукрової тростини та ферментується з тростинного соку, концентрованого тростинного соку або патоки. Меляса – це липкий залишок, який залишається після кип'ятіння соку цукрової тростини та екстрагування кристалізованого цукру. Здебільшого ром виготовляється з патоки (більше 50% цукру), але він також містить значну кількість мінералів та інших мікроелементів, які можуть сприяти смаку. У 1672 році напій отримав назву ром. Вважається, що назва походить від слова «gumballion», що на сленгу того часу означало галас або шум. Ром традиційно є прозорим напоєм, але багато виробників витримують або підфарбовують свій ром, щоб надати йому темного або золотистого відтінку. Більшість витримок відбувається в бочках, які колись містили віскі чи бурбон. Власники плантацій продавали ром кораблям і піратам. У 1730-х роках британський флот запровадив звичай давати морякам щодня пів пінти 80-відсоткового роμου.

Пінта – одиниця об'єму в системі англійських мір. Використовується в основному в США, Великій Британії та Ірландії. Однак величина американської та англійської пінт неоднакова: 1 англійська пінта = 0,56826125 літра; 1 американська рідка пінта = 0,473176473 літра (пивна пінта тільки одна — англійська); 1 американська суха пінта = 0,5506104713575 літра; 1 метрична пінта = 0,5 літра (використовується неформально).

Пізніше його розбавили такою ж кількістю води, після чого назвали грог. Основною причиною, чому моряки вживали ром, було те, що він краще витримував далекі плавання, ніж вода чи пиво.

Технологія виробництва. Виробництво рому передбачає бродіння патоки або соку цукрової тростини, дистиляцію рідини та її витримку в бочках. Тип бочки та тривалість витримки істотно впливають на смаковий профіль. Деякі види цього напою витримують у колишніх бочках від бурбону, що надає додатковий рівень складності.



Рис. 7. Популярні бренди рому [8]

Популярні бренди та торгові марки: відомі бренди включають Bacardi, Mount Gay і Captain Morgan. Інші варті уваги марки Appleton Estate для

ямайського рому та Diplomatico для венесуельського рому, обидві відомі своїми багатими та різноманітними смаковими профілями. Отриманий з цукрової тростини, ром вловлює тропічну сутність у білих, темних і пряних формах. Його коріння сягають карибської колоніальної епохи. Його можна вживати в чистому вигляді або в коктейлях, як-от пінья-колада. Його виробництво передбачає бродіння, дистиляцію та витримку в бочках, іноді з-під бурбону, для отримання різноманітних складних смаків.

5.2.4. Джин: настояний на ягодах ялівцю

Джин виділяється своїми ботанічними настоянками, насамперед з ягід ялівцю. Від класичного лондонського сухого джину до квіткових нот інших сортів, джин пропонує освіжаючий профіль, ідеальний для таких коктейлів, як мартіні та джин-тонік.

Історичний контекст: джин виник як лікарський тонік. Він набув популярності в Англії, що призвело до сумнозвісного «Божевільного захоплення джином». У цей період джин широко споживали і критикували за його соціальний вплив. Джин виник у Голландії в 1550 році, коли професор медицини Франциск де ла Бо намагався створити ліки від хвороб шлунку, використовуючи сечогінні властивості ягід ялівцю. Він створив настій, який назвав Genever, що незабаром став популярним як алкогольний напій.

Протягом 30 років війни англійські війська отримували пайки Genever, щоб уникнути відчуття страху перед боєм. В результаті чого напій, який стали називати «голландською мужністю», повернули до Англії. Назва «Gin» є англізованою версією голландського слова «Genever», але сучасні продукти дуже відрізняються. Голландські стилі Genever, як правило, мають більш глибокий і насичений смак, і ялівець не обов'язково переважає, тоді як London Dry джин є легшим, чіткішим і сухим за стилем із переважаючим ароматом ялівцю.

Яловець або **ялівець** – рід вічнозелених деревних рослин родини кипарисових. Латинську назву *juniperus* вперше згадував давньоримський поет Вергілій, що пізніше дозволило Ліннею застосувати це слово для назви роду. Проте існує інша версія – що слово походить від кельтського *ienepgrus* – «колючий».

Технологія виробництва. Джин виготовляється шляхом дистиляції зернового пюре, а потім його повторної дистиляції з рослинними компонентами, переважно ягодами ялівцю, разом з іншими інгредієнтами, такими як цедра цитрусових і спеції. Сучасні джини часто досліджують творчі комбінації рослинних компонентів для створення унікальних і складних смаків.

Популярні бренди та етикетки: відомі джини включають Tanqueray, Bombay Sapphire і Hendrick's. Інші відомі бренди – Beefeater і The Botanist, кожен з яких пропонує унікальні ботанічні суміші, які приваблюють різний смак.



Рис. 8. Популярні бренди джина [9]

Джин, приправлений ягодами ялівцю та різними рослинними компонентами, забезпечує освіжаючий смак, ідеальний для мартіні та джину з тоніком. З різноманітними рослинними компонентами сучасні джини представляють унікальні та складні смаки для приємного сенсорного досвіду.

5.2.5. Текіла: культовий алкоголь Мексики

Текіла, один із найвідоміших алкогольних напоїв Мексики, відома своїми яскравими смаками та культурним значенням. Виготовлена в основному з рослини блакитної агави, текіла має багату історію та особливий процес виробництва, який відрізняє її від інших спиртних напоїв.

Історичний контекст: текіла виникла в доіспанській Мексиці, де корінні народи зброджували сік агави для виготовлення пульке. Іспанські конкістадори запровадили дистиляцію в 16 столітті, створивши мескаль.

Пульке, октлі – мексиканський традиційний алкогольний напій з ферментованого соку агави американської (магея). Напій, як і вино, отримують шляхом бродіння соку, тобто не дистиляцією. Міцність – від 6 до 18% об.

У 18 столітті текілу, особливий вид мескалю, почали виробляти в Текілі, штат Халіско. Вона швидко набула популярності і стала символом мексиканської спадщини.

Технологія виробництва текіли – це ретельний процес, який починається з вирощування блакитної агави. Рослини агави вирощують протягом 7-10 років, перш ніж їх збирають. Серцевину рослини, відому як пінья, обсмажують, подрібнюють і ферментують. Потім ферментовану рідину двічі переганяють для отримання текіли. Деякі текіли проходять додаткову витримку в дубових бочках, що надає ще більшої складності та глибини напою.

Популярні бренди та етикетки: деякі відомі бренди текіли включають Patrón, Don Julio та José Cuervo. Кожна марка пропонує асортимент текіли, від бланко до екстра аньехо, на різні смаки та вподобання. Інші відомі марки Casa Noble і Herradura, відомі своєю високоякісною продукцією та насиченими смаками.



Рис. 9. Популярні бренди текіли [10]

Текіла, яка славиться своїм живим смаком і культурним значенням, виготовляється з рослини блакитної агави. Його виробничий процес включає збір врожаю агави через 7-10 років з подальшим обсмажуванням, ферментацією та подвійною дистиляцією. Деякі види потім витримують у дубових (винних) бочках для додаткової складності.

5.2.6. Мескаль: мексиканський дух предків

Мескаль, який часто затьмарюється текілою, є ще одним культовим мексиканським спиртним напоєм, виготовленим із рослини агави. Відомий своїм димним смаком, мескаль пропонує різноманітні смакові враження.

Історичний контекст: Мескаль бере свій початок з доіспанських часів, коли корінні жителі Мексики зброджували сік агави для виготовлення пульке. З приходом іспанських конкістадорів був запроваджений процес дистиляції, який призвів до створення мескаля. Технологія виробництва мескалю передбачає обсмажування агави піння в підземних ямах, вистелених розпеченим камінням, що надає виразного димного аромату. Потім смажену пінню подрібнюють, ферментують і дистилюють.



Рис. 10. Популярні бренди мескаля [11]

Мескаль можна виготовляти з різних видів агави, кожен з яких має унікальні властивості. Популярні бренди та етикетки: відомі бренди мескалю включають Del Maguey, Montelobos і Ilegal Mezcal.

5.2.7. Бренді: дистильований з вина

Бренді, дистильований алкоголь, отриманий з вина або ферментованого фруктового соку, зачаровує своїм насиченим м'яким смаком. Відомий своїм багатим кольором і складним букетом, бренді часто смакують як дигестив після обіду, але він також надає глибини таким коктейлям, як Sidecar і Brandy Alexander.

Дигестив — загальна назва напоїв, що сприяють травленню, які подаються наприкінці їжі. Зазвичай це коньяк, арманьяк або інші різновиди бренді. До цієї групи також належать міцні напої: граппа, кальвадос та віскі. Окрім того, по обіді подаються лікери та бальзами, а також витримані міцні вина із насиченим смаком — херес, мадера, портвейн.

Ще в 15 столітті переважно іспанські та французькі вина масово експортувалися до Англії та Голландії. У якийсь момент виробникам прийшла в голову ідея дистилювати вино, транспортувати його, а потім додавати воду перед подачею або продажем. Вони переганяли вино з дев'яти бочок в одну, і через вогонь, необхідний для процесу дистиляції, голландці почали називати продукт *wijnbranders*, що означає «вино, що спалилося». Це, у свою чергу, перетворилося на *brandywijn* і, зрештою, на бренді. Сьогодні коньяк виробляють у багатьох інших країнах ЄС – особливо в таких країнах, як Німеччина та Італія.

Історичний контекст: історія бренді переплітається з розвитком техніки дистиляції в середньовічній Європі. Винні спиртні напої є одними з найстаріших дистильованих напоїв ЄС і пропонують споживачам деякі з найвідоміших продуктів, у тому числі коньяк і арманьяк у Франції, *Aguardente* у Португалії, *Rakya* у Болгарії та *Vinars* у Румунії. Вони виготовляються шляхом перегонки вина або повторної перегонки винного дистиляту та незмінно дозрівають. У той час як витримані винні спиртні напої повинні провести 6 або 12 місяців у дубових бочках, часто це набагато довше; деякі витрачають кілька десятиліть на дозрівання, смаки поглиблюються та стають складнішими в процесі витримки.

Територія виробництва коньяку була визначена в 1909 році, а шість виноробних зон для виробництва коньяку були створені в 1938 році. Щоб виробити літр коньяку 70% об., потрібно приблизно 10 літрів вина. Вино проходить подвійну дистиляцію в традиційному мідному дистиляторі Шаранте, а одержане о-де-ві витримується протягом багатьох років виключно у французьких дубових бочках з Тронсе або Лімузен. Спочатку бренді використовувався в лікувальних цілях, але став розкішним напоєм, яким насолоджувалися королівські особи та заможні суспільства. Термін «бренді» походить від голландського слова «*brandewijn*», що означає «палене вино».

Технологія виробництва. Виробництво починається з бродіння вина або фруктового соку. Потім рідину переганяють і витримують у дерев'яних бочках, часто дубових, що надає виразного характеру та смаку. Коньяк і арманьяк з Франції є яскравими прикладами, кожен з яких має свої регіональні та виробничі

правила. Процес витримки, який може тривати від кількох років до кількох десятиліть, відіграє вирішальну роль у розвитку насичених та нюансованих смаків алкоголю.

Популярні бренди та етикетки: серед відомих брендів у світі бренди – Hennessy і Rémy Martin для коньяку та Delord і Larressingle для арманьяку. Ці бренди підкреслюють різноманітність та елегантність коньяку, пропонуючи варіанти, які задовольняють різноманітні смаки та уподобання. Серед інших відомих згадок – Martell і Courvoisier, відомі своєю винятковою якістю та спадщиною.



Рис. 11. Популярні бренди бренді [12]

Отриманий з вина або ферментованого фруктового соку, бренді пропонує насичений, м'який смак і складні смаки. Бренді віддають перевагу як дигестиву після обіду або в класичних коктейлях, таких як Sidecar і Brandy Alexander.

5.2.8. Коньяк: французька елегантність

Коньяк, вид бренді, виробляється в регіоні Коньяк у Франції та відомий своїм розкішним і вишуканим характером.

Історичний контекст: історія коньяку тісно пов'язана з розвитком дистиляції в регіоні Коньяк протягом 16 століття. Він став популярним у дворах Європи і залишається символом розкоші.

Технологія виробництва. Коньяк виготовляється з певних сортів винограду, в першу чергу з Уні Блан. Вино двічі переганяють у мідних перегінних кубах і витримують у бочках з французького дуба, що надає складні смаки та м'який смак. Процес старіння ретельно контролюється, спирт класифікується на різні сорти, такі як VS, VSOP і XO, залежно від тривалості старіння.

VS – Very Special. Напій називають «дуже особливим». Це наймолодший коньяк, який відповідає трьом зіркам, або Trois Etoiles. Він має приємний м'який смак та аромат, бурштиновий колір. Витриманий упродовж двох із половиною років.

VSOP – Very Superior Old Pale. Це середній віковий тип напою. Назва перекладається «дуже особливий, старий та блідий». Спирт витримується в дубовій бочці не менше ніж 4 роки. Має велику популярність завдяки гарному співвідношенню ціни та якості. У смаку переважають мускатні нотки, коньяк рекомендований для особливих подій.

XO – Extra Old. Особливий напій, який має багато шанувальників. Назва означає «дуже старий». Для створення такого алкоголю використовують спирти, витримані понад шість років. Зрілість напою гідна уваги справжніх гурманів. Коньяк має досить м'який та збалансований смак, в якому відсутні сторонні домішки, а також тривалий приємний післясмак. Відрізняється витриманим насиченим ароматом. Продукція з довшою витримкою, на думку професіоналів, не потребує класифікації, тому що більші терміни не впливають на купажування.



Рис. 12. Популярні бренди коньяків [13]

Популярні бренди та етикетки: серед відомих брендів коньяку Hennessy, Rémy Martin, Martell і Courvoisier.

5.2.9. Арманьяк: сільський бренд

Арманьяк – ще один вид французького коньяку, що виробляється в регіоні Арманьяк. Він відомий своїми міцними і земляними смаками.

Історичний контекст: арманьяк передує коньяку, його виробництво датується 14 століттям. Він має відому історію та залишається цінним духом у Франції. Арманьяк – найстаріший винний напій, виготовлений на південному заході Франції, в самому серці Гасконі. Отриманий дистиляцією білого вина в «безперервному» дистиляторі арманьяку і витриманий протягом багатьох довгих років у дубових бочках перед продажем, він поставляється у вигляді купажів (виготовлених з кількох eaux de-vie з різних урожаїв) або як урожай, який є специфічним для арманьяку (одного року врожаю).

Eau de vie – «вода життя» – це прозорий безбарвний фруктовий бренд, який виготовляється шляхом

бродіння та подвійної дистиляції. Смак фруктів зазвичай дуже легкий.

Технологія виробництва. Арманьяк, як правило, переганяють один раз у перегінній колоні, що зберігає більше оригінальних смаків вина. Він витримується у бочках з французького дубу, з часом розвиваючи глибокі та складні смаки.



Рис. 13. Популярні бренди арманьяка [14]

Популярні бренди та етикетки: серед відомих виробників арманьяку Delord, Larressingle і Château de Laubade.

5.2.10. Кальвадос

Один з кращих кальвадосів у світі, який втілює в собі справжній яблучний дух - це Calvados Selection Coeur de Lion.

Технологія виробництва. Для його виробництва яблука збирають, струшуючи плоди в ємності під яблунями. Потім ці яблука збирають вручну, проводячи при цьому сортування. Далі кращі з кращих плоди потрапляють в ємність з потужною теркою і гідравлічним пресом. Терка подрібнює плоди на

рівні частини, які потім залишають на кілька годин для розм'якшення. Тільки після цього з яблук починають віджимати сік. Потім кальвадос заливається в дубові бочки, і піддається процесу старіння. Спиртові пари, властиві молодим спиртам, з часом випаровуються через пори деревини, а витриманий кальвадос набуває тіло, колір і аромат бочки. Використовуються невеликі бочки об'ємом 240 літрів, що забезпечує хорошу циркуляцію повітря.

Колір. Кальвадос володіє туманним медовим кольором. Аромат: Свіжий букет дарує тони стиглих яблук, соковитого лимона, гіркого мигдалю, м'яких груш, стиглого кавуна, свіжоскошеної трави і бджолиного воску.



Рис. 14. Популярні бренди кальвадосу [15]

Смак. Чистий і гладкий смак дарує нотки ароматної кориці, пряних спецій, стиглих яблук з приємним післясмаком яблуневих кісточок і перцю. З чим поєднується: Кальвадос чудовий як аперитив, в чистому вигляді або з льодом, але також він стане відмінною основою для коктейлів. Коли Крістіан Друен купив ферму у Конвілі, він вирішив використовувати місцеві яблуневі сади для створення мега-якісного і найкращого кальвадосу. Так, і у нього це вийшло, адже сьогодні господарство Christian Drouin є одним з найвідоміших виробників кальвадосу у Франції. Розташоване воно біля дуже красивого французького містечка Пон-л'Евек в Нижній Нормандії. Серцем виробництва є масток Cœur de

Lion, оточений яблучними садами: багато дерев були посаджені у 1991-1993 роках і не можуть повністю забезпечувати виробництво, тому відсутня сировина постачається з сусідніх володінь. Клімат цієї місцевості дуже суворий, що унеможливує вирощування винограду. Але для яблунь це місце просто ідеальне. Тутешні фруктові сади дійсно унікальні, оскільки складаються з 30 різних сортів яблук з низькою врожайністю, які були спеціально виведені для виробництва сидру і кальвадосу. В даний час компанією керує третє покоління родини в особі Гійома Друена, який слідуючи сімейним традиціям, виробляє один з кращих кальвадосів у світі.

5.2.11. Піско: південноамериканський бренді

Pisco – це виноградний бренді, який виробляється в Перу та Чилі, відомий своїми унікальними методами виробництва та яскравими смаками.

Історичний контекст. Піско виробляють у Південній Америці з 16 століття, і Перу та Чилі стверджують, що це національний спиртний напій. Він має багате культурне значення в обох країнах.



Рис. 15. Популярні бренди піско [16]

Технологія виробництва. Піско виготовляється шляхом дистиляції ферментованого виноградного соку в чистий спирт. Він зазвичай не витримується в дереві, зберігаючи свіжий і фруктовий характер винограду. Існує кілька видів піско, зокрема піско пуро, виготовлене з одного сорту винограду, і піско ачолардо, суміш різних сортів винограду.

Популярні бренди та етикетки: відомі бренди піско включають Pisco Portón з Перу та Capel з Чилі.

5.2.12. Аквавiт: скандинавський дух

Аквавіт, традиційний скандинавський спиртний напiй, відомий своїм характерним смаком кмину та кропу.

Історичний контекст: Аквавіт виробляється в скандинавських країнах з 15 століття. Його традиційно споживають під час святкових заходів і є невід’ємною частиною скандинавської культури.

Технологія виробництва. Aquavit виготовляється шляхом дистиляції зерна або картоплі, а потім наповнювання спирту сумішшю трав і спецій, з домінуючим ароматом кмину. Його часто витримують у дубових бочках, що додає глибини та складності.



Рис. 16. Популярні бренди аквавіту [17]

Популярні бренди та етикетки: відомі бренди aquavit включають Linie з Норвегії та Aalborg з Данії.

Світ алкогольних напоїв – це яскравий і різноманітний ландшафт, що пропонує безліч смаків, історій і культурних значень, які охоплюють континенти та століття. Разом вони утворюють багатий гобелен, який не тільки радує смак, але й пов’язує нас з історіями та традиціями їхнього походження. Це більше, ніж просто напої; це свято людської винахідливості, культури та невпинного прагнення до смаку. Незалежно від того, чи насолоджуються ви в чистому вигляді, на скелях чи як частина ретельно створеного коктейлю, кожен алкоголь пропонує подорож у часі та географії, запрошуючи ентузіастів дослідити та оцінити величезний та чудовий світ дистильованих спиртних напоїв.

5.2.13. Медовуха як продукт бродіння медового сусла

Медовуха – це традиційний алкогольний напій, який одержують шляхом бродіння медового сусла і широко виробляють в домашніх умовах та/або на невеликих підприємствах. Різні види медовухи можна розрізнити за співвідношенням меду та води, додаванням спецій та/або фруктів та способом приготування сусла. Споживання медовухи набуло популярності в Європі завдяки наявності в ній натуральних і високоякісних сполук. Як наслідок, виробництво медовухи помітно зросло за останні роки, і все більше уваги приділяється покращенню її виробничих параметрів.

Смак медовухи в основному залежить від сорту меду, який використовується для бродіння, а аналіз ароматичних речовин є одним із найважливіших критеріїв оцінки якості медовухи. Крім того, наявність гідроксиметилфурфуролу, одного з основних *продуктів реакції Майяра*, і фенольних сполук пов’язана з типом використовуваного меду. Крім того, *антиоксидантна активність* медовухи значною мірою корелює з типом і кількістю меду, який використовується для приготування медовухи.

Медовуха, також відома як метеглін, гідромель, агуаміель, медовуха та огол, вона не є легкодоступним у продажу. Це ферментований алкогольний напій, що складається із суміші меду та води. Хоча виробництво медовухи датується 7000 роком до нашої ери і є одним із найдавніших алкогольних напоїв в історії людства.

Оскільки мед містить високий вміст фруктози та глюкози (від 32% до 42% фруктози), його потрібно розбавити перед бродінням. Звичайне співвідношення меду та води для бродіння медовухи включає 1:0,5, 1:1, 1:2 та 1:3, що впливає на час бродіння та кінцевий склад продукту. Частка меду значно відрізняється в різних рецептах медовухи. Процес бродіння меду зазвичай триває довше, ніж у більшості алкогольних напоїв, і часто триває кілька місяців. Виробництво медовухи також пов'язане з типом меду, складом і штамом дріжджів. Різні види медовухи можна готувати, змінюючи співвідношення меду, води і точку закінчення бродіння. Вона може бути сухою і легкою, схожою на традиційне виноградне вино, або солодкою і густою, як десертне вино. Тривале бродіння під час розливання в пляшки може дати ігристу медовуху, схожу на ігристе біле вино. У деяких випадках під час ферментації додають трави (гвоздику, корицю, мускатний горіх, орегано, ромашку та лаванду) або фрукти (ожину, полуницю та малину), що надає унікального смаку.

Якість медовухи оцінюють за кольором, ароматом і смаком. Колір є однією з найважливіших характеристик, які сприяють зовнішньому вигляду напою і включає водно-білий, надзвичайно білий, білий, надзвичайно світло-бурштиновий, світло-бурштиновий, бурштиновий і темно-бурштиновий. Медовуху часто виготовляють із використанням меду більш світлого кольору, оскільки темніший мед має неприємний смак після бродіння.

Дріжджовий консорціум (*Saccharomyces cerevisiae*), виділений із шкірки ананаса, показав $75,13 \pm 9,16$ Од/мл β -фруктозидазної активності під час бродіння, що було на 20,05% вище, ніж у комерційних пивних дріжджів, тоді як толерантність до етанолу 12% також вказує на їх потенціал для виробництва медовухи. Ферментація, як правило, передбачає інокуляцію відповідної кількості

дріжджів у розбавлений мед при pH 2,5–6 і 18–30 °C і різний час бродіння. Перед бродінням мед можна пастеризувати та повністю ферментувати за допомогою інокульованих дріжджів (Morales et al., 2013). Традиційне бродіння медовухи передбачає інокуляцію дріжджів безпосередньо в розчин для бродіння, що є простим методом для використання вдома та в невеликих майстернях. Дослідження показали, що іммобілізація дріжджів не впливає на їх життєздатність. Іммобілізовані дріжджі відрізнялися від вільних дріжджів метаболізмом, виробляючи менше етанолу, але виробляючи більше ароматичних сполук. Хоча використання іммобілізованих дріжджів може не сприяти бродінню медовухи, варто дослідити проблеми, пов'язані з виробництвом і витратами.

Під час виробництва медовухи зазвичай додають вітаміни, мінерали, азотні добавки та фактори росту, що сприяє прискоренню процесу бродіння. Зокрема, бродіння конюшинового меду відбувається повільно або взагалі не відбувається без факторів росту. Усі види меду можна ферментувати шляхом додавання факторів росту. Рівень pH ферментаційної рідини можна контролювати шляхом додавання органічних кислот, таких як тартарат калію та яблучної кислоти, тоді як додавання 300 мг/л та 1,015 г/л діамонійфосфату може регулювати вміст азоту, що засвоюється у ферментаційній рідині, і зменшити час бродіння від 25 д до 14 д і 11 д відповідно. Діамонійфосфат також сприяє катаболізму цукру та виробленню більшої кількості ароматичних сполук.

Катаболізм, дисиміляція, енергетичний обмін – процес метаболічного розпаду, розкладання на простіші речовини або окиснення якої-небудь речовини, що зазвичай протікає з вивільненням енергії у вигляді тепла і АТФ. Катаболічні реакції лежать в основі дисиміляції: втрати складними речовинами своєї специфічності для даного організму в результаті розпаду.

Характерний смак більшості медовух залежить від типу меду, тоді як додаткові інгредієнти можуть збільшити кількість ароматичних молекул. Хоча

дріжджі генерують багато метаболітів, таких як органічні кислоти, різні спирти, ароматичні спирти, складні ефіри, карбонільні групи та різні сірковмісні сполуки під час процесу бродіння, які сприяють аромату меду, також утворюється кілька небажаних речовин, що сприяють смаку, у тому числі дуже леткі. кислоти та небажані складні ефіри. Ферментована медовуха та інші високоякісні ферментовані медові продукти демонструють значний потенціал розвитку.



Рис. 17. Кращі бренди медовухи [18]

Мед сягає своїм корінням у міфи та звичаї багатьох культур. У скандинавській міфології Один пив мед, щоб отримати мудрість. У стародавніх кельтів мед вважався священним напоєм і використовувався в релігійних обрядах. У середньовічних королівських дворах мед був знаком процвітання, його подавали на бенкетах і святах. Навіть сьогодні мед все ще відіграє важливу роль у деяких культурах, наприклад, на традиційних весіллях в Ефіопії.

Культурне значення медовухи відображено в численних легендах і переказах, які оспівують її магічні та цілющі властивості.

5.3. Особливості процесів бродіння суслу у виробництві горілки і джину

Спиртні напої, такі як горілка і джин, часто виготовляються на основі нейтральних спиртів. Ці нейтральні спиртні напої отримують шляхом перегонки ферментованих вуглеводів сільськогосподарського походження. Про бродіння у виробництві цих напоїв не часто повідомляють у деталях і до певної міри оповиті таємницею. Роль бродіння та дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* необхідні для повного процесу, і без бродіння не було б алкоголю для перегонки. Тим не менш, вважають, що не тільки відомі дріжджі сприяють відмінному споживчому досвіду, які асоціюються з цими напоями. Однак, з метою подальшого розвитку існують нові штами *S. cerevisiae* для виробництва нейтральних спиртів, які мають високий вихід етанолу, є стійкими до етанольного стресу та виробляють низькі рівні конгенерів.

Алкоголь містить сотні різних хімічних сполук, які надають цим напоям їх смак та аромат. Одним із ключових компонентів є етанол, хімічна речовина, яка виробляється в процесі дистиляції та ферментації. Ці процеси також створюють побічні продукти, звані конгенерами, які включають такі хімічні речовини, як:

- метанол: розкладається на формальдегід та мурашину кислоту (найбільша кількість міститься у темних лікерах);
- фурфурол: зупиняє метаболізм дріжджів;
- таніни: містять антиоксиданти (значною мірою містяться у вині);
- сивушні олії: синтезуються у процесі бродіння спиртних напоїв;
- ацетальдегід: токсична речовина, яка є побічним продуктом розпаду етанолу.

Вважається, що конгенер є причиною похмілля. У судовій токсикології ці сполуки є основою аналізу алкоголю, який визначає, який алкогольний напій вживав досліджуваний.

У всьому світі обидві групи напоїв зазвичай виробляються з використанням нейтрального спирту (етанолу) з ряду сільськогосподарської сировини. Більшість виробляється з пшениці, кукурудзи та патоки. Менший обсяг виготовляється з інших матеріалів, наприклад ячменю, рису, фруктів, включаючи виноград, картоплі, і, що ще незвичайно, сироватки. Використання якісної сировини для бродіння матеріал є важливим аспектом якого є низький рівень мікробного забруднення.

Забруднювачі впливають на ефективність бродіння на шкоду кінцевому етанолу. Уся ця сировина забезпечує необхідні вуглеводи для бродіння. Цю сировину обробляють, щоб отримати поживну речовину і багату вуглеводами рідину, яку в дистиляції часто називають «суслим». У це суслим додають дріжджі, і, після невеликої затримки почнеться бродіння. Коли бродіння завершується, суслим переганяється в безперервній системі, що працює між двома та п'ятьма колонами, кожна з яких видаляє різні небажані летючі компоненти. Точна кількість колон залежить від лікєро-горілочних заводів. Дистиляція в колоні дає дистилят з приблизно 96% спирту за об'ємом з дуже низькими концентраціями летючих речовин.

Якщо нейтральний спирт (етанол) від бродіння використовуватися для виробництва горілки, тоді наголос робиться на обробці спирту, щоб видалити якомога більше летючих конгенерів настільки, наскільки це можливо, що виробляє спирт майже без запаху. Якщо нейтральний спирт використовується для виробництва джину, рослинні продукти необхідно використовувати для надання смаку, аромату і іноді кольору до кінцевого продукту. Після завершення обробки спирт розбавляють водою високої чистоти, демінералізованою, стерильною, деаерованою для досягнення цільової міцності алкоголю. Наприклад, горілку слід розливати з кінцевою концентрацією алкоголю не менше 37,5% об. У деяких країнах додавання показників автентичності

(гліцерин, підсолоджувачі, пропілен гліколь) необхідне як засіб ідентифікації на ринку.

На часто переповненому ринку виробники джину та горілки спробували створити диференціації шляхом впровадження інноваційних аспектів у свої нові продукти. Це включає використання нові джерела зброджуваних вуглеводів. Найпоширенішими джерелами вуглеводів є злаки, такі як кукурудза і пшениця. Ці крупи потребують термічної обробки (клейстеризації крохмалю) перш ніж їх можна буде обробити для отримання необхідної багатой вуглеводами рідини для бродіння. Використання екзогенних ферментів (альфа-амілаз, аміло-глюкозидаз, протеаз, целюлаз, глюканаз, і ксиланази) для виробництва нейтрального спирту дозволено законодавством, яке контролює його виробництво. Етапи обробки, яким піддається сировина, перетворюють довгий ланцюг полімерів (крохмаль) на менші мономері, які пізніше можуть бути використані дріжджами під час бродіння для виробництва етанолу, вуглекислого газу, інших метаболітів і деякої кількості дріжджової біомаси. Ферменти які можуть бути використані для цієї функції, походять від грибів або бактерій і повинні бути нетоксичними виготовлені за міжнародними стандартами якості.

Найефективнішим способом бродіння для виробництва нейтрального алкоголю є використання безперервних або каскадних систем бродіння, що дає можливість максимально збільшити продуктивність виробництв. Завдання, яке постає перед виробниками, полягає в забезпеченні хорошого мікробіологічного контролю, оскільки забруднення дикими дріжджами та молочнокислими бактеріями може спричинити значні проблеми. Ці мікроорганізми можуть перевершити культивований штам дріжджів, швидко споживати присутні вуглеводи, демонструвати коротші фази затримки та час клітинного поділу та відображати більшу толерантність до стресових умов. Перевага використання каскадного бродіння система полягає в тому, що вона дозволяє дріжджам ефективніше боротися з осмотичним стресом, що в цілому збільшує рівень етанолу, який можна отримати з доступного цукру. Велика частина досліджень, пов'язаних із певними спиртними напоями, такими як горілка, була зосереджена

на максимізації потенціалу сировини, використанні альтернативної сировини і розвитку новітніх процесів для видалення будь-яких конгенерів, які інакше могли б вплинути на аромат і смак кінцевого продукту.

Бродіння відбувається при високій або дуже високій щільності сусла, що позитивно сприяє екологічній стійкості промисловості через скорочення енергії та води. При використанні зерна (пшениці або кукурудзи), як джерела вуглеводів для подальшого бродіння, часто використовують штам *S. cerevisiae* 'M'. Фактично, процеси бродіння для виробництва нейтрального спирту для горілки чи джину будуть подібними і часто ідентичними тим, які використовуються у виробництві спирту.

Метаболічні реакції, що відбуваються в дріжджовій клітині під час бродіння, не обмежуються виробництвом етанолу і вуглекислого газу. У той же час інші біосинтетичні шляхи всередині клітини сприяють виробленню побічних продуктів свого метаболізму, включаючи сполуки, що сприяють загальному духу, смаку і аромату. Вважається, що в сирому спирті міститься понад 200 різних летючих сполук найбільшими групами з яких є складні ефіри (етилкові ефіри жирних кислот і ацетатні ефіри) і вищі спирти, а також було ідентифіковано фурани, сполуки сірки, похідні бензолу та терпеноїди в досліджуваних спиртах-сирцях. Останнім часом має місце розвиток чутливих аналітичних методів що дозволило ідентифікувати таку кількість сполук у сирому спирті.

Попереднім кондиціонуванням дистиляторів було доведено, що дріжджі (штам M) негативно впливають на виробництво летких ефірів. Це свідчить про те, що можливо знизити рівні деяких летючих конгенерів шляхом адаптації умов навколишнього середовища, яким дріжджі були піддані перед бродінням. Однак, враховуючи ефективність фільтрації, яка вже використовується для видалення конгенерів особливо для горілки, ця розробка, швидше за все, буде використана у виробництві інших дистильованих напоїв спиртні напої, таких як віскі, бренді, і рому.

Завдяки широкому асортименту сортів і штамів дріжджів, які використовуються для виробництва етанолу сільськогосподарського походження, неминучими також будуть варіації в механізмах поглинання цукру цими дріжджами. Наприклад, було висловлено припущення, що дріжджі «М» не виявляють репресії глюкози над поглинанням мальтози з промивання при ферментації зерна. Інше дослідженнями показано вплив додавання цукрози до бродіння картопляного крохмалю. Ці досліді визначили – це збільшило рівень метанолу, присутнього в сирому спирті, який вимагає видалення (за допомогою колони деметилзації) до того, як кінцевий продукт буде готовий до пакування.

Дріжджі дистиляторів можна спостерігати, як у промисловому, так і в лабораторному бродінні. Проте ці зміни неможливо було повністю візуалізувати та інтерпретувати; вважалося, що зменшення мембрани потенціал і низькі рівні аденозинтрифосфату (АТФ) могли бути причиною, що спостерігалось зменшенням розміру клітин і розвитком зернистості в клітинах під час спиртового бродіння.

5.3.1. Вибір та покращення штаму дріжджів

Часто вказується, що бажані характеристики дріжджів для ефективного бродіння включають утилізацію вуглеводів, швидкість бродіння, толерантність до алкоголю та стабільність культури. Нещодавно цей список був розширений покращенням загальної стресостійкості, що в кінцевому підсумку сприятиме зниженню потреб у воді та енергії. Ще бажано, щоб ці штами дріжджів раніше продукували низькі рівні летючих конгенерів щоб рівні небажаних ароматичних сполук зведені до мінімуму. Вважається, що основними цілями досліджень і розвиток має відбуватися навколо консистенції бродіння (виходу та життєздатності дріжджів) і що кінцеві дріжджі мають бути доступними у формі крему або рідини. На додаток до цих цілей запропоновано дослідити наступні додаткові бажані характеристики: антибактеріальні властивості, толерантність до вуглекислого газу, генетична стабільність, стійкість до механічного зсуву і

гідростатичного тиску, кислотостійкість, а також стійкість до стресу, пов'язаного з дегідратацією та регідратацією.

Генетично модифіковані штами *S. cerevisiae*, які можуть мати багато з цих ідеалізованих характеристики, вже могли існувати в дослідницьких лабораторіях по всьому світу. Це споживче сприйняття що лежить між цими штамами та їх комерційним використанням. Крім того, зараз є групи розробки синтетичних дріжджів у лабораторії де, зрештою, промисловість питного алкоголю може використовувати штами *S. cerevisiae*, сконструйовані відповідно до вимог галузі та створення «ідеальних» перегінних дріжджів. Однак навіть якби це було реальністю, бар'єри, що оточують сприйняття споживачів все одно потрібно буде усунути. Дійсно, щоб переконати споживачів, що спиртні напої вироблено за участю генетично модифікованих дріжджів і були бажаним товаром, слід вимагати від споживача сприйняття прямої користі такого досвіду відповідного продукту. Усі цілі перераховані як бажані цілі для ідеальної дистиляції, штама дріжджів базується на потребах дистилятора, а не споживача. Тому більше для досягнення загального сприйняття споживачів буде потрібно переконання.

Успішне виробництво нейтрального спирту (етанолу) та його вплив на загальну ефективність цього процесу є важливим. У той час як смаки, отримані від метаболізму дріжджів, важливі для багатьох інших спиртних напоїв, таких як віскі, ром і бренді. Маркери, які використовують дослідники, відрізняються між сировиною Для виробництва спирту-сирцю використовуються ті сполуки, які виробляються дріжджами під час бродіння. Тому можна сказати, що з точки зору ідентифікації і навіть можливої автентичності, ці відмінності можна використати. Враховуючи ці фактори, можна стверджувати, що споживачі частіше за все можуть не звертати уваги на такий компонент як дріжджі при виробництві джину та горілки. Без активності дріжджів під час бродіння не було б спирту для перегонки в сирий спирт, який має бути у подальшому перероблено на джин або горілку. Внесок окремих штамів *S. cerevisiae* на сьогоднішній день є областю, яка досліджена повністю. Існують можливості для подальших досліджень у цій галузі, особливо якщо це можливо грати роль у підтвердженні

автентичності бренду. Також можуть бути можливості для розвитку нових штамів у виробництві нейтральних спиртів, які мають високий вихід етанолу, толерантні до самого етанолу та відображення інших стресів, пов'язаних з параметрами бродіння, які створюють низькі рівні конгенери смаку.

Можливості також можуть базуватися на розробці технології оцінки дріжджів забезпечують дослідників і винокурів розуміння штамів дріжджів, доступних на даний момент. Це дозволить більш обґрунтовано вибрати правильний сорт для цієї мети. Для того, щоб досягнути цих цілей, а також створення «ідеальних дистиляційних дріжджів» фахівці та наукове співтовариство мають співпрацювати напружено і продуктивно для досягнення такої мети.

5.4. Деревина у виробництві лікєро-горілочних виробів

Смак і аромат більшості алкогольних напоїв залежить від багатьох факторів, у тому числі кліматичних і ґрунтових умов, виду дріжджів, що використовуються для бродіння, якості сировини, що піддається зброджуванню, технології виробництва напою. Побудова сенсорних характеристик алкогольних напоїв насправді полягає в отриманні різноманітних бажаних хімічних сполук. Ці сполуки походять з різних стадій виробництва лікєру, але важливо, щоб вони були отримані в правильних пропорціях. Одним із етапів формування смакових компонентів є дозрівання алкогольних напоїв у дерев'яних бочках із різних порід дерева. Найчастіше бондарями користуються французькі та американські сорти дуба. На сьогоднішній день основною метою використання деревини у виробництві алкогольних напоїв є вилучення сполук із структури деревини, які потім впливають на оригінальні сенсорні характеристики напою. Під час дозрівання напоїв у присутності обраної породи деревини відбувається ряд хімічних реакцій між інгредієнтами самих напоїв і сполуками, витягнутими з деревини, які впливають на комплексність аромату алкогольних напоїв.

Алкогільні напої вироблялися людиною з давніх часів і були відомі в усіх цивілізаціях. Спочатку люди виготовляли лише негарантовані напої, переважно пиво та вино. Для бродіння, дозрівання та зберігання найчастіше використовувалися амфори та глиняні глєки, але через велику вагу та непостійність їх замінили технічно досконалішими дерев'яними бочками. Початки виробництва бочок сягають понад 2000 років. Спочатку бочки виробляли переважно в північних частинах Європи, де кліматичні умови перешкоджали використанню глини як сировини для виробництва банок та інших посудин, які спочатку використовувалися у виробництві алкогільних напоїв. У перші століття нашої ери деревина не розглядалася виробниками алкогільних напоїв як джерело цікавих і цінних хімічних сполук, які формували смак і аромат напоїв. Бочки, через їх довговічність і відносно легку доступність, розглядалися лише як посудини для виробництва та транспортування алкогільних напоїв. З 5 століття нашої ери основною сировиною для виробництва бочок була деревина дуба завдяки її міцності, гнучкості, легкості обробки та відносно низькій газо- та рідинопроникності порівняно з іншими видами деревини. Висока доступність дуба в околицях пивоварень і виноробень також сприяла його використанню бондарями.

5.4.1. Сучасне використання деревини у виробництві лікєро-горілочаних виробів

Початкове використання дерев'яних бочок, тобто виробництво, зберігання та транспортування напоїв, зараз значно обмежено. Нині для цих цілей використовують резервуари та ємності з кислототривкої сталі, а деревину в основному використовують як фактор підтримки сенсорних якостей (аромату, смаку, кольору) алкогільних напоїв. Основною метою використання деревини в технології бродіння є підвищення якості напоїв, отриманих шляхом екстрагування сполук, що містяться в ній. Використання дерев'яних бочок також сприяє реакціям мікроокислення, пов'язаним з дифузєю кисню через пори

деревини. Ці реакції істотно впливають на кінцеві сенсорні та ароматичні властивості алкогольних напоїв.

В даний час дерев'яні бочки використовуються на стадії дозрівання відбірних алкогольних напоїв, які характеризуються дуже високою якістю і зазвичай унікальними сенсорними властивостями. Цей етап в основному пов'язаний з виноградними винами та дистильованими напоями, такими як віскі, бренді або коньяк. Для обраних алкогольних напоїв необхідно використовувати тільки нові бочки, що забезпечують високий ступінь вилучення ароматичних сполук. Інші напої, такі як коньяки або віскі, вимагають використання бочок, в яких раніше витримувались вина. Однак поверхня контакту напою з деревиною під час витримки в бочці не велика, що значно подовжує тривалість процесу. Це, в свою чергу, також пов'язане з великими втратами напоїв, особливо дистилатів, через їх випаровування крізь пори деревини бочки. Тому для дозрівання алкогольних напоїв все частіше використовують тріску або дерев'яні клежки. Відмова від бочок на користь деревної тріски в основному пов'язана з економічними аспектами. Виробнича ціна тріски в рази нижча порівняно з ціною бочок, частково через можливість використання у виробництві тріски менш цінних частин деревини, які не можуть бути використані у виробництві бочок.

У Регламенті Комісії (ЄС) № 606/2009 від 10 липня 2009 року зазначено, що для виробництва та витримки вина можна використовувати лише деревину дуба роду *Quercus*, підсмажену чи не підсмажену. Найчастіше вибираються види деревини для виробництва як бочок, так і деревної тріски – дуб і каштан, які схвалені для використання у виробництві вина OIV (Міжнародна організація винограду та вина). Основними видами, які використовуються у виробництві бочок, є *Quercus alba*, *Q. garryana*, *Q. macrocarpa* та *Q. stellate*, які в основному використовуються в США, тоді як у Європі використовуються такі види: *Quercus petraea*, *Q. robur*, *Q. cerris*, *Q. suber* і *Q. lyrata*. Щепу також виробляють з інших порід деревини, наприклад, *Robinia pseudoacacia*, *Prunus avium* L., *Castanea sativa*, *Fraxinus excelsior* L., *Fraxinus americana* L., але її використання для промислового виробництва деяких напоїв не допускається.

5.4.2. Ароматичні сполуки, які природно присутні в деревині

Деревина дуба Quercus, яка використовується для виробництва бочок і деревної тріски, складається з 45% целюлози, 25% геміцелюлози і 20% лігніну. Решта 10% деревини складається з невеликої кількості неорганічних сполук і найцінніших з точки зору виробництва алкогольних напоїв речовин, виділених з деревини в процесі дозрівання, які надають напоям неповторний аромат, смак і колір. Ці екстрактивні речовини включають летючі та нелеткі стероїди, складні ефіри, спирти, терпени, терпеноїди, лактони та феноли.

Деревина, залежно від породи та виду обробки, якій вона піддавалася під час виробництва бочок чи чіпсів, характеризується широким спектром сполук, які можуть впливати на якість напоїв, виготовлених з її використанням. Деревина є багатим джерелом фенольних альдегідів, летючих фенолів і фенольних кетонів, і їх концентрація залежить від рослинного походження, ступеня підсмажування (випалення) і частини дерева, з якої воно походить. Ці поліфеноли в основному поділяються на три групи: фенольні кислоти, летючі феноли та елагітаніни. За своїм походженням фенольні кислоти поділяються на похідні бензойної кислоти (такі як галова, сиренгієва, саліцилова та ванілінова кислоти) і коричної кислоти (наприклад, кавова, ферулова та синапова кислоти). З ботанічної точки зору поліфеноли, що містяться в деревині дуба, виконують фізіологічні функції, наприклад, беруть участь у захисних механізмах від ультрафіолетового випромінювання або шкідливих патогенів. Однак у контексті виробництва алкогольних напоїв вони відіграють вищу роль у створенні бажаних сенсорних характеристик.

Низькомолекулярні феноли відповідають, серед іншого, за надання кольору, гіркоти та терпкості напоїв, вони також збільшують антиоксидантний потенціал напоїв. 4-Вінілфенол був знайдений в дубі і надає алкогольним напоям аромат, описаний як «стабільний» і «лікарський». У свою чергу, 4-етилфенол, інший похідний фенолу, знайдений в дубі, мав конячий, шкіряний і пітливий

сідлоподібний аромат. Гваякол і 4-метилгваякол, які мають димний і пряний аромати, мають нюховий поріг 25 і 65 мкг/л відповідно. 4-ethylguaicol з нюховим порогом 33 мкг/л також сприяє прямим, підсмаженим і димним ароматам. Vinylguaicol, з нюховим порогом виявлення 40 мкг/л, сприяє пряному, гвоздичному та дубовому ароматам.

Елагітаніни – це група сполук, які виконують захисні функції в деревині. Їх вміст у сухій речовині дуба може досягати 10%. Вони надають деревині відповідної твердості та обмежують дію шкідливих мікроорганізмів. Крім того, серед фенольних сполук вони найлегше екстрагуються алкогольними напоями в процесі їх дозрівання.

Касталагін і вескалагін – це елагітаніни, які найбільш поширені в деревині дуба, і їх вміст може коливатися від 40 до 60% від ваги всіх елагітанінів.

Існують також численні похідні ліксози/ксилози, такі як грандінін і робурин Е, а також димерні форми, тобто робурин А, В, С і D. Елагітаніни належать до сполук деревини дуба і завдяки своїй антиоксидантній активності впливають на показники якості напоїв. Їх кількість у деревині залежить головним чином від географічного походження, віку, породи та місця відбору.

Породи дуба, які найчастіше використовуються у виробництві бочок, включають *Quercus alba*, *Quercus robur* і *Quercus petraea*, однак саме французький сорт (*Quercus robur*) має найвищий вміст елагітанінів. Елагітаніни, що містяться в деревині, відповідають за терпкість і гіркоту напоїв, виготовлених з неї. У разі терпкості вони демонструють низький поріг сенсорного сприйняття людиною на рівні 0,2–6,3 мкмоль/л, що пов'язано з їхньою просторовою структурою. Відчуття терпкості, викликане елагітанінами, відрізняється від відчуття, викликаного флаванолами; він описаний як більш м'який, менш виразний і довше зберігається в роті.

З сенсорної точки зору, найважливішими сполуками, знайденими в деревині, є лактони, головним чином *цис*- і *транс*- форми β -метил- γ -октолактону, які відповідають за аромати кокоса та дерева. Лактони мають значний сенсорний ефект на алкоголі, витримані на дереві, наприклад, бренді та

віскі; отже, їх часто називають лактонами віскі. Деревина дуба також є джерелом інших лактонів, включаючи γ -октолактони, γ - і δ -ноналактони та γ -декалактони з ароматом персика.

Як згадувалося раніше, деревина дуба в основному використовується для виробництва алкогольних напоїв, але також використовуються інші породи деревини, крім дуба, наприклад, каштан (*Castanea sativa*), акація (*Robinia pseudoacacia*) або вишня (*Prunus avium*). Порода деревини, яка використовується, а також її походження значною мірою впливають на склад деревини, а отже, на кількість і профіль сполук, які формують аромат алкогольних напоїв.

Було витримано деревину на відкритому повітрі протягом 24 місяців. Така деревина є хорошим матеріалом для виробництва пізніших обпалених бочок і різних форм деревної тріски, обсмаженої різним ступенем. Літературні дані показують велику варіацію вмісту сполук, що входять до складу деревини, що в основному пов'язано з її походженням. Різні породи дуба зазвичай багатші на летючі фенольні сполуки порівняно з іншими породами деревини. Серед цієї групи каштанове дерево виділяється багатим на евгенол і ізоевгенол. Лактони містяться тільки в деревині дуба. У деревині дуба і каштана переважають фуранові сполуки, фенольні альдегіди, фенольні кетони, дубильні та елагітаніни. Дерево вишні містить значно менше сполук, що впливають на аромат алкогольних напоїв, лише фенолкарбонові кислоти присутні у відносно високій концентрації. У деревині акації спостерігається дуже мало сполук, цінних з точки зору дозрівання алкогольних напоїв.

5.4.3. Ароматичні сполуки, що утворюються в результаті термічної обробки деревини

Підсмажування деревини є одним із процесів підготовки деревини при виробництві дубових бочок. Ця процедура надзвичайно інтенсивно впливає на якісні та кількісні зміни сполук, які можуть бути екстраговані під час дозрівання алкогольних напоїв. Підсмажування деревини збільшує кількість сполук, які

сприяють димному аромату напоїв. Це пов'язано з термічною деструкцією сполук, що містяться в деревині. Умови процесу підсмажування також мають значний вплив на розкладання компонентів деревини або утворення нових ароматичних сполук.

Залежно від використовуваної температури та часу її впливу ступінь підсмажування можна розділити на три рівні: слабе (легке) підсмажування, середнє підсмажування та сильне (високе) підсмажування. Легке підсмажування досягається шляхом термічної обробки деревини при приблизно 120 °C до 90 хв. У цих умовах поступово розкладаються лише лігніни та геміцелюлоза, а целюлоза не зачіпається зовсім. У разі середнього підсмажування температура не перевищує 230 °C, тоді як висока підсмажування досягається при температурі вище 230 °C протягом більше 15 хвилин. Обсмажування деревини зачіпає лише верхній шар деревини, що становить максимум 2 мм. Це пов'язано з поганою теплопровідністю деревини, тобто лише поверхневі шари деревини зазнають теплових змін. Більш глибокі шари деревини залишаються незмінними, а тому їх хімічний склад залежить тільки від природних властивостей деревини. Термічна обробка деревини призводить до ряду хімічних реакцій, в результаті яких утворюються численні леткі та нелеткі сполуки, які впливають на кінцевий аромат самої деревини і, як наслідок, на органолептичні характеристики напоїв, витриманих з використанням деревини.

Піроліз і гідротермоліз певною мірою відповідають за деградацію компонентів деревини, включаючи лігніни, геміцелюлозу та елагітаніни, які легко гідролізуються. У результаті термічного розкладання лігнінів і геміцелюлоз утворюються леткі феноли, фенольні альдегіди, кетони і кислоти, які при подальшій дегідратації перетворюються в лактони. Фенольні сполуки зазвичай надають напоям димний, деревний і ванільний смаки. З іншого боку, полісахариди виробляють фуранові сполуки, надаючи аромат смаженого мигдалю, горіхів, карамелі або хліба. Інтенсивність підсмажування деревини може впливати на вміст елагітанінів та їх структуру. Залежно від температури, яка використовується, ці сполуки будуть більш-менш розкладатися. Крім того,

при температурі підсмажування 165 °С похідне касталагіна, дегідрокасталагін, досягає максимального вмісту в деревині дуба, тоді як перевищення температури 190 °С викликає значне зниження. Найбільш поширеними леткими сполуками в обсмаженій деревині дуба є: 2-фуральдегід, 5-метилфурфурол, лактони віскі (в *цис*- і *транс*- формах), з меншою кількістю гваяколу, *n*-крезолу, евгенолу, *цис* - ізоевгенолу та ваніліну.

Підсмажування має значний вплив на елагітаніни, які природно присутні в дубовій деревині. Ця обробка, проведена при високих температурах, часто призводить до зниження вмісту цих сполук, хоча легкий і середній ступінь підсмажування деревини істотно не впливає на їх вміст. Крім того, дослідники вказують на те, що зразки, піддані інтенсивному підсмаженню, не містили робурин D і E. Високі температури підсмажування також збільшують вміст елагової кислоти в результаті термічної деградації елагітанінів. Крім того, висока температура обробки значно знижує антиоксидантну активність і здатність поглинати вільні радикали в досліджуваних зразках. У випадку з леткими сполуками спостерігалася протилежна тенденція, ніж у випадку з елагітанінами. Це може бути пов'язано зі збільшенням вмісту евгенолу і ваніліну в результаті термогідролізу лігнінів і генерації їх прекурсорів і окислення жирних кислот, які відповідають за збільшення вмісту лактонів віскі.

У свою чергу підсмажування деревини має найбільший вплив на фенольні сполуки. Застосування середнього ступеня підсмажування (30 хв, 160–170°C) призвело до збільшення вмісту фенольних альдегідів і кислот, а присутність гваяколу, диметоксифенолу та крезолу, що відповідають за аромат паленої деревини, був відсутній. Збільшення вмісту фенолів у деревині пояснюється утворенням коричних альдегідів і бензойної кислоти в результаті розпаду лігніну при температурах 120–165 °С. При більш високих температурах (165–195°C) ці сполуки термолізуються до фенолів. Термічна обробка негативно впливає на вміст терпенів і норизопреноїдів, що містяться в деревині. У досліджених чіпсах відзначено майже повне зникнення вмісту цих сполук і лише невелика кількість транс- β -іонону та воміфоліолу. Таким чином, підсмажування може значно

зменшити присутність квіткових і фруктових ароматів шляхом термічної деградації сполук, відповідальних за них. З іншого боку, кількість фурфуролу в деревині, який є продуктом розпаду геміцелюлози, що каталізується кислотами, збільшується з підвищенням температури процесу.

Результати деяких досліджень показують, що вологе підсмажування деревини також може впливати на утворення ароматичних сполук. Коли деревина не підсмажується вологим способом, висока температура значно підвищує концентрацію фурфуролу, гваяколу та ваніліну, тоді як вміст цих сполук нижчий у воді, змоченою деревиною. Вода може перешкоджати або затримувати процес термічної деградації деревних біополімерів і ліпідів. Було також зазначено, що якщо процес проводився при температурі вище 200 °C, вода стимулювала утворення фурфуролу та запобігала термічній деградації евгенолу, а також *цис*- і *транс*- форм лактонів віскі.

Також існує велика варіація вмісту сполук, що впливають на аромат алкогольних напоїв, залежно від походження деревини дуба. Показано, що під час підсмажування підвищується концентрація фурфуролу та його похідних гваяколу та 4-метилгваяколу, ваніліну. Кількість лактонів дуба різко зменшилася під час підсмажування, хоча лактони *цис*-дуба все ще залишалися високими для американського та французького дубів. Зменшення концентрації евгенолу виявлено також у зразках американського та французького дубів, але підвищення в угорських та російських дубах. На думку авторів, це могло бути викликано перегрівом зразків під час підсмажування. Проте концентрація ізоевгенолу зросла у всіх зразках.

5.5. Інноваційні технології використання деревини для надання якісних характеристик алкогольним напоям

Вина, витримані з використанням деревної тріски та оброблені ультразвуком (400 Вт, 24 кГц, 5–170 хв на тиждень), не показали статистично значущих змін у загальному вмісті поліфенолів, інтенсивності кольору або

летких кислот, але значні зміни у вмісті летких сполук спостерігалися; виявлено підвищення концентрації метанолу, пропан-1-олу, оцтової кислоти та більшості складних ефірів і зниження концентрації 2-метил-1-бутанолу, 3-метил-1-бутанолу та 2-фенілетанолу. Використання ультразвуку в діапазоні 6,3–25,8 Вт/л під час дозрівання модельного вина прискорює екстракцію поліфенольних сполук. Високі рівні ультразвуку повинні сприяти ультразвуковій модифікації складу вина, тому рекомендовано використовувати менші дози. Помічено прискорення вилучення компонентів з деревини каштана з дистиляту Ципуро, який був оброблений ультразвуком. Покращений колір і підвищена концентрація фенольних сполук також спостерігалися в оброблених ультразвуком сливових дистилятах. Ці зміни залежали від типу та дози деревної тріски, а також від умов дозрівання, наприклад, нагрівання при 35 °С. Ультразвук (40 Вт/л, 40 кГц, 6 хв/день), застосований для дозрівання бренді з середньо підсмаженими шматочками деревини, призвів до збільшення вилучення фенольних сполук на 33,9% після семи днів витримки.

У багатьох випадках намагаються скоротити час дозрівання алкогольних напоїв і знизити витрати шляхом заміни бочок деревною тріскою. Технікою переформулювання алкогольних напоїв може бути використання високого тиску. Вина з дубовою стружкою, піддані високому тиску (250–650 МПа), характеризуються вищою концентрацією поліфенолів і антоціанів і сильнішим антиоксидантним потенціалом, ніж контрольні зразки (без тиску). Однак було помічено, що вина з високим тиском характеризуються слабшим солодким і квітковим ароматом і сильнішим штучним смаком.

Інші дослідження повідомляють, що незначні зміни відбулися у фенольному складі та колірних властивостях червоних і білих вин відразу після обробки ННР. У червоному вині під тиском ці зміни проявлялися у зменшенні як загального, так і окремих фенольних сполук, у той час як усі параметри кольору збільшувалися. Крім того, застосовані обробки призвели до зниження вмісту фенолів у білому вині, за винятком збільшення деяких вільних фенольних кислот. Проте автори показали, що обробка вина за допомогою ННР допомогла

зменшити використання SO_2 у виробництві вина. Оброблено червоні вина тиском 500 МПа протягом 5 хв і 600 МПа протягом 20 хв. І показано вплив НРР на аромат і поліфенольний склад вин, але це спостерігалось лише після 5 місяців витримки. Зменшення вмісту мономерних антоціанів, фенолокіслот і флавонолів у червоному вині під тиском після 5 місяців зберігання було зумовлене посиленням реакцій конденсації та окислення цих сполук; також відбувалися реакції полімеризації та розщеплення проантоціанідинів. НРР потенційно може бути використаний як енологічна практика для зменшення терпкості молодих червоних вин і посилення деяких приємних ароматів. Використання дубової стружки разом з НРР показує можливість прискорення процесу старіння в деяких типах вин, таких як біле вино Cayetana. Це дозволяє отримувати менш ніж за 10 хвилин вина з такими ж фізико-хімічними та сенсорними характеристиками, як і при класичній мацерації в резервуарах, яка потребує щонайменше 45 днів.

5.6. Особливості дозрівання віскі і бренді у дерев'яних бочках

Віскі виробляють переважно з ячменю в процесі, який включає такі етапи, як затирання, бродіння, дистиляція та дозрівання. Завдяки цьому останньому етапу віскі набуває свого остаточного характеру, який цінується у всьому світі. Саме з дерев'яної бочки в напій переходять сполуки, що відповідають за аромат і специфічний колір. Витримка в дубових бочках також підвищує антиоксидантний потенціал віскі за рахунок збільшення концентрації фенолів, фуранів і кислотних сполук. Зберігання свіжих дистилятів у дубових бочках протягом тривалого часу, навіть кілька десятків років, призводить до того, що їх природний гострий і сирий аромат змінюється м'якими приємними нотками, а прозорий дистилят набуває бурштинового кольору, що говорить про низку змін. у віскі та виробництві смакових інгредієнтів і пігментів. Дозрівання є ключовим фактором, який надає дистилятам відповідну якість та органолептичний профіль, стимулюючи фізико-хімічні взаємодії між деревиною та рідиною, що призводить

до зміни кольору та об'єму, а також вмісту етилового спирту в напої. Однак остаточний смак напою буде залежати головним чином від початкового складу дистиляту.

Спосіб і час дозрівання значно відрізняються і часто визначаються місцевим або міжнародним законодавством залежно від кінцевого продукту. Іншим фактором, що впливає на цей процес, є співвідношення поверхні деревини до об'єму рідини, тому використання менших бочок може мати значний вплив на підвищення екстрактивності сполук, що містяться в деревині. Сполуки, присутні в спиртових дистилятах, можуть реагувати з сполуками, присутніми в деревині під час дозрівання, чому сприяє, серед іншого, високий вміст етилового спирту, що міститься в них.

Основні ароматичні зміни під час дозрівання є результатом реакцій окислення, відновлення, полімеризації, поліконденсації та естерифікації. Концентрація етилових ефірів жирних кислот зростає, тоді як у випадку 3-метилбутилацетату його концентрація зменшується внаслідок переестерифікації. Іншими сполуками, відповідальними за аромат віскі, є лактони, феноли, азотисті основи, сполуки сірки та карбонільні сполуки. Характеристикою напоїв, витриманих у дубі, є наявність евгенолу, який надає гвоздичному смаку, і лактону віскі, який, як виявилось, прямо корелює з оцінкою якості віскі. Дослідження показали пряму залежність між оцінками якості віскі та рівнем 5-гідроксиметилфурфуролу, фенольних сполук, таких як ванілін, і, можливо, гідроксиметил-піранонів. Витримка віскі в дубових бочках також підвищує його антиоксидантну активність завдяки наявності багатьох фенольних кислот, на що впливають умови процесу та параметри якості бочок.

Бренді. Типи коньяків включають ароматизовані горілки, виготовлені з різноманітної сировини, переважно з винограду, а також з інших фруктів. Яка сировина буде використовуватися для виробництва коньяку, в основному залежить від регіону, його наявності та ціни. З цієї причини існують значні відмінності в якості, смаку та запаху між окремими видами бренді. Бренді визначається як спиртний напій, вироблений дистиляцією вин із вмістом етанолу

нижче 94,8% об., процес витримки якого включає використання дубових бочок протягом мінімум одного року. Особливо впізнаваним видом бренді є коньяк, традиційний французький алкоголь, який виробляється виключно в департаменті Шарант. Виготовляється в результаті подвійної дистиляції білого вина і його кількарічного дозрівання в дубових бочках, завдяки чому воно отримало назву eau-de-vie (французька вода життя).

Молодий коньяк, як і інші коньячні горілки, мають високу концентрацію алкоголю близько 60–70% об. перед витримкою безбарвні і зазвичай мають квіткові та фруктові аромати, оскільки вони багаті леткими сполуками, головним чином складними ефірами. Потрібний аромат, смак і колір вони набувають під час дозрівання в результаті серії хімічних реакцій між інгредієнтами напою.

Ключове значення при витримці бренді має наявність деревини, з якої виділяються леткі та нелеткі сполуки деревини. До них відносяться лактони, фуранові сполуки, похідні ваніліну, поліфеноли, наприклад, фенолкарбонові кислоти, кумарини або лігніни. Фенольні кислоти беруть участь у процесі старіння бренді та впливають на його сенсорний профіль. Наприклад, галова кислота, продукт гідролізу розчинних галлотанінів і елагітанінів деревини дуба, діє як каталізатор і видаляє частинки сірки. Під час дозрівання спирт вступає в реакцію з поверхнею дубової бочки, що спричиняє розщеплення арил-алкілових ефірів лігнінів і утворення ваніліну, сиреневого альдегіду та їх кислот. Деревні ноти дуба привносять сірінгол, летучий фенол, який утворюється в результаті термічного розкладання лігнінів, і β -метилоктолактон, але два його ізомери, присутні в бренді, відповідають за інші аромати.

Цікаво, що при використанні деревини каштана ці ізомери не проникають в напій, що пов'язано зі складом деревини. Цис-ізомер відповідає за солодкість і нотки кокоса, а транс-ізомер відповідає за квіткові відчуття. Найбільша інтенсивність карамелі та горілих нот виявлена в коньяках, витриманих у каштановому дереві. Рівень підсмажування бочок мав значний вплив на більшість дескрипторів аромату, а саме фруктовий, ванільний, деревний, пряний, карамельний, палений, димний. Бренді, витримані в сильно підсмажених бочках,

показали найвищу інтенсивність ванілі, деревних, пряних відтінків, карамелі, палених і димних, та найнижчу інтенсивність фруктових і зелених ароматів. Ступінь прожарювання дерев'яної бочки також значно впливає на органолептичні відмінності коньяку. Використання злегка підсмаженої деревини призводить до отримання більш легких і солодких нот запаху, ніж у випадку сильно підсмаженої деревини, де домінують аромати диму та шкіри.

Особливий вид коньяку – Бренді де Херес. Це алкоголь, вироблений у Південній Іспанії та отриманий із винних спиртів і дистилятів, витриманих у дубових бочках об'ємом менше 1000 л, попередньо приправлених вином Шеррі. Бренді де Херес, на додаток до типових сполук, витягнутих з деревини, також містить інші сполуки, які надходять із хересного вина, такі як винна, молочна або бурштинова кислоти. У цих випадках бочки діють як вектори передачі між хересним вином, яке раніше містилося в бочці, і щойно витриманим дистилятом. Однак типові сполуки, що містяться в деревині дуба, виділяються в бренді в набагато меншій кількості, ніж під час їх дозрівання в нових бочках. Показано, що мацерація коньяку з деревами каштана призводить до найбільшого збільшення антиоксидантної здатності порівняно з іншими видами деревини (дуб, акація, абрикос, шовковиця, слива, вишня, виноградна лоза).

Мікрооксигенація прискорила зміни, що відбуваються в дистилятах сидру, порівняно з традиційною витримкою в бочках. Крім того, вищий ступінь окислення коньяку призвів до більшої концентрації похідних бензойної кислоти, загального ацетальдегіду, лактонів дуба та галової кислоти та більш вираженого зниження рівнів 3-метил-1-бутилацетату та 2-фенілетилацетату. Найкращі результати сенсорної загальної якості, витриманих винних спиртних напоїв, були отримані коли потік кисню застосовувався в процесі старіння протягом більш тривалого періоду часу: 2 мл/л/місяць протягом перших 60 днів, а потім зі швидкістю потоку 0,6 мл/л/місяць до кінця експерименту, загалом 365 днів.

Питання для самоконтролю

1. У чому полягає різниця між ферментацією і дистиляцією у виробництві алкогольних напоїв?
2. Як виглядає проста формула бродіння?
3. Які компоненти покладено в основу виготовлення віскі?
4. Що таке горілка і сировина для її виготовлення?
5. Які компоненти покладено в основу виготовлення роуму?
6. Що таке джин і сировина для його виготовлення?
7. Чим відрізняється від інших алкогольний напій текіла, сутність виробництва?
8. Що таке мескаль, сировина для виробництва?
9. Які компоненти покладено в основу виготовлення бренді?
10. Що таке коньяк, особливість процесів бродіння?
11. Що таке арманьяк і сировина для його виготовлення?
12. Яку сировину використовують для виробництва піско?
13. Які компоненти покладено в основу виготовлення аквавіту?
14. Що таке конгерен у виробництві горілки, його вплив на якість?
15. В чому полягає вибір та покращення дріжджів в процесі бродіння міцних алкогольних напоїв?
16. До яких органолептичних змін проводить витримка віскі і бренді у дерев'яних бочках?

Рекомендована навчальна література

1. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
2. Єгорова А.В., Капрельянц Л.В., Труфкаті Л.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Одес. нац. акад. харч. технологій. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.

3. Пирог Т.П., Антонюк М.М.,Скроцька О.І., Кігель Н.Ф. Харчова біотехнологія: підручник. К.: Видавництво Ліра-К,2016. 408 с.
4. Ковалевський К.А., Валько М.І., Мамай О.І. Інноваційні технології виноробства. Бродильні апарати і установки: навчальний посібник. Херсон: ХНТУ, 2018. 148 с.
5. Українець А.І., Калакура М.М., Романенко Л.Ф., Домарецький В.А. Загальні технології харчових виробництв: підруч. К. : Університет «Україна», 2010. 814 с.
6. Мелетьєв А. Є. Технологія продуктів бродіння і напоїв : укр.-рос. тлумач. слов. Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2011.192 с.
7. Куц, А. М., Кошова В. М. Технологія бродильних виробництв : конспект лекцій з дисц. "Загальні технології харчової промисловості" для студ. ден. та заоч. форм навч. напряму підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія». К.:НУХТ, 2011. 156 с.
8. Півоваров О.А., Ковальова О.С., Кошулько В.С. Інноваційний інжиніринг в окремих галузях харчового виробництва. Дніпро: ФОП Обдимко О.С., 2022. 407 с.
9. Теличкун, В. І., Гавва, О. М., Теличкун, Ю. С., Губеня, О. О., Десик, М. Г., Чепелюк, О. М. Технологічні комплекси харчових виробництв: Навчальний посібник. Київ : Видавництво «Сталь», 2017. 456 с.
- 10.Stanbury P. F., Allan Whitaker, and Stephen J. Hall. Principles of fermentation technology. Elsevier, 2013.

Розділ 6. ЯБЛУЧНІ ФЕРМЕНТОВАНІ ПРОДУКТИ – ТЕХНОЛОГІЇ, ВЛАСТИВОСТІ І ВПЛИВ НА ЗДОРОВ'Я

6.1. Споживчі властивості яблук, ферментовані яблучні продукти

Види яблук належать до роду *Malus* сімейства Rosaceae, і тисячі сортів вирощуються по всьому світу. За даними Організації продовольчого сільського господарства (FAO), це фактично один із найважливіших видів фруктів для економіки. Останні доступні статистичні дані FAO стосуються 2018 року, і вони повідомляють, що на світовому рівні площа вирощування яблук становила 4904 тис. га із загальним виробництвом 86 142 тис. тон, що становить близько 8 мільярдів доларів США.

Яблука широко споживаються в усіх країнах світу, вони дуже популярні через їх цінний смак, соковитість, колір, текстуру та поживну цінність. Крім того, вони мають гарну здатність зберігатися, доступні на ринках цілий рік за відносно низькими цінами і розглядаються як здорова їжа. Крім споживання свіжими, яблука також можуть бути перетворені на багато різних видів яблучних продуктів, відповідно до використовуваної технології обробки. Деякі з цих яблучних продуктів включають соки (зневоднені, консервовані або пюре). Крім того, інші яблучні продукти отримують за допомогою процесів бродіння, такі як пробіотичні ферментовані яблучні соки і сидр, або ферментовані продукти, отримані з яблучних вичавок, що утворюються як промислові побічні продукти.

Ферментація – це процес перетворення однієї речовини в іншу, що здійснюється мікроорганізмами, такими як бактерії та гриби, за певних обставин і може відбуватися в аеробних або анаеробних умовах. Конкретний продукт, отриманий у результаті певного процесу бродіння, визначається типом мікроорганізму, умовами обробки та речовиною, в якій відбувається бродіння. Успішний процес бродіння залежить від чотирьох основних моментів: мікроорганізму або мікроорганізмів, що використовуються, культурального

середовища, способу проведення процесу та етапів відновлення продукту. Необхідно подбати про те, щоб забезпечити хорошу сумісність між використовуваним мікроорганізмом і культуральним середовищем, щоб сприяти умовам для виконання мікроорганізмом необхідних метаболічних функцій і таким чином отримати бажаний результат. Якщо всі ці фактори належним чином контролюються, ріст мікроорганізмів буде високоефективним, і таким чином синтезований продукт буде якісним, а вихід продукції буде задовільним. Серед умов обробки, які необхідно контролювати для ефективного бродіння, є рН, температура, вологість, аерація (у випадку аеробної ферментації), середня товщина шару та швидкість перемішування.

Вважається, що яблука містять велику кількість біологічно активних сполук, які сприяють зміцненню здоров'я. Вони є основними дієтичними джерелами флавоноїдів, особливо багатих на флавонол, кверцетин та його похідні, які є біологічно активними сполуками, об'єктами кількох досліджень, які підтверджують їхні антиоксидантні, протизапальні та антимікробні властивості, а також антидепресивний і антиканцерогенний ефекти. Крім того, ці сполуки також захищають від артеріосклерозу, діабету, нейродегенеративних і серцево-судинних захворювань, а також захворювань порожнини рота. Інші дослідження показали, що яблучні сполуки, такі як фенольні кислоти, флавоноли, флавоони, антоціани, тритерпеноїди, пектин, пектинові речовини, олігосахариди, яблучні полісахариди мають сприятливий вплив на процес лікування багатьох захворювань і патологічних станів. Однак концентрації та тип біологічно активних молекул, присутніх у яблуках, можуть помітно відрізнятися залежно від виду та сорту, а також залежать від кліматичних, агрономічних умов, умов збору та післязбиральної обробки врожаю, а також операцій з обробки харчових продуктів та зберігання.

Процес бродіння сильно впливає на властивості продукту, сприяючи значному ступеню змін, перші з яких пов'язані зі складом і харчовою цінністю, другі – з органолептичними властивостями, треті – з впливом на організм людини, а саме шляхом впливу на біологічно активні речовини сполук або

шляхом додавання пробіотичних бактерій. Велика кількість ферментованих харчових продуктів завдяки дії присутніх бактерій набуває властивостей, які покращують їхній вплив на здоров'я. Дослідженнями було проаналізовано властивості ферментованих каламутних соків, отриманих з різних сортів яблук, спостерігали важливі зміни в хімічному складі, сенсорних профілях, а також кількості бактерій залежно від сорту. У деяких роботах було припущено, що ферментований яблучний сік можна успішно використовувати як функціональну їжу, яка особливо підходить для споживачів, що шукають немолочні пробіотичні напої.

Метою цього розділу було висвітлити останні розробки в галузі ферментованих яблучних продуктів, включаючи такі продукти, як, наприклад, оцет, сидр і вичавки. Для цього були обрані різні ферментовані яблучні продукти, щоб зосередитися з різних точок зору, а саме, технологічних аспектів, пов'язаних з їх приготуванням, включаючи процес бродіння, а також зосередитися на властивостях продуктів, як, наприклад, фізико-хімічні властивості або сенсорні властивості та вплив ферментованих яблучних продуктів на здоров'я.

6.2. Технологія ферментації у переробці яблук і яблучної сировини

Ферментовані яблучні напої дуже поширені в різних країнах світу з певною специфікою. Можна виробляти багато різних продуктів з яблук за допомогою процесу бродіння. Багато продуктів можна отримати безпосередньо з фруктів або соку, тоді як інші виробляють з яблучних вичавок, які є твердим залишком, отриманим після виробництва соку, сидру, джему та оцту. Цей побічний продукт можна використовувати як сировину для багатьох інших харчових продуктів, покращуючи їхню комерційну цінність і користь для здоров'я.

6.2.1. Яблучні вичавки

Фрукти, які не мають відповідної якості для споживання, як правило, в природі утворюють велику кількість залишків, що складаються з шкірки та м'якоті (95%), насіння (2% до 4%) та стебла (1%). Яблучні вичавки можна використовувати як сировину в інших харчових продуктах, наприклад при виробництві спиртних напоїв або використовувати як джерело для вилучення цінних компонентів, таких як пектин, ароматичні сполуки, харчові волокна і антиоксидантні поліфеноли. Крім того доречно їх застосовувати для отримання кормів, збагачених протеїном, для синтезу пектолітичних ферментів або для виробництва природних ароматичних сполук шляхом бродіння.

Поживний склад яблучних вичавок відрізняється залежно від сорту фруктів, які використовуються в промисловому процесі, і застосованих технологій віджимання соку. Незважаючи на вищезазначені відмінності, цей залишок має високий вміст вологи, велику кількість вуглеводів, таких як целюлоза, геміцелюлоза, лігнін і прості цукру (глюкоза, фруктоза та цукроза), невелику кількість мінералів, білків, вітамінів, окрім того, що він є природним джерелом пектинових речовин.

Зважаючи на харчову цінність, яблучні вичавки використовували для бродіння, в основному твердого бродіння, оскільки вони містять усі поживні речовини, необхідні для росту мікроорганізмів.

Екстракт яблучних вичавок використовувався як джерело вуглецю в аеробному періодичному процесі для виробництва пекарських дріжджів. Результати цієї роботи показали, що тістозпушувальна здатність пекарських дріжджів, вирощених на екстракті яблучних вичавок, була такою ж, як і комерційних дріжджів. Тому екстракт яблучних вичавок можна використовувати як субстрат, що забезпечує вуглець для виробництва пекарських дріжджів. Було вивчено застосовність яблучних вичавок як природного стабілізатора для збільшення консистенції та зв'язності йогурту, ферментованого сумішшю *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Враховуючи, що яблучні вичавки містять приблизно 84,7% вуглеводів, 5,6% крохмалю та 54,2% загального цукру, їх також можна використовувати у виробництві алкогольних напоїв або ароматизаторів. Ферментовані яблучні вичавки можна використовувати як ароматизатор для пива. У цьому випадку застосування ферментованих яблучних вичавок викликало більш складний профіль аромату, що зробило його життєздатним варіантом для ароматизації алкогольних напоїв, таких як пиво. Сидр в основному виробляється безпосередньо шляхом бродіння яблук, як зазначено вище. Однак, яблучні вичавки можуть бути додані в цей напій як фруктовий ароматизатор. Крім того, ферментовані яблучні вичавки можна використовувати як натуральний ароматизатор для напоїв.

Яблучні вичавки також використовують для виробництва алкогольних напоїв. Спиртні напої з вичавок можна виробляти шляхом їх бродіння з місцевою мікрофлорою та подальшою дистиляцією або додаванням комерційних дріжджів. Зроблено яблучний спирт із сухих яблучних вичавок, відповідно було використано дріжджові штами *Saccharomyces cerevisiae*, *Hanseniaspora uvarum*, а також винні сухі дріжджі з ферментом β -глюкозидазою. Спирт двічі переганяли до міцності 60% об. У цьому випадку дуже важливо звернути увагу на вміст метанолу в кінцевих напоях, враховуючи більшу кількість пектинів у сировині.

6.2.2. Сидр

Конкретне визначення сидру залежить від країни. У деяких країнах, де виробництво сидру сягає століть, формування та маркування сидру чітко визначені, тоді як в інших країнах, таких як країни Східної Європи, де за останніми статистичними даними сидр є найбільш швидкозростаючим продуктом на ринку, виробничий процес все ще адаптується. Відповідно до Європейської асоціації сидру та фруктових вин, сидр можна визначити як алкогольний напій, отриманий виключно шляхом повного або часткового бродіння свіжого або концентрованого яблучного соку. Вміст алкоголю в

яблучному сидрі може варіюватися в межах 1,2–8,5% об'ємного об'єму алкоголю (ABV) і має підтримувати характер ферментованого яблучного соку. На ринку також є сидри зі зниженим вмістом алкоголю, такі як безалкогольний сидр, що містить менше 0,5% спирту, і слабоалкогольний сидр із вмістом алкоголю від 0,5 до 1,2%. Серед сучасних сидрів виділяють ароматизовані сидри (що окрім яблучної основи містять соки інших фруктів, екстракти та ароматизатори) та айс сидри (виготовлені без додавання води, цукру та спирту).

Крижаний сидр (також відомий як яблучне крижане вино або *cidre de glace* французькою мовою; продається як крижане яблучне вино в Сполучених Штатах) – це сидровий еквівалент крижаного вина: ферментований напій, виготовлений із соку заморожених яблук. Подібно до крижаного вина, використання заморожених яблук концентрує природний цукор у яблуках, що призводить до вищого вмісту алкоголю, ніж сидр, виготовлений традиційними методами.

Зі збільшенням виробництва яблук у всьому світі переробка фруктів на сидр стає важливою та перспективною тенденцією. Обробка яблучного сидру складається з декількох етапів: миття яблук, їх сортування, подрібнення (невеликі шматочки товщиною 4–5 мм) і пресування з метою виділення яблучного соку з наступним освітленням і депектинізацією, інокуляцією дріжджів, спиртовим бродінням, додаванням підживлення для молочнокислих бактерій (LAB), яблучно-молочного бродіння, стабілізації та дозрівання (деревина старіння, за бажанням). Ароматична композиція яблучного сидру залежить від географічного походження, сортів яблук, різноманітності місцевих бактерій яблук або типів мікроорганізмів, які використовуються для бродіння, а також базових методів обробки.

Незважаючи на те, що асортименти сидру є англійськими та французькими, ринок сидру постійно змінюється, розробляються нові варіанти. Нещодавні дослідження перевірили використання нетрадиційних сортів яблук,

таких як десертні яблука, з хорошими результатами щодо якості та попиту серед споживачів. Ігристий сидр – спеціальний продукт, отриманий шляхом вторинної ферментації сидру в пляшках («метод Champenoise»), був предметом кількох досліджень.

Враховуючи сезонність яблук, концентрований яблучний сік, як переважно економічна альтернатива свіжому яблучному соку, може бути успішно використаний у виготовленні сидру. При використанні концентрованого яблучного соку кращі результати досягаються, коли ферментаційне середовище доповнюється поживними речовинами. Попередня ферментаційна обробка яблучного соку перед бродінням може значно вплинути на якість яблучного сидру. У той час як центрифугування має лише незначний вплив на фенольний вміст яблучного соку, оксигенація соку сильно сприяє зниженню всіх класів нативних поліфенолів, особливо катехінів і проціанідинів.

Ключовим аспектом під час спиртового бродіння є оптимальне споживання поживних речовин дріжджами. Визначаючи оптимальний момент для видалення біомаси або застосовуючи бродіння за допомогою ультразвуку, було визначено ступінь споживання поживних речовин для високоякісного яблучного сидру.

Кілька ферментаційних дріжджів були протестовані для оцінки летких сполук сидру: *S. cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum*, *Torulaspora delbrueckii*, *Hanseniaspora osmophila*, *H. uvarum*, *Starmerella bacillaris* і *Zygosaccharomyces bailii*. Різна органолептика сидру вказує на можливий вплив специфічного штаму на фракцію аромату. Тим не менш, нещодавнє дослідження прийшло до висновку, що дріжджі бродіння можуть мало впливати на летючий профіль сидру, але фенольні композиції соків і сидру можуть сприяти значним відмінностям у сенсорному сприйнятті терпкості та гіркоти. Яблука та груші, як правило, мають нижчий рівень поживних речовин порівняно з виноградом, який також споживається дріжджами *S. cerevisiae* під час спиртового бродіння. Поживні добавки під час яблучно-молочного бродіння необхідні для отримання

збалансованого яблучного сидру і складаються з інактивуєчих дріжджових сумішей, багатих амінокислотами, мінеральними кофакторами та вітамінами.

Основними причинами яблучно-молочного бродіння в яблучному сидрі є молочнокислі бактерії (LAB) – *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Oenococcus* spp. та *Pediococcus* spp. Багато науковців вивчали яблучно-молочне бродіння вина, тоді як мало даних доступно щодо продуктивності LAB при переробці сидру. Враховуючи продуктивність домінуючих видів, залучених до яблучно-молочних процесів при спонтанному виробництві сидру, було доведено, що найбільш прийнятним для використання в якості яблучно-молочної закваски у виробництві сидру є *Oenococcus oeni* порівняно з *Lactobacillus collinoides* і *Pediococcus parvulus*. Хороші результати також були отримані при використанні *O. oeni* для знекислення яблучного сидру за допомогою яблучно-молочного бродіння або шляхом одночасного яблучно-молочного бродіння з використанням *O. oeni* разом з *S. cerevisiae* при переробці яблучного сидру з червоною м'якоттю.

При витримці в контакт з деревиною алкогольні напої отримують покращену якість і сенсорний профіль. Дослідження встановило оптимальну дозу середньої підсмаженої стружки французького та американського дубу 4 г/л протягом 30 днів контакту з деревиною. Проте, незважаючи на те, що це звичайна практика, старіння деревини сидру не є темою, яка інтенсивно вивчається.

6.2.3. Оцет

У давні часи оцтовокисле бродіння було практикою, яка використовувалася для консервування їжі. Оскільки регіони збору яблук надзвичайно великі, а яблука є легко адаптованою культурою, виробництво яблук у деяких частинах земної кулі перевантажене. Перероблені продукти на основі яблук зазвичай належать до консервної промисловості та виробництва напоїв, як алкогольних, так і безалкогольних. Враховуючи перевиробництво

яблучного сидру, цей продукт часто перенаправляють на переробку в яблучний оцет. Яблучний оцет вживають у країнах Західної Європи як функціональний безалкогольний напій. Яблучний оцет, відомий як сидровий оцет, виготовляється з яблучного соку або концентрованого яблучного соку шляхом подвійного процесу бродіння – спиртового бродіння з наступним оцтовим бродінням.

Оцет широко вживається в щоденному раціоні як харчовий ароматизатор, консервант і з терапевтичними цілями. Останні дослідження виявили, що оцтова ферментація може покращити вміст поживних речовин і функціональність. Алкогольне бродіння, за яким слідує оцтовокисле бродіння, змінює поживний профіль напою на більш складний, навіть незважаючи на те, що біодоступність фенольних антиоксидантів з оцту є предметом великого інтересу, будучи результатом попередніх досліджень.



Рис. 18. Асортимент яблучного оцту [19-21]

Склад регулюється кожною державою-виробником, враховуючи головним чином кислотність, для якої мінімальна допустима межа становить 4% оцтової кислоти. На основі традиційної процедури яблучний оцет виготовляється зі свіжих подрібнених яблук, потім ферментується та дозріває в дерев'яних бочках. Обидва бродіння (спиртове й оцтовокисле) відбуваються в одній бочці за участю спонтанної мікрофлори (дріжджів і оцтовокислих бактерій). Природне бродіння займає приблизно 5–6 місяців, щоб завершити весь процес бродіння. Недоліком

у цьому випадку є велика тривалість процесу, неповне або перерване бродіння та низький вихід оцтового бродіння.

Хімічний склад яблук та яблучного сидру, що є сировиною для виробництва яблучного оцту, може змінюватися залежно від сорту та району збирання яблук. Європейські сорти яблук (на стадії оптимальної стиглості) мають загальний вміст розчинних речовин у діапазоні від 10 до 15 °Brix (в середньому 9–11 °Brix), титруєму кислотність 0,12–0,31% яблучної кислоти, вміст таніну (відповідає за терпкість) від 37 до 233 мг/100 мл, вміст пектину 0,25–0,75% (відповідає за тіло або в'язкість яблучного соку), рН коливається в межах 3,0–3,8.

Шкала Брікса – відносна шкала, яка вказує на щільність цукрози, розчиненої у соці. Один градус Брікса (°Brix) відповідає одному граму цукру в 100 грамах вина чи соку. Для його вимірювання використовують рефрактометр або гідрометр. Вміст цукру є одним з критеріїв стиглості винограду, який збирають, коли рівень цукру досягає 20-25 °Brix. Використовується для визначення потенційного рівня алкоголю у вині. Міцність напою становить близько 55-64 % від значення Брікса. Наприклад у сухому вині 27°Brix відповідає 14,9-17,3 % об.

Оптимальна стадія дозрівання надзвичайно важлива для якості яблучного соку, тому що з незрілих фруктів будуть виходити соки з меншим загальним вмістом розчинних сухих речовин і менш інтенсивним ароматом, вищим вмістом крохмалю та кислот, а також гірким або терпким смаком. Тоді як надто зрілі яблука дадуть нижчий вихід продукту через труднощі в процесі екстрагування та демонструватимуть більш солодкий, але рівний смак.

Одним із рішень для підвищення виходу яблучного соку може бути використання пектолітичних ферментів. У традиційній обробці сидру система з гідравлічним, роликовим або пневматичним тиском використовується для розриву та стиснення клітин, доки отриманий сік не буде відділений від

клітинних твердих речовин. Ця процедура викликає певні труднощі, наприклад збільшення вмісту нецукристих твердих речовин, що може спричинити помутніння та утворення кольору. Тривалий процес, порівняно з промисловим, разом із неможливістю повного уникнення впливу повітря сприяє розмноженню мікроорганізмів (дріжджів, плісняви та кислотостійких бактерій), що призводить до скорочення терміну зберігання яблучного соку. Щоб уникнути цих недоліків, замість цього можна використовувати концентрований яблучний сік. При приготуванні зброджувального соку яблучний концентрат розбавляють водою і до суміші додають поживні речовини (фосфат амонію і тіамін) перед спиртовим бродінням для підтримки життєдіяльності дріжджів. Тим не менш, при використанні свіжовичавлених яблук різні процедури змішування можуть служити для отримання специфічного смакового профілю та бажаного хімічного складу яблучного соку.

Спиртове бродіння яблучного соку в основному здійснюється з використанням дріжджів *S. cerevisiae* (інокуляція чистої культури або місцевих дріжджів) та інших місцевих видів дріжджів, таких як *H. uvarum* (анаморфа *Kloeckera apiculata*), які переважають на початку процесу бродіння, а потім *S. cerevisiae* в кінці ферментації, і *Dekkera* (анаморфа *Brettanomyces*) – під час фази дозрівання. Кінцевий вміст алкоголю залежить від початкового вмісту цукру в яблуках, процедури бродіння або особливостей виробництва (5–10% спирту). Отриманий яблучний сидр освітлюють і готують до оцтового бродіння. Коли яблучний оцет використовується для щеплення нової партії, одна частина «маточного оцту» додається до п'яти частин яблучного сидру. Підвищення виходу оцтовокислого бродіння реєструється при використанні чистої культури оцтовокислих бактерій.

Існує багато методів обробки для виробництва оцту, але лише два комерційно використовуються: Орлеанський процес – традиційний метод виготовлення оцту, відомий як «поверхневий метод», і «занурений спосіб вирощування», коли під час бродіння подається кисень. Перший згаданий метод визнаний найкращим для виготовлення високоякісних ароматизованих яблучних

оцтів, а другий використовується для збільшення виробництва оцтової кислоти та зменшення тривалості бродіння. Сидровий оцет може зберігатися та дозрівати в дерев'яних бочках, і в цьому випадку на продукт впливають колірні та деревні ароматичні сполуки. Застосовуються також інші види обробки для забезпечення стабільності продуктів, такі як ультрафільтрація, пастеризація та використання хімічних стабілізаторів (діоксид сірки, пектин, аравійська камедь, лимонна кислота, фероціанід калію).

6.2.4. Яблучний дух (кальвадос)

Відповідно до Європейського регламенту ЕС 110/2008, фруктові вижимкові спиртні напої визначаються як «напій із міцністю алкоголю вище 37,5% об. і кількістю летких речовин вище 200 г на гектолітр чистого спирту, які можуть бути отримані дистиляцією ферментованого фруктового пюре, соку або вичавок». Кінцева якість і аромат яблучного спирту, а також кількість метанолу, пов'язані з фруктами, які використовуються в процесі бродіння, на що може вплинути сорт фруктів, їх географічне походження, індекс дозрівання та умови зберігання до подальшої обробки.

Щоб зробити яблучний спиртний напій, спочатку необхідно вичавити сік з фруктів, який потім ферментується для отримання сидру. Після цього необхідно провести перегонку (або подвійну перегонку) зброженого соку. Хоча яблучний спирт на ринку частіше зустрічається без витримки в дерев'яних бочках, можна вважати, що цей процес покращує кінцеву якість напою. Витримка яблучного спирту протягом 60 днів у деревині впливає на фенольні та летючі профілі незалежно від кінцевого напою, а процес старіння не впливає на основні леткі сполуки, за винятком 2-бутанолу, кількість якого з часом збільшується. Старіння деревини також підкреслює деякі смакові сполуки, пов'язані з яблуком, такі як ізобутилацетат, гексил-2-метилбутаноат і етилнаоат. Найпопулярнішим яблучним спиртним напоєм є «Кальвадос», який виготовляється шляхом поєднання добірних фруктів із відповідним солодким, терпким та гірким смаком,

які ферментуються для отримання сидру. Після цього сидр проходить подвійну дистиляцію з наступними процесами витримки в деревині.

Профіль аромату яблучного спирту сильно залежить від сидру. Коли цей процес триває довше, яблучний дистилят розвиває аромат із більш солодким і пряним характером, високим вмістом етилацетату, етилсукцинату, етиллактату та летючих сполук, отриманих у результаті бактеріального метаболізму, таких як 2-бутанол, 4-етилгваякол, евгенол. і 2-пропен-1-ол. Крім того, види дріжджів впливають на виробництво та аромат спиртних напоїв, а саме на ароматичну композицію. Щоб посилити віджим соку перед процесом бродіння яблучного спирту, можна додати деякі ферменти, такі як пектиназа. Однак така обробка може збільшити вміст метанолу в напої. Крім того, якщо яблучні вичавки використовувалися для виробництва алкоголю, вміст метанолу міг би збільшитися, враховуючи більшу кількість пектину, отриманого з яблучного насіння та шкірки. Щодо законних обмежень метанолу та проблем, пов'язаних із цією сполукою для здоров'я, це необхідно дуже ретельно контролювати в процесі виробництва. Вибір дріжджів, які використовуються в процесах бродіння, також може бути важливим кроком. Деякі дослідження показують, що використання місцевих дріжджів може бути сприятливим для низької концентрації метанолу в кінцевому продукті. Інший процес, який можна використовувати для зменшення вмісту метанолу в яблучному спиртному напої, полягає в пастеризації фруктів перед спиртовою ферментацією.

6.3. Прібіотичні ферментовані яблука

Харчова технологія ферментації в основному використовується для зміни смаку, запаху та текстури овочів і фруктів. Крім того вона здатна підвищити їх харчову цінність, здатність до збереження та зменшити потреби в охолодженні і заморожуванні. Крім того, ферментація харчових продуктів може зменшити деякі токсичні сполуки та виробити антимікробні речовини, що підвищує безпеку кінцевого продукту. Ферментовані харчові продукти, які позитивно

впливають на здоров'я людини, зазвичай називають пробіотиками. Вищезазначені зміни в ароматі, смаку та текстурі пов'язані з LAB, які сприяють кислому смаку, а також пов'язані з протеолітичною та ліполітичною активністю.

Було досліджено найкращі умови для отримання яблучного соку (сорт Gala), ферментованого *Lactobacillus casei*. Розроблений напій характеризувався типовим яблучним ароматом сировини, карамельним кольором і кислуватим яблучним смаком. Розроблено пробіотичний напій, виготовлений з яблучного соку та молочнокислої бактерії *Lactobacillus plantarum* PCS 26, як агента бродіння. У цьому дослідженні вивчали вільні бактерії та бактерії, що вбудовані в кальцієвий альгінат. Встановлено, що яблучний сік є відповідною сировиною для приготування функціонального напою з хорошим сенсорним сприйняттям і відповідним терміном зберігання. Як і для інших харчових продуктів, кінцева якість пробіотичних ферментованих яблук залежить від сортів плодів, які можуть вплинути головним чином на смак і аромат готового напою. Ця відмінність пояснюється тим, що різні сорти яблук мають різні ароматичні та смакові характеристики через різний склад, а саме загальний вміст розчинних цукрів, органічних кислот і летких сполук.

6.4. Властивості ферментованих яблучних продуктів

Фруктові соки були запропоновані як альтернативна сировина для LAB ферментації через їх високу поживну цінність щодо вітамінів, мінералів, харчових волокон і антиоксидантних сполук. Таким чином, ферментовані фрукти з LAB можуть бути смачними і корисним альтернативним функціональним харчуванням, що містить пробіотики та надає кращі поживні, фізико-хімічні та сенсорні властивості їжі. Основні цукри яблучного соку (фруктоза, глюкоза та цукроза) можуть використовуватися LAB під час ферментації для клітинного росту та біоконверсії в молочну кислоту, сприяючи зменшенню всіх цукрів після процесу, зокрема фруктози. Однак метаболізм вуглеводів у мутному яблучному соку сумішшю *Lactobacillus* spp. змінюється

залежно від сорту. Було використано дев'ять сортів яблук, найбільше загальне споживання цукру (фруктози, глюкози та цукрози) спостерігалось у сорті Golden Delicious, а фруктоза показала значне зниження цукру під час процесу бродіння. Крім того, вміст загальних цукрів у яблучному соку Fuji може знизитися до 23% під час бродіння з комерційними штамами LAB. Протягом усього процесу бродіння штами LAB виявляють різноманітну ароматоутворюючу активність для метаболізму різноманітних субстратів і виробництва різних ароматичних сполук і органічних кислот, які впливають на баланс смаку, кольору, хімічну стабільність, якість зберігання та прийнятність кінцевих продуктів. Отже, штами LAB можуть мати значний вплив на смакові сполуки, що утворюються під час бродіння яблучного соку. Використання *L. casei* у ферментації яблучного соку Gala сприяло зниженню яблучної кислоти на 87%, а вміст молочної кислоти збільшився на 31%.

Ферментація яблучного соку з чотирма штамами LAB (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei* і *Lactobacillus plantarum*) призвела до більшої концентрації загальних кислот із відповідним зниженням pH, але загальною рисою є утворення молочної кислоти за рахунок зниження яблучної кислоти і було найбільш очевидним у яблучному соку, що містить *L. acidophilus*. Пізке збільшення молочної кислоти під час бродіння яблучного соку та зниження вмісту яблучної кислоти підкреслюють, що яблучно-молочне бродіння відбувається під час бродіння яблучного соку LAB. Молочна кислота, оцтова кислота та винна кислота були домінуючими кислотами, ідентифікованими у ферментованому мутному яблучному соці дев'яти сортів із сумішшю *Lactobacillus* spp. Винна кислота виявлена у вихідному соку, тоді як молочна кислота та оцтова кислота утворилися під час бродіння. Крім того, пірвіноградна кислота знижувалась протягом усього зберігання ферментованого яблучного соку. Вищий вміст молочної кислоти за рахунок нижчих значень оцтової кислоти посилює смак ферментованих мутних яблучних соках. Зміни, що спостерігаються під час бродіння для інших кислот у

ферментованих мутних яблучних соках, таких як янтарна, хінна, щавлева та винна кислоти, залежать від сортів яблук.

Ферментація за допомогою LAB може суттєво вплинути на летючі характеристики фруктових продуктів і, як наслідок, на їхній аромат. У ферментованому прозорому та мутному яблучному соці було ідентифіковано близько 50 летких сполук, включаючи, серед іншого, складні ефіри, спирти, альдегіди, кетони та кислоти. Будь-які відмінності в ароматичних сполуках ферментованого яблучного соку можна пояснити сортом яблук і різними метаболічними моделями LAB у процесі бродіння, що призводить до різних концентрацій органічних і летких сполук, що мають відмінності у загальному профілі смаку ферментованого соку. Естери є одним із основних ароматичних компонентів у ферментованому прозорому або мутному яблучному соці, які містять ключові компоненти фруктового та солодкого аромату, такі як гексилацетат, етилбутират, етилгексаноат, бутилацетат та етил-2-метилбутират.

6.4.1. Особливості ферментації яблучного соку

Спирти є ще однією великою групою летючих речовин, виявлених у ферментованому яблучному соці, із загальною концентрацією щонайменше в десять разів більшою, ніж у звичайному яблучному соці. Найбільш переважаючими спиртами у ферментованому яблучному соці є 1-бутанол і 1-гексанол, які сприяють відчуттю солодкості; 2-метил-1-бутанол, який пов'язаний з ароматом цибулі, солоду і вина; і 2-етилгексанол, який має квіткові та фруктові властивості. Однак високі пороги виявлення запаху цих спиртів призвели до меншого внеску в аромат, за винятком (Е)-2-гексен-1-олу, який має значення активності запаху вище одиниці та відповідає за аромати зелені та волоського горіха. Нові спирти, включаючи 2-метил-1-пропанол, ізобутенілкарбінол, транс-2-гексен-1-ол, бензиловий спирт, 1-октанол, β -цитронелол і гераніол, можуть з'явитися після ферментації LAB і збагатити фонові смаки ферментованого яблука. Переважаючими альдегідами, виявленими у ферментованому яблучному

соці, є гексаналь і (Е)-2-гексеналь, які можуть надавати ароматичні нотки зеленого листя. Інші альдегіди, а саме октанал, деканаль, 2-нонанал і (Z)-2-гептеналь, присутні в низьких кількостях у ферментованому мутному яблучному соці, але сприяють аромату через їх дуже низькі пороги ароматичного сприйняття.

Кислоти є важливою групою летючих сполук, які сприяють комплексності та фруктово-ароматичній рівновазі ферментованого яблучного соку. Оцтова кислота є домінуючою та характерною смаковою сполукою у ферментованому мутному яблучному соці, і може допомогти створити гострий та оцтовий запах, що надає характерний смак. Кетони, що характеризуються інтенсивним смаком, присутні в низьких концентраціях, але можуть синергетично сприяти формуванню аромату ферментованого яблучного соку. Основними ідентифікованими летючими кетонами були 6-метил-5-гептен-2-он і β -дамасценон (зазвичай присутній в яблучному соці) і 2-ундеканон, 2-гептанон і 2-нонанон, 4-гептанон, 4-циклопентен-1,3-діон, який утворюється лише після ферментації мікробним окисненням жирних кислот або шляхом декарбоксилювання. Інші сполуки, такі як D-лімонен і евгенол, можуть відігравати важливу роль в унікальному профілі аромату ферментованого мутного яблучного соку. D-лімонен дає цитрусовий, апельсиновий, лимонний і солодкий аромат, тоді як евгенол забезпечує пряний запах. Більшість летких сполук, пов'язаних із типовим ароматом яблучного соку, зберігаються або збагачуються після бродіння та зберігання, але деякі нові сполуки, такі як спирти, складні ефіри, альдегіди та кетони, утворюються в результаті ферментації LAB, що свідчить про покращення складності аромату ферментованого яблучного соку.

Яблучний сік також є сировиною для алкогольних ферментованих напоїв, таких як сидр (у деяких регіонах його також називають яблучним вином), що отримують шляхом інокуляції різними видами дріжджів. Сидр має кілька сенсорних властивостей, таких як кислотність, колір, каламутність, запах, солодкість, терпкість і піна, які можуть відрізнятися між виробниками. Смак

сидру залежить насамперед від сорту яблук, тоді як ароматична композиція летких речовин залежить від умов бродіння, штамів дріжджів, дозрівання, умов зберігання та сорту, стиглості та концентрації ароматичних сполук отриманих з яблук. Багато ароматичних сполук втрачаються під час обробки, і більшість ароматичних сполук сидру синтезуються під час бродіння, утворюючи специфічний смак, який може відрізнити один сидр від іншого. Найважливішими летючими сполуками, виявленими в соці, є складні ефіри, тоді як в яблучному сидрі було виявлено більш широкий спектр різних хімічних класів, включаючи вищі спирти та складні ефіри, що відповідає, 56–68% і 30–42%, за ними йдуть жирні кислоти та меншою мірою кислоти, альдегіди та кетони. Ці сполуки, які в основному утворюються під час спиртового бродіння як вторинні метаболіти, показали важливий внесок в аромат сидру, який можна пов'язати з сенсорним аналізом.

Ключові ароматичні компоненти, присутні в десяти сидрах з яблук Shaanxi (Китай) Fuji (середні показники: спирт: 11,3 об.%; залишковий цукор: 3,5 г/л; загальна кислотність: 5,7 г/л; летюча кислотність: 0,7 г/л; pH: 3,5), оброблені різними дріжджами, технологічними прийомами та з різних яблуневих садів, були етилацетат, ізобутиловий ефір оцтової кислоти, ізопентилакоголь ацетат, етилкаприлат, етил 4-гідроксибутаноат, ізопентиловий спирт, 3,4,5-триметил-4-гептанол, ноніловий спирт, 3-метилгіо-1-пропанол (чотири естери, чотири спирти та одна кислота), що становить 85,61% загальної дисперсії в компоненти аромату сидру. Було ідентифіковано 16 летючих сполук в дріжджово-ферментованому ароматі соку, отриманому з двох сортів яблук («Lietuvos Pepins» і «Auksis»), але основними сполуками були 2-гідроксіетилгідразин, 3-метил-1-бутанол, етиловий ефір гексанової кислоти та гексиловий ефір оцтової кислоти. У ферментованому яблучному соку сорту «Lietuvos Pepins» були ідентифіковані інші основні спирти (гексан-1-ол і фенілетиловий спирт) і складні ефіри (гексилацетат, етилоктаноат, гексилгексаноат, 2-метилбутилацетат). Охарактеризовані профілі смаку 14 комерційних яблучних сидрів (США, Великобританія): вміст етанолу коливався від 4,5 до 7,0% об., значення pH

варіювалися від 2,91 до 3,89, рівні титрованої кислотності між 2,23 і 6,39 г/л. В яблучних сидрах було виявлено 72 летючі сполуки, включаючи 33 складні ефіри, 16 спиртів, 4 альдегіди, 3 кетони, 4 жирні кислоти, 4 терпени, 3 феноли, 3 фурани, 1 ацеталь і 1 C13-норізопреноїд. Кожен сидр складався з 36–53 цих летких сполук. Крім того, солодкий, кислий, яблучний, варений яблучний і дріжджовий були найбільш переважаючими сенсорними атрибутами (смак і аромат) для опису подібності та відмінності яблучного сидру. Сидри зі скандинавського регіону мали різноманітні сенсорні профілі, тоді як більшість британських яблучних сидрів характеризувались складними запахами та смаком, нотами кислого, гіркого та терпкого. Крім того, яблучний сидр, що характеризується запахом вареного або свіжого яблука, цитрусових і тропічних фруктів, мав помітний вміст ацетатних ефірів. Ця група сполук частіше була присутня в солодких сидрах з Нормандії, ніж у сидрах з Британії, що відображає важливі відмінності в дріжджах, які діють під час бродіння. Інші леткі сполуки, такі як 4-етилкатехол, можна використовувати для диференціації стадії дозрівання астурійського та баскського сидру.

Кислотність має низький вплив на летючість, але вважається важливим елементом сидру і має бути достатньою, щоб створити чисте та освіжаюче враження кінцевих продуктів. Найбільш поширеними кислотами в сидру є молочна кислота та яблучна кислота, за якими йдуть лимонна кислота та бурштинова кислота. Фенольні сполуки також є важливими сполуками сидру, які сприяють помітним відмінностям у сенсорній якості сидру, наприклад, терпкості, гіркоти або кольору. Крім того, взаємодія між леткими сполуками та поліфенольною матрицею сидру може впливати на вивільнення летких сполук.

6.4.2. Мікробіологічний склад сидру

Найпоширенішими класами, знайденими в сидру, є похідні гідроксикоричної кислоти (структури фенілпропанолів), за якими йдуть різні групи флавоноїдів: флаван-3-оли, проантоціанідини, флавоноли та

дигідрохалкони. У той час як фенольні кислоти відіграють важливу роль у розвитку терпкості та гіркоти, флавоноїди, особливо флаван-3-оли, впливають на колір, аромат і окислювальне потемніння сидру. Флавоноли та дигідрохалкони в основному пов'язані з антиоксидантними властивостями сидру. Летючі феноли зазвичай вважаються основними маркерами органолептичних дефектів багатьох ферментованих алкогольних напоїв. Найбільш проблематичні фенольні присмаки, що притаманні дефектним сидрам (4-етилфенол, 4-вінілфенол, 4-етилгваякол, 4-вінілгваякол і 4-етилкатехол), виробляються дріжджами з кавової, *n*-кумарової та ферулової кислот.

Яблучні вичавки для сидру також є цінним джерелом поліфенолів, таких як флаваноли, дигідрохалкони (флоридин і флоретин-2'-ксилоглюкозид), флавоноли та коричні кислоти (хлорогенова та кавава кислоти). Яблучний оцет є ще одним яблучним ферментованим продуктом, який містить поліфенольні сполуки, такі як катехін, кавава кислота, галова кислота, хлорогенова кислота та *p*-кумарова кислота. Окрім фенольних сполук, характеристики яблучного оцту та якість бродіння оптимізуються шляхом застосування стратегії живлення. Наприклад, повідомлено, що використання чотирьох специфічних амінокислот (аспартату, глутамату, проліну та триптофану) є ключовим для оптимізації поживного складу сидру. Вони сприяли покращенню перетворення в оцтову кислоту шляхом зниження кінцевих концентрацій щавлевої кислоти, винної кислоти, яблучної кислоти, молочної кислоти, лимонної кислоти та янтарної кислоти. Крім того, концентрації більшості складних ефірів і летких органічних кислот також були покращені, що сприяло ароматичному профілю сидру, зокрема стосовно восьми сполук: етилацетату, γ -метилбутилетаноату, каприлової кислоти, капринової кислоти, фенілетового спирту, гексанової кислоти, ацетат-етил-2-метилпропаноату і 2-фенілетил етилацетату.

6.5. Вплив ферментованих яблучних продуктів на здоров'я

Загалом, ферментовані харчові продукти та напої вважаються безпечнішими, ніж їхні неферментовані аналоги, причому це покращує безпеку харчових продуктів значною мірою завдяки присутності LAB, яка є переважною групою бактерій, знайдених у більшості ферментованих продуктів. LAB діють як пробіотичні бактерії, і вони виробляють екзополісахариди з кількома перевагами для здоров'я. Представлено вичерпний огляд впливу цих сполук на здоров'я, підкреслюючи імуномодулюючий ефект і оздоровчі властивості, високу антиоксидантну активність, здатність знижувати рівень глюкози та холестерину в крові, противиражкові властивості та антигіпертензивну дію.

Недавні дослідження показали численні переваги споживання яблучного оцту для здоров'я, такі як послаблення окислювального стресу, зниження ризику ожиріння, збалансування рівня холестерину, протигрибкова активність. Оцінено вплив споживання яблучного оцту, отриманого за допомогою різних методів бродіння (поверхневий метод з мацерацією, метод занурення з мацерацією, поверхневий метод і метод занурення) на ліпіди крові у щурів з високим вмістом холестерину. Для збільшення вмісту поліфенолів на стадії мацерації додавали 10% яблучних вичавок. Оцти, отримані поверхневим методом з мацерацією та без неї, мали найнижчі значення рН та найвищий загальний вміст фенолів. Яблучний оцет, отриманий методом занурення, значно зменшив стеатоз. Дослідження показало, що вживання яблучного оцту позитивно впливає на рівень ліпідів у крові, функції печінки, стеатоз і масу тіла. Корисні ефекти яблучного оцту нещодавно були доведені на основі клінічних випробувань, що розглядають контроль ваги, індекс вісцерального ожиріння та ліпідний профіль у суб'єктів із надмірною вагою або ожирінням.

Яблучний оцет багатий на поліфеноли та оцтову кислоту, які виявилися корисними союзниками для модуляції ліпідного профілю плазми, глікемічних індексів або артеріального тиску. Крім того, вони зменшують запалення та поширеність діабету. Ці корисні ефекти пов'язані з компонентами оцту;

наприклад, повідомлялося, що споживання оцтової кислоти через напої допомогло знизити артеріальний тиск у пацієнтів з гіпертонією.

Показано, що ферментований яблучний сік багатий на поліфенольні сполуки, які, як доведено, є корисними для профілактики неінфекційних захворювань. Профіль і вміст поліфенолів у мутному яблучному соці змінюється під час процесу бродіння та в залежності від деяких змінних, таких як сорт яблук, умови бродіння або штами мікроорганізмів. За допомогою ферментативної реакції довгі поліфенольні молекули перетворюються на менші сполуки з більшою біологічною активністю. Ці речовини можуть запобігати серцево-судинним захворюванням і діабету 2 типу за допомогою різних описаних механізмів.

Регулярне вживання яблучного оцту в низьких дозах може мати сприятливий вплив на глікемічні індекси та окислювальний стрес у людей, які страждають на діабет і дисліпідемію. Дослідження показали, що споживання яблучного оцту позитивно впливає на лікування діабету. Споживання оцту може пригнічувати постпрандіальну гіперглікемію та покращувати резистентність до інсуліну як у здорових людей, так і у людей з діабетом.

Припущено, що яблучний оцет має терапевтичний потенціал, захищаючи від ниркової недостатності та пов'язаної з нею дисфункції (досліди проводились на моделі щурів *in vivo*).

Проведено подвійне сліпе рандомізоване клінічне дослідження, спрямоване на порівняння показників спортсменів, які вживали яблучний оцет, із тими, хто вживав комерційний спортивний напій. Їхні результати показали, що яблучний оцет мав такий же ефект, як комерційний спортивний напій, проявляючи ергогенні властивості, оптимізуючи рівень глюкози в крові та вміст неестерифікованих жирних кислот, одночасно пригнічуючи вироблення лактату. Обидва спортсмени підтримували нормальну частоту дихання та серцебиття протягом вправи на витривалість.

Було продемонстровано, що яблучний оцет є можливим союзником у регулюванні ваги, допомагаючи зменшити апетит, антропометричні показники,

вісцеральне ожиріння, рівень тригліцеридів у крові та загальний рівень холестерину, одночасно збільшуючи рівень холестерину ліпопротеїнів високої щільності у пацієнтів із надмірною вагою або ожирінням. Також повідомляється, що оцтова кислота є корисною для здоров'я кишківника та боротьби із запорами.

Так званий твердий сидр отримують шляхом бродіння свіжих нестерилізованих яблук і містить низку видів мікроорганізмів, які є недостатньо вивченими та складають складні мікробні популяції. Сидри природним чином доповнені різними сортами сировини та можуть змінюватися в процесі бродіння. Відомо, що ці багаті мікробні спільноти значно впливають на характеристики продукту, але вони також можуть принести користь здоров'ю споживача.

Цілком можливо, що яблука або яблучний сік, які використовуються як сировина для виробництва сидру, можуть бути заражені патогенами, отриманими з ґрунту саду, з ферми чи обладнання для переробки або навіть з людських джерел. Ці збудники можуть включати *Salmonella* spp., *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*. Тим не менш, оскільки ферментований сидр є кислотним продуктом через присутність органічних кислот (особливо молочної), низький рН (від 3,3 до 4,0) перешкоджає росту цих патогенів, які виживають протягом дуже короткого періоду і не розмножуються. Оцінено бактеріальні та дріжджові мікробіоми, присутні в шести зразках непастеризованого яблучного сидру, отриманого в результаті неіндустріалізованих крафтових процесів. Оскільки бактерії не використовуються як закваски для виробництва сидру, усі бактеріальні мікробіоми були отримані в результаті спонтанної інокуляції із сировини або середовища. Було виявлено широке розмаїття дріжджів, що включає багато нетрадиційних видів. Найпоширеніші види дріжджів включають не лише *Dekkera* та *Saccharomyces*, а й інші основні таксони, такі як *Issatchenkia orientalis*, *Candida ethanolica* та *Pichia* spp. Найпоширенішими бактеріями були LAB, що належали до сімейства *Leuconostocaceae*, тоді як *Lactobacillus* були присутні в незначних кількостях.

Сидр, як і інші алкогольні напої, слід вживати в помірних кількостях. Зловживання алкоголем пов'язане з підвищенням частоти захворювань та з негативним соціальним впливом.

Вміст етанолу в сидрі дуже різний, зазвичай близько 5–7%, але іноді навіть вище 10% хоча є також випадки, коли технологія спрямована на отримання сидру з меншим вмістом алкоголю.

Ще один алкогольний напій із ферментованого яблука – бренді, традиційно вироблений у Румунії, із вмістом етанолу понад 46%. У північному регіоні Сардинії, в Італії, виробляють дистиляти з регіональних сортів яблук, отримують яблучний бренді. «Кальвадос» також переганяють із сидру в Нормандії на півночі Франції, а у Сполученому Королівстві виробляють бренді з сидру Сомерсет. Крім етанолу, метанол також може утворюватися під час обробки цих алкогольних напоїв за певних умов і залежно від сировини, яка використовується для їх виробництва. Вміст метанолу має бути нижчим за дозвану межу, встановлену Регламентом ЄС № 1014/90. Алкоголь всмоктується під час проходження через шлунково-кишкову систему, переходячи до печінки та легенів для метаболізму. Метанол і його метаболіти викликають ряд проблем зі здоров'ям. Окрім прямої токсичності, включаючи окислювальний стрес, ці речовини викликають підвищене накопичення етилового ефіру жирних кислот. В організмі людини метанол метаболізується у формальдегід, який є токсичним і відповідальним за канцерогенез і неврологічні ускладнення. Що стосується етанолу, хоча він не є генотоксичним або мутагенним, його метаболіт ацетальдегід, як повідомляється, є небезпечним канцерогеном.

Деякі захворювання, пов'язані з алкоголем, включають стеатоз (алкогольна жирова печінка), алкогольний гепатит і фіброз та/або цироз печінки. У Європі майже 2% усіх смертей відбуваються внаслідок захворювань печінки. Насправді алкоголь є найважливішим фактором ризику алкогольного цирозу печінки, і навіть люди, які мало п'ють, тобто ті, хто споживає помірно (що відповідає одному-двом напоям на день), мають вищий ризик розвитку алкогольного цирозу порівняно з тими, хто утримується.

Алкогольні напої, такі як сидр, пов'язані з підвищеним ризиком глобальної смертності, серцево-судинних проблем, ішемічної хвороби серця, цереброваскулярних захворювань.

Коли мікробіота кишківника змінюється через вживання алкогольних напоїв, це сприяє виникненню захворювань, пов'язаних з алкоголем. Тим не менш, цей ефект можна пом'якшити адекватною репозицією кишкового мікробіому.

Яблучний сидр і спиртні напої можуть містити акролеїн. Розпад гліцерину в цих та інших продуктах, отриманих з яблук, може під дією молочнокислих бактерій призвести до утворення 3-гідроксипропаналю, який є нестабільним і може спонтанно перетворюватися на акролеїн. Акролеїн є ненасиченим альдегідом з високою реакційною здатністю, який може спричинити деякі захворювання у людей.

Є й інші ризики, пов'язані з яблучним сидром, а саме можлива присутність біогенних амінів (БА). Яблучно-молочне бродіння позитивно впливає на органолептичні властивості сидру, але деякі штами LAB також можуть продукувати небажані метаболіти, такі як БА. Ці БА можуть виникати в харчових продуктах або напоях, що включають бродіння, і є похідними від видалення альфа-карбоксильної групи з амінокислот. Найпоширеніші БА, які містяться в сидру, включають гістамін, тирамін, путресцин і кадаверин, але на їх концентрацію впливають такі фактори, як тип присутніх мікроорганізмів, умови навколишнього середовища, включаючи рН, концентрація етанолу, рівень триоксиду сірки, якість сировини, процес бродіння та його технологічні умови. Вживання високих рівнів БАД може мати шкідливий вплив на організм людини, спричиняючи побічні реакції, такі як висип, головний біль або зміну артеріального тиску (гіпертонія/гіпотонія). Ці ефекти є більш проблематичними для людей із захворюваннями, які зменшують здатність організму детоксикувати. У той час як гістамін і тирамін вважаються високотоксичними і мають особливе значення з точки зору безпеки харчових продуктів. А

путресцин і кадаверин, хоча і не настільки проблематичні за своєю природою, проте можуть мати синергетичний ефект, посилюючи шкідливий вплив БАД.

Деякі продукти, отримані з яблук, можуть містити патулін, який є токсичним метаболітом, що виробляється певними штамми дріжджів, він несе кілька потенційних ризиків для здоров'я людини. Отже, ферментоване яблучне пюре матиме підвищену безпечність для здоров'я порівняно з неферментованим продуктом.

Яблучні побічні продукти, такі як шкірка або вичавки, є промисловими відходами; вони, однак, можуть бути використані як джерела біоактивних сполук, таких як фенольні сполуки з антиоксидантною активністю. Яблуко багате різноманітними біологічно активними фенольними сполуками, більшість із яких у вищих концентраціях у шкірці, як, наприклад, глікозиди епікатехіну та кверцетину. Процеси валоризації можна використовувати для отримання продуктів з доданою вартістю, з яких можна отримати цінні сполуки.

Валоризація – державні заходи щодо переоцінки або підвищення вартості товарів, цінних паперів, валюти, пенсій, соціальних виплат та іншого капіталу.

Було вивчено метод посилення антиоксидантної здатності поліфенольних сполук у промислових яблучних відходах шляхом ферментації з використанням кількох видів *Aspergillus*. Їхні результати показали, що *A. niger* і *A. tubingensis* виробляли ериодиктіол, а *A. japonicus* і *A. aculeatus* виробляли таксіфолін і катехін. Ці фенольні сполуки мають кілька переваг для здоров'я: ериодиктіол є флавоноїдом із широкою біологічною та фармакологічною дією, включаючи протизапальний ефект при остеоартриті, кардіопротекторний ефект, контроль проникності кровоносних судин та антиалергічний ефект; таксіфолін також є флавоноїдом з біологічною активністю на різних рівнях, виявляючи антиоксидантну, антибактеріальну, протизапальну та противірусну дію, покращуючи мікроциркуляцію та регулюючи імунітет, використовується для лікування атеросклерозу, дисліпідемії, серцево-судинних захворювань та інших хронічних захворювань; катехін, знову ж таки в класі флавоноїдів, довів свою

користь для здоров'я серцево-судинної системи та демонструє кілька ефектів на організм людини, наприклад, антиоксидант, антигіпертензивний, протизапальний, антипроліферативний та антигіперліпідемічний.

Яблуко є основою для кількох ферментованих продуктів, найбільш поширеними є сидр та оцет, але також актуальні алкогольні напої, особливо в деяких європейських країнах, ферментовані соки та пробіотичні напої. Крім того, яблучні вичавки також дають змогу виробляти продукти з додатковою вартістю, водночас мінімізуючи вплив тих залишків, які інакше були б втрачені. Технологія бродіння та вид дріжджів, що використовуються, мають великий вплив на кінцеві властивості отриманих ферментованих продуктів з точки зору хімічного складу, сенсорних профілів та впливу на організм людини, будь то корисного чи шкідливого. Деякі позитивні ефекти впливу яблучної ферментації на здоров'я пов'язані з наявністю макро- та мікроелементів, а також біоактивних сполук (наприклад, фенольних сполук) і пробіотичних бактерій. З іншого боку, деякі проблеми зі здоров'ям можуть виникнути через наявність метанолу або біогенних амінів.

Нові розробки в технології бродіння та дослідження щодо використання різних видів дріжджів постійно проводяться з метою покращення рентабельності та кінцевих якостей продукту, а також для максимізації їх позитивного впливу на здоров'я. Майбутні тенденції в цій галузі, безумовно, включатимуть ці розробки з метою підвищення ефективності бродіння, оптимізації отриманих продуктів з точки зору хімічного складу, сенсорних властивостей і користі для здоров'я людини, а також мінімізації потенційних ризиків, пов'язаних із цими ферментованими продуктами. Крім того, можна очікувати, що бродіння забезпечить альтернативний спосіб збільшення вартості відходів харчової промисловості, особливо щодо яблук, таких як яблучна шкірка, насіння або низькоякісна сировина. Таким чином, валоризація відходів шляхом бродіння може мати позитивний економічний та екологічний вплив.

Питання для самоконтролю

1. Якими властивостями володіють яблука?
2. Які головні умови мають бути витримано між мікроорганізмом і культуральним середовищем?
3. Яким чином процес бродіння впливає на властивості яблучного продукту?
4. Як відбувається ферментація у формуванні яблучних напоїв?
5. З яких компонентів складається поживний склад яблучних вичавок?
6. Якими властивостями володіють яблучні вичавки?
7. Який продукт слід очікувати в наслідок повного або часткового бродіння свіжого або концентрованого яблучного соку?
8. З яких технологічних етапів складається виробництво яблучного сидру?
9. Що є ключовим аспектом під час спиртового бродіння у виробництві сидру?
10. За якими технологічними ознаками формується виробництво міцного алкогольного яблучного напою – кальвадосу?
11. Як на практиці відбувається бродіння з отриманням яблучного оцту?
12. Якою має бути сировина для отримання поживного яблучного оцту?
13. Які технологічні стадії передують у виробництві яблучного кальвадосу?
14. Від якого продукту залежить профіль аромату яблучного спирту?
15. Які мікроорганізми необхідно мати для створення пробіотичних ферментованих яблук?
16. Якими властивостями володіють ферментовані яблучні продукти?
17. Як ферментація за допомогою LAB впливає на летючі характеристики фруктових продуктів?
18. Які кислоти є найбільш поширеними в сидру?
19. Як ферментовані яблучні продукти впливають на здоров'я людини?

Рекомендована навчальна література

1. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
2. Українець А.І., Калакура М.М., Романенко Л.Ф., Домарецький В.А. Загальні технології харчових виробництв: підруч. К. : Університет «Україна», 2010. 814 с.
3. Гуменюк О.Л. Технологія бродильних виробництв: тексти лекцій для студентів спеціальності 181 «Харчові технології» заочної форми навчання. Чернігів: НУЧП, 2020. 143 с.
4. Єгорова А.В., Капрельянц Л.В., Труфкаті Л.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Одес. нац. акад. харч. технологій. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.
5. Пирог Т.П., Антонюк М.М.,Скроцька О.І., Кігель Н.Ф. Харчова біотехнологія: підручник. К.: Видавництво Ліра-К,2016. 408 с.
6. Ростовський В. С., Колісник А. В. Система технологій харчових виробництв : навч. посібник. К. : Кондор, 2008. 256 с.
7. Мелетьєв А. Є. Технологія продуктів бродіння і напоїв : укр.-рос. тлумач. слов. Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2011.192 с.
8. Куц, А. М., Кошова В. М. Технологія бродильних виробництв : конспект лекцій з дисц. "Загальні технології харчової промисловості" для студ. ден. та заоч. форм навч. напряму підготовки 6.051701 «Харчові технології та інженерія». К.:НУХТ, 2011. 156 с.

Розділ 7. ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ БРОДІННЯ У ВИРОБНИЦТВІ БЕЗАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ

7.1. Історія приготування хлібного квасу

Хлібний квас – є традиційним напоєм Східної та Центральної Європи, у виробництві якого застосовані бродильні процеси. Цей напій уже багато століть слугує споживачам за рахунок того, що окрім гарного смаку та здатності втамовувати спрагу, квас має ще й безліч корисних властивостей: стимулює травлення, покращує обмін речовин, нормалізує мікрофлору кишківника, перешкоджає розмноженню шкідливих та хвороботворних мікробів і бактерій та ін. Дуже швидко він став традиційним слов'янським напоєм, як пиво для німців або вино для французів.

Виготовлення квасу відбувається за допомогою двох процесів: молочнокислого і спиртового бродінням житньої сировини (житнього борошна, сухого житнього хліба, житнього солоду), цукру і дріжджів. Квас містить не більше 1,5% спирту за об'ємом, а при більш тривалому відстоюванні концентрація спирту може досягати 2,5% і більше. На відміну від інших зернових алкогольних напоїв, квас вважається безалкогольним напоєм.

Квас – освіжаючий напій із приємним ароматом житнього хліба та помірно кисло-солодким смаком, найбільшим попитом користується у спекотну погоду. Цей напій не вимагає додаткової пастеризації, так як роль консервації продукту виконує молочна кислота, що утворюється в процесі молочнокислого бродіння. Квас містить важливі з дієтичної та фізіологічної точки зору природні органічні кислоти, амінокислоти, вуглеводи. У квасі унікальний склад мінералів та мікроелементів, які людина може отримати виключно з їжею: цинк, калій, магній, сірка, залізо, марганець, йод, фосфор, натрій. При низькій калорійності напій є натуральним та безпечним енергетиком. Квас має високу харчову цінність завдяки наявності екстрактивних речовин, в тому числі білків, вуглеводів (фруктоза, глюкоза, мальтоза, цукроза у співвідношенні 1:0,8:3:2 та декстрини), молочної, винної, лимонної та інших органічних кислот,

ароматичних та барвних речовин (меланоїдини), вітамінів С, В₁, В₂, РР, D, ферментів, мінеральних речовин, зокрема солей фосфору, заліза та кальцію. Квас містить такі незамінні амінокислоти як: валін, лейцин, ізолейцин, лізин, метіонін. Амінокислотний склад готового напою становить 202,2 мг/л. Особливо корисними вважаються синтезовані в процесі бродіння білки дріжджових клітин. Завдяки молочній кислоті обумовлений не тільки свіжий смак та кислуватий присмак, а й бактерицидні властивості квасу. Вуглеводи надають квасу повноту смаку, а меланоїдини зумовлюють особливості смаку, аромату та кольору.

Квас позитивно впливає на обмін речовин, є джерелом фолієвої кислоти, сприяє регуляції процесів травлення.



Рис. 19. Асортимент популярних торгових марок квасу [22]

На сьогоднішній день найпоширеніший на ринку продукт під назвою квас отримують розбавленням солодового концентрату великою кількістю добавок, як правило, це пастеризований продукт. Лідерами по виробництву квасу в Україні є такі компанії: перша приватна броварня (ТМ «Львівський. Бочковий, Львівський Хлібний»); Carlsberg Group (ТМ «Тарас»); ПАО Оболюнь (ТМ «Старокиївський»); Укрпродукт Груп (ТМ «Арсенівський»); ООО «Квас Бевериджес» (ТМ «Ярило»); компанія Бон Буассон (ТМ «Боярський»); СТМ (ТМ «Своя лінія»), інші.

7.2. Існуючі способи приготування хлібного квасу

Для приготування хлібного квасу використовують: концентрат квасного сусла; цукор-пісок, у вигляді цукрового сиропу; питну воду, спеціально очищену; комбіновану закваску мікроорганізмів (відповідні штами дріжджів та молочнокислих бактерій). Технологія хлібного квасу складається з таких основних стадій:

- приготування білого цукрового сиропу;
- приготування квасного сусла;
- приготування закваски культур мікроорганізмів;
- зброджування квасного сусла;
- купажування квасу;
- розлив квасу.

7.2.1. Приготування білого цукрового сиропу

Цукровий сироп – це концентрований водний розчин цукру з масовою часткою сухих речовин 60–65%. Сироп готують двома способами: холодним та гарячим.

Стадії приготування цукрового сиропу за холодним способом. Для запобігання бродіння цукрового сиропу при зберіганні його концентрують до вмісту сухих речовин 60–65%. На відміну від кип'ятіння, пастеризація цукрового сиропу не гарантує повного знезараження сиропу від лейконостока і слизеутворюючих спорових бактерій, чим створює великий ризик ураження ними квасного сусла.

Лейконосток (*Leuconostoc*) – рід грампозитивних бактерій, що належать до родини *Lactobacillaceae*. Зазвичай це яйцеподібні коки, які часто утворюють ланцюжки. *Leuconostoc spp.* мають внутрішню стійкість

до ванкоміцину та каталазонегативні. Усі види цього роду є гетероферментативними і здатні виробляти декстран із цукрози.

Декстран – полімер із класу полісахаридів. Полімер глюкози. Декстран – полісахарид бактеріального походження. Його хімічна формула $(C_6H_{10}O_5)_n$. Ланцюг декстрану є послідовністю ланок, які складаються із з'єднаних між собою атомів кисню і глікопіранозних кілець.

Внаслідок цього, при холодному способі приготування цукрового сиропу, обов'язковим є його фільтрація через знепліднюючі фільтри.

Стадії приготування цукрового сиропу за гарячим способом. Гарячий спосіб приготування цукрового сиропу використовується лише при дуже високій якості вихідної сировини. Існує спосіб гарячого приготування цукрового сиропу з застосуванням активованого вугілля і кізельгуру, які використовуються у випадку невідповідності цукрів потрібним вимогам – підвищена колірність, мутність, наявність стороннього запаху чи сильна інфікованість.

Кізельгур (Diatomite) – це природна речовина органічного походження, що складається з панцирів одноклітинних мікроскопічних організмів, що жили мільйони років тому, – фітопланктону.

Суть способу гарячого приготування: одночасно з внесенням першої порції цукру в апарат при безперервному перемішуванні задають активоване вугілля і кізельгур у кількості 0,1–0,5% кожного від кількості цукру. Потім у розчин вносять ортофосфорну кислоту, в кількості необхідній для зниження рН до $4,35 \pm 0,2$. Після внесення всієї кількості цукру температуру розчину доводять до $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ і витримують 15 хв. Гарячим цукровий сироп фільтрують через кізельгуровий фільтр, а далі знезаражують шляхом пропускання через фільтр з діаметром отворів 0,45–1,0 мкм. Якщо на підприємстві використовують рідкий

цукор, то його з транспортної цистерни перекачують через сітчасті вловлювачі і протиточні теплообмінники в збірники для зберігання, звідки він надходить у виробництво як цукровий сироп. Готовий цукровий сироп використовують при приготуванні квасного суслу та купажуванні квасу.

7.2.2. Приготування квасного сусла

Існують такі способи приготування квасного сусла:

- з концентрату квасного сусла (ККС);
- з ККС, замінюючи пивним сушлом частину ККС;
- настійним способом (з сухого квасу або квасних житніх хлібців);
- з сухих зернопродуктів;
- з зернопродуктів з використанням ферментних препаратів.

Найпоширенішим способом приготування квасного сусла є використання концентрату ККС. Існують два способи такого приготування:

- розраховують необхідну кількість ККС та перед зброджуванням вносять його в сусло, далі цукровим сиропом купажують молодий квас;
- за цим способом тільки частину загальної кількості ККС (70%), яка розрахована за рецептурою, використовують безпосередньо на приготування квасного сусла, а іншу частину (30 %) вносять при купажуванні зброженого сусла.

ККС необхідно розвести водою в 2–2,5 рази перед використанням, для цього воду (30–35°C) наливають в апарат для попереднього розведення. Далі його пастеризують при температурі 75–80°C 30–40 хв. для підвищення мікробіологічної чистоти квасу та його стійкості. Потім сусло охолоджують та відправляють на бродіння у бродильний або бродильно-купажний апарат з подальшим внесенням необхідної кількості води та цукрового сиропу. Вміст сухих речовин у суслі перед внесенням сиропу повинен бути в межах 1,8–2,2% за першим способом і 1,4–1,8 % – за другим способом. Після внесення цукрового

сиропу концентрація сухих речовин сусла повинна становити 2,8–3,2 %, температура 27–29 °С.

Приготування квасного сусла настійним способом із квасних житніх хлібців. Квасні хлібці випікають із суміші житнього і ячмінного солоду, житнього борошна і води (без дріжджів або закваски). На 1 т квасних хлібців витрачають 477 кг житнього солоду, 77 кг ячмінного солоду і 185 кг житнього борошна. Суть способу полягає в екстрагуванні гарячою водою розчинених речовин квасних хлібців або сухого квасу з подальшим відокремленням частини квасної гущі, яка не розчиняється. Тричі послідовно заливають гарячою водою подрібнені квасні хлібці або сухий квас. Настоявання чергують з перемішуванням суміші. Настійний апарат заповнюють гарячою водою температурою 80–90 °С, далі подають усю масу хлібців (сухого квасу) при постійному перемішуванні, яке продовжують ще протягом 30 хв., а потім настоюють 1,5–2 години. Відстояне перше сусло із вмістом сухих речовин 1,8–2% декантують і подають на бродіння через теплообмінник. Гущу знову заливають гарячою водою, температурою 60–70 °С, перемішують 20 хв та настоюють 1,5 години. Декантант пропускають через теплообмінник і з'єднують з першим суслом. Третє заливання здійснюють також гарячою водою; суміш води і гущі перемішують 20 хв., настоюють 1 годину. Третє сусло після охолодження приєднують до перших двох. Вміст сухих речовин у другому суслі – 1,2–1,3%, а в третьому – 0,5–0,7%. Вихід загального сусла після трьох заливок температурою 23–27 °С і масовою часткою сухих речовин не менше ніж 1,5% має дорівнювати об'єму квасу, який готується. На кожне заливання витрачають об'єм води, що дорівнює 1/3 об'єму квасу.

Приготування квасного сусла із зернопродуктів із використанням ферментних препаратів. Цей спосіб передбачає проведення процесу приготування сусла на обладнанні варильного відділення пивоварного заводу. Спочатку подрібнюють житній і ячмінний солод, ячмінь і жито. Отриманий помел затирають настійним або відварочним способом при співвідношенні зернопродуктів і води 1:3,5 та значенні рН затору в межах 5,4–5,6.

Настійний спосіб. У заторний апарат набирають воду (42–45 °С) та вносять необхідну кількість подрібнених зернопродуктів при постійному перемішуванні, далі задають амілолітичні і цитолітичні ферментні препарати. Швидкість затирання 1 °С/ хв. за таким режимом: витримка при 42–45 °С протягом 30 хв.; підігрів до 50–52 °С; витримка при 50–52 °С протягом 30 хв.; підігрів до 60–63 °С; витримка при 60–63 °С протягом 60 хв.; підігрів до 70–72 °С; витримка при 70–72 °С до повного оцукрювання по йодній пробі, але не менше 20 хв. Після цього затор при перемішуванні підігрівають до температури 76–78 °С і передають на фільтрування у фільтрапарат або на фільтрпрес.

Одновідварочний спосіб. У заторний апарат набирають воду (40–42°С) і при постійному перемішуванні задають усю кількість подрібнених несолоджених матеріалів, 1/3 маси ячмінного солоду та 1/4 частину розрахункової кількості цитолітичного ферментного препарату. Отриману частину затору витримують при підігріванні на 1°С/хв. при наступних температурних паузах: витримка при 42–45 °С протягом 30 хв.; підігрів до 50–52 °С; витримка при 50–52 °С протягом 30 хв.; підігрів до 60–63 °С; витримка при 60–63 °С протягом 15 хв.; підігрів до 70–72 °С; витримка при 70–72 °С протягом 10 хв.; підігрів до кипіння; кип'ятіння протягом 30 хв. Перед початком кип'ятіння несолодженої частини затору в заторному апараті затирають основний затір з решти подрібнених зернопродуктів, вносять решту ферментних препаратів і витримують затір при 42–45 °С протягом 30 хв. Потім до цієї частини затору повільно перекачують прокип'ячену частину затору з таким розрахунком, щоб температура загального затору була рівною 63 °С. Після цього процес проводять за наступним режимом: витримка при 63 °С протягом 60 хв.; підігрів до 70–72 °С; витримка при 70–72 °С до повного оцукрювання по йодній пробі, але не менше 20 хв. Оцукрений затір при перемішуванні підігрівають до температури 76–78°С і передають на фільтрування у фільтрапарат або на фільтрпрес. У фільтрапараті затір для відокремлення сусла витримують протягом 60 хв., а потім після закінчення витримки одночасно з фільтруванням сусла відстояне сусло знімають через крани та направляють його у сусловарильний апарат.

Отримане сусло кип'ять у ньому протягом 30–60 хв. Подальший процес освітлення сусла проводять за допомогою відстійних та гідроциклонних апаратів або сепарування. В освітлене сусло додають знезаражену воду і цукровий сироп у кількості, необхідній для отримання заданої масової частки сухих речовин сусла.

7.2.3. Приготування закваски

При зброджуванні квасного сусла зазвичай використовують комбіновану культуру дріжджів та молочнокислих бактерій (МКБ). Вона являє собою двокомпонентну культуру з дріжджів і молочнокислих бактерій. Дріжджі викликають спиртове бродіння, а бактерії – молочнокисле. Молочнокислі бактерії приблизно половину цукру перетворюють на молочну кислоту, решту цукру – в діоксид вуглецю, оцтову кислоту і етиловий спирт. Спільна дія мікроорганізмів заснована на їх різному обміні речовин, і різних вимогах до живильного середовища, а також різній швидкості розмноження. Розмноження змішаної (або комбінованої) закваски дріжджів і МКБ проводиться в 3 стадії:

- лабораторна стадія;
- у відділенні чистих культур (ЧКД);
- виробнича стадія.

Розмноження мікроорганізмів в лабораторній стадії проводиться на початку виробничого сезону квасоваріння, а потім регулярно за графіком протягом сезону або без графіка при виявленні ініціювання змішаної (комбінованої) закваски або надмірного ослаблення бродильної активності чистих культур. Чиста культура дріжджів на завод надходить в пробірках на суслі агарі, а чиста культура МКБ в запаяних пробірках в пивному суслі з дробиною, в яке внесена крейда. Дробина створює сприятливий для МКБ рН сусла, а крейда нейтралізує утворені бактеріями кислоти. Зберігання ЧК дріжджів допускається до 1 місяця без пересівань, ЧК МКБ – не більше 10 діб. У

лабораторній стадії в якості середовища використовують стерильне квасне сусло з цукром з вмістом сухих речовин 8%. Температура культивування на кожній стадії 30°C, тривалість 24 год. Розмноження дріжджів проводиться за схемою: пробірка 10 см³ → колба 250 см³ → бутиль 2 дм³. Молочнокислі бактерії різних рас розмножують спочатку окремо. Вміст трьох ампул з ЧК кожної раси МКБ переносять в колби на 250 см³. На 2-й стадії чисті культури рас об'єднують і далі культивують сумісно. Загальна схема розмноження МКБ в лабораторній стадії: 3 ампули з ЧК → 2 колби по 250 см³ → колба 2 дм³ → колба 4 дм³. Отримані культури дріжджів і МКБ передають до відділення чистих культур. Стадія розмноження у відділенні чистих культур (ЧК) може проводитися двома способами: А і Б. Вони відрізняються тим, що по способу А чисті культури дріжджів і МКБ розмножують окремо і змішуються тільки на виробничій стадії, а за способом Б чисті культури дріжджів і МКБ змішують і культивують спільно на останній стадії в відділенні ЧК. Для розведення чистих культур використовують установки з двома бродильними циліндрами: для ЧК дріжджів і для ЧК МКБ. Квасне сусло з вмістом сухих речовин 8% стерилізують при атмосферному тиску протягом 1 год, охолоджують до 25–30°C і передають на розмноження чистої культури мікроорганізмів.

Спосіб А. Починають розмноження чистих культур з розведення ЧК МКБ. Розведення ЧК МКБ в кількості 4 дм³ пересівають в збірник, в якому знаходиться 36 дм³ охолодженого до 30 °С стерильного квасного суслу з цукром і розмножують 48 годин при температурі 28–30 °С. Потім весь обсяг розводки МКБ передають до збірки об'ємом 400 дм³. Оскільки розмноження дріжджів відбувається протягом 24 годин, а МКБ – 48 годин, на цій стадії МКБ вирощують в 2-х збірниках по 400 дм³, які працюють з різницею в часі 24 години. Для цього через 24 години розмноження МКБ з 1-го збірника на 400 дм³ передають 40 дм³ розведення в 2-й збірник на 400 дм³. В перший доливають сусло і продовжують розмноження ЧК МКБ ще 24 год, після чого 360 дм³ ЧК МКБ передають до збірника комбінованої закваски разом з 18 дм³ розведення ЧК дріжджів. Решту 40 дм³ розводки ЧК МКБ доливають суслом і проводять наступний цикл

культивування МКБ. З другого збірника (400 дм³ розводки ЧК МКБ) 360 дм³ розводки передають для розмноження комбінованої закваски на наступну добу. Решту 40 дм³ розводки ЧК МКБ, що залишилася в 2 збірнику доливають кvasним суслом до об'єму 400 дм³ і проводять наступний цикл розмноження. Готовність ЧК МКБ контролюють по збільшенню кислотності розводки, яка повинна бути не нижче 6,8–7,0 см³ розчину гідроксиду натрію концентрацією 1М/дм³ на 100 см³ розводки.

Через добу розмноження першої порції розводки ЧК МКБ об'ємом 400 дм³ розводку ЧК дріжджів в кількості 2 дм³ передають в збірник, де знаходиться 18 дм³ стерильного сусла (охолодженого до 30 °С), розмножують 24 години і 18 дм³ розводки ЧК дріжджів передають в виробничу стадію до збірки змішаної закваски.

Спосіб Б. Аналогічно способу А, готують розведення ЧК дріжджів (20 дм³) і ЧК МКБ (40 дм³). Потім весь обсяг чистих культур дріжджів і МКБ передають до збірника попередньо змішаної закваски, в який наливають 540 дм³ стерильного кvasного сусла з цукром. Розмноження ведуть 24 години, після чого додають розводку дріжджів 20 дм³, яка розмножувалась 24 години. Ще через 24 години сумісного розмноження 540 дм³ попередньо змішаної закваски, її направляють в збірник змішаної закваски робочим об'ємом 4000 дм³. До 60 дм³ попередньо змішаної закваски, що залишилася додають сусло до обсягу 600 дм³ і ведуть наступний цикл розмноження протягом 48 год. Такий об'ємно-доливний процес розмноження закваски можна вести 7 циклів по 48 годин, після чого розводки ЧК дріжджів і МКБ слід замінити на свіжі з лабораторії. Основна умова культивування попередньо комбінованої закваски – строгий контроль кислотності середовища, що не повинна перевищувати 8–3 см³ розчину луку концентрацією 1 моль/дм³ на 100 см³ середовища. При більш високій титрованій кислотності в заквасці будуть переважати МКБ, так як життєдіяльність дріжджів пригнічується. Розмноження змішаної закваски у виробничій стадії проводиться в збірнику на 4000 дм³ по різних режимам в залежності від способу розмноження мікроорганізмів у відділенні чистих культур.

За способом А розводки дріжджів 18 дм³ і МКБ – 360 дм³ вносять в виробниче квасне сусло з цукровим сиропом, загальний обсяг середовища 4000 дм³, змішану закваску розмножують 6 годин, потім весь обсяг передають в апарат для бродіння квасу. Витрата комбінованої закваски на бродіння становить 4% від обсягу квасного сусла.

За способом Б попередньо комбінована закваска готується 48 годин, тому допускається вести об'ємно-доливний процес безпосередньо в збірнику змішаної закваски. Для цього після 6-ти годинного розмноження закваски на бродіння передають 50% вмісту збірника, що становить 2% до обсягу квасного сусла. У цьому випадку бродильний апарат доливають суслом спочатку на 50% обсягу, а через 8–10 годин бродіння до повного робочого об'єму і ведуть бродіння до досягнення необхідних показників. Решту (50% змішаної закваски) доливають до повного обсягу і проводять наступний цикл культивування, після закінчення якого на бродіння передають весь вміст збірника комбінованої закваски в апарат для бродіння квасу, при цьому бродіння квасного сусла ведуть в повному робочому обсязі.

При культивуванні мікроорганізмів за способом А потрібно більшу кількість збірників для розмноження, проте цей спосіб простіший, легше контролювати склад закваски, співвідношення дріжджів і МКБ. Крім того, за способом Б потрібно через 14 діб змінювати культури дріжджів і МКБ, починаючи з лабораторної стадії.

Отже, виробництво змішаної культури дріжджів і молочнокислих бактерій включає ряд стадій: розмноження чистих культур (ЧК) в лабораторних умовах, розмноження ЧК в виробничих умовах, отримання змішаної закваски в виробничих умовах. Ці стадії досить тривалі і трудомісткі, вимагають стерильних умов, збільшуються втрати сухих речовин, важко контролювати необхідне співвідношення мікроорганізмів та регулювати їхню активність. Тому в сучасних умовах, коли в пивобезалкогольній промисловості переважають, в основному, цехи і заводи невеликої потужності, більшість виробництв використовують для зброджування квасу хлібопекарські дріжджі, що негативно

позначається на якості і харчовій цінності продукту. Або випускають незброджені кваси, тобто напої на зерновій сировині, які готуються шляхом змішування ККС з водою з подальшим штучним насиченням діоксидом вуглецю, і квасні напої, отримані на основі синтетичних барвників і ароматизаторів. Дані напої не мають корисних властивостей хлібного квасу, приготованого за традиційною технологією. Одним із шляхів вирішення цієї проблеми з метою спрощення технології бродіння квасу, щоб його виробництво стало доступним для невеликих підприємств, необхідно виключити стадію виробництва комбінованої закваски. Замість чистих культур молочнокислих бактерій можна використовувати сухі мікроорганізми, які після нетривалого розброджування вносяться безпосередньо в сусло, а замість хлібопекарських дріжджів – чисту культуру спеціальних квасних дріжджів. Розведення чистих культур дріжджів здійснюють на квасному суслі з додаванням цукрового сиропу до концентрації сухих речовин 6–8% у три етапи: в лабораторії, у відділенні чистих культур квасного цеху та безпосередньо на виробництві. Суть процесу полягає у накопиченні необхідної для здійснення бродіння біомаси дріжджів і молочнокислих бактерій. В лабораторії використовують сусло, простерилізоване в автоклаві при 0,05 мПа протягом 15–20 хв, а у відділенні чистих культур та на виробництві – сусло, прокип'ячене в закритому збірнику протягом 15–20 хв. Оптимальна температура вирощування дріжджів – 25–30°C. Розраховану кількість закваски молочнокислих бактерій спочатку вносять в стерильне сусло концентрацією сухих речовин 8% для розброджування, а далі в сусло безпосередньо на бродіння.

7.2.4. Зброджування квасного сусла

Бродіння може проводитися в бродильних апаратах, бродильно-купажному апараті та циліндроконічних бродильних апаратах (ЦКБА). Бродильно-купажний апарат являє собою циліндричну ємність, яка встановлена

на опорах, зі сферичною кришкою, герметично закритим люком та конічним дном, в якому знаходиться камера дріжджевідокремлювач. В нижній частині є пропелерна мішалка та охолоджуюча сорочка або змійовик. Спочатку готується сусло, вноситься закваска і дріжджі та проходить бродіння при 25–30 °С до зниження масової частки сухих речовин на 1% та збільшення кислотності до 2–4 см³ розчину NaOH 0,1 моль/дм³ на 100 см³ квасу. Тривалість бродіння 14–16 год. Далі квас охолоджують до 6–7 °С для осадження дріжджів та проводять купажування ККС і цукровим сиропом. З цього ж апарату можна вести розлив шляхом перекачування діоксидом вуглецю. Спосіб зброджування в циліндрично-конічних купажних апаратах дозволяє суттєво збільшити продуктивність квасного відділення. Цей спосіб використовується на ПАТ «Росинка». ККС перед або після розбавлення пастеризують 30–35 хв при температурі 75–80°С, потім охолоджують до 28–30 °С і перекачують в ЦКБА через нижній штуцер. Закваску і дріжджі вносять в 2-гу порцію розчиненого ККС. Цукровий сироп вносять за допомогою насоса при постійному перемішуванні. Зброджування ведуть при періодичній циркуляції шляхом перекачування насосом через кожні 2 год по 30 хвилин для запобігання осадження дріжджів. Після закінчення бродіння квас охолоджують до 5–7 °С. Осад дріжджів зливають. Квас купажують, додаючи ККС та цукровий сироп при постійному перемішуванні. Тривалість бродіння в ЦКБА об'ємом 50 м³ 10–12 годин, охолодження 6–8,5 годин. При необхідності проводять освітлення квасу за допомогою препаратів освітлювачів або шляхом сепарування.

7.2.5. Купажування квасу

Купажують зброджене сусло шляхом внесення цукрового сиропу після видалення осаду мікроорганізмів або рідкого цукру до заданого вмісту сухих речовин у бродильно-купажному, циліндро-конічному бродильному або в купажному апараті. Купажні апарати – це збірники з нержавіючої сталі,

алюмінію або сталі, покритої склоемаллю. Вони обладнані мішалками і барботерами для подачі діоксиду вуглецю і мають теплоізоляцію.

7.2.6. Розлив квасу

Готовий квас розливають в автотермоцистерни, ізотермічні автоцистерни, бочки, кеги та пляшки (ПЕТ або скляні).

Поліетилентерефталат (ПЕТ, поліестер, дакрон, майлар, лавсан) – термопласт, найпоширеніший представник класу поліестерів, відомий під різними фірмовими назвами.

Наповнення тари квасом із збірників–мірників, а також безпосередньо з ЦКБА і бродильно-купажних апаратів здійснюють відкритим або ізобаричним способом. Для збереження смакових якостей квасу та запобігання втрат діоксиду вуглецю розлив квасу доцільно проводити в ізобаричних умовах. Втрати квасу при цьому складають до 0,8 % (відкритим способом 2%). Гарантійний термін зберігання нефільтрованого хлібного квасу становить 2 доби при температурі не вище 12 °С, фільтрованого та пастеризованого – 180 діб при температурі не вище 25 °С. На сьогоднішній день квас у безалкогольній промисловості виготовляють в більшості на заводах і цехах невеликої потужності. На цих підприємствах використовують для зброджування квасу хлібопекарські дріжджі, які негативно позначається на харчовій цінності і якості продукту.

Ще виготовляють квасні напої на основі ароматизаторів і синтетичних барвників, незброжені кваси, напої на зерновій сировині, які виготовляють змішуванням ККС з водою і подальшим штучним насиченням діоксиду вуглецю. Такі напої не містять корисних властивостей хлібного квасу, на відміну від вироблених за традиційною технологією. Для вирішення цієї проблеми треба взяти за мету спрощення технології бродіння квасу. Для доступності навіть крафтовим підприємствам, бажано виключити виробництво комбінованої закваски. Можна використовувати сухі мікроорганізми замість чистих культур

молочнокислих бактерій, які після короткого розброджування додаються безпосередньо до квасного сусла, або спеціальні чисті культури дріжджів замість звичайних дріжджів для покращення показників квасу.

7.3. Придання хлібному квасу функціональних властивостей

7.3.1. Приклади застосованої рослинної сировини у виробництві квасу

В останні роки все більша увага приділяється рослинам, включаючи трави, які багаті поліфенолами та виявляють антиоксидантну активність, що стають популярними як добавки до функціональних харчових продуктів і нутрицевтиків.

Прикладом такої сировини є *плоди чорноплідної горобини* (*Aronia melanocarpa*), які характеризуються високим вмістом фенольних сполук і, таким чином, зараховуються до плодів з найвищими антиоксидантними властивостями. Антиоксидантна активність включає поглинання радикалів, інгібування утворення активних форм кисню та азоту, відновлення антиоксидантної активності та інгібування прооксидантних ферментів. Крім того, плоди чорноплідної горобини є цінним джерелом антоціанів, проантоціанідинів, гідроксикоричних кислот.

Плоди обліпихи (*Hippophaë rhamnoides*), як і чорноплідна горобина, є джерелом біологічно активних компонентів, до яких відносяться вітаміни, флавоноїди, каротиноїди, ненасичені жирні кислоти, які позитивно впливають на здоров'я людини. Особливо важливою є наявність у цих фруктах стабільного вітаміну С. Плоди обліпихи характеризуються широким спектром оздоровчих властивостей завдяки значній кількості антиоксидантних сполук, зокрема флавоноїдів, токоферолів, каротиноїдів.

М'ята перцева (*Mentha piperita*) в основному вирощується заради її ефірної олії, яку можна витягти зі свіжозмеленого листя, забезпечуючи сировину для екстракції різних біоактивних сполук. Крім ефірної олії, листя м'яти перцевої містять такі неесенціальні компоненти: стероїди, флавоноїди, тритерпеноїди,

фенолкарбонові кислоти та ін. Таким чином, ця трава є цінною сировиною для екстрагування різноманітних біоактивних сполук, що виявляють протизапальну, антибактеріальну, протівірусну та протипухлинну діяльність.

В останні роки *каркаде* набув популярності у виробництві квасу. Каркаде – це висушені квітки суданської троянди, більш відомої як гібіскус. Ця рослина є близьким родичем китайської троянди. Незважаючи на своє тропічне походження, з квіток гібіскуса виготовляють популярні напої, які цінуються в усьому світі. Каркаде відігравав важливу роль у різних культурах. У давньоарабських медичних трактатах його називали універсальними ліками. За свою історію напій отримав безліч почесних назв, таких як "напій фараонів" і "королівський напій". Корисні властивості каркаде обумовлені особливостями його вирощування, збору, обробки та зберігання. Його смак, колір і склад поживних речовин можуть варіюватися залежно від місця походження. Каркаде містить полісахариди, пектини, амінокислоти, антиоксиданти, антоціани, вітаміни (А, групи В, С, Р), мікроелементи (натрій, кальцій, магній, фосфор, залізо, калій), флавоноїди (кверцетин), вуглеводи (фруктозу та глюкозу), а також органічні кислоти (гамма-ліноленову, лимонну).

Цикорій – це пребіотик природного походження, який нині активно використовується у виробництві оздоровчого квасу. Він є цінним джерелом інуліну – природних харчових волокон, що відіграють важливу роль у підтримці здоров'я організму. У свіжому корені цикорію міститься до 68% інуліну, а після висушування його концентрація може досягати 98%. Таким чином, сушене коріння цикорію майже повністю складається з інуліну. Інουλін часто застосовується як пребіотик, що сприяє накопиченню корисних бактерій у кишківнику. Цикорій корисний для людей із серцево-судинними захворюваннями, гіпертонією, неврастенією, депресією, безсонням і мігренню.

У літературі є поодинокі повідомлення про вплив сировинних добавок на основі плодів чорноплідної горобини, плодів обліпіхи, листя м'яти перцевої, каркаде, цикорію на оздоровчі властивості квасу. Враховуючи зростаючий інтерес до інноваційних, безалкогольних і функціональних напоїв на рослинній

основі, дослідження в цій галузі виправдані. Для виготовлення квасу використовувався житній хліб, виготовлений із зернової сировини – житнього борошна із зерна жита (*Secale cereale*). Відповідно, квас виготовляли на основі екстракту житнього хліба і збагачували його рослинними добавками, такими як заготовки з плодів чорноплідної горобини, плодів обліпихи, трави м'яти перцевої. Отримані кваси з добавками піддавали сенсорним характеристикам, вибраним показникам якості та хімічним аналізам для оцінки впливу форми та кількості рослинної добавки на антиоксидантність кінцевого продукту.

Контрольні кваси отримували при температурах бродіння 28 ° і 34 °С і досліджувані кваси на їх основі з рослинними добавками піддавали органолептичній оцінці. Порівняння результатів випробувань індивідуальних сенсорних ознак досліджуваних квасів, а також отриманих сумарних балів, показує, що використання різних добавок, як за ботанічним походженням, формою добавки, так і за участю в рецептурі продукту, призвело до значної диференціації результатів випробувань.

Важливим чинником якості квасу є його смак. Було відмічено, що використання добавки соку плодів обліпихи призвело до значного погіршення оцінки цієї сенсорної ознаки, яка була значно нижчою від результатів, зафіксованих для контрольного зразка та інших квасів з добавками. Важливо відзначити, що на оцінку цього параметра у квасів з добавками на основі плодів обліпихи впливала температура бродіння контрольного квасу. Найкращий і однаково оцінений смак продукту з додаванням соку плодів чорноплідної горобини та з додаванням настою м'яти перцевої склав у середньому 4,8 бала. Ці результати не відрізнялися температурою бродіння. Результати сенсорної оцінки як контрольних квасів, так і квасів, перевірених з добавками, були вищими для продуктів, отриманих шляхом бродіння при 34 °С. За сумою балів встановлено, що кваси з додаванням соку чорноплідної горобини за органолептичною оцінкою отримали кращі бали (18,6–19,9) у порівнянні з контролем (15,1–17,4), а кваси з настоем м'яти перцевої – у середньому 13,2, що близько до оцінки відповідного контрольного зразку. Щодо використання добавок у виробництві

квасів зазначалося, що крім цілеспрямованого покращення хімічного складу готового продукту з використанням інгредієнтів з антиоксидантними властивостями, відбулося значне покращення його хімічного складу.

7.3.2. Вплив добавок на деякі сенсорні характеристики квасів

Контрольні кваси та розроблені з них рецептурні варіанти піддавали оцінці антиоксидантних властивостей. Експериментальні фактори та взаємодія між ними мали значний вплив на антиоксидантну активність. Вища температура бродіння (34 °С) сприяла підвищенню антиоксидантної активності як контрольного квасу, так і досліджуваних квасів на його основі. При порівнянні результатів було зафіксовано вищі значення порівняно з квасами, отриманими шляхом бродіння при температурі 28 °С на 12,0% та 16,6%. Добавки з оздоровчими властивостями надавали антиоксидантну активність квасам. Найнижче значення даного показника виявлено у квасу з 3% настоєм плодів чорноплідної горобини і 3% настоєм плодів обліпихи. Ці значення були вірогідно нижчими порівняно з контрольною вибіркою на 65,0, 71,4 і 59,1% відповідно. При вимірюванні радикальним методом менші значення порівняно з контролем додатково показали кваси з настоєм плодів чорноплідної горобини (5 і 10 %), соком плодів обліпихи (3 %), настоєм з обліпихи (5 і 10 %). Найвищу антиоксидантну активність серед усіх досліджуваних квасів і рецептурних варіантів виявив квас з 10%-ним настоєм м'яти перцевої. У порівнянні з контрольним зразком виявлено підвищення антиоксидантної активності аж на 192,8 % та 157,4 %. Високу антиоксидантну активність зафіксовано також у квасів з додаванням соку чорноплідної горобини (5 і 10%) і настоєм м'яти перцевої (5%). Так само вплив рецептури, особливо за участю біологічно активних інгредієнтів, на підвищення антиоксидантного потенціалу готового продукту було відзначено й іншими дослідниками.

Значення рН досліджуваних контрольних квасів не змінювалося і становило в середньому 4,15, аналогічне значення було отримано і в дослідях

квасу з 5% соку чорноплідної горобини. При дослідженні інших рецептурних варіантів квасів, у тому числі за участю настою м'яти перцевої, зафіксовано вищі значення конкретного показника в діапазоні $\text{pH}=4,2-4,6$. Подібні результати отримані й іншими авторами при дослідженні квасу на основі житнього хліба, що підтверджує, що житній хліб є доброю сировиною для отримання водного екстракту для бродіння при виробництві квасів.

У досліджуваних квасах виявлено наявність спирту у концентраціях не більше 0,5 %, а у виробках, у яких частину квасу замінили настоем м'яти перцевої, його вміст був меншим. Як видно з порівняння результатів досліджень інших авторів, вміст алкоголю в такому готовому продукті, як квас, залежить від рецептури та умов приготування квасу. Особливе значення має частка цукру та склад мікрофлори.

Кольорові параметри контрольних квасів не відрізнялися, а залежали від значущості частки. У квасів як з додаванням соку плодів чорноплідної горобини, так і настою м'яти перцевої спостерігалася потемніння кольору при більшій і вищій частці добавки та при використанні добавки на основі плодів чорноплідної горобини. Не виявлено впливу температури бродіння контрольного квасу на зміну яскравості кольору продуктів за їх використання з добавками. Кваси з додаванням соку чорноплідної горобини (5 і 10 %, температура бродіння 28 і 34°C) мали більшу частку червоно-синього кольору (10 %, 34°C). Напрямок зміни координат кольоровості квасів з додаванням настоїв м'яти перцевої порівняно з контрольним зразком був протилежним. Відзначено, що застосування настою на основі листя м'яти перцевої призвело до зміни кольору в бік зеленого і збільшення частки жовтого кольору. Для обох варіантів рецептури з додаванням соку чорноплідної горобини та настою м'яти перцевої на значення параметрів кольоровості, крім напрямку зсуву червоно-зеленого та синьо-жовтого кольорів, істотно впливала частка використовуваної добавки та значення pH кінцевого продукту. Для об'єктивної оцінки різниці кольорів між двома об'єктами використовувався параметр загальної різниці кольорів ΔE . Для класифікації відмінностей у сприйняттю кольорі було використано критерій

наступним чином: дуже чітка ($\Delta E > 3$), чітка ($1,5 < \Delta E < 3$) і невелика різниця ($\Delta E < 1,5$). Колір досліджуваних квасів з добавками чітко відрізнявся від кольору контрольних зразків.

За результатами хроматографічного аналізу поліфенольних сполук методом UPLC-PDA-MS/MS оцінювали оздоровчий потенціал досліджуваного квасу з вибраними рослинними добавками. У квасі з додаванням соку чорноплідної горобини виявлено два антоціани та інші одинадцять фенольних сполук. У найвищих концентраціях виявлено хлорогенову кислоту (36,2% від загального вмісту фенолу) та неохлорогенову кислоту (23,5% від загального вмісту фенолу). Загальний вміст визначених сполук становив у середньому 895 мкг/100 мл у продуктах із додаванням соку чорноплідної горобини 5 %. Було показано, що хлорогенова та неохлорогенова кислоти представляють найчисленніші групи фенолокислот у профілі поліфенольних сполук чорноплідної горобини. У той же час мав місце великий внесок ціанідин-3-О-галактозиду в поліфенольні сполуки і було доведено, що поліфенольний профіль продуктів на основі плодів чорноплідної горобини залежить від способу обробки сировини (наприклад, сушіння, пресування).

Для приготування напою на основі суслу використовували сік плодів чорноплідної горобини. Підібрана оптимальна концентрація соку чорноплідної горобини надала напою приємного смаку, але потребувала деяких доопрацювань. Щоб вирішити цю проблему, до суміші додавали олію перцевої м'яти, а карбонізацію проводили за допомогою газу CO₂. Цей напій набув більшого визнання, коли він був газованим і змішаним з олією м'яти перцевої. Такі дослідження і результати можна вважати багатообіцяючими. Для оптимізації якості та оздоровчої цінності виробництва квасу раціональним є проведення подальшого дослідження перспективної сировини і технології виробництва.

В інших дослідженнях було також підтверджено, що збагачення типового квасу фруктовими добавками призвело до покращення його якості. У подальшому планується проведення досліджень щодо впливу інших добавок

рослинного походження (сухорфруктів, побічних продуктів переробки овочів та фруктів, мікроводоростей) на якість, поживність та оздоровчі властивості квасу.

7.4. Овочевий (буряковий) квас. Основні показники і властивості

Ферментовані харчові продукти привернули значну увагу завдяки своїм помітним властивостям збереження, а також кільком перевагам для здоров'я, які вони забезпечують. Бродіння можна забезпечити спонтанним шляхом, а також шляхом додаванням закваски. Ферментовані харчові продукти, отримані в результаті діяльності місцевих мікроорганізмів, які існують у природному середовищі, зазвичай відомі як традиційно/спонтанно ферментовані продукти. Спонтанні ферментації, які відносяться до процесів, що починаються без використання стартового інокулята, використовувалися в галузі консервування харчових продуктів протягом тривалого часу і були всебічно зрозумілі через процес експериментування та вдосконалення, що потенційно охоплює тисячі років.

Застосовувані технології часто базуються на основі наукових доказів без глибокого розуміння фундаментальних принципів процесу бродіння та необхідних стандартів для гарантування якості та безпеки кінцевого продукту. Крім того, спонтанна ферментація призводить до меншої передбачуваності процесу, що спричиняє обмежене або повільне бродіння, що іноді негативно впливає на якість кінцевого продукту.

Напої нового покоління виробляються шляхом контрольованого процесу бродіння, який здійснюється відібраними штамами бактерій, які можуть рости в травній системі людини та виявляти пробіотичні властивості, особливо родів *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* і *Enterococcus*. Вживання пробіотичних напоїв призводить до помітного зростання популяції молочнокислих бактерій (LAB) у товстій кишці. LAB має здатність зменшувати ріст певних бактерій, включаючи *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* і *Enterococci*, які зазвичай присутні в ферментованих харчових продуктах.

Молочнокислі бактерії (LAB) – позатаксономічна група грам-позитивних кислотостійких не утворюючих спори бактерій паличкоподібної або кокоїдної форми, що характеризуються спільними метаболічними і фізіологічними характеристиками.

Захисний механізм, який спостерігається у ферментованих продуктах, можна пояснити існуванням органічних кислот, включаючи молочну кислоту (LA) і оцтову кислоту (AA), які біосинтезуються мікроорганізмами під час процесу бродіння. Крім органічних кислот, деякі види мають здатність генерувати перекис водню (H_2O_2), діацетил і бактеріюцини. Ці сполуки відіграють значну роль в антибактеріальній дії, а також сприяють харчовій конкуренції. Збереження низького окисно-відновного потенціалу, характерного для молочнокислого бродіння, і нижчий pH середовища показують захисний ефект для овочевого соку. Зміни у виробництві органічної кислоти під час бродіння залежать від переважаючих мікроорганізмів у середовищі бродіння. Обов'язкова гомоферментативна бактерія в основному синтезує молочну кислоту як основний побічний продукт метаболізму, тоді як бактерії, класифіковані як факультативна гомоферментативна або гетероферментативна категорія, виробляють інші речовини, такі як органічні кислоти. Органічні кислоти можуть служити значними вторинними джерелами вуглецю для кількох мікроорганізмів, які ростуть у процесі бродіння їжі.

Як сировини для рослинного напою **червоний буряк** є чудовим середовищем для розвитку пробіотиків завдяки вуглеводам, які в ньому містяться. Було виявлено, що червоний буряк (*Beta vulgaris* L.), рослина родини *Amaranthaceae*, має вміст цукру приблизно вдвічі менший, ніж у інших підвидів цукрових буряків, зокрема *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris altissima*. Ця особливість дозволяє вирощувати червоний буряк для кулінарних виробів (солінь, салатів, овочевих соків), а не для виробництва цукру.

Буряковий квас:

- має високий вміст пробіотиків для здоров'я травлення та кишківника;

- зволожує завдяки калію та наявності солі;
- містить багато магнію, марганцю та вітаміну С;
- може підтримувати функцію печінки;
- може підтримати імунну систему;
- містить клітковину;
- може допомогти людському організму створювати еритроцити;
- сприяє детоксикації;
- має високий вміст антиоксидантів;
- містить селен, фолат і В₁₂;
- має усі поживні властивості буряка.

Порівняно з іншими овочами, буряк характеризується переважачим вмістом цукру, який є цукрозою. Дві біоактивні речовини, беталаїни та поліфеноли, є головними винуватцями загальної антиоксидантної здатності червоного буряка. Дослідження LAB демонструють значне зростання виробництва ферментованого соку червоного буряка, а також різноманітних овочевих соків.

Останні розробки в мікробіології створили біологічні основи для бродіння, що зрештою призвело до індустріалізації деяких ферментованих харчових продуктів і напоїв шляхом бродіння заквасками. Потенційне використання стартових культур може бути привабливим для малих переробників, якщо вони бачать різні переваги, включаючи зниження вартості (наприклад, споживання енергії), зменшення тривалості бродіння, збільшення терміну зберігання, покращений контроль процесу, поліпшені сенсорні властивості (такі як смак, аромат, візуальний вигляд, текстура та консистенція), підвищені функції безпеки (наприклад, зниження ризику діареї та детоксикація) та спрощені процедури приготування для кінцевого продукту. Тим не менш, ці наукові досягнення демонструють, що «успішні» підходи часто пропускають деякі атрибути якості, досягнуті традиційними методами. Наприклад, деякі дослідники показали, що виробництво вина вищої якості все ще здійснюється традиційними методами, які залежать від спонтанного бродіння.

Представлене дослідження мало на меті порівняти метод бродіння, який використовується для виробництва соку червоного буряка, ферментованого напою. Порівняльний аналіз був проведений для вивчення методу ферментації, який використовується у виробництві соку червоного буряка. Для цього було обрано два методи:

- спонтанний метод;
- метод додавання закваски.

Для посилення користі для здоров'я ферментованого напою в середовище було внесено пробіотик *Lacticaseibacillus paracasei* (*Lc. paracasei*). Дослідження було зосереджено на моніторингу росту мікроорганізмів під час ферментації, використання субстратів та генерації продуктів. Це має вирішальне значення для точного визначення поведінки мікроорганізмів, які беруть участь у ферментації. Існує потреба в наукових дослідженнях, щоб виявити позитивний і негативний вплив обох методів виробництва на ферментовані продукти. Поведінка мікроорганізмів, час бродіння та кінцеві продукти відрізняються залежно від використовуваної методології. У цьому сценарії це впливає на смак, сенсорні характеристики та харчову цінність кінцевого продукту. Це дослідження є цінним ресурсом для визначення методу бродіння, який використовується у виробництві соку (квасу) червоного буряка. Попередні дослідження в першу чергу були зосереджені на вивченні життєздатності різних пробіотичних штамів у ньому. Однак не було знайдено жодних досліджень, які б показували вплив різних методів виробництва ферментованого соку червоного буряка.

Було досліджено, що зразки цукрози соку червоного буряка зменшилися через деградацію дисахаридів LAB під час бродіння, і що такий сік може бути хорошим субстратом для активності LAB. Більше споживання цукрози було виявлено у зразках, отриманих методом додавання *Lc. paracasei*. Однак у зразках соку червоного буряка, отриманих обома методами, не спостерігалось істотної різниці в концентраціях глюкози та фруктози в ферментаційному середовищі. Залежно від швидкості споживання моносахаридів та розпаду полісахаридів і

дисахаридів на моносахариди, концентрація моносахаридів може збільшуватися або залишатися стабільною під час бродіння.

Обидва методи призводять до майже однакових загальних показників наприкінці бродіння. Тим не менш, у контрольованих експериментальних умовах процес бродіння демонстрував значно більшу швидкість, що призвело до нижчого значення рН для кінцевого продукту. Хоча як LA, так і AA демонстрували вищі концентрації, а цукроза в середовищі з часом знижувалася, це зниження не спостерігалось в іншому методі. У контрольованому методі поведінка домінуючих мікроорганізмів у середовищі може бути легко визначена завдяки його відомим характеристикам. Однак у спонтанному методі поведінку мікроорганізмів у навколишньому середовищі важче точно визначити, оскільки вони змішані. Склад і кількість мікроорганізмів у навколишньому середовищі залежать від таких факторів, як конкретний сорт червоного буряка, що використовується, і переважаючі кліматичні умови. Розуміння поведінки мікроорганізмів, присутніх у цьому контексті, становить значну проблему, оскільки це залежить від безлічі факторів і викликає серйозне занепокоєння щодо безпеки харчових продуктів.

У подальших дослідженнях вивчення різноманіття мікроорганізмів і поведінки у ферментованих напоях з овочів, отриманих з різних місць і підданих різноманітним кліматичним умовам, відкриває потенціал для розуміння складної природи процесу спонтанного бродіння. Крім того, дає розуміння впливу методів порівняння на різні органолептичні, сенсорні чи хімічні властивості харчових продуктів, що мають сприятливі результати з точки зору підвищення обізнаності та нагальних потреб споживачів.

7.5. Ферментація чайного грибу

Чорний чай «Комбуча» (КТ) – це кислий, ферментований напій на основі чаю, який має надзвичайну користь для здоров'я, включаючи антиоксидантну, протизапальну, протиракову, гіпоглікемічну та протимікробну дію. КТ зазвичай

складається із завареного чаю з цукром і симбіотичної культури бактерій і дріжджів, яка утворює газований кислий напій протягом 7–21 дня бродіння. Доведено, що споживання чайного гриба має позитивний вплив на здоров'я, наприклад запобігає раку та підвищує імунітет. Це пов'язано з його антиоксидантною діяльністю та наявністю поліфенолів і деяких органічних кислот, що утворюються під час бродіння. Ці біоактивні сполуки подолають артеріосклероз, виведення токсинів, діабет, нервозність і проблеми старіння. Комбуча також має різні переваги для здоров'я, наприклад, антибактеріальну дію проти патогенних бактерій. Висока кислотність чайного гриба та інших біохімічних сполук забезпечує нову стратегію боротьби з патогенними мікроорганізмами та бактеріями, що псують харчові продукти. Інші форми чаю з чайного гриба, такі як зелений, білий і жовтий чай і чайний чай, ферментований трав'яними напоями (корицею, анісом, м'ятою, майораном, шавлією, екстрактом листя *Brassica tournefortii*) є перспективними оздоровчими напоями.

Ферментація – один із найдавніших методів консервування їжі. Це також недорога система енергозбереження, яка є важливою для забезпечення життя та безпеки їжі. Під час бродіння відбувається багато біохімічних змін, які можуть вплинути на поживні сполуки та, як наслідок, на властивості кінцевого продукту, такі як біоактивність і засвоюваність. Нещодавно цей біопроект був застосований для виробництва та екстракції біологічно активних сполук із рослин у харчовій промисловості та виробництві напоїв.

Чай комбуча отримують із симбіотичної культури оцтовокислих бактерій (AAB; види *Komagataeibacter*, *Gluconobacter* та *Acetobacter*), молочнокислих бактерій (LAB; *Lactobacillus*, *Lactococcus*) і дріжджів (*Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Torulaspora delbrueckii*, *Brettanomyces bruxellensis*) у солодкому середовищі, як правило, чорному чаї. Його процес ферментації також призводить до утворення плаваючої біоплівки на поверхні середовища росту через активність певних штамів ААВ. Основними присутніми кислотами є оцтова, глюконова, винна, яблучна і в меншій кількості лимонна кислота. Усі ці

кислоти відповідають за його характерний кислий смак. Фактичні харчові тенденції виробництва продуктів з мінімальною обробкою, без добавок, високої поживної цінності та з користю для здоров'я зросли завдяки обізнаності споживачів. У цьому контексті традиційний чай Комбуча нещодавно привернув увагу дослідників і споживачів завдяки своїм пробіотичним властивостям. Однак технологія виробництва, мікробіота, побічні продукти та фізико-хімічні властивості є важливими факторами, які слід враховувати для промислового виробництва. Існує кілька типів бродіння та отриманих продуктів залежно від метаболічного шляху. Бродіння чайного гриба є комбінацією трьох з них: спиртового, молочнокислого та оцтового, це через наявність кількох видів дріжджів і бактерій, які співіснують у середовищі. Бродіння ініціюється осмоотолерантними мікроорганізмами і в кінцевому підсумку домінують кислотостійкі види мікробіоти. Відомі окремі переваги чайного гриба, однак інформації про характеристику його активних компонентів, їх еволюцію під час бродіння та фармакологічну дію мало. Крім того, необхідно також оцінити вплив ферментерів, субстратів, метаболітів та їх удосконалення на органолептичні якості напою та кінетику процесу бродіння.

Оцтовокислі бактерії утворюють плаваючий целюлозний шар у формі плівки кремового або світло-бежевого кольору, також відомий як мікробні «килимки» та біоплівки або гриби. Можливо, назва «комбуча» походить від японських слів «комбу», що означає морські водорості, і «ча», що означає чай. Інша теорія стверджує, що це може бути пов'язане з іменем раніше згаданого корейського лікаря Комбу. Комбуча – це напій, ймовірно, маньчжурського походження, отриманий із ферментованого чаю мікробним консорціумом, що складається з кількох бактерій і дріжджів. Цей змішаний консорціум утворює потужний симбіоз, здатний пригнічувати ріст потенційно забруднюючих бактерій. Цукроза є ферментованим джерелом вуглецю в середовищі культивування, гідролізується інвертазою з дріжджів. Дріжджі зброджують глюкозу і фруктозу до етанолу, який потім окислюється оцтовокислими бактеріями до оцтової кислоти. Це основний метаболічний шлях бродіння

чайного гриба, а оцтова кислота, етанол і глюконова кислота є основними продуктами чайного гриба. Види дріжджів у *Kombucha consantrum* містять різні роди дріжджів, такі як *Candida*, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Schizosaccharomyces*, *Saccharomyces* і *Brettanomyces/Dekkera*. Останні два роди відіграють роль у виробництві оцтової кислоти разом з іншими оцтовокислими бактеріями видів *Acetobacter*, *Gluconacetobacter spp.* і *Lactobacillus spp.*



Рис. 20. Комбуча – різноманіття смаків та користь [23]

Комбуча є популярним напоєм серед багатьох традиційних ферментованих продуктів. Бактерії та дріжджі, присутні в середовищі, створюють потужний симбіоз, здатний пригнічувати ріст патогенних мікроорганізмів. Він складається з двох фаз: плаваючої біоплівки та кислої рідкої фази. Оцтова кислота, глюконова кислота та етанол є основними компонентами рідини, але також і біоплівки завдяки її великій водопоглинальній здатності. В аеробних умовах симбіотичний консорціум чайного гриба здатний за 7–10 днів перетворити цукор і чай у злегка газований, помірно кислий і освіжаючий напій, який складається з кількох органічних кислот, 14 амінокислот, вітамінів і деяких гідролітичних ферментів.

7.5.1. Хімічний склад

Детальне знання складу та властивостей чайного гриба є вирішальним для кращого розуміння його кінетики. Однак склад і концентрація метаболіту залежать від джерела інокулята, концентрації цукру та чаю, часу бродіння і температури. Будь-яка зміна умов бродіння може вплинути на кінцевий продукт. Кінцеві концентрації цукру можуть відрізнятися від однієї ферментації до іншої, що вказує на те, що метаболічний шлях не завжди відбувається однаково. Щодо виробництва органічних кислот, то було визначено збільшення виробництва оцтової кислоти через бродіння до максимального рівня 9,5 г/л через 15 днів. У випадку D-глюкуронової кислоти, то вона досягла максимальної концентрації 2,3 г/л на 12-й день і в меншій кількості 0,54 г/л молочної кислоти було виявлено на 3-й день. Що стосується аніонної концентрації, вона залишається на низьких значеннях, коливаючись від 0,04 до 3,20 мг/г, найбільш присутні аніони – F^- і Cl^- . Хімічний склад, а також концентрація кожного метаболіту, виробленого чайним грибом, завжди залежатимуть від інокулята і початкової концентрації цукру тощо. Однак серед основних компонентів чайного чаю глюкуронова кислота вважається основним терапевтичним засобом.

7.5.2. Мікробіологічний склад

Кілька досліджень показали, що мікробний спектр консорціуму чайного гриба, який також називають SCOBY або чайним грибом, може змінюватися в залежності від ферментації. Однак існує ряд видів, які збереглися в більшості культур чайного гриба, вони описані далі.

Дріжджі. Більшість видів дріжджів можуть зброджувати цукор до етанолу, але багато сучасних процесів спиртового бродіння ініціюються однією закваскою, якою зазвичай є *Saccharomyces cerevisiae* через її високу ефективність. Проте дріжджі, що не містять *Saccharomyces*, все частіше використовуються в промисловості в змішаному бродінні (вино, текіла тощо),

щоб збагатити ароматичний профіль і підвищити складність і кінетику кінцевого продукту. Мікробна взаємодія між дріжджами *Saccharomyces* і дріжджами, що не належать до *Saccharomyces*, здається перспективним варіантом у процесах змішаного бродіння, оскільки має кілька переваг, таких як уникнення ризиків зупинки бродіння, додавання ароматизаторів, а також дозволяє змінювати небажані параметри. І в цьому сенсі взаємодія дріжджів чайного гриба виявилася консорціумом, який генерує остаточні бажані характеристики майбутнього напою.

У культурі чайного гриба існує багато родів і видів дріжджів, повідомляється про широкий спектр, включаючи види *Zygosaccharomyces*, *Candida*, *Kloeckera/Hanseniaspora*, *Torulaspora*, *Pichia*, *Brettanomyces/Dekkera*, *Saccharomyces*, *Lachancea*, *Saccharomycoides*, *Schizosaccharomyces* та *Kluuyveromyces*. Було також кількісно визначено деякі дріжджі, присутні в культурі чайного гриба, повідомлено, що *Zygosaccharomyces* переважають, а саме, складають – 84,1% відносного відсотка чисельності, а види *Dekkera* та *Pichia* – 6% і 5% відповідно. Виявлено дріжджі, що утворюють біоплівки, такі як *Candida krusei* або *Issatchenkiaorientalis*, а також види апікулярних дріжджів (*Kloeckera*, *Hanseniaspora*). Нові аскоспорогенні дріжджі під назвою *Zygosaccharomyces kombuchaensis* були виділені з чайного гриба.

Бактерії. Домінуючими бактеріями чайної культури чайного гриба є ААВ, які є аеробними бактеріями, здатними використовувати спирт як субстрат для утворення оцтової кислоти. Ці бактерії, на відміну від дріжджів, потребують великої кількості кисню для свого росту та діяльності. Метаболічний процес заснований на перетворенні ацетальдегіду в етанол і гідрату ацетальдегіду в оцтову кислоту за допомогою ферменту ацетальдегіддегідрогенази. Кілька ААВ присутні в чайному грибі, зокрема: *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus* і *Gluconobacter oxydans*. Виявлено від 86% до 99% відносної кількості *Gluconacetobacter* під час усієї ферментації, як у рідкому середовищі, так і в біоплівці. Подібні результати були отримані шляхом ферментування кокосової води чайним грибом, в наслідок чого виявлено, що

Gluconacetobacter є основним з відносним відсотком 85,6% і в меншій кількості *Acetobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* і *Bifidobacterium*.

Продуктування целюлози. Існує декілька типів бактерій, які можуть виробляти мікробну целюлозу, наприклад: *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Salmonella* та *Gluconacetobacter*. Каламутні згустки, які плавають в комбучі – це мікробна целюлоза, з якої формується тіло чайного гриба. Тому якісна комбуча завжди має мікробну целюлозу і осад – продукт життєдіяльності бактерій і диких дріжджів. Серед представників *Acetobacter* домінуючим видом є *Acetobacter xylinum*, який був перекласифікований як *Gluconacetobacter xylinus* і нещодавно до *Komagataeibacter xylinus*. Особливою біохімічною активністю цієї бактерії є окислення глюкози до глюконової кислоти, яка знаходиться в рідкій фазі, потім інший специфічний метаболізм призводить до синтезу мікробної целюлози, яка утворює біоплівку, що залишається на поверхні рідини. Процес включає синтез уридиндифосфоглюкози (UDPGlc), яка є попередником целюлози, тоді кожна окрема клітина *Acetobacter* може полімеризувати до 200 000 залишків глюкози за секунду в ланцюги β -1,4-глюкану. Перевага цієї форми виробництва целюлози полягає в тому, що бактерія швидко росте в контрольованих умовах і може виробляти целюлозу з різних джерел вуглецю, включаючи глюкозу, етанол, цукрозу та гліцерин.

Мікробна целюлоза утворюється позаклітинно у вигляді фібрил, які прикріплюються до бактеріальної клітини. Кожна окрема клітина має від 50 до 80 пор або складних терміналів (СТ) діаметром 3,5 нм для екструдування целюлози з мембрани. Пізніше ці ланцюги збираються, утворюючи більш товсті фібрили, які називаються макрофібрилами, створюючи тривимірну структуру з приблизно 1000 окремих глюканових ланцюгів, які можуть утримувати до 200 разів більше води від своєї сухої маси та мають високу конформність і велику еластичність. Бактерії утворюють дві форми целюлози, целюлозу I і целюлозу II. Целюлоза I є стрічкоподібним полімером, що складається з пучків мікрофібрил,

тоді як целюлоза II є аморфним полімером, який є термодинамічно більш стабільним, ніж целюлоза I.

У першому стані бактерії, що виробляють целюлозу, збільшують свою популяцію за рахунок споживання розчиненого кисню. Протягом цього часу мікроорганізм синтезує певну кількість целюлози в рідкому середовищі, і тільки бактерії, які знаходяться на межі повітря або середовища, можуть підтримувати свою активність і виробляти целюлозу, яка утворюється накладеними шарами. З продовженням часу ферментації товщина мембрани збільшується за рахунок утворення нових шарів на поверхні, утворюючи зважену структуру в культуральному середовищі. Розвиток біоплівки разом із зв'язуванням водню та СН триватиме протягом усієї ферментації, її синтез досягне межі, коли вона росте вниз, захоплюючи всі бактерії, які потім стануть неактивними через недостатнє постачання киснем. Бактерії, що залишаються в рідкій фазі культурального середовища, перебувають у стані спокою і можуть бути реактивовані та використані як інокулянт у подальшій ферментації. Ця біоплівка має високу кристалічність, високу міцність на розрив, надзвичайну нерозчинність у більшості розчинників, здатність до формування, високий ступінь полімеризації, вона в 100 разів тонша, ніж целюлозні волокна (отримані з рослин) і її водоутримувальна здатність більш ніж у 100 разів вища. Однією з основних характеристик є її чистота, яка відрізняє її від рослинної, що містить геміцелюлозу та лігнін, а також має високий ступінь кристалічності (>60%), з утворенням кристалів, які складаються з целюлози типу Ia і Ib. Ці унікальні властивості, а також беззаперечна чистота дозволили застосовувати цю сировину у галузі виробництва біомедичних матеріалів.

Біоплівка може змінюватися залежно від використовуваних штамів, часу культивування та хімічних добавок, присутніх у культуральному середовищі, але також існує гіпотеза, що мікробна целюлоза, отримана з культури чайного гриба, може створювати біоплівку з іншими характеристиками, ніж у типових джерел. Існує кілька факторів, які слід враховувати, щоб максимізувати вихід мікробної целюлози та оптимізувати процес, наприклад, об'єм інокульованого середовища,

час інкубації, площа та висота поверхні. Видалення аморфних частин нанофібрил за допомогою кислотного гідролізу може призвести до отримання нанокристалів, які можна використовувати для різних цілей у кількох сферах, як упаковка харчових продуктів або застосування в медицині.

7.6. Фактори, що впливають на ферментацію чайного гриба

На ферментацію впливає багато факторів, таких як температура, рН, кількість кисню, розчинений CO₂, робоча система, подача прекурсорів, швидкість зсуву в ферментері, а також природа та склад середовища. Будь-яка зміна цих факторів може вплинути на швидкість бродіння, спектр, продуктивність, органолептичні властивості, поживну якість та інші фізико-хімічні властивості продукту. Різні сорти рослин, концентрації цукру, час бродіння та склад чайного гриба можуть бути причиною відмінностей у складі, і, отже, це також вплине на біологічну активність.

7.6.1. Підкладка

Зазвичай напій Kombucha отримують шляхом бродіння підсолодженого зеленого або чорного чаю, але деякі дослідники вивчали інші субстрати як альтернативу для його виробництва, отримавши цікаві результати. Було перевірено антимікробну активність кількох аналогів чаю Комбуча, виявивши кращі показники інгібування, ніж у традиційного напою, переважно проти видів *Candida*. Продемонстровано, що підсолоджену ехінацею (*Echinacea purpurea* L.) і зимовий чабер (*Satureja montana* L.) можна використовувати як альтернативні джерела азоту, скорочуючи час бродіння та отримуючи характеристики, порівняні з традиційними напоями. Ферментували кокосову воду (*Cocos nucifera* var. *aurantiaca*) разом з консорціумом Kombucha і спостерігали посилення деяких цікавих біологічних активностей. А нещодавно було розроблено напій Kombucha з виноградного соку з покращеними сенсорними та функціональними властивостями лише після 6 днів бродіння. Згідно з цими дослідженнями можна

зробити висновок, що дослідження терапевтичного потенціалу напоїв з чайного гриба, виготовлених з різних субстратів, було б цікавим підходом.

7.6.2. Ефект часу

Ферментація чайного гриба зазвичай триває від 7 до 60 днів, і під час цього процесу біологічна активність може збільшуватися. Однак найкращі результати були отримані в середньому через 15 днів. Незважаючи на те, що більшість отриманих антиоксидантних властивостей зросла з часом інкубації, тривале бродіння не рекомендується через накопичення органічних кислот, які можуть досягти шкідливого рівня при прямому споживанні. Крім того, утворений CO₂ може почати накопичуватися на межі між біоплівкою та бульйоном і блокувати передачу поживних речовин, створюючи голодне середовище.

Вибір тривалості періоду бродіння також залежить від очікуваних сенсорних характеристик. Повідомлено, що протягом 6–10 днів бродіння було отримано освіжаючий напій, схожий на фруктовий, на відміну від оцтового смаку, який виходить після тривалого періоду. Відповідно до Типового харчового кодексу Управління з контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів для виробництва чайного гриба не рекомендується більше 10 днів бродіння, якщо напій виробляється для споживання людиною.

Було вивчено еволюцію мікробних популяцій чайного гриба у промисловому виробництві протягом часу (0, 2, 4 та 8 днів). Було помічено, що значна частина ААВ була більшою у біоплівках, ніж у рідкому бульйоні на день 0, і що через 8 днів вони досягли рівноваги, порівняно з видами дріжджів, які були досить стабільними в обох фазах протягом усього бродіння. Дослідники оцінили вміст поліфенолів і антиоксидантну активність чайного гриба під час його ферментації (0, 7, 14 і 21 день) і спостерігали високу тенденцію до збільшення особливо після 7 днів, що може бути пов'язано з вищим мікробним різноманіттям досягнутим на той час.

7.6.3. Температурний вплив

Підтримка оптимальної температури протягом усієї ферментації сприяє кращому росту мікробів і активності ферментів, отже, покращується якість бродіння. Крім того, на антиоксидантну активність харчових продуктів рослинного походження можуть впливати коливання температури, наприклад, на виробництво фенольних сполук. Як правило, значення температури бродіння чайного гриба варіюють від 22 °С до 30 °С.

Однак було також проведено ферментацію молочних продуктів чайним грибом при значеннях температури: 37 °С, 40 °С та 43 °С з використанням оптимізаційних моделей, за їхніми результатами температура була найбільш значущим фактором для тривалості ферментації, а найвищі значення антиоксидантної активності були отримані при значеннях температури між 37 °С і 42 °С. Кількість утворених кислот і метаболітів, а також вітаміну С була більшою у зразках, отриманих при вищих температурах.

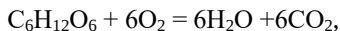
7.6.4. Вплив рН

Рівень рН є одним із найважливіших параметрів навколишнього середовища, що впливає на бродіння чайного гриба, оскільки деякі кислоти, що утворюються (оцтова та глюконова), можуть відповідати за біологічну активність отриманих напоїв. Це також тісно пов'язане з ростом мікроорганізмів і структурними змінами фітохімічних сполук, які можуть впливати на антиоксидантну активність. Однак найнижче прийнятне значення рН не повинно опускатися нижче 3, що є рівнем рН травного тракту людини.

Крім того, щоб отримати приємний кислий напій, бродіння слід завершити, коли загальна кислотність досягне оптимального значення від 4 до 5 г/л. Однак період часу для отримання цього значення може відрізнятися залежно від походження культурального середовища та умов бродіння.

7.6.5. Швидкість передачі кисню та процес збільшення

Більшість процесів бродіння є аеробними і, отже, вимагають надходження кисню. Якщо розглядати стехіометрію дихання, то окислення глюкози можна представити у вигляді:



де для повного окиснення 180 г глюкози потрібно 192 г кисню. Однак обидва компоненти повинні бути в розчині, перш ніж вони стануть доступними для мікроорганізму, а кисень приблизно в 6000 разів менше розчиняється у воді, ніж глюкоза, тому неможливо забезпечити мікробну культуру необхідною кількістю кисню для завершення окислення глюкози або будь-якого іншого джерела вуглецю, за одне додавання кисню в розчин.

На початку процесу значна кількість етанолу та моносахаридів, необхідних для ААВ, забезпечується дріжджами чайного гриба. Для окислення етанолу в оцтову кислоту потрібен один моль кисню (32 г), щоб повністю окислити 1 моль етанолу (46 г), отже, діяльність ААВ як суворих аеробних організмів залежить від перенесення кисню з повітря в процес бродіння – розчин. З цієї причини мікробна культура повинна забезпечуватися киснем під час росту з достатньою швидкістю, щоб задовольнити потребу організмів. Будучи напоєм, який постійно вивчається та розвивається, чайний гриб вивчався в основному в лабораторних масштабах, від 200 мл до 2 л. Однак небагато дослідників вивчали його бродіння у більших об'ємах. Було застосовано метод регресійного аналізу до періодичного процесу об'ємом 8 л і дійшли висновку, що рН є змінною, яка може дозволити оцінку в масштабі. Пізніше вивчено вплив конкретної міжфазної площі як змінної, яка може контролювати виробництво чайного гриба, використовуючи реактори на 90 л, і дійшли висновку, що реактори, які мають однакову міжфазну площу можуть забезпечити подібні умови масообміну. А нещодавно відпрацьовано технологію з об'ємом 1000 л і вивчено мікробну екологію виробленого чаю за допомогою мета-штрихового кодування та культуральних методів. Помічено, що мікробна популяція, схоже, не піддавалася впливу

факторів мікробного стресу в промислових масштабах, що могло призвести до стандартизації чайного грибу для промислового виробництва. Крім об'єму, існує кілька параметрів для розвитку біопроцесу, які слід брати до уваги, так найважливіші включають геометрію ємностей і тип перемішування.

Згідно з деякими дослідниками, під час бродіння чайного гриба перемішування впливає на структуру біоплівки через втрату механічної міцності. У статичних культурах субстрати повинні повністю транспортуватися шляхом дифузії, і доступність кисню може стати обмежуючим фактором для клітинного метаболізму, що може мати негативний вплив на виробництво та якість целюлози. Кінетичний фактор, який виражає взаємозв'язок між розчиненим киснем і поверхнею або об'ємом середовища, – це конкретна межфазна площа, яка безпосередньо пов'язана з іншими факторами, такими як поперечний переріз реактора та коефіцієнт масопередачі. Це означає, що швидкість періодичної ферментації чайного гриба без перемішування та без введення газу залежить від конкретної поверхні. У конкретному випадку періодичної ферментації чайного грибу слід враховувати кілька біологічних факторів. Особливо за відсутності перемішування, коли може статися мікробний розпад між аеробними оцтовими бактеріями, які прагнуть зайняти поверхневий шар, і дріжджами, які можуть осідати на дно посудини, і це може мати негативний вплив на процес бродіння. Мікробна целюлоза вже добре вивчена деякими авторами, доступна інформація визначає оптимальні умови реактора для її розвитку, такі як поверхня/об'єм або поверхня/висота.

Крім усіх вищезазначених параметрів, процес обробки чайного гриба також може вплинути на його кінцеві властивості. Процес все ще залишається досить кустарним, і точна пропорція компонентів може змінюватися залежно від очікуваного продукту. Однак, як правило, дотримуються наступного порядку: листя чаю або рослинні екстракти додають у киплячу воду і дають настоятися приблизно 10–15 хвилин, після чого листя видаляють. Далі в гарячому чаї розчиняють цукрозу і після настоювання залишають остигати. Потім підсолоджений напій переливають у контейнер і інокулюють приблизно 3%

мас./об. уже готової біоплівки чайного гриба, після чого контейнер накривають чистою тканиною та інкубують при кімнатній температурі.

Тим не менш, щоб оптимізувати промислове виробництво чаю Комбуча, як функціонального напою, необхідно провести повне дослідження, включаючи виробництво у великих обсягах, мікробіологічну ідентифікацію та біологічні аналізи.

7.6.6. Біологічна активність

Чай вживають у Китаї ще 5000 років тому, це другий за популярністю напій після води, і він навіть вважається найдавнішими відомими ліками через його користь для здоров'я. Повідомлено, що біоконверсія з кон'югованих форм фенольних сполук у їхню вільну форму під час бродіння покращує їх оздоровчу функцію у напої. Було проведено кілька досліджень, щоб зрозуміти вплив ферментації чаю на мікробні консорціуми, і деякі з його біологічних активностей були покращені.

Незважаючи на те, що більшість біологічних аналізів чайного гриба було проведено *in vitro*, кілька дослідників провели дослідження *in vivo* на щурах і отримали цікаві результати. Оцінено антигіперглікемічний ефект ферментованого чаю на щурах із діабетом, випробовуючи різні концентрації екстрактів чайного гриба протягом 45 днів. Вони спостерігали, що при щоденному застосуванні 6 мг/кг маси тіла глікозильований гемоглобін знижувався, а інсулін у плазмі крові підвищувався. Було вивчено захисну дію чайного гриба на різні органи, включаючи підшлункову залозу, печінку, нирки та серце, на моделях щурів із діабетом, і отримані результати показали значний антидіабетичний потенціал, який дозволив відновити індуковані патофізіологічні зміни.

7.6.7. Потенційна токсичність

Ферментація чайного гриба зазвичай проводиться в домашніх умовах, тому важливо бути обережним, оскільки патогенні мікроорганізми можуть заражати чай під час приготування. Деякі випадки розладів здоров'я були зареєстровані особами з підозрою на запаморочення та нудоту, важкі захворювання, алергічні реакції та головний біль, що призвело до протипоказання вагітним і годуючим жінкам. Управління з контролю за якістю харчових продуктів і медикаментів США також провело кілька тестів і повідомило, що чай чайний гриб безпечний для споживання людиною. Однак через вищезазначені причини та мікробіологічну складність цього напою завжди важливо виробляти його відповідно до Типового харчового кодексу FDA.

Незважаючи на те, що сьогодні чай Чайний гриб відомий у всьому світі, його біологічні властивості недостатньо вивчені. Необхідні додаткові дослідження щодо кінетики бродіння чайного гриба, щоб мати можливість ідентифікувати вироблені метаболіти, особливо ті, які можуть бути потенційно корисними, і зрозуміти їх зв'язок із біологічною активністю. Що стосується субстратів чайного гриба, рослинні екстракти викликають великий інтерес через їх багаторазове застосування.

Крім того, розширення процесу бродіння з лабораторного масштабу до виробництва комерційного продукту є проблемою через складність оцінки факторів, які можуть впливати на процес масштабування під час культивування. Необхідно провести більше наукових досліджень, щоб зрозуміти зв'язок між ферментацією та біологічною активністю чайного грибу, встановивши його як функціональний напій із чіткими доказами переваг і недоліків його споживання. Існує ряд параметрів і варіацій, які необхідно вимірювати, контролювати та досліджувати, щоб визначити оптимальні умови бродіння.

Питання для самоконтролю

1. Якими двома процесами реалізується технологія виготовлення хлібного квасу?
2. Якими хімічними компонентами і властивостями володіє хлібний квас?
3. Які технологічні стадії використовують при виготовленні хлібного квасу?
4. З яких компонентів складається квасне сусло?
5. Яку сировину використовують у приготуванні квасного сусла?
6. Що собою являє комбінована культура дріжджів та молочнокислих бактерій?
7. Яким чином здійснюють розведення чистих культур дріжджів на квасному суслі?
8. За яких умов відбувається бродіння з отриманням хлібного квасу?
9. Яким чином хлібному квасу надають функціональні властивості?
10. Які добавки рослинного походження активно впливають на функціональність хлібного квасу?
11. Які способи бродіння відомі для отримання бурякового квасу?
12. У чому полягає особливість бурякового квасу?
13. З якої сировини можливо приготування чайного гриба?
14. У чому полягає основний метаболічний шлях бродіння чайного гриба?
15. Які компоненти спонукають бродіння чайного гриба?
16. Які фактори впливають на результативну ферментацію чайного гриба?
17. Чи може бути чайний гриб потенційно токсичним?

Рекомендована навчальна література

1. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.

2. Українець А.І., Калакура М.М., Романенко Л.Ф., Домарецький В.А. Загальні технології харчових виробництв: підруч. К. : Університет «Україна», 2010. 814 с.
3. Товажнянський Л. Л. Загальна технологія харчової промисловості у прикладах і задачах : підручник. Харківський політехнічний ін-т, нац. техн. ун-т. К. : Центр учбової літ-ри, 2011. 832 с.
4. Ростовський В. С., Колісник А. В. Система технологій харчових виробництв : навч. посібник. К. : Кондор, 2008. 256 с.
5. Мелетьєв А. Є. Технологія продуктів бродіння і напоїв : укр.-рос. тлумач. слов. Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2011. 192 с.
6. Єгорова А.В., Капрельянц Л.В., Труфкаті Л.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Одес. нац. акад. харч. технологій. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.
7. Пирог Т.П., Антонюк М.М.,Скроцька О.І., Кігель Н.Ф. Харчова біотехнологія: підручник. К.: Видавництво Ліра-К, 2016. 408 с.

Розділ 8. ІННОВАЦІЙНЕ ТЕМНЕ БРОДІННЯ У ВИРОБНИЦТВІ БІОГЕННОГО ВОДНЮ (bioH_2)

8.1. Мікробна екологія процесу темного бродиння, керованого лактатом, що виробляє водень в умовах обмеження вуглеводів

Очікується, що виробництво біогенного водню (bioH_2) за допомогою темного бродиння стане основною технологією переходу від лінійної економіки до більш стійкої, безвідходної моделі циклічної економіки, в якій кінцеві продукти темного бродиння (DF – Dark Fermentation) можуть бути інтегровані для подальшого виробництва в такі процеси, як анаеробне зброджування, фотоферментація, мікробні паливні елементи, системи мікроводоростей.

Темне бродиння – це ферментаційне перетворення органічного субстрату на біоводень. Це складний процес, що реалізується різноманітними групами бактерій і включає низку біохімічних реакцій із використанням трьох етапів, подібних до анаеробного перетворення. Темне бродиння відрізняється від фотобродиння тим, що воно протікає без присутності світла.

На жаль, зараз бракує інокулянтів з потенційним промисловим застосуванням, які, безсумнівно, необхідні для розробки повномасштабних систем DF. Високоякісний інокулят повинен бути здатний виробляти велику кількість bioH_2 зі складних субстратів одночасно, що має продемонструвати високу надійність при довготривалій експлуатації. З'ясування різноманітності, динаміки та функціональності мікробних угруповань, залучених до процесів DF, є надзвичайно важливим для отримання цілісного розуміння процесу, який можна надалі застосовувати для підвищення ефективності виробництва bioH_2 . У цьому відношенні було показано, що реактори DF зазвичай пов'язані з мікробною динамікою. Крім того, не тільки основні бактерії (наприклад,

Clostridium spp.), але й субдомінантні види (наприклад, *Bacillus* spp. і *Lactobacillus* spp.) можуть визначати ефективність продукції bioH_2 . Отже, більше глибоке розуміння змін у складі всього мікробного співтовариства у відповідь на варіації складу субстрату та умов навколишнього середовища і експлуатації дозволить передбачити та стимулювати позитивні мікробні коалесценції. Більше того, екологічні механізми, що лежать в основі змін мікробної структури, можуть запропонувати ключові ідеї для подолання нестабільності та раптових або непередбачених руйнувань у ферментативних реакторах виробництва bioH_2 , які були визначені як основні проблемні місця процесу, що обмежують ефективність довгострокової безперервної роботи системи DF. Тому існує потреба створити міцні та стабільні мікробні ресурси, здатні метаболізувати складні органічні сполуки (наприклад, стічні води лікєро-горілочаних заводів, сільськогосподарських, молочних, кондитерських і олієекстракційних підприємств), одночасно збільшуючи продуктивність виробництва bioH_2 .

На цьому етапі варто згадати, що процеси DF, асоційовані з лактатом (HЛас), нещодавно з'явилися як альтернативні платформи для виробництва bioH_2 . Виробництво BioH_2 з HЛас, яке сильно залежить від взаємодії між молочнокислими бактеріями (LAB) і HЛас-споживаючими бактеріями, що продукують H_2 , було зареєстровано для багатьох субстратів, таких як харчові відходи, патока цукрової тростини, сирна сироватка, побічні продукти виноробства, відходи переробки агави, гідролізати жому, стічні води з бойнь великої рогатої худоби, відходи кави, барда цукрової тростини і відходи з виробництва текіли (TV – tequila vinasse).

Барда – залишок після відгонки спирту із браги; відхід виробництва етилового спирту. Рідина (суспензія) світло-коричневого кольору із запахом зерна або іншої сировини. Вміст сухих речовин у барді становить 3–8 %. Барда швидко псується.

Зерно-картопляна барда містить усі складові компоненти вихідної сировини, за винятком крохмалю і

дріжджів. Нативна зерно-картопляна барда – використовується як корм для тварин. Післяспиртова барда суха використовується у виробництві комбікормів і як добавки в кормові раціони для свиней, корів, птиці та риби.

Мелясна барда вважається відходом. Її скидають на поля фільтрації, чим викликається забруднення навколишнього середовища (у тому числі забруднюється повітряний басейн). У мелясній барді міститься гліцерин, бетаїн, глютамінова кислота, калійні солі. Деколи на барді вирощують кормові дріжджі, внаслідок чого отримується вторинна (післядріжджова) барда у такому ж об'ємі.

Цей шлях виробництва bioH_2 є, ймовірно, єдиним економічно ефективним біотехнологічним підходом для боротьби з «небажаною» надмірною проліферацією LAB в установках DF, що може перешкоджати виробництву bioH_2 через конкуренцію субстратів і секрецію бактеріоцинів.

Проліферація – процес розростання тканини тварини через поділ та ріст клітин організму.

На жаль, незважаючи на операційні переваги процесів DF, керованих HЛас, наприклад, регулювання рН, гідроліз субстрату, утримання біомаси, виснаження кисню, детоксикація фенолом або фурфуролом, і навіть виробництво bioH_2 , цей підхід DF ще погано вивчений. Зокрема, поки що не зрозуміло, чому і яким чином LAB мають контрастний вплив на глобальне виробництво bioH_2 , діючи як помічники в одних випадках, тоді як в інших вони стають шкідливими.

Нещодавно був розроблений новий двостадійний процес DF, спрямований на покращення виробництва bioH_2 з TV, рідких стоків, що є результатом виробництва текіли, шляхом використання ферментації типу HЛас. У такому процесі було здійснено перетворення легкозасвоюваних вуглеводів головним чином у HЛас на першій стадії, а багатий на HЛас TV використовувався для

виробництва bioH_2 на другій стадії, таким чином відокремлюючи виробництво bioH_2 від утилізації вуглеводів. Цей підхід дозволив досягти дуже стабільних показників виробництва водню, що є безпрецедентно високою продуктивністю виробництва bioH_2 з використанням TV і може бути перспективним для інших субстратів. Однак мікробіологія процесу залишається невивченою, наявна прогалина в знаннях мотивувала відповідні дослідження. Метою цих досліджень було поглиблено охарактеризувати підготовку вихідного мікробного консорціуму, який використовувався для посіву у гідрогеногенному реакторі з безперервним живленням, який працював в умовах обмеження вуглеводів, що є фактором, який зазвичай ігнорується, незважаючи на його важливість. Досліджували взаємозв'язки між параметрами продуктивності, типом мікроорганізмів та їх відповідними побічними продуктами метаболізму і вивчали структуру мікробної спільноти, яка керує процесом під час нестабільного або стабільного виробництва bioH_2 .

Ферментаційні або гідролітичні мікроорганізми гідролізують складні органічні полімери до мономерів, які далі перетворюються на суміш низькомолекулярних органічних кислот і спиртів шляхом обов'язкового утворення ацидогенних бактерій.

Ацидогенні бактерії здатні перетворювати цукри та амінокислоти у вуглекислий газ, водень, аміак та органічну кислоту.

Використання стічних вод як потенційного субстрату для виробництва біоводню в останні роки викликає значний інтерес, особливо в процесі темної ферментації. Промислові стічні води, як ферментаційний субстрат для виробництва H_2 , відповідають більшості критеріїв, необхідних для вибору субстрату, а саме доступності, вартості та здатності до біологічного розкладання. Хімічні стічні води, стічні води тваринницьких комплексів, стічні води молочного виробництва, стічні води гідролізату крохмалю і синтетичні стічні води можуть бути використані для виробництва біоводню. Як повідомляється окрім очищення стічних вод в процесі темного бродіння при використанні

вибірково збагачених змішаних культур (в ацидофільних умовах) виробляють біоводень.

Ацидофільні бактерії – бактерії-ацидофіли, тобто бактерії, здатні розвиватися в умовах значної кислотності середовища. До ацидофільних бактерій належать оцтовокислі, деякі молочнокислі та інші бактерії. Серед ацидофільних бактерій важливе практичне значення мають ацидофільні палички (*Lactobacillus acidophilus*), які викликають молочнокисле бродіння в середовищах з молочним та іншими видами цукру.

Різні стічні води, а саме стічні води паперової промисловості, стічні води харчової промисловості, побутові стічні води, стічні води виноробних заводів, стічні води лікеро-горілчаних і цукрових заводів, відходи переробки зерна були вивчені як зброджувані субстрати для виробництва H_2 , разом з очищенням стічних вод. Використання стічної води в якості субстрату для бродіння полегшує як очищення стічних вод, так і виробництво H_2 . Встановлено, що ефективність процесу темного бродіння H_2 залежить від попередньої обробки змішаних консорціумів, що використовуються як біокатализатор, робочого рН і рівня органічного завантаження, а також характеристик стічних вод. Незважаючи на переваги, основною проблемою, яка спостерігається при ферментативних процесах виробництва H_2 , є відносно низька ефективність перетворення енергії з органічного джерела. Типовий вихід H_2 коливається від 1 до 2 моль H_2 /моль глюкози, що призводить до того, що 80–90% початкового ГПК залишається у стічній воді у формі різних летючих органічних кислот і розчинників, таких як оцтова кислота, кислота, пропіонова кислота, масляна кислота та етанол. Навіть за оптимальних умов близько 60–70% вихідної органічної речовини залишається в розчині. Також повідомлялося про біоаугментацію за допомогою вибірково збагачених ацидогенних консорціумів для посилення виробництва H_2 .

Біоаугментація (біопокращання) – стимуляція виділених з місць забруднення потенційних мікроорганізмів-очишувачів та одержання технологічних штамів, навіть генетично модифікованих, за участю забрудненого ґрунту з подальшим внесенням їх разом з біодобавками в місця безпосереднього забруднення.

Утворення та накопичення розчинних кислотних метаболітів викликає різке падіння рН системи та пригнічує процес виробництва H_2 . Використання джерел вуглецю, присутніх у кислотогенному процесі для додаткового виробництва біогазу, підтримує практичну реалізованість процесу. Одним із способів утилізації або відновлення залишкової органічної речовини у придатній для використання формі є виробництво додаткового H_2 шляхом кінцевої інтеграції процесів фотоферментації виробництва H_2 і метану шляхом залучення ацидогенних перетворень до кінцевих метаногенних процесів.

8.2. Біологічне утворення водню ($bioH_2$)

Темне бродіння є ефективним способом розкладання органічних речовин за допомогою мікроорганізмів. В основному це стосується органічних речовин, присутніх у твердих або рідких відходах. Встановлено, що анаеробні мікроби, такі як *Clostridium*, *Enterobacter*, *Escherichia* тощо, здатні розщеплювати органічну речовину до корисного продукту, такого як водень і метан. Величезні об'єми відходів, такі як промислові стічні води, промислові шлами та інші органічні відходи, можуть бути розкладені на корисні продукти, такі як водень, спирт і метан, шляхом темного бродіння, але в основному вони використовуються для виробництва водню, а також метану. Перетворення субстрату на водень відбувається за допомогою ряду біохімічних реакцій і мікроорганізмів, і це все ще неефективно. У процесі бродіння більша частина органічної фракції залишається у вигляді розчинних продуктів бродіння, таких

як оцтова, пропіонова, масляна кислоти та етанол. Незважаючи на теоретичну ефективність перетворення в 33%, лише 15% енергії з органічного джерела зазвичай отримують у формі водню, а решта 67-85% субстрату залишається невикористаним. Одним із способів використання органічної речовини, що залишилася для виробництва енергії є виробництво метану.

Для стійкої консолідації H_2 має вироблятися з відновлюваних джерел, зводячи до мінімуму або уникаючи викидів забруднюючих сполук. Відновлюване виробництво H_2 може здійснюватися з біомаси за допомогою термохімічних процесів, таких як газифікація, піроліз, паровий риформінг, або за допомогою біологічних шляхів, таких як темне бродіння та фотоферментація. Біологічні шляхи є більш привабливими, ніж термохімічні процеси, оскільки вони розвиваються в умовах навколишнього середовища, які потребують мало енергії та спричиняють зменшення або відсутність вивільнення вуглецю.

Біологічне утворення водню ($bioH_2$) здійснюють різними мікроорганізми. Їх можна класифікувати на:

- *світлозалежні методи*, такі як **біофотоліз**, що виконується фотосинтезуючими мікроводоростями та ціанобактеріями, та фотоферментація шляхом окислення фотогетеротрофними бактеріями джерел вуглецю, таких як цукри та органічні кислоти, у присутності енергії світла;
- *світлонезалежні методи*, такі як **темне бродіння**, що виконується гетеротрофними бактеріями в результаті анаеробного метаболізму піруватів і біоелектрохімічне виробництво з використанням мікробних електролізних клітин. Крім того, ці процеси можна поєднувати для підвищення врожайності, наприклад темну ферментацію-фотоферментацію і темну ферментацію-мікробні електролізні клітини. Фотоферментація відрізняється від темної ферментації тим, що вона протікає лише за наявності світла.

Що стосується енергоефективності та практичності, як світлозалежні, так і незалежні методи мають переваги та недоліки порівняно один з одним. Тим не

менш, темне бродіння виділяється як найбільш широко вивчений біологічний процес для отримання bioH_2 через його більш вигідні та реалістичні аспекти процесу виробництва. Він вимагає біореакторів із простішими умовами роботи, ніж фотоферментація, не залежить від світла та має вищі показники виходу, ніж інші біологічні методи. Він також має нижчу потребу в енергії, можливість інтеграції з іншими системами, такими як анаеробне зброджування для виробництва біогазу та біометану, і використання різноманітних органічних відходів як субстратів. Таким чином, темне бродіння не тільки призводить до виробництва bioH_2 , але також призводить до ключової біотехнологічної можливості для багатьох мікробних біопереробних заводів з метою виробництва цінних органічних сполук (органічних кислот, спиртів, біопалива та біопластиків).

Цей розділ має на меті надати загальний опис виробництва bioH_2 під час темної ферментації та факторів, що впливають на її вихід, таких як джерела інокулята та попередня обробка, субстрати, pH, температура, швидкість завантаження органічних речовин, час гідравлічного утримування (HRT), парціальний тиск H_2 , а також огляд основних використовуваних біореакторів безперервної дії та технологій, які використовуються для досягнення вищої продуктивності.

8.3. Метаболічний шлях темної ферментації

Темне бродіння – це анаеробний процес деградації органічних сполук, який здійснюється суворими або факультативними анаеробними мікроорганізмами за відсутності світла, що призводить до виробництва bioH_2 через відновлення протонів для розсіювання надлишку електронів від окислення органічної речовини в культуральному середовищі. В якості первинних побічних продуктів бродіння також отримують такі сполуки, як спирти, CO_2 і органічні кислоти. Хоча різні органічні речовини, включаючи вуглеводи, цукри, білки та ліпіди, можуть, в принципі, служити субстратами для виробництва bioH_2 , метаболічний

шлях зазвичай демонструється з використанням глюкози як модельного субстрату. Глюкоза перетворюється на піруват через гліколітичний шлях, що призводить до відновлення НАД до НАДН і АДФ до АТФ.

НАД (нікотинамідаденіндинуклеотид) – складна органічна сполука, кофермент, наявний у всіх живих клітинах, бере участь у всіх процесах метаболізму.

НАДН (відновлений нікотинамід-аденін-динуклеотид) – це виявлений у всіх живих клітинах кофермент, який отриманий з вітаміну В₃, також відомого як **ніацин**.

АДФ (аденозиндифосфат) – нуклеотид у складі клітини. Бере участь в енергетичному обміні у всіх живих організмах, у процесах росту, руху та відтворення.

АТФ (аденозинтрифосфатна кислота) – органічна сполука, що належить до вільних нуклеотидів і є універсальним хімічним акумулятором енергії у клітині. Енергія макроергічних зв'язків АТФ вивільняється в реакціях гідролізу і використовується для виконання будь-якої роботи клітини.

Згодом, залежно від метаболізму мікроорганізму, піруват може бути перетворений в ацетил-КоА за допомогою двох різних ферментів, піруватформіатлази (PFL), який частіше використовується факультативними анаеробними мікроорганізмами, але іноді зустрічається в суворих анаеробах, таких як *Clostridium*, і піруватферредоксиноксидоредуктази (PFOR), що використовується суворими анаеробами.

Ацетил-КоА, Ацетил-кофермент А (англ. Acetyl-CoA) – первинний метаболіт, важлива сполука в обміні речовин, що використовується у багатьох біохімічних реакціях.

Ці ферменти відповідають за відновлення гідрогеназ, безпосередньо залучених до біоН₂ каталізу. Відомо два основних типи гідрогеназ, [FeFe]-гідрогенази, які зустрічаються як у суворому, так і в факультативному

анаеробному шляхах, і Ni-Fe гідрогенази, більш толерантні до кисню і, таким чином, присутні лише у факультативному анаеробному шляху. Через фермент-залежний шлях PFL факультативні анаеробні мікроорганізми перетворюють піруват в ацетил-КоА та форміат без негайного виробництва відновних еквівалентів.

Форміат є сполученою основою мурашиної кислоти. Форміат – це аніон (HCO^{-2}) або його похідні, такі як ефір мурашиної кислоти. Солі та складні ефіри, як правило, безбарвні.

Крім того, піруват може перетворюватися на фермент лактат-залактатдегідрогеназою (ЛДГ). Згодом форміат окислюється ферментом форміат-гідрогенліазою (FHL), який відновлює фермент гідрогеназу, що пізніше каталізує відновлення протонів H^{+} до H_2 , а також призводить до виробництва CO_2 . Враховуючи, що водень утворюється з форміату і що максимум два форміату утворюються на глюкозу, максимальний вихід bioH_2 можна передбачити як 2 моль bioH_2 /моль глюкози.

Ацетил-КоА, що утворюється в результаті цієї реакції, окислюється до ацетату за допомогою двох ферментативних стадій. На першому етапі фермент фосфотрансацетилаза перетворює ацетил-КоА в ацетилфосфат. На другому етапі ацетилфосфат перетворюється на ацетат за допомогою ферменту ацетаткінази, процес, який також призводить до утворення АТФ. У фермент-залежному шляху PFL НАДН, що утворюється під час гліколізу, не може бути повторно окислений для додаткового виробництва bioH_2 і повинен бути повторно окислений шляхом виробництва відновленої органічної сполуки, як правило, етанолу. Це перетворення спочатку відбувається під дією ферменту піруватдекарбоксилази, де ацетил-КоА втрачає карбоксильну групу у формі CO_2 , утворюючи ацетальдегід. Згодом ацетальдегід відновлюється до етанолу ферментом алкогольдегідрогеназою.

У фермент-залежному шляху PFOR виробництво bioH_2 відбувається шляхом перетворення пірувату в ацетил-КоА та відновлений фередоксин,

прямий донор електронів [FeFe]-гідрогенази, який згодом відновлює протони, утворюючи 2 моль bioH_2 на моль глюкози. Однак, на відміну від PFL-залежного шляху, за ідеальних умов парціального тиску bioH_2 ацетил-КоА може перетворюватися на ацетат шляхом утворення АТФ. Дві молекули НАДН, що утворюються під час гліколізу, можуть повторно окислюватися з утворенням ще двох молекул водню за допомогою двох інших гідрогеназ, НАДН-залежної гідрогенази ($\text{NADH}[\text{FeFe}]$) і відновленої ферредоксин-залежної гідрогенази ($\text{NADH-Fd}_{\text{red}}[\text{FeFe}]$), що призводить до кінцевого виробництва 4 моль bioH_2 на моль глюкози.

Виробництво bioH_2 від окислення НАДН відбувається лише за низьких парціальних тисків bioH_2 , коли зміна вільної енергії є негативною. Однак під час бродіння накопичення bioH_2 у просторі над біореактором призводить до підвищення парціального тиску, що збільшує концентрацію розчиненого bioH_2 у рідкій фазі, роблячи реакції окислення НАДН для виробництва bioH_2 менш сприятливими. Таким чином, при більш високому парціальному тиску bioH_2 ацетил-КоА, утворений шляхом окислення пірувату, використовується разом з НАДН для утворення відновлених органічних сполук. Основними побічними продуктами суворой анаеробної ферментації є масляна кислота, бутанол і ацетон у пропорціях, що залежать від мікроорганізму, субстрату та фізико-хімічних умов бродіння. На обох шляхах важливо, щоб НАДН повторно окислювався для підтримки окисно-відновного балансу клітини та забезпечення безперервності метаболічних процесів, що має вирішальне значення для того, щоб НАД^+ був доступним для прийому електронів під час гліколізу.

Окрім обмеження виходу bioH_2 , неповне окислення органічної речовини з утворенням летких жирних кислот може призвести до падіння рН у культуральному середовищі, якщо його не контролювати належним чином. Підкислення в оптимальних діапазонах пригнічує мікроорганізми, що є не вигідним для темного бродіння. Однак, щоб подолати цю проблему, стоки темної ферментації можуть бути використані як субстрат для bioH_2 або виробництва біогазу на другій стадії, використовуючи, наприклад, камери

фотоферментації та мікробного електролізу. Крім того, леткі жирні кислоти також можуть бути виділені з бродильних stokів і комерційні.

Таким чином, мікроорганізми використовують різні метаболічні шляхи для деградації субстрату та одночасного виробництва біоводню, включаючи целюлозолітичний, маслянокислий та оцтовий шляхи. Целюлолізний шлях, наприклад, включає розкладання лігноцелюлозної біомаси мікроорганізмами, перетворюючи полісахариди (целюлозу), на прості цукри, такі як глюкоза. Ці цукри потім ферментуються з утворенням H_2 , органічних кислот (переважно оцтової кислоти та масляної кислоти) і CO_2 . Незважаючи на те, що цей метод дозволяє використовувати широкий спектр відходів як субстратів, таких як недорогі лігноцелюлозні залишки. Важливо відзначити, що гідроліз целюлози є повільним процесом і часто вимагає попередньої обробки, щоб бути ефективним через наявність лігніну.

Масляний шлях характеризується перетворенням простих цукрів, таких як глюкоза, на 2 молі H_2 , 1 моль масляної кислоти, 2 молі CO_2 і 2 протони (H^+). Основним обмеженням цього шляху є накопичення масляної кислоти в середовищі культивування, що може призводити до зниження pH і пригнічувати метаболізм мікроорганізмів, що продукують водень. Оцтовий шлях здійснюється різноманітними мікроорганізмами, такими як *Clostridium aceticum*, і характеризується перетворенням простих цукрів, таких як глюкоза, на 4 молі H_2 , 2 молі ацетату, 2 молі CO_2 і 2 протони (H^+). Його основним обмеженням є накопичення оцтової кислоти в середовищі культивування, що може впливати на метаболізм мікроорганізмів, що продукують водень. Хоча теоретично утворюється до 4 молей H_2 на моль глюкози, оцтовокисле бродіння може бути менш ефективним через утворення CO_2 і необхідність підтримувати окисно-відновний баланс. Підтримання окислювально-відновного балансу є складним, оскільки утворення ацетату споживає частину електронів, що вивільняються під час окислення глюкози. Масляний шлях включає утворення масляної кислоти та H_2 з меншим утворенням CO_2 порівняно з оцтовим шляхом. Окислювально-відновний баланс є більш сприятливим для виробництва H_2 , оскільки менше

електронів використовується для утворення CO_2 і більше їх спрямовується на виробництво H_2 .

8.4. Параметри, що впливають на темну ферментацію

8.4.1. Інокулят і попередня обробка

Різноманітність строго анаеробних або факультативних мікроорганізмів може проводити темну ферментацію, перетворюючи органічні субстрати в енергію та біоводень як побічний продукт. Серед родів суворо анаеробних bioH_2 -продуцентів мікроорганізмів можна відзначити мікроорганізми з родини *Clostridiaceae* (*Clostridium*), а також факультативні анаероби з родини *Enterobacteriaceae* (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*) та інші. Мікроорганізми, що продукують BioH_2 , можна отримати з різних джерел, таких як гній тварин, осад анаеробних реакторів, органічні відходи, ґрунт і стічні води. Ці біологічно розкладані органічні джерела природно багаті мікроорганізмами, здатними здійснювати анаеробне бродіння з утворенням bioH_2 . Системи темної ферментації можуть бути засіяні мікробним консорціумом або чистою культурою.

Виробництво bioH_2 з використанням чистих бактеріальних культур у лабораторних масштабах полегшує маніпулювання мікробним метаболізмом шляхом зміни умов росту та подальшої мінімізації виробництва небажаних побічних продуктів, що може призвести до підвищення виробництва та повторюваності процесу. Дослідження з чистими штамами є важливими для розуміння метаболічних шляхів і спостереження за ефектами генетичних маніпуляцій. Однак цей процес виробництва є більш дорогим і потребує подальших досліджень для промислового масштабування через стерилізацію субстрату, оскільки чисті штами більш чутливі до забруднення.

Використання змішаних культур є кращим, оскільки мікроорганізми мають більшу толерантність до метаболічного стресу та коливань умов

культивування. Крім того, завдяки розподілу праці відбувається більш ефективне використання субстрату, що призводить до вищої продуктивності, можливості використання різноманітних субстратів і споживання кисню. Проте інокуляти, отримані з різних місць, також можуть містити мікроорганізми, що споживають H_2 , такі як метаногени, що потребує використання попередньої обробки для придушення активності таких мікроорганізмів. Попередня обробка інокулята може базуватися на різних стратегіях, таких як здатність *Clostridium* утворювати спори за несприятливих умов, або високих температур чи екстремального рН, на відміну від метаногенів, які легко усуваються. Однак мікроорганізми, що виробляють $bioH_2$, які не можуть утворювати спори, наприклад мікроорганізми родів *Enterobacter* і *Citrobacter*, також можна пригнічувати або знищити.

У літературі описано різноманітні фізичні та хімічні методи попередньої обробки матеріалу, такі як термічний шок, аерація, чергування циклів легкого теплового шоку та мікроаерації, мікрохвильове опромінення, гамма-промені, ультрафіолетові промені, інфрачервоне випромінювання, ультразвукова обробка, заморожування та відтавання. А також за допомогою хімічних методів, таких як застосування кислот, лугів та інгібіторів росту $bioH_2$ – споживання мікроорганізмів, таких як 2-брометансульфонова кислота, йодпропан, хлороформ, вищі жирні кислоти, такі як ліолева кислота або ацетилен. Так 2-брометансульфонова кислота та ацетилен можуть інгібувати метаногенез, порушуючи біосинтез кофактора метанофурану, який є важливим для відновлення CO_2 до метану. Хімічні інгібітори можуть підвищити ефективність виробництва $bioH_2$; однак такі проблеми, як висока вартість, можуть ускладнити їх використання в промислових масштабах.

Було перевірено вплив різних типів попередньої обробки на інокулят з осаду анаеробного реактора для виробництва $bioH_2$ з харчових відходів. Попередня обробка: аерація, кислотна, основа, термічна, термічна плюс CO_2 , вільна азотиста кислота, брометансульфонат і електричний удар. Найвищий вихід $bioH_2$ був отриманий з попередньо обробленого лугом інокулята ($157,25 \pm$

7,62 мл біоН₂/г харчових відходів). З іншого боку, вивчено вплив кислотної, основної та термічної попередньої обробки на осад анаеробного реактора для виробництва біоН₂ із рисової соломи та свинячого гною, отримавши максимальне кумулятивне виробництво 44,59 мл біоН₂/г харчових відходів з попередньо обробленого кислотою інокулята. Тим часом вивчався вплив чотирьох окремих попередніх обробок (ультразвукова обробка, нагрівання, кислота та основа) і трьох комбінованих попередніх обробок (ультразвукова обробка нагріванням, ультразвукова обробка кислотою та ультразвукова обробка основою) для виробництва біоН₂ з харчових відходів. Комбінована попередня обробка ультразвуком і кислотою призвела до найвищого виробництва біоН₂ приблизно 118 мл/г початкових летких або твердих речовин, тоді як контрольний експеримент без попередньої обробки призвів до виробництва 42 мл біоН₂/г харчових відходів.

Незважаючи на те, що попередня обробка призводить до різного впливу на інокулят, як спостерігалось в багатьох дослідженнях, можна помітити, що різні обробки сприяють переважанню спороутворюючих біоН₂-продукуючих мікроорганізмів. Інокулят, попередньо оброблений фізичними та хімічними методами, показав значне збагачення (63–90%) мікроорганізмами *Firmicutes* *Phylum* порівняно з необробленим сирим інокулятом (29%). *Firmicutes* – це в основному грампозитивні бактерії, до складу яких входять мікроорганізми, що продукують біоН₂ з родів *Clostridium*, *Paraclostridium*, *Streptococcus* та інші. Однак, незважаючи на те, що деякі методи використовуються частіше, ніж інші, наприклад термічна попередня обробка, немає домінування одного методу над іншим, оскільки їхні ефекти відрізняються в залежності від джерела інокуляту. Крім того, при виборі методу попередньої обробки слід враховувати кілька параметрів, таких як експлуатаційні витрати, складність, необхідний час, масштабованість, а також утворення та видалення відходів.

8.4.2. Субстрати, що використовуються в темній ферментації

В принципі, будь-який органічний субстрат, багатий вуглеводами, жирами та білками, потенційно може вважатися життєздатним субстратом для виробництва bioH_2 . Однак багаті ліпідами субстрати можуть перешкоджати темній ферментації, головним чином через високий парціальний тиск водню, який виникає в процесі. Розчинні та легкодоступні цукри описані як основна фракція біомаси, яка може бути перетворена в bioH_2 , оскільки мікроорганізми, що продукують bioH_2 у темному бродінні віддають перевагу вуглеводам, таким як моносахариди (глюкоза) і дисахариди (лактоза або цукроза) завдяки їх швидкому та легкому біологічному розкладанню.

Таким чином, багато досліджень представляють використання цих чистих цукрів як модельних субстратів для виробництва bioH_2 . Однак ці вуглеводи мають надзвичайно високі ціни, що робить процес неможливим у промислових масштабах. Для того, щоб бути економічно стійким, темне бродіння повинно проводитися з використанням масових, легко доступних, недорогих і високо біорозкладаючихся органічних субстратів.

Широко доступні залишки, такі як залишки агропромислового виробництва, харчової промисловості та міські тверді відходи, такі як харчові залишки (багаті поживними речовинами) і їх використання у виробництві bioH_2 є альтернативою для обробки та відновлення енергії. Широкий спектр залишків використовується як субстрат для темної ферментації та може бути згрупований у: лігноцелюлозну біомасу, стічні води від обробки харчових продуктів і напоїв, харчові відходи, біомасу водоростей та відходи тваринництва. Нижче описано найбільш часто досліджувані типи біомаси або відходів, які використовуються як сировина для виробництва bioH_2 .

8.4.3. Лігноцелюозна біомаса

Лігноцелюозна біомаса визнана перспективним субстратом для темного бродіння завдяки її широкій доступності та наявності цукрів у її складі. Його полімерна структура складається переважно з целюлози (35–55%), геміцелюлози (25–40%) і лігніну (15–25%) у різних пропорціях залежно від культури.

Целюлоза складається з одиниць глюкози і може бути розщеплена целюлозолітичними ферментами під час бродіння в темряві. Це важливе джерело зброджуваних цукрів для мікроорганізмів, що продукують bioH_2 . Як було описано раніше, прості цукри, такі як глюкоза, є кращими субстратами для мікроорганізмів, що продукують bioH_2 .

Геміцелюлоза – це більш складна полісахаридна матриця, що складається з різних цукрів, зокрема пентоз (ксилози, рамнози та арабінози), гексоз (глюкози, манози та галактози) та уронових кислот (4-О-метилглюкуронової кислоти, D-глюкуронової кислоти, і D-галактуринової кислоти). Його розкладання під час бродіння в темряві вимагає дії різних геміцелюлолітичних ферментів, які змінюються відповідно до конкретного складу геміцелюлози, присутньої в біомасі. Однак наявність лігніну є обмежуючим фактором для його використання через його важку біодеградацію.

Лігнін забезпечує жорсткість і міцність структури клітинної стінки рослини, ускладнюючи доступ гідролітичних ферментів до молекул целюлози та геміцелюлози, інкапсульованих або захищених його матрицею. Таким чином, етапи попередньої обробки біомаси необхідні для досягнення її гідролізу та наявності зброджуваних цукрів.

Попередня обробка включає фізичні, хімічні, фізико-хімічні або біологічні методи. Серед фізичних методів можна назвати помел, мікрохвилі, ультразвук, піроліз та ін. Хімічна попередня обробка проводиться за допомогою лугів, кислот, озонолізу, органорозчинників і окислювачів. Фізико-хімічна попередня обробка включає такі методи, як паровий вибух, розширення волокон аміаку, надкритичні рідини, вологе окислення, гідротермальна попередня обробка тощо.

Для попередньої біологічної обробки використовуються гриби, бактерії або їхні ферменти.

Хоча відомо кілька варіантів попередньої обробки, універсального підходу не існує через відмінності у складі матеріалів. Тому дуже важливо адаптувати процеси попередньої обробки для кожного типу субстрату. Було використано попередньо гідротермічно оброблену багасу цукрової тростини в автоклаві при 121 °C протягом 15 хвилин для отримання bioH_2 з використанням консорціуму, що складається в основному з *Clostridium bifermentans* (62,69%), *Bacillus coagulans* (31,67%) і *Enterobacter aerogenes* (2,72%). За оптимізованих умов 7,0 г багаси/л, pH 7 і 37 °C було досягнуто максимального виробництва 23,10 ммоль bioH_2 /л субстрату.

Крім того, використання комбінованих методів попередньої обробки може зібрати переваги різних підходів, покращуючи ефективність процесу. Методи хімічної попередньої обробки, наприклад, можуть сприяти відкриттю целюлозної та геміцелюлозної структури, підвищуючи їх сприйнятливість до подальшого ферментативного розщеплення. З цією метою оптимізовано попередню обробку рисової соломи шляхом поєднання кислотного та ферментативного гідролізу. За найкращих умов попередньої обробки 100 г/л рисової соломи, розмір частинок 0,15 мм, час гідролізу 20 хв і 0,8–1,0 М було отримано приблизно 38,6 г/л загального відновлюючого цукру. Використовуючи мікробний консорціум, було досягнуто максимального виробництва 0,77 л bioH_2 /л культурального середовища, що містить 20 г/л гідролізату рисової соломи при pH 5,5 і 37 °C.

Щоб подолати ці труднощі, багато досліджень були зосереджені на прямому використанні подрібненої біомаси мікроорганізмами, що продукують ферменти, які гідролізують лігноцелюлозну біомасу. Виділено штам, ідентифікований як *Clostridium butyricum*, здатний використовувати лігноцелюлозну біомасу без попередньої обробки. Мікроорганізм був отриманий з інокуляту, отриманого з попередньо термічно обробленого гною великої рогатої худоби та акліматизованого за допомогою послідовних циклів у

культуральному середовищі, що містило кукурудзяні відходи як єдине джерело вуглецю. За оптимізованих умов 20 г/л сирої кукурудзяної крупи без регулювання рН було отримано 92,9 мл $\text{bioH}_2/\text{г}$ кукурудзяної крупи. Подібним чином попередньо обробляли інокулят, отриманий з бичачого гною, мікрохвилями та акліматизували його в культуральному середовищі, що містить мікрокристалічну целюлозу як єдине джерело вуглецю. Ізолят із високим ступенем bioH_2 був ідентифікований як *Clostridium sartagoforme*. За оптимальних умов концентрації субстрату 15 г/л, 0,15 М фосфатного буфера, 6 г/л сечовини та початкового рН 6,47 при 35 °C через 64 години було отримано 87,2 мл $\text{bioH}_2/\text{г}$ з сирої кукурудзяної соломи шляхом бродіння.

Що стосується впливу різних пропорцій целюлози, геміцелюлози та лігніну на кінцевий вихід бродіння, можна зазначити, що лігноцелюлозні субстрати з більш високим вмістом целюлози зазвичай призводять до більшої доступності ферментованих цукрів після гідролізу, потенційно збільшуючи вихід бродіння. Однак вищий вміст геміцелюлози, що складається з різних цукрів, таких як ксилоза, арабіноза та маноза, може бути складнішим для розкладання. Залежно від здатності мікроорганізмів зброджувати ці складні цукри, вихід ферментації може змінюватися, при цьому деякі мікроорганізми ефективніше використовують геміцелюлозу, ніж інші. Біомаса з високою часткою лігніну, як правило, призводить до нижчої продуктивності бродіння, якщо не застосовувати ефективні методи попередньої обробки для руйнування лігноцелюлозної структури.

Залежно від попередньої обробки лігноцелюлозної біомаси, наприклад хімічної попередньої обробки з використанням розчинів кислоти або лугу, інгібітори бродіння, такі як фурфурол і 5-гідроксиметилфурфурол, утворюються в результаті розкладання цукрів і вуглеводів. Крім того, попередня обробка може спричинити високі капітальні витрати, високі потреби в енергії, проблеми з корозією обладнання та додаткові витрати на обробку отриманих стоків.

8.4.4. Залишки промислової переробки

Промислові стічні води, після обробки харчових продуктів і напоїв, багаті органічними речовинами і можуть бути потенційним забруднювачем, якщо їх скидати в навколишнє середовище без належного очищення. З цієї причини промислові стічні води часто використовують як субстрат для виробництва bioH_2 , уникаючи негативних наслідків неправильної утилізації та одночасно відновлюючи енергію. Серед джерел промислових стічних вод, досліджених для виробництва bioH_2 , є стоки пивоварні, обробки молочних продуктів, обробки безалкогольних напоїв, переробки маніоки, стоки пальмової олії, патока цукрової тростини, кукурудзяний лікер мацерації та ін.

Використано багаті глюкозою стічні води рисового заводу для виробництва bioH_2 , використовуючи *Bacillus thuringiensis* як інокулят. В оптимізованому середовищі, що складається з 50% стічної води рисового млина, pH 5,5, температура 37 °C і перемішування при 120 об/хв протягом 72 годин. Були досягнуті такі результати: вихід $1,63 \pm 0,14$ (моль H_2 /моль глюкози) і видалення COD 94,31 % (залишки виробництва).

COD – видалення надлишкової концентрації фосфатів та остаточне видалення органічних речовин із стічної води.

Використано ультразвукову, термічну, лужну, кислотну та ферментативну попередню обробку стічних вод молочної промисловості, щоб оцінити їх вплив на виробництво bioH_2 . Використовуючи попередньо термічно оброблений анаеробний осад при 90 °C протягом 30 хвилин, pH 5,5 і температурі 55 °C, найкраще кумулятивне виробництво 254 мл bioH_2 було досягнуто через оброблений лактазою залишок.

Вивчено вплив різних кислот і лугів на попередню обробку стічних вод заводу з виробництва пальмової олії. Було встановлено, що фосфорна кислота H_3PO_4 у концентрації 2,5% призвела до найкращої попередньої обробки. Згодом попередньо оброблений POME був використаний для виробництва bioH_2 з

використанням попередньо термічно обробленого анаеробного осаду реактора в умовах температури 60 °C, pH 5,5, 6 годин HRT, що призвело до виходу 2,25 моль bioH_2 /моль загальних розчинних вуглеводів. Спільнота бактерій, відповідальних за виробництво bioH_2 , була генетично проаналізована та ідентифікована як належна до класів *Clostridia*, *Bacilli*, *Bacteroidia*, *Thermoanaerobacteria* та *Gammaproteobacteria*.

Незважаючи на те, що промислові стічні води широко доступні та недорогі, їм часто не вистачає азоту, фосфатів, мікроелементів, таких як іони металів, і навіть джерел вуглецю, необхідних для виробництва біомаси та bioH_2 . Щоб уникнути доповнення культурального середовища дорогими поживними речовинами, такими як дріжджовий екстракт, пептон і чистий цукор, поживний вміст середовища можна підвищити шляхом поєднання двох або більше типів залишків.

Було проведено спільне зброджування стічних вод пивоварні та сирної сироватки. Найвищий відсоток bioH_2 у біогазі відповідав середньому виходу 6,22 ммоль bioH_2 /г COD під час роботи реактора з гідравлічним часом утримання 9 год, постійним pH $5,5 \pm 0,5$, температурою 35 °C і співвідношенням вуглець–азот (C/N) 30.

Оптимізовано виробництво bioH_2 за допомогою консорціумів (Vir і Gal), отриманих шляхом спільного перетравлення стічних вод виробництва маніоки та розчину мацерації кукурудзи. Для консорціуму Vir ідеальними умовами культивування були: початковий pH 6,37°C, 14% інокуляту, 6,5% рідини для мацерації кукурудзи та час продукції 20 с, що досягає максимального виходу 107 мл bioH_2 /г видаленої ГПК. Для консорціуму Gal ідеальними умовами культивування були: початковий pH 6, 36 °C, 13% інокулята, 6,5% рідини для мацерації кукурудзи та час продукції 20 с, що призвело до виробництва 83,1 мл bioH_2 /г видаленої ГПК. Видалення COD становило приблизно 50% і 60% для Vir і Gal відповідно.

Проведено спільне розщеплення гліцерину та обробних стічних вод маніоки, використовуючи попередньо термічно оброблений осад анаеробного

реактора (100 °C протягом 30 хв), досягнувши максимального виходу 0,86 л bioH_2 /л культурального середовища.

8.4.5. Харчові відходи

У 2022 році в усьому світі було викинуто приблизно 1,05 мільярда тон їжі. Ці надлишки зазвичай відправляються на звалища, де вони сприяють викидам 8–10% парникових газів, таких як метан (CH_4) і вуглекислий газ (CO_2), а також викиду аміаку (NH_3) і фільтрату. Харчові відходи мають змінний склад, вони багаті вуглеводами, жирами та білками, що робить їх придатними в якості субстрату у процесах темної ферментації. Це сприяє відновленню енергії та пом'якшує проблеми, пов'язані з їх утилізацією на звалищах. Щоб отримати переваги для навколишнього середовища від виробництва bioH_2 , процес з використанням харчових відходів не повинен призводити до нових негативних екологічних впливів, таких як забруднення ґрунту або утворення шкідливих стоків.

Виробництво bioH_2 на одиницю субстрату та часу має бути максимально збільшено, а також має бути економічно життєздатним, включаючи витрати, пов'язані зі збором, транспортуванням, попередньою обробкою та переробкою харчових відходів. Було досягнуто виходу $1,12 \pm 0,02$ моль bioH_2 /моль глюкози, використовуючи харчові відходи, що складаються з подрібненого та попередньо обробленого рису, картоплі, цибулі, апельсина, свинини, капусти та редьки з H_2SO_4 та переважно інокулятом, що складається з *Clostridium*. Було також повідомлено про вихід $157,25 \pm 7,62$ мл bioH_2 /г летких твердих речовин (VS) з використанням харчових відходів, що складаються з капусти, рису та свинини, з інокулятом з осаду обробленого лугом анаеробного реактора.

Визначено вплив pH, температури та високих концентрацій органічних кислот на виробництво bioH_2 , використовуючи *Clostridium beijerinckii* як інокулят і харчові відходи, зібрані з кафетерію, як субстрат. Відходи змішували з водою у співвідношенні 1:1 (об.) і подрібнювали. Результати експерименту показали, що

концентрації оцтової кислоти (<5000 мг/л) або масляної кислоти (<3000 мг/л) значно пригнічують як ріст клітин, так і виробництво bioH_2 . За ідеальних умов при температурі 40 °C і контрольованому pH 5,5 було утворено приблизно 128 мл bioH_2 /г COD.

Досліджено вплив різних видів попередньої обробки на харчові відходи для виробництва bioH_2 . Було проведено чотири окремі попередні обробки (обробка ультразвуком, нагрівання, кислота та основа) і три комбіновані попередні обробки (обробка ультразвуком нагріванням, обробка ультразвуком кислотою та обробка ультразвуком основою). Після попередньої обробки проводили ферментацію при pH 5,5, інкубували при 37 °C і 180 об/хв без додавання інокулята. Комбінована попередня обробка ультразвуком і кислотою призвела до максимального збільшення розчинних вуглеводів приблизно на 31%, отже, до найвищого виробництва bioH_2 , приблизно 118 мл bioH_2 /г початкового VS, тоді як контрольний експеримент без попередньої обробки призвів до виробництва 42 мл bioH_2 /г початкового VS.

Широкомасштабне використання харчових відходів як субстрату для темної ферментації створює кілька практичних наслідків і значних логістичних проблем. З точки зору збору, основна проблема полягає в необхідності надійної інфраструктури для ефективного розділення та транспортування харчових відходів від місць утворення до об'єктів переробки. Це часто передбачає координацію з різними джерелами відходів, такими як супермаркети, ресторани та домогосподарства, щоб забезпечити безперервне та адекватне постачання. Попередня обробка харчових відходів має вирішальне значення для максимізації ефективності темного бродіння.

Гетерогенність відходів вимагає ефективних методів попередньої обробки, щоб збільшити доступність ферментованих субстратів, таких як целюлоза та геміцелюлоза, і зменшити присутність небажаних забруднень, які можуть перешкоджати процесу бродіння. Ще однією важливою проблемою є інтеграція з існуючими очисними спорудами. Установки очищення твердих відходів або рідких стоків повинні бути адаптовані для ефективного прийому та обробки

харчових відходів, призначених для темної ферментації. Це може включати інвестиції в інфраструктуру для обробки біогазу, розділення твердих і рідких речовин і контролю запахів. Крім того, необхідно враховувати економічні наслідки, такі як вартість впровадження та експлуатації цих адаптованих інфраструктур, а також економічну життєздатність великомасштабного виробництва біоН₂ порівняно з іншими відновлюваними джерелами енергії.

Таким чином, хоча харчові відходи мають значний потенціал як субстрат для темної ферментації, їх широкомасштабна утилізація вимагає комплексного підходу, який враховує як технічні, так і логістичні аспекти, спрямовані на максимізацію енергетичної та екологічної ефективності процесу.

8.4.6. Біомаса водоростей

Біомасу мікробіодоростей можна використовувати як субстрат для виробництва біоН₂, оскільки вони мають більш швидкі темпи росту порівняно з вищими рослинами, не потребують ріллі чи прісної води, уникають використання добрив і пестицидів і мають підвищену здатність до біологічного розкладання через відсутність геміцелюлози та лігніну. Крім того, високоцінні сполуки, такі як пігменти, амінокислоти або білки, можуть бути вилучені з біомаси водоростей перед її використанням у ферментації, таким чином покращуючи економічну життєздатність виробництва біопалива третього покоління.

Наприклад, було використано біомасу з водоростей *Scenedesmus obliquus* як субстрат для виробництва біоН₂ *Clostridium butyricum*. Біомасу культивували у відкритому ставку в умовах обмеження азоту для сприяння накопиченню вуглеводів. Виходячи з сухої ваги, біомаса складалася з приблизно 307 г/кг загального цукру. Неушкоджені клітинні мембрани мікробіодоростей можуть перешкоджати виробленню біоН₂; отже, було виконано фізичне подрібнення біомаси для утворення дрібного порошку (<0,5 мм), з подальшим автоклавуванням перед її додаванням до середовища ферментації. У середовищі,

що містить 50 г/л біомаси водоростей при 37 °С, було отримано вихід 116,3 мл bioH_2 /г біомаси водоростей (2,74 моль bioH_2 /моль глюкози).

Як альтернатива подрібненню біомаси було виконано термічну попередню обробку біомаси *Chlorella vulgaris* в оптимізованих умовах при 100 °С протягом 60 хв. Максимальний вихід 190,9 мл bioH_2 /г VS був досягнутий при pH 5,5, температурі 35 °С з постійним перемішуванням і співвідношенні субстрату до інокуляту 8.

Використано біомасу з видів *Dunaliella primolecta* та *Dunaliella tertiolecta* з екстрагованими ліпідами для виробництва bioH_2 шляхом темної ферментації мікроорганізмом *Thermococcus eurythermalis*. Оскільки мікродорості *Dunaliella* не мають клітинної стінки, їх використання як субстрату для темної ферментації спричинить менші витрати на попередню обробку. Ферментацію проводили при 85 °С протягом 18 годин. За оптимальних умов концентрації біомаси в культуральному середовищі 2,5 г/л і співвідношення газ–рідина 2:1 вихід водню з біомаси *Dunaliella primolecta* становив 192,35 мл/г VS, а з *D. tertiolecta* 183,02 мл/г VS, без стерилізації культурального середовища. Вихід був лише трохи нижчим, ніж при стерилізації, що вказує на те, що автоклавування майже не вплинуло на високий врожай, ймовірно, через високу температуру, що підтримується під час бродіння.

Було оцінено виробництво bioH_2 шляхом темної ферментації з використанням біомаси *Scenedesmus obliquus* з двома чистими культурами: *Enterobacter aerogenes* і *Clostridium butyricum*, порівнюючи використання сухої та вологої біомаси. Ідеальна концентрація біомаси 2,5 г/л була знайдена для максимального виробництва bioH_2 *E. aerogenes*, досягаючи виходу 56,5 мл bioH_2 /г або 57,6 мл/г VS для сухої та вологої біомаси відповідно. Для ферментацій, проведених *C. butyricum*, оптимальна концентрація біомаси в культуральному середовищі становила 50 г/л, демонструючи значні відмінності між використанням сухої та вологої біомаси, що призвело до виходу 113,1 мл/г VS та 80,4 мл/г VS відповідно.

8.4.7. Гній із тваринництва

Відходи тваринництва включають тверді залишки гною тварин, залишки корму (які зазвичай містять лігноцелюлозну фракцію) і стічні води, що містять сечу та фекалії. Велика кількість тваринницьких відходів, які в даний час утворюються в тваринницькому секторі, а також вимивання поживних речовин і органічних речовин у природне середовище становлять постійний ризик забруднення, якщо ними не управляти належним чином. Поточна практика поводження з відходами тваринництва включає перенесення на сільськогосподарські угіддя, а також стабілізацію або біологічну обробку, таку як компостування та анаеробне зброджування.

Дослідниками використано методологію поверхні відгуку для оптимізації комбінованої попередньої обробки H_2O_2 і ультразвукової обробки бичачого гною для подальшого виробництва bioH_2 . Максимальне виділення вуглеводів (190,4 %) було досягнуто при концентрації H_2O_2 0,06 (г/г VS) і питомому надходженні ультразвукової енергії 1419,36 (Дж/г VS). Згодом попередньо оброблений залишок використовували в аналізах виробництва bioH_2 з використанням дигестату з заводу з обробки коров'ячого гною.

Дигестат – продукт біоконверсії органічних матеріалів у процесі метанового бродіння, який взагалі не береться до уваги з точки зору економічного прибутку. Цей продукт є відходом при роботі біогазової станції, тому його часто не розглядають як прямий продукт виробництва, який може бути також реалізований.

Для порівняння результатів також були проведені експерименти спільного перетравлення бичачого гною з сирною сироваткою (20% об.). Виробництво BioH_2 з необробленим і попередньо обробленим гноєм великої рогатої худоби становило 22,75 мл/л і 51,25 мл/л відповідно. Додавання сирної сироватки до бичачого гною як субстрату під час темної ферментації покращило

продуктивність процесу, досягнувши кінцевого значення 0,33 л біоН₂/л культурального середовища.

Було застосовано попередню обробку бичачого гною кислотою, лугом та інфрачервоним випромінюванням, щоб оцінити їх вплив на виробництво біоН₂, з вмістом твердої речовини 10% (*мас./мас.*) і бичачий гній, попередньо оброблений інфрачервоним випромінюванням протягом 2 годин як інокулят. Попередня обробка кислотою була найефективнішою, що призвело до виходу 31,5 мл біоН₂/г VS за оптимальних умов концентрації субстрату 70 г летких твердих речовин/л, початкового рН 7,0 і температури 36 °С. Вихід без попередньої обробки становив 13,3±0,3 мл біоН₂/г VS.

Завдяки високому вмісту азоту в гної тварин, його можна використовувати як субстрат для спільного перетравлення для доповнення азоту з інших сільськогосподарських залишків, зберігаючи при цьому відповідне співвідношення вуглець-азот для виробництва біоН₂.

Проведено спільне бродіння рисової соломи та свинячого гною, попередньо обробленого кислотою, лугом і теплом. Максимальне кумулятивне виробництво біоН₂ 44,59 мл біоН₂/г летких твердих речовин було отримано з попередньо обробленого кислотою інокулята в умовах ферментації рН 7,0±0,1, температури 55±1 °С, співвідношення рисова солома–бичачий гній 5:1 (на основі TS) і 120 об./хв.

8.5. Температура

Ідеальна температура в реакційній системі впливає на швидкість росту мікроорганізмів, а також на експресію та активність ферментативних систем, пов'язаних із процесами виробництва біоН₂. Мікроорганізми можна класифікувати як мезофіли (25–40 °С), термофіли (40–65 °С), екстремально термофіли (65–80 °С) або навіть гіпертермофіли (>80 °С). Кілька досліджень повідомляють про хороші показники виробництва біоН₂ у мезофільному діапазоні (30–40 °С), який є ідеальним діапазоном температур для росту

продуцентів bioH_2 , таких як види роду *Clostridium*. Субстрати, які легко розкладаються, ефективніше перетворюються за помірних температур, ніж за інших температурних умов.

Теоретично, виробництво bioH_2 при більш високих температурах (дорівнює або перевищує 60 °C), що здійснюється термофільними та гіпертермофільними мікроорганізмами, має більш термодинамічно сприятливу реакцію та зменшує енергію активації ферментів, що дозволяє більш активно виробляти bioH_2 у порівнянні з мезофілами.

Переваги використання більш високих температур включають покращену солюбілізацію субстрату, підвищення врожайності комплексних залишків, таких як лігноцелюлозна біомаса та харчові відходи, нижчі рівні забруднення, зниження розчинності bioH_2 у ферментаційному бульйоні, таким чином зменшуючи інгібування виробництва bioH_2 .

Солюбілізація – це явище поглинання нерозчинних або малорозчинних у воді органічних речовин водними розчинами колоїдних поверхнево-активних речовин.

Крім того, це дозволяє використовувати гарячі промислові стоки безпосередньо в процесах бродіння. Однак високі температури можуть зменшити різноманітність мікробів, що призводить до неповної деградації субстрату. Крім того, високі витрати енергії, необхідні для підтримки біореактора при високих температурах, знижують економічну життєздатність процесу.

Було вивчено вплив температури на змішану культуру і виявлено, що її модифікація призводить до зміни мікробної структури. При температурах 37–45°C у мікробному співтоваристві домінували *Clostridium* при виробництві bioH_2 через бутиратний шлях.

Бутиратне бродіння – це процес, який виробляє масляну кислоту за допомогою анаеробних бактерій. Цей процес зазвичай відбувається в клостридіях, які можна виділити з багатьох анаеробних середовищ,

таких як бруд, ферментована їжа, кишковий тракт або фекалії. *Clostridium* може зброджувати вуглеводи в масляну кислоту, утворюючи побічні продукти, включаючи газоподібний водень, вуглекислий газ і ацетат. В даний час бутиратне бродиння використовується у виробництві різноманітних біохімічних речовин і біопалива.

Зміна температури біореактора до 60–65 °C призвела до переважання термофільного роду *Thermoanaerobacterium*, що призвело до утворення етанолу як побічного продукту бродиння. Таким чином, можна зробити висновок, що крім впливу на термодинаміку виробництва bioH_2 , температура також впливає на зміни в мікробному співтоваристві, що використовує змішані культури, а це призводить до змін у біохімічному шляху виробництва bioH_2 і, як наслідок, до змін у отриманих побічних продуктах.

8.6. Вплив pH

pH у виробництві bioH_2 змінюється залежно від типу субстрату та мікроорганізмів, що використовуються, коливаючись від 5,5 до 7,5. Рівень pH ферментативного середовища відіграє важливу роль у зростанні та активності мікроорганізмів, що продукують bioH_2 , оскільки він може спричиняти зміни заряду клітинної мембрани, впливаючи на засвоєння поживних речовин і, отже, на активність ферментів гідрогенази, відповідальних за каталізатор виробництва bioH_2 . pH також впливає на метаболічний шлях виробництва bioH_2 і на виробництво побічних продуктів, таких як органічні кислоти. При виробництві bioH_2 за допомогою змішаної культури виробництво побічних продуктів, таких як етанол, пропіонова кислота та молочна кислота, покращувалось при вищих рівнях pH, тоді як при нижчих рівнях pH виробництво оцтової та масляної кислот було більш активним. Це може вказувати на вплив pH на структуру мікробного

співтовариства, що призводить до переважання різноманітних мікроорганізмів при різних рівнях рН і, як наслідок, до утворення всіляких побічних продуктів.

Ці органічні кислоти накопичуються і призводять до підкислення культурального середовища та, як наслідок, пригнічення процесу бродіння, якщо рН не контролюється. Це підкреслює вирішальну важливість контролю рН і його підтримки на постійному рівні для виробництва bioH_2 . Кінетичні параметри утворення водню шляхом темної ферментації були описані в основному за допомогою моделей, таких як модифікована модель Гомперца.

Функція Гомпертца, названа на честь Бенджаміна Гомпертца, є сигмоподібною функцією. Це тип математичної моделі для тимчасових рядів, де зростання повільніше на початку та наприкінці періоду. Вона нагадує логістичну криву, але симетричну, і з більш пологим правим хвостом, тобто уповільнення зростання відбувається так швидко, як відбувалося його прискорення.

Модель підтверджено за допомогою кривих рН і експериментально вимірюного водню. Дослідження, в основному проведені з використанням періодичних процесів, які не контролюють рН протягом усього процесу, а зосереджуються на впливі початкового рН. Тому слід розрізняти початковий рН і рН процесу бродіння. Однак надмірна потреба в буферах, кислотах або основах для підтримки рН може знизити економічність і стійкість процесу, а також збільшити концентрацію солі в темних стоках бродіння. Одним із перспективних рішень може бути дослідження субстратів з вищим рН або лужністю, щоб збалансувати систему.

8.7. Час гідравлічного утримання

Виробництво bioH_2 у пілотних і промислових масштабах вимагає напівбезперервних і безперервних процесів, причому гідравлічний час

утримання (HRT) є мірою середнього часу, протягом якого субстрат залишається в системі бродіння, і має значний вплив на виробництво bioH_2 . Ідеальне значення HRT залежить від типу використовуваного субстрату та його здатності до біологічного розкладання, яке повинно бути достатньо тривалим для солюбілізації складної органічної речовини.

Через відмінності в часі проліферації мікроорганізмів, що продукують bioH_2 , і споживачів, таких як метаногени, HRT можна використовувати як стратегію для обмеження утворення CH_4 в реакторі. Основні бактерії, що продукують bioH_2 , такі як *Clostridium*, виробляють bioH_2 при відносно коротких HRT (4–12 годин), і не рекомендується подовжувати цей час, щоб уникнути метаболічного переходу від ацидогенезу до метаногенезу.

Однак, окрім того, що HRT дуже варіює залежно від субстрату, він тісно пов'язаний з іншими факторами, такими як pH, рівень органічного навантаження, і часто може змінюватися навіть для одного субстрату. З цієї причини HRT слід оптимізувати спеціально для кожного процесу виробництва bioH_2 .

8.8. Частковий тиск bioH_2

Накопичення водню в реакторі протягом його виробництва призводить до збільшення його парціального тиску, що спричиняє гальмування процесу. Щоб уникнути пригнічення продукції bioH_2 через тиск, можна застосувати деякі стратегії, такі як перемішування культурального середовища, обприскування газоподібним азотом (N_2) і вуглекислим газом (CO_2).

Однак, незважаючи на те, що розпилення є методом, який покращує отриманий врожай, відбувається розбавлення продукту та додаткові витрати на відновлення газу. Таким чином, простим методом зниження парціального тиску в реакторі є безперервне видалення газової фази.

8.9. Швидкість органічного навантаження

Швидкість органічного навантаження (OLR) відноситься до кількості органічного матеріалу, доданого до системи виробництва bioH_2 на одиницю об'єму протягом певного періоду. Відомо, що вищі концентрації субстрату можуть підвищити ефективність виробництва bioH_2 , але гальмування відбувається в утворенні продукту, коли навантаження органічного субстрату перевищує пороговий рівень. Це відбувається через те, що надмірна кількість субстрату підвищує осмотичний тиск, таким чином пригнічуючи ріст бактерій, що продукують bioH_2 . Крім того, надлишок субстрату змінює шляхи бродіння з утворенням спирту або органічних кислот, обмежуючи вихід bioH_2 .

Дослідження продемонстрували вплив OLR на виробництво bioH_2 з різних субстратів, який значно варіює, від дуже низьких показників, таких як 20 г COD/л/день, до високих показників, таких як приблизно 100 г COD/л/день. Оптимальний OLR залежить не тільки від природи субстрату, але також від pH, температури та типу реактора. Ідеальний OLR повинен бути визначений для кожної конкретної сировини.

Швидкість завантаження органічних речовин (OLR) впливає на стабільність та ефективність бродіння в різних біореакторах. У резервуарних реакторах безперервної дії (CSTR) високі OLR можуть призвести до перевантаження системи та пригнічення мікробної активності. Мембранні біореактори (MBR) піддаються впливу OLR з точки зору швидкості утворення біомаси та ефективності фільтрації. Високі OLR можуть спричинити швидке зростання біомаси та забруднення мембран. На реактори з упакованим шаром (PBR) впливають високі OLR, що призводить до накопичення біомаси та зниження ефективності процесу. В анаеробних реакторах із псевдозрідженим шаром (AFBR) може спостерігатися збільшення виробництва біогазу з високим OLR, але також існує ризик вимивання біомаси. Анаеробні мулові реактори висхідного потоку (UASBR) можуть бути дестабілізовані високими OLR, що призводить до втрати біомаси та утворення каналів. Баланс OLR має вирішальне

значення для стабільності реактора та ефективного видалення органічних речовин.

8.10. Біореактори, що використовуються для виробництва біоH₂

БіоH₂ можна отримати за допомогою періодичних, напівбезперервних або безперервних процесів. Порційні операції проводяться в закритій системі, де субстрат і інокулят додаються відразу, а продукт збирають лише в кінці ферментації. Періодичними реакторами простіше керувати, і вони зазвичай використовуються в лабораторних дослідженнях для оцінки потенціалу виробництва біоH₂ органічних субстратів і перевірки оптимальних умов темної ферментації.

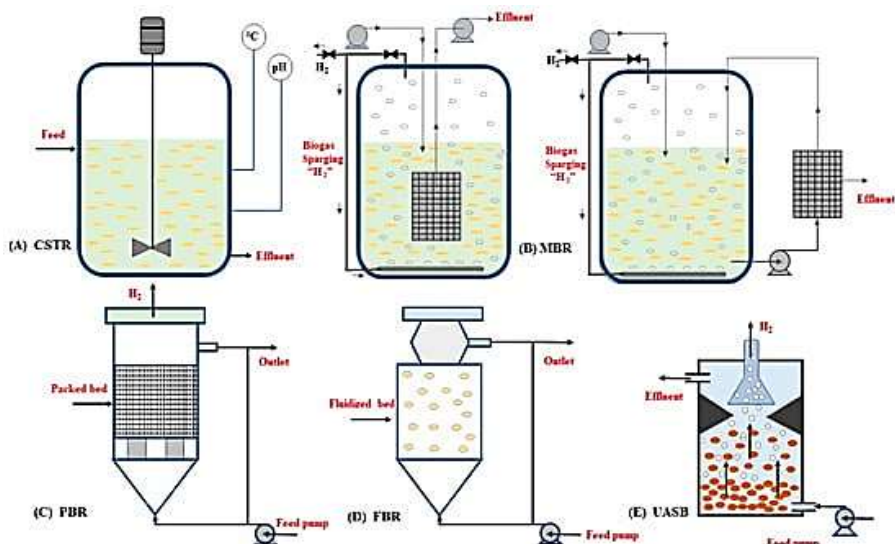


Рис. 21. Біореактори для безперервної темної ферментації: резервуарний реактор безперервної дії з перемішуванням (А); мембранний реактор (В); реактор із наповненим шаром (С); реактор із псевдозрідженим шаром (D); анаеробний реактор із висхідним потоком осаду (Е) [24]

Напівбезперервні процеси реалізуються безперервно, а продукт збирається через рівні проміжки часу. У порівнянні з пакетними процесами, напівбезперервні процеси можуть помірно збільшити вихід продукту та тривалість циклу, щоб збалансувати продуктивність і масштаб, що робить їх більш придатними для середнього виробництва. Безперервні процеси безперервно подаються та випускаються, зберігаючи стабільні умови реакції, високий вихід продукту та короткий час циклу, забезпечуючи безперебійне виробництво газу. У зв'язку з вищою продуктивністю промислове виробництво bioH_2 вимагає використання біореакторів безперервної дії, які можна призупинити або зупинити.

Підвішені біореактори можна класифікувати на резервуарні реактори безперервного перемішування (CSTR) (рис. 21A) і мембранні біореактори (MBR) (рис. 21B). З іншого боку, іммобілізовані реактори класифікуються як реактори з наповненим шаром (PBR) (рис. 21C), анаеробні реактори з псевдозрідженим шаром (AFBR) (рис. 21D) і анаеробні реактори з висхідним потоком з осадам (UASB) (рис. 21E).

8.10.1. Резервуарні реактори безперервної дії з перемішуванням

Підвішені біореактори в основному використовуються для сировини з високим вмістом субстрату, такого як міські та харчові відходи. Серед підвішених біореакторів реактор безперервної дії (CSTR) є найбільш часто використовуваною реакторною системою безперервної дії для виробництва bioH_2 . Він має просту циліндричну конструкцію, обладнану системою механічного перемішування, що полегшує роботу та забезпечує однорідне змішування для підвищення ефективності видалення bioH_2 з реакційної суміші. Це зменшує його парціальний тиск і збільшує продуктивність.

У CSTR субстрат і інокулят суспендовані в біореакторі, враховуючи той самий гідравлічний час утримування. Різні методи біологічної або фізичної

імобілізації можуть бути використані для підвищення утримування біомаси та здатності до виробництва водню в CSTR.

8.10.2. Мембранні біореактори

Мембранні біореактори (MBR) відрізняються від CSTR тим, що вони оснащені мембранною системою, яка утримує мікроорганізми в біореакторі, підтримуючи їхню концентрацію на високому та постійному рівні, таким чином запобігаючи вимиванню біомаси, що є основним недоліком CSTR. Залежно від розташування мембрани систему можна класифікувати на два основних типи: MBR із зовнішнім контуром, де мембрана розташована зовні та з'єднана з реактором через трубопровід, і занурені MBR, де мембранний модуль розміщено безпосередньо всередині біореактора.

У MBRs гідравлічний час утримування (HRT) не пов'язаний з часом утримання осаду, що полегшує регулювання HRT. Крім того, більш висока концентрація біомаси в біореакторі дозволяє краще використовувати органічний субстрат, зменшити об'єм реактора, знизити утворення осаду та забезпечити відсутність мікроорганізмів у стічних водах завдяки їх повному утриманню мембраною.

Основні недоліки мембранних біореакторів включають забруднення мембрани органічними частинками або біоагрегатами, що призводить до нижчого масообміну порівняно з іншими типами біореакторів, що особливо шкідливо для відходів з високим вмістом твердих речовин. Інтеграція наноматеріалів у мембрани може покращити їхні поверхневі властивості. Наночастинки можуть змінювати властивості мембран і підвищувати довговічність і ефективність. Крім того, розробка нових полімерів, які пропонують кращу хімічну та механічну стабільність, підвищену селективність і проникність, може призвести до створення більш міцних і ефективних мембран, тим самим зменшуючи потребу в частій заміні. Крім того, поєднання різних матеріалів у композиційні шари для використання їхніх індивідуальних переваг

може призвести до створення економічно ефективних міцних мембран із покращеним утриманням забруднення та експлуатаційною стійкістю.

Крім того, мембранні біореактори все ще є незрілою технологією, яка потребує вдосконалення з точки зору вартості та продуктивності біоН₂. MBR потребують значної кількості енергії для таких операцій, як аерація, циркуляція та, в деяких випадках, термічна обробка та очищення мембран. Зі зниженням вартості відновлюваних джерел енергії, таких як сонячна та вітер, установки MBR можуть працювати з меншими експлуатаційними витратами, тим самим знижуючи загальну вартість виробництва біоН₂. Однак із зменшенням вартості відновлюваної електроенергії та розвитком мембранних матеріалів застосування мембранних біореакторів є перспективним.

8.10.3. Реактори з упакованим шаром

У реакторах з упакованим шаром стічні води пропускають через колону, яка містить популяцію мікроорганізмів, прикріплених до біологічних опорних матеріалів, які утримують мікроорганізми всередині біореактора, запобігаючи вимиванню біомаси.

Матеріали, що використовуються для формування біоплівки, повинні бути інертними, мати високу питому поверхню, шорстку текстуру та значну пористість. Зазвичай використовувані матеріали включають скляні кульки, керамзит, перліт, активоване вугілля, кераміку, кокосове волокно, синтетичні полімери, пластикові матеріали та солому. Ці матеріали підтримують ріст мікроорганізмів, що продукують біоН₂, які утворюють біоплівки, розташовані шарами всередині біореактора.

PBR прості в експлуатації, а висока концентрація клітин призводить до високої об'ємної швидкості виробництва біоН₂ при відносно малих об'ємах реактора. Крім того, вони можуть працювати з високим рівнем органічного навантаження (OLR) і низьким HRT.

Реактори з упакованим шаром мають нижчу турбулентність, отже, більший опір масопередачі, що призводить до неповної конверсії субстрату та градієнтів рН у всьому реакторі. Щоб покращити змішування, рециркуляційний контур часто включається в системи PBR. Залежно від режиму потоку всередині реактора, PBR можна класифікувати як висхідний або низхідний потік.

Оскільки час утримування біомаси не залежить від часу утримання субстрату, потенційною проблемою з цим типом реактора є втрата bioH_2 через утворення метану та тривале утримання біомаси в реакторі, що дозволяє створювати повільно зростаючі метаногенні популяції.

8.10.4. Анаеробні реактори з псевдозрідженим шаром

Анаеробні реактори з псевдозрідженим шаром AFBR поєднують характеристики CSTR та PBR, які подаються газом з нижньої частини реактора для створення псевдозрідженого шару, який покращує масообмін за допомогою мікроорганізмів, іммобілізованих на інертних частинках. Однак, на відміну від PBRs, де біомаса організована в шари, в AFBRs гранули є рідиною всередині біореактора, що призводить до високої швидкості опадів через їхню вагу, а це збільшує швидкість рідини та, як наслідок, активність мулу. AFBRs мають позитивні характеристики, такі як здатність працювати з більш високими органічними показниками завантаження при низькому гідравлічному часі утримування без вимивання біомаси.

Ефективність роботи при високих органічних навантаженнях і низькому гідравлічному часі утримування забезпечується завдяки ретельній підтримці киплячого шару без вимивання біомаси. Це досягається за допомогою точних методів контролю вхідного потоку та аерації. Належне псевдозрідження шару має вирішальне значення для забезпечення утримання біомаси в системі, запобігання її втрат і забезпечення активної участі в біохімічних процесах для деградації органічного субстрату. Ці стратегії необхідні для оптимізації продуктивності AFBR, забезпечуючи ефективну роботу навіть за високих

органічних навантажень і скороченого часу гідравлічного утримання. Однак для підтримки киплячого стану шару в біореакторі система потребує високого рівня енергоспоживання, що вимагає оптимізації робочих умов для зменшення необхідного споживання енергії. Щоб зменшити ці витрати та оптимізувати робочі умови, стратегії включають використання ефективних технологій аерації та змішування, інтеграцію відновлюваних джерел енергії, розширений контроль процесів, оптимізацію часу гідравлічного утримування (HRT) і впровадження постійного моніторингу з профілактичним обслуговуванням. Ці заходи не тільки економлять енергію, але й підвищують стійкість і продуктивність системи у виробництві bioH_2 .

8.10.5. Анаеробні мулові реактори з висхідним потоком

Анаеробні мулові реактори з висхідним потоком UASB зазвичай використовуються для отримання bioH_2 зі стічних вод різного походження. Вони, як правило, мають подовжену форму, що містить сепаратор газ/рідина/тверда речовина у верхній частині, де утворюються мікробіологічні гранули. Ці гранули осідають, створюючи товсту зону коври біомаси на дні.

Рідкі стоки, що містять субстрати, надходять у реактор знизу, а рідина виходить з мінімальною кількістю субстратів зверху. У реакторах з висхідним потоком біомаса іммобілізується в гранулах шляхом утворення біоплівки або затримується в упакованому підтримуючому середовищі. Середовище підтримки включає губку, гранульоване активоване вугілля, керамзит, поліетиленоктановий еластомер, керамічні кульки, альгінатний гель. У реакторі з псевдозрідженим шаром газ або рідина проходить через накопичену тверду речовину, створюючи висхідний рух, викликаючи гідравлічну турбулентність, тим самим покращуючи змішування та масообмін без будь-якого механічного перемішування. Гранули утворюються та ростуть під час процесу бродіння через агрегацію активного мулу. Перевагою гранульованої форми мікроорганізмів є їх

більш висока стійкість у реакторі та більша стійкість до токсичних умов. Переваги реакторів UASB включають високу ефективність у виробництві bioH_2 , короткий HRT і стабільні умови роботи.

Хоча UASB має ряд переваг, його практичне застосування для виробництва bioH_2 вимагає розробки гранул ідеального розміру для виробництва bioH_2 , що зазвичай вимагає періоду культивування в кілька місяців. Альтернативою для прискорення утворення гранул було б використання гранул CSTR як UASB інокулята, що призвело б до отримання гранул із середнім розміром 1,9 мм через 45 днів.

8.11. Технології збільшення виробництва bioH_2

8.11.1. Інтегровані виробничі стратегії

Незважаючи на те, що темне бродіння широко вивчається, вихід bioH_2 обмежується виробництвом летких жирних кислот (ЛЖК), які накопичуються в культуральному середовищі, що призводить до неповного окислення доступної органічної речовини та зниження рН, що пригнічує мікроорганізми.

Таким чином, щоб збільшити продуктивність у виробництві bioH_2 шляхом відновлення енергії зі стоків темного бродіння, багато досліджень розглядали виробництво в два етапи, поєднуючи темне бродіння з фотоферментацією і мікробними електролізними клітинами.

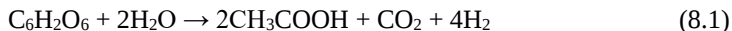
8.11.2. Темне бродіння-фотобродіння

ЛЖК, присутні в рідкому залишку, можуть споживатися фіолетовими несірчаними бактеріями під час додаткової стадії фотоферментації, що забезпечує більш ефективне окислення субстрату та, як наслідок, більшу продукцію bioH_2 . Інтегроване виробництво може бути досягнуто шляхом

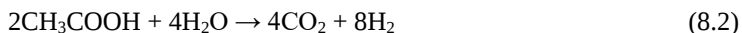
спільного культивування мікроорганізмів темної ферментації та фотоферментації або через послідовні біореактори.

Інтеграція темного бродіння та фотоферментації може дати теоретичний максимальний вихід 12 молей bioH_2 на моль глюкози, демонструючи, що їх з'єднання ефективніше, ніж виконання цих двох типів бродіння окремо (рівняння (1) і (2)).

Темне бродіння:



Фотоферментація:



Було проведено двостадійне послідовне виробництво bioH_2 з гідролізованої багаси цукрової тростини.

Багаса (жом цукрової тростини) – це сухий м'якоподібний волокнистий матеріал, який залишається після подрібнення стебел цукрової тростини або сорго для вилучення з них соку. Він використовується як біопаливо для виробництва тепла, енергії та електроенергії, а також у виробництві целюлози та будівельних матеріалів. Жом з агави схожий, але є залишками матеріалу після вилучення соку блакитної агави.

Темну ферментацію проводили *Enterobacter aerogenes*, досягаючи виходу 1 л bioH_2 на літр культурального середовища. Згодом витік темної ферментації використовувався на стадії фотоферментації фіолетовою несірчаною бактерією *Rhodospseudomonas*, що призвело до загального максимального виробництва 0,75 л bioH_2 на літр середовища на цій стадії.

Використано фруктові та овочеві залишки для двостадійного виробництва bioH_2 . Темну ферментацію проводив консорціум, який переважно складався з *Bifidobacterium* (85,4%), *Klebsiella* (9,1%), *Lactobacillus* (0,97%), *Citrobacter* (0,21%), *Enterobacter* (0,27%) і *Clostridium* (0,18%), досягаючи максимального

виробництва bioH_2 93,4 мл $\text{H}_2/\text{г COD}$. Збагачену лактатом рідину темної ферментації потім розбавляли (1:2, 1:5 та 1:10) і використовували для виробництва bioH_2 за допомогою фотоферментації бактерією *Rhodospseudomonas palustris*, досягаючи максимального виходу 1,37 LH_2 на грам. ГПК у розведенні 1:10.

8.11.3. Темна ферментація – клітини для мікробного електролізу

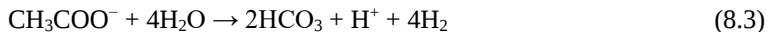
Мікробні електролізні клітини (МЕС) поєднують метаболізм мікроорганізмів і біоелектрохімічні реакції для виробництва bioH_2 . Ці комірки складаються з однієї або двох камер, які містять анод і, в деяких випадках, мембрану, що розділяє електроди.

В анаеробних умовах екзоелектрогенні мікроорганізми, здатні каталізувати перенесення електронів від субстрату до електродів, такі як мікроорганізми з родів *Geobacter*, *Shewanella*, *Acetobacterium*, *Rhodofera*, *Rhodospseudomonas*, *Ochrobactrum*, *Enterobacter*, *Clostridium*. А у чистому вигляді або у складі консорціумів, утворюють біоплівку на аноді, діючи як електрокаталізатори. Вони відповідають за окислення органічної речовини, утворюючи летючі жирні кислоти, вільні електрони, протони H^+ і CO_2 . Вільні електрони переносяться від анода до катода через електричне коло під дією напруги, тоді як протони дифундують через розділову мембрану до катода, де вони потім відновлюються з утворенням bioH_2 .

Вираз, який використовується для опису виробництва bioH_2 у МЕС, зазвичай базується на використанні ацетату як джерела вуглецю (рівняння 8.3). Теоретичний максимальний вихід становить приблизно 4 моль bioH_2 на моль ацетату.

Потік від темної ферментації також може бути окислений через мікробні електролізні комірки для додаткового виробництва bioH_2 . Як видно з рівняння (8.3), теоретичний максимальний вихід 4 моль $\text{bioH}_2/\text{моль глюкози}$, отриманої шляхом темної ферментації (8.1), збільшується приблизно до 8 моль водню/моль

глюкози шляхом поєднання темної ферментації та мікробних електролізних клітин.



Вироблено bioH_2 у дві стадії, використовуючи кукурудзяну масу як субстрат. Під час бродіння в темряві вони досягли максимального виходу 129,8 мл $\text{bioH}_2/\text{г}$ кукурудзяної суміші. Згодом ферментований бульйон з першої стадії був розбавлений і використаний як субстрат для виробництва bioH_2 в мікробній електролізній комірі, досягнувши максимального виходу 257,3 мл $\text{bioH}_2/\text{г}$ кукурудзяної крупи при прикладеній напрузі 0,8 В і 44%.

У подібній системі використано стічні води від переробки крохмалю маніоки як субстрат, що призвело до максимального виходу 260 мл $\text{bioH}_2/\text{г}$ видаленого COD та ефективності видалення COD 38% під час бродіння в темряві. На другій стадії з використанням витоків темної ферментації в МЕС було отримано вихід 205 мл $\text{bioH}_2/\text{г}$ видаленої ГПК та ефективність видалення ГПК 32%.

8.11.4. Наночастинки (НЧ)

Використання **наночастинок (НЧ)**, що складаються з металів і оксидів металів, таких як Ag, Pd, Co, Au, Cu, Ni, Ti та Fe, продемонструвало потенціал у збільшенні виробництва bioH_2 . Ці мікроелементи діють як кофактори для ключових ферментів у метаболізмі виробництва bioH_2 , сприяють розмноженню бактерій, діють як поглиначі O_2 , сприяючи підвищенню активності ферменту FeFe-гідрогенази, який є більш чутливим до присутності кисню, також знижують окисно-відновний потенціал у система, забезпечуючи більш сприятливе середовище для бактерій, які здійснюють темне бродіння, збагачують мікробне співтовариство та сприяти росту видів, що продукують bioH_2 , таких як *Clostridium*.

Серед різних елементів, які можуть складати наночастинки, іони металів заліза (Fe) і нікелю (Ni) особливо досліджуються через їх участь у синтезі залізо-

сірчаних білків у ферментах фередоксин і [NiFe] гідрогенази та [FeFe] гідрогенази. Попередні дослідження показали, що наночастинки заліза підвищують активність гідролітичних ферментів у анаеробному бродінні, які необхідні для гідролізу та утилізації біомаси.

Синтезовано наночастинки зеленого заліза, використовуючи лігнін, витягнутий із пустих грон олійної пальми. Згодом наночастинки були застосовані в середовищі водневої ферментації, що складається зі стічних вод виробництва безалкогольних напоїв (88%) і кукурудзяного розчину (12%) з додаванням NaHCO_3 (1,0 г/л) і цистеїну- HCl (0,5 г/л) і щеплені *Clostridium* (64%), *Ruminococcus* (34,5%) та іншими родами (1,5%). Вихід, отриманий при ферментації без додавання FeNPs, призвів до виходу приблизно 180,7 мл H_2 /г видаленого COD, який збільшився до 410 мл H_2 /г видаленого COD з додаванням 200 мг/л наночастинок заліза.

Оптимізовано виробництво bioH_2 з гідролізату кукурудзяної соломи з додаванням НЧ нікелю. Вихід bioH_2 збільшився з 0,7 моль bioH_2 /моль глюкози до 1,18 моль bioH_2 /моль глюкози з додаванням НЧ, що призвело до збільшення виходу на 40%.

8.11.5. Генна та метаболічна інженерія

Генна та метаболічна інженерія ферментативних мікроорганізмів також використовувалася як стратегія збільшення виходу bioH_2 за допомогою таких процесів, як впровадження або надмірна експресія генів, пов'язаних із виробництвом ферменту гідрогенази та споживанням субстрату або видаленням генів, що контролюють альтернативні шляхи виробництва органічної кислоти.

Було введено ген, що кодує екзоінгуліназу, в мікроорганізми *Clostridium tyrobutyricum* з метою його використання у виробництві bioH_2 шляхом ферментації *Helianthus tuberosus*. Це широко доступна культура, багата на вуглеводи (інулін), які не використовуються мікроорганізмами дикого типу. Використовуючи модифікований штам отримують вихід 3,7 моль bioH_2 /моль

інуліну через 96 годин у періодичному процесі, який поєднував одночасне оцукрювання та бродіння (SSF). Продукція інулінази була тісно пов'язана з ростом штаму під час експоненціальної фази, досягаючи піку активності при $28,4 \pm 0,26$ Од/мл.

Для збільшення поглинання субстрату та виходу від використання гліцерину, як субстрату для темної ферментації, створено два рекомбінантних штами *Clostridium pasteurianum*. У першому підході була проведена надекспресія гена *hydA*, що кодує гідрогеназу, а в другому підході була проведена комбінація надекспресії генів *dhaD1* і *dhaK*, що кодують гліцеролдегідрогеназу та дигідроксіацетонкіназу. Вихід 1,1 моль H_2 /моль гліцерину був отриманий від штаму з надлишковою експресією *hydA*, і 0,93 моль H_2 /моль гліцерину зі штаму з надлишковою експресією *dhaD1K*.

Здійснено рекомбінацію двох штамів *Clostridium acetobutylicum* (CA-zwf і CA-hydA) для надекспресії генів *zwf* і *hydA*, відповідальних за кодування ферментів глюкозо-6-фосфатдегідрогенази та FeFe-гідрогенази відповідно. Штам CA-zwf досяг виходу 1,23 моль $bioH_2$ /моль глюкози, що в 1,15 разів вище, ніж у дикого типу. Для CA-hydA вихід водню становив 1,49 моль $bioH_2$ /моль глюкози, що на 39,1% більше порівняно з диким типом.

Термофільні анаеробні мікроорганізми виду *Caldicellulosiruptor bescii* можуть ефективно використовувати лігноцелюлозну біомасу без необхідності попередньої обробки, головним чином продукуючи лактат, ацетат і $bioH_2$ як продукти бродіння. Прагнучи збільшити виробництво $bioH_2$ *C. bescii* і зменшити виробництво лактату, видалено ген *ldh*, відповідальний за кодування ферменту L-лактатдегідрогенази, який каталізує виробництво лактату. Після модифікації отриманий штам не виробляв помітних рівнів лактату з целобіози та мальтози, натомість збільшував виробництво ацетату та $bioH_2$ на 21–34% відповідно порівняно з диким типом.

З іншого боку блоковано шлях виробництва етанолу *Clostridium butyricum* шляхом генетичного руйнування гена *aad* (кодує альдегід-алкоголдегідрогеназу) за допомогою плазмиди CloStron для збільшення виходу

при виробництві bioH_2 . Мутантний штам продемонстрував приблизно на 20% покращену продуктивність bioH_2 порівняно з диким типом.

8.12. Переваги та недоліки темної ферментації та інших методів виробництва відновлюваного водню

Відомі різні методи отримання відновлюваного водню, серед яких ті, що засновані на фрагментації молекули води, і ті, які використовують мікроорганізми для отримання вектора енергії. Розщеплення води можна класифікувати за трьома способами: електроліз, термоліз і фотоліз, тоді як біологічні методи включають темне бродіння, біофотоліз і фотоферментацію.

Під час електролізу безперервна електрична енергія використовується для фрагментації молекули води на водень (H_2) і кисень (O_2). Крім того, процес каталізується електролітами, такими як основи, кислоти та деякі солі. Відновлювана електрична енергія зазвичай використовується в процесі, який виробляє зелений водень без викиду CO_2 в атмосферу.

Це єдиний процес, який використовується в промислових масштабах для отримання відновлюваного водню. Приблизно 5% водню, виробленого у світі, отримують за допомогою цього процесу. Основні переваги цієї техніки полягають у тому, що це швидкий процес, який здійснюється за умов зовнішнього тиску та температури, легко масштабується та не викидає CO_2 в атмосферу, оскільки зазвичай використовується відновлювана сонячна або гідравлічна енергія. Однією з його головних переваг є корозія електродів, тому термін служби електродів досить короткий.

Водень є чистим і ефективним носієм енергії, відповідальним за викиди лише водяної пари під час згоряння та нульові викиди парникових газів. У результаті було проведено масштабні дослідження для розробки майбутньої водневої економіки. Численні проекти у всьому світі зосереджені на виробництві відновлюваного водню, головним чином за допомогою електролізу. Однак через

велику кількість органічних відходів біологічне виробництво водню може стати привабливим.

Серед методів виробництва водню темне бродіння інтенсивно досліджувалося та вдосконалювалося з використанням широкого спектру органічних відходів як субстратів, інокулянтів та вивчення робочих параметрів, таких як рН, температура, швидкість завантаження органіки, парціальний тиск bioH_2 , гідравлічне утримання, час та конструкція біореактора. Однак виробництво bioH_2 через темну ферментацію призводить до обмеженої продуктивності. Тому для консолідації економіки bioH_2 необхідні постійні пошуки дешевшої сировини та різних інокулянтів, а також моделювання та оптимізація фізико-хімічних параметрів, що впливають на процес, і використання підходів, які забезпечують максимальне відновлення bioH_2 . Таких як двостадійне виробництво, іммобілізація клітин всередині біореакторів і використання молекулярних методів для покращення штамів, що продукують bioH_2 .

Питання для самоконтролю

1. Що таке темне бродіння і його роль в захисті навколишнього середовища?
2. Завдяки яким бактеріям можливо продукування bioH_2 з різноманітної сировини?
3. Чи відповідають промислові стічні води критеріям ферментаційного субстрату для виробництва H_2 ?
4. Що представляє собою новий двостадійний процес темної ферментації?
5. Якими мають бути субстрати, які можуть стати джерелом утворення bioH_2 ?
6. За якою схемою відбувається утворення водню в наслідок темного бродіння?
7. За рахунок яких мікроорганізмів відбувається утворення bioH_2 ?
8. У чому полягає шлях метаболічної ферментації?
9. Як інокулят і попередня обробка біосировини впливають на процес утворення bioH_2 ?

10. Які методи застосовують для попередньої обробки біовідходів?
11. Які субстрати застосовують в темній ферментації для виготовлення водню?
12. Що таке залишки виробництва і як вони утворюються?
- 13.3 яких компонентів складаються харчові відходи?
14. Яку роль може відігравати біомаса водоростей у виробництві bioH_2 ?
15. Як температура впливає на процес утворення bioH_2 ?
16. Як змінюється рН біомаси у виробництві bioH_2 ?
17. За якими принципами застосовують біореактори для темної ферментації?
18. Що таке генна та метаболічна інженерія?
19. Переваги та недоліки темної ферментації у виробництві відновлюваного водню?

Рекомендована навчальна література

1. Єгорова А.В., Капрельянц Л.В., Труфкаті Л.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Одес. нац. акад. харч. технологій. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.
2. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
3. Українець А.І., Калакура М.М., Романенко Л.Ф., Домарецький В.А. Загальні технології харчових виробництв: підруч. К. : Університет «Україна», 2010. 814 с.
4. Пирог Т.П., Антонюк М.М.,Скроцька О.І., Кігель Н.Ф. Харчова біотехнологія: підручник. К.: Видавництво Ліра-К,2016. 408 с.
5. Ростовський В. С., Колісник А. В. Система технологій харчових виробництв : навч. посібник. К. : Кондор, 2008. 256 с.
6. Мелетьєв А. Є. Технологія продуктів бродіння і напоїв : укр.-рос. тлумач. слов. Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2011.192 с.
7. Крусір Г. В., Шевченко Р. І., Русєва Я. П., Кондратенко І. П., Крайнов, І. П. Технології поводження з відходами харчових виробництв : навч. посіб. для вищ. навч. закл. Одес. нац. акад. харч. технологій. Одеса : Астропринт, 2014. 400 с.
8. Stanbury P. F., Allan Whitaker, and Stephen J. Hall. Principles of fermentation technology. Elsevier, 2013.

Розділ 9. ІННОВАЦІЙНІ БІОРЕАКТОРИ І ФЕРМЕНТОРИ

9.1. Перше знайомство з біореакторами

Перші біореактори в історії ймовірно були керамічними посудинами, які давні люди, такі як єгиптяни, месопотамці, римляни та греки, використовували для бродіння таких продуктів, як хліб, вино, пиво та мед. У той час ще не було уявлення про мікробний світ і технології процесу бродіння. У 19 столітті, коли Луї Пастер відкрив мікроорганізми, увага звернулася до експериментів. Він створив мікробний бутанол зі змішаною бактеріальною культурою, яка включала принаймні один штам *Clostridium*. У 20-му столітті, під час Першої світової війни, Хаїм Вейцман також використовував штам *Clostridium* для виробництва ацетону для використання у виробництві артилерійських снарядів того часу.

Пізніше, з відкриттям пеніциліну Олександром Флемінгом і необхідністю глобального виробництва цих антибіотиків, біореактори почали проектувати для більших масштабів. У 1945 році промислові біореактори могли виробляти 7 трильйонів одиниць пеніциліну. У другій половині 20-го століття технологія біореакторів була революційною, а вдосконалення та інновації в процесі лише зростали, включаючи методи стерилізації, системи перемішування та аерації, системи з кількома ємностями для паралельного виробництва кількох продуктів, а також виробництво обладнання з дедалі більшими розмірами.

Починаючи з 1980-х років, світ біореакторів перейшов від мікроорганізмів до культивування клітин тварин і рослин. Завдяки цьому були побудовані нові типи та конфігурації біореакторів, що відповідають інтересам галузі. У 21 столітті такі технології, як автоматизація, штучний інтелект і 3D-друк, також стали частиною нових біореакторів, зробивши їх автоматизованим, універсальним і високоефективним обладнанням. На додаток до цих технологій протягом багатьох років були розроблені різні проекти та конструкції біореакторів, щоб забезпечити безпечне та економічно ефективне виробництво біотехнологічних продуктів. Біореактори є наріжним каменем промисловості

біопереробки, хоча кожна конструкція біореактора має свої переваги та недоліки. Між 2003 і 2023 роками дослідження технології біореакторів і дизайну цих пристроїв зросли приблизно на 1200%. Це пояснюється спробою розробити універсальне та складне обладнання, яке відповідає потребам поточного ринку в різних галузях промисловості, в яких використовуються процеси бродіння.

В даний час біореактори відіграють фундаментальну роль у розвитку біотехнології. Вони є необхідним обладнанням у взаємодії між малими біопроцесами, що реалізуються в лабораторних дослідженнях, і великомасштабними біопроцесами в промисловому виробництві. Біореактори можна визначити як обладнання, що використовується для культивування тваринних, рослинних або мікробних клітин у малому чи великому масштабі. Як правило, біореактори мають різноманітні системи для контролю робочих змінних, таких як перемішування, аерація, температура, рН, подача поживних речовин і видалення продуктів. Біореактори забезпечують ідеальне середовище для росту клітин і синтезу бажаних біопродуктів, що дозволяє оптимізувати біопроцеси та зменшити витрати та час виробництва. Вибір відповідного біореактора є важливим для ефективного проведення процесу.

Біореактори – це спеціальні ємності, призначені для росту та культивування мікроорганізмів, рослинних і тваринних клітин і тканин. Вони є важливими інструментами в біотехнології, які використовуються для різноманітних цілей, таких як виробництво фармацевтичних препаратів, вакцин, біопалива та харчових продуктів. Біореактор – це система, яка забезпечує контрольоване середовище для росту та розмноження клітин або мікроорганізмів. Конструкція біореактора залежить від типу організмів, що культивуються, і передбачуваного використання кінцевого продукту. Як правило, біореактори оснащені датчиками для моніторингу та контролю таких факторів, як температура, рН, рівень кисню та поживних речовин. Вони також можуть мати механічні мішалки або робочі лопаті для забезпечення рівномірного розподілу клітин або мікроорганізмів по всьому реактору.

9.2. Типи біореакторів

Біореактори для зануреного бродіння (SmFs – Submerged fermentation) і **твердофазного бродіння** (SSF – Solid-state fermentation) були виділені в останні роки через інтенсифікацію використання промислових біотехнологічних процесів. Головним чином з популяризацією таких концепцій, як біорафінарії та біоекономіка, та завдяки глобальній привабливості для технологічних процесів і виробництва екологічно чистих продуктів, а також зростання виробництва біофармацевтичних препаратів і вакцин.

Занурене бродіння є кращим для виробництва біомаси міцелію та біологічно активних метаболітів з метою отримання більш однорідної біомаси та продуктів екстракту. Було виявлено, що регулятори росту, такі як 2,4-дихлорфеноксіацетова кислота та гіберелін, сприятливо впливають на проростання спор.

Твердофазне бродіння – серія послідовних операцій. Вихідна сировина, наприклад, біологічні відходи, гній, шлам, жири або зелена маса, поміщаються у герметично закритий ферментер і, як правило, нагріваються та перемішуються.

Відповідно до концепцій біохімічної інженерії, біотехнологічні процеси можуть відбуватися в рідкому середовищі (SmF – Submerged fermentation), у твердому середовищі, з низькою активністю води (SSF), а також за наявності або відсутності перемішування (статичного та агітованого) та аерації (аерованого і негазованого). Для заглиблених ферментацій (SmFs) з мікробними клітинами використовуються три типи біореакторів, які вже добре відомі в літературі: резервуар з перемішуванням (STR – Stirred tank bioreactors), ерліфт і біореактор з барботажною колоною. Основні компанії, що виробляють і продають біореактори для стендових і промислових масштабів є GE Healthcare (Чикаго, Іллінойс, США), Merck KGaA (Дармштадт, Німеччина), Eppendorf AG (Гамбург,

Німеччина), Sartorius AG (Геттінген, Німеччина), Thermo Fisher Scientific Inc. (Волтем, Массачусетс, США), Bioengineering AG (Вальд, Швейцарія), Danaher Corporation (Вашингтон, округ Колумбія, США), Infors HT (Ботмінген, Швейцарія), Solaris Biotech Solutions (Сант-Антоніо, Італія) і Lonza (Базель, Швейцарія).

Аерований біореактор STR є найбільш використовуваним у біотехнологічній промисловості завдяки таким перевагам, як проста конструкція, універсальність (оперативна гнучкість і адаптованість до різних типів мікроорганізмів), масштабованість, більший контроль умов культивування та знижений ризик зараження. Як правило, цей тип біореактора використовується для культивування бактеріальних або дріжджових мікробних клітин, оскільки вони менш чутливі до напруги зсуву. Відомо, що одним із основних елементів біореакторів STR є система механічного перемішування, яка використовує такі мішалки, як лопаті, пропелери або турбіни, відповідно до потреб і особливостей біопроцесу, щоб сприяти ефективному змішуванню середовища культивування. Це перемішування має вирішальне значення для забезпечення гомогенізації поживних речовин, рівномірного розподілу кисню та підтримки ідеальних умов у всьому об'ємі реактора. Серед систем перемішування, які найчастіше використовуються в біопроцесах, є турбіна Раштона та лопаті на робочих колесах із скошеними лопатями. Турбіна Раштона є найпоширенішим робочим колесом для мікробних культур бактерій і дріжджів, які є більш стійкими до напруги зсуву. Для культивування з низьким зусиллям зсуву використовуються крильчатки зі скошеними лопатями, щоб клітини не пошкоджувалися. Вони ідеально підходять для культивування чутливих клітин, таких як клітини ссавців і комах, що ростуть у суспензії або на мікроносіях, або для культивування в'язких мікробних клітин, таких як деякі нитчасті гриби. Залежно від застосування також можлива комбінація типів крильчатки для підвищення характеристик змішування та зменшення сили зсуву.

З розвитком SmF з тваринних клітин, який використовується у виробництві деяких вакцин, біофармацевтичних препаратів і навіть у деяких випадках

тканинної інженерії, виділялися модифіковані біореактори STR. Через більшу чутливість клітин тварин до напруги зсуву основні модифікації біореакторів STR, спрямовані на їх адаптацію до виробництва біофармацевтичних препаратів. Основні модифікації біореакторів STR:

- співвідношення висота/діаметр менше двох;
- для культур, які потребують більшої аерації, використовуються спринклери перфорованого типу з контролем швидкості розпилення газу та розміру бульбашок, аби створити меншу напругу зсуву, уникнути утворення піни і забезпечити однорідну суміш;
- крильчатка морського типу.

На додаток до біореакторів STR останніми роками також набули популярності *ерліфтні та барботажні колони*, також відомі як *пневматичні біореактори*. Незважаючи на те, що вони рідше використовуються рідше ніж STR в промисловому середовищі, пневматичні біореактори є необхідним обладнанням для аерованих процесів. Так інтенсивне перемішування є критичним параметром, оскільки клітини, які використовуються як ферментуючі агенти, чутливі до напруги зсуву.

Ерліфтні біореактори засновані на принципі тягової труби, що складається з циліндричної ємності, з'єднаної з системою аерації. Внутрішня частина циліндричної ємності розділена на дві окремі частини: висхідну трубу або стояк у який газ нагнітається та випускається у верхній частині, і низхідну трубу або дегазовану опускную трубу. Ця конфігурація ерліфтного біореактора забезпечує рух повітря та аерацію системи.

Барботажна колонка біореактора, як і ерліфт, складається з циліндричної ємності, доданої в нижню частину системою аерації.

Пневматичні біореактори мають наступні основні переваги: високий масообмін, добре змішування з низькою напругою зсуву, низьке споживання енергії, легка робота в стерильних умовах і проста конструкція. Однак недоліком цих біореакторів є те, що їх важко масштабувати до більших об'ємів. З інтенсифікацією досліджень і використанням мікроводоростей у різних галузях

промисловості, вертикальні трубчасті ерліфти та фотобіореактори з бульбашковими колонками використовувалися в лабораторних масштабах до 20 л.

Альтернативою біореактору STR при глибинному культивуванні клітин тварин і рослин, особливо найбільш чутливих до зсуву, є *хвильові біореактори*. Цей тип біореакторів був розроблений наприкінці 1990-х років для культур із низьким споживанням кисню, які не вимагають заглибленої газифікації, а також для клітин із залежним від закріплення зростанням. Хвильовий біореактор є новою системою для культивування клітинних культур.

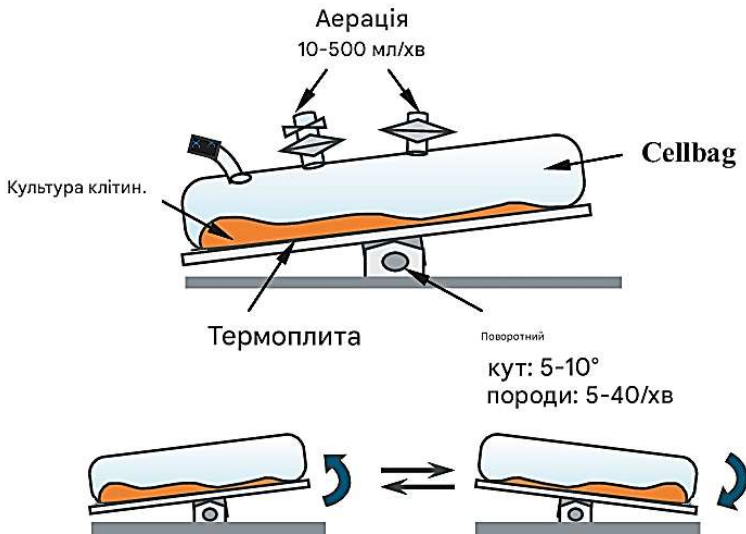


Рис. 22. Схема хвильового біореактора [25]

Культивування клітин виконується в одноразовому поліетиленовому пакеті (cellbag), розміщеному на інкубаційній платформі (термопланшеті), яка гоюдається з певною частотою та під певним кутом. Цей погойдуєчий рух сприяє змішуванню культуральної рідини всередині клітинного мішка та ефективному перенесенню кисню без зсуву або бульбашок. Незважаючи на такі переваги, як

відсутність необхідності стерилізації, оскільки Cellbag стерильний і одноразовий, цей тип біореактора має недолік обмеженого розширення масштабу до 500 л ефективного об'єму. Цей тип біореакторів зараз використовується у фармацевтичній промисловості для виробництва вакцин та інших біофармацевтичних препаратів, оскільки він підходить для культивування клітин тварин, а також нестабільних продуктів, таких як біокон'югати.

Біокон'югати (антитіла з лікарським засобом) – це клас біофармацевтичних препаратів, розроблених як цільова терапія для лікування злоякісних пухлин. На відміну від хіміотерапії, вони направлені для цільового знищення пухлинних клітин, зберігаючи здорові клітини.

Ще однією недавньою інновацією є *одноразові біореактори*, які також широко використовуються у фармацевтичній промисловості для вирощування тваринних клітин у SmF. Це обладнання, виготовлене з високоякісних пластикових матеріалів, таких як поліетилен низької щільності, поліпропілен або полікарбонат, що усуває потребу в очищенні та стерилізації між партіями культивування. Це знижує ризик перехресного забруднення та спрощує процеси валідації і забезпечує відповідність нормативним вимогам. У порівнянні з біореакторами зі скла або нержавіючої сталі, вони гнучкі та ефективні.

Ці біореактори можуть мати різні розміри та конфігурації, від настільних до промислових масштабів з об'ємом 2000 л. Цей тип обладнання адаптується до різних типів культур, дозволяючи проводити паралельні експерименти або масштабувати виробництво за необхідності. Незважаючи на те, що багато одноразових біореакторів виготовлені з пластику, вони призначені для енергоефективної переробки або спалювання після використання.

Крім того, їх енергоефективність під час використання може компенсувати вплив на навколишнє середовище, пов'язаний з виробництвом та утилізацією. Це являє собою перевагу з точки зору стійкості в порівнянні зі звичайними біореакторами з нержавіючої сталі або скла, які споживають більше ресурсів і

енергії протягом свого життєвого циклу. Серед основних досягнень у розробці одноразових біореакторів виділяється можливість індивідуального налаштування конструкції відповідно до застосування, пропонуючи різні типи посудин і геометрії крильчатки для змішування та масопереносу, а також розробку неінвазивних датчиків і інтеграцію процесних аналітичних технологій за стратегічним проектом якості. Ці досягнення дозволять розробити більш універсальні біореактори для культивування різноманітних клітин у фізіологічно сприятливих умовах і для розробки надійних і повторюваних процесів.

Мембранні біореактори також набули популярності в останні роки, особливо коли вони застосовуються для промислового очищення стічних вод. Мембранні біореактори – це обладнання, розроблене з напівпроникними мембранами, які дозволяють вибірково пропускати речовини різного розміру, утримуючи більші клітини або частинки всередині реактора. Ці мембрани можуть бути мікрофільтраційними, ультрафільтраційними або нанофільтраційними, залежно від розміру частинок, які необхідно відокремити від середовища культивування. Основними перевагами цього обладнання є ефективне розділення, можливість безперервної роботи, контроль забруднення та економія місця. Однак їхніми недоліками є вартість, складне обслуговування та обмеження потоку.

На додаток до застосування в обробці стоків, ці біореактори також можуть бути використані з метою інтенсифікації та консолідації біопроцесів для отримання продуктів з доданою вартістю (поліолів, біоповерхнево-активних речовин, органічних кислот і бактеріальних полієфірів), в яких попередні та нижні етапи можуть відбуватися одночасно. Мембранна система очищає цінні біомолекули. Ця стратегія може скоротити етапи обробки, безпосередньо впливаючи на час і витрати процесу, і може зробити процес економічно життєздатним.

Статичні біореактори або біореактори з перемішуванням (часові, безперервні або лише з обертанням) також можуть використовуватися в SSF. Основними типами біореакторів, які використовуються для промислових

стічних вод, є лотки, нерухомі шари та барабани з перемішуванням. Незважаючи на їх широке використання в різних галузях промисловості, залишається постійна потреба в оцінці та вдосконаленні цих систем через кілька проблем:

- більшість процесів SSF включають нитчасті гриби як агенти бродіння, а їх ніжні гіфи схильні до пошкодження системами механічного перемішування;
- тверде середовище може агломерувати під час бродіння, що призводить до нерівномірного росту мікробної біомаси та ускладнень з аерацією та теплопередачею;
- широкомасштабна інокуляція, контроль і стерилізація обсягів середовищ часто є складними.

Удосконалення біореакторів для SSF часто вимагає налаштувань на основі особливостей біопроцесу, оскільки вони залежать від використовуваного мікроорганізму, типу субстрату та умов експлуатації. У промислових масштабах основні проблеми включають теплопередачу та контроль вологості через більші об'єми субстрату. У результаті чого дослідження зосереджені на розробці біореакторів з інноваційними конструкціями та системами автоматизації, щоб пом'якшити ці проблеми та підвищити продуктивність.

Одним з перспективних напрямків розвитку є застосування *технології 3D-друку*, яка набула популярності в останні роки. Ця технологія дозволяє розробляти мікро- та макробіореактори для стендового культивування клітин або ферментів. Крім того, 3D-друк можна використовувати для виготовлення мікроміксерів і матриць для іммобілізації клітин і ферментів. Тривимірний друк пропонує рішення для оптимізації процесів SmF і SSF, спрощуючи проектування біореакторів і аксесуарів, які дозволяють легко оптимізувати продуктивність. Ця технологія може бути застосована до різних аспектів процесу, включаючи сам біореактор, опорні структури для утримання біокатализатора та периферійні аксесуари, що забезпечує висококонтрольований біопроцес. У фармацевтичних процесах мікробіореактори в основному використовуються для тестування ліків, оптимізації клітинної реакції та моделювання захворювань. Тоді як

макробіореактори підтримують культивування функціональних тканин для імплантації в дослідженнях тканинної інженерії. Експлуатаційна безпека включає запобігання забрудненню та управління відходами, причому такі матеріали, як полідиметилсилоксан, відіграють вирішальну роль в цьому питанні.

Полідиметилсилоксан – це універсальний органічний полімер на основі кремнію, відомий своєю гнучкістю, прозорістю та газопроникністю. Ці властивості роблять його ідеальним для використання в реакційних мікропристроях, де він допомагає забезпечити цілісність і контроль біопроцесів.

В останні роки енергоспоживання та продуктивність процесів були покращені за допомогою **штучного інтелекту** (ШІ) та алгоритмів машинного навчання, які коригують параметри в режимі реального часу, підвищуючи ефективність і зменшуючи відходи. Ці алгоритми прогнозують потреби в енергії та реалізують стратегії прогнозного керування, які особливо корисні в безперервних процесах. Проблеми промислових біореакторів включають техніку, безпеку та енергоефективність. Підтримка культурної однорідності та безпека експлуатації є важливими. Вибір робочих коліс та інтеграція штучного інтелекту покращують ефективність біореактора.

Автоматизація, моделювання та використання передових матеріалів забезпечують більш безпечну та ефективну роботу, оптимізуючи біотехнологічні процеси. Ефективним виявилось використання нейронних мереж у системах керування очищенням стічних вод. Інтеграція нейронних мереж із вдосконаленими алгоритмами та впровадження пристроїв **Інтернету речей (IoT)** і датчиків нового покоління мають потенціал для трансформації вдосконаленого сценарію очищення стічних вод у бік розробки інтелектуальних та самоадаптивних систем.

9.3. Проблеми моніторингу біопроцесів у біореакторах

Датчики та системи оперативного керування в біореакторі є життєво важливими для моніторингу та підтримки контрольованих умов, тим самим підвищуючи ефективність хімічних, біохімічних і біологічних процесів. Незважаючи на їх важливість, залишаються значні проблеми в моніторингу та контролі біопроцесів через різноманітність моделей біореакторів і біологічних процесів.

Що стосується реакторів, то існують реактори періодичної дії, біореактори безперервної дії, магнітні біореактори, перфузійні біореактори, хвильові біореактори, пневматичні біореактори, біореактори з обертовою стінкою, біореактори з перемішуванням і мікрофлюїдні реактори. Інженерні відмінності цих біореакторах, як у фізичній структурі, так і в робочих механізмах, призводять до різноманіття варіацій застосувань датчиків.

Незалежно від конкретного типу біореактора необхідно виміряти кілька основних робочих параметрів. До них належать pH, температура, тиск, швидкість потоку живлення, швидкість потоку на виході, перемішування, рівень кисню, рівень CO₂ та рівень N₂. Крім того, існують параметри, специфічні для кожного біопроцесу, такі як ріст клітин, вивільнення ферментів, рівень поживних метаболітів і концентрація вторинних метаболітів. Ці параметри можуть змінюватися залежно від типу такої клітини або мікроорганізму, базового метаболічного шляху (аеробний або анаеробний), цільового продукту (який може бути самою клітиною або позаклітинним чи внутрішньоклітинним продуктом) і життєздатності клітин.

Датчики також мають вирішальне значення для моніторингу речовин, шкідливих для біопроцесів, таких як ендотоксини, бактерії-забруднювачі та стрес культур клітин. Значною нинішньою проблемою є розробка вбудованих датчиків, включаючи оптичні та електричні датчики, для вимірювання росту клітин, щільності клітин, життєздатності клітин, вивільнення ферментів, метаболітів поживних речовин і концентрації вторинних метаболітів. Багато з

цих аналізів виконуються за допомогою спектроскопічних методів, які вимагають спеціального обладнання та часто не інтегровані в біореактори, тому класифікуються як автономний моніторинг.

Метою нових сенсорних технологій є створення методів моніторингу, які можуть замінити спектроскопічні методи, забезпечити безперервний комплексний моніторинг, що можна виконувати дистанційно. Цей перехід до автоматичних вимірювань зменшує людські операційні помилки та ризик зараження, яке може зробити біопроект неможливим. Додатковою перевагою моделі онлайн-моніторингу є постійний потік інформації для моделей математичних коригувань, що дозволяє здійснювати більш надійний і точний контроль і автоматизоване кондиціонування параметрів біореактора.

Штучний інтелект (AI) став ключовим інструментом для контролю та моніторингу процесів у біореакторах. Завдяки прогресу в обчислювальній техніці та програмуванні тепер стало можливим створювати складні алгоритми аналізу, які використовують великі бази даних попередньо існуючої інформації або дані в реальному часі, зібрані під час моніторингу процесу. Здатності ШІ до навчання в поєднанні з його здатністю швидко реагувати на критичні зміни дозволяють точно коригувати, забезпечуючи роботу процесів в оптимальних або близьких до оптимальних умовах. Крім операційного контролю, ШІ широко використовується для розробки протоколів, оптимізації робочих процесів і кореляції великих наборів даних. Це дозволяє дослідникам та інженерам визначити умови, за яких процеси досягають максимальної продуктивності, підвищуючи загальну ефективність і продуктивність.

У секторі **біообробки** багато дослідників інтегрують штучний інтелект (ШІ) у мембранні біореактори для цілого ряду застосувань, включаючи виробництво біоводню, контроль процесів очищення стічних вод, ідентифікацію критичних факторів забруднення мембран та аналіз процесу фільтрації. Різні моделі штучного інтелекту можуть встановлювати кореляції між ключовими параметрами біопроекту, такими як температура, час, перемішування, рН, тиск, концентрація азоту, рівні CO₂, біологічна та хімічна потреба в кисні, розчинений

кисень, завислі речовини, леткі завислі речовини, загальна кількість розчинених твердих речовин, органічний вуглець і летючі органічні сполуки. Ця можливість дозволяє дослідникам отримати попереднє уявлення про потенційні оптимізовані сценарії, не вимагаючи значних витрат часу чи ресурсів.

9.4. Удосконалення оптичних сенсорів у біореакторах

Оптичні хемосенсиори, також відомі як ***оптоди***, це пристрої, які працюють завдяки взаємодії між аналітом і хімічним індикатором, вбудованим у матрицю, іммобілізовану на кінчику сенсора. Робота цих датчиків заснована на освітленні індикатора світлодіодом (LED) через оптоволокну. Зміни оптичних властивостей індикатора, таких як інтенсивність фотолюмінесценції, поглинання або відображення, реєструються фотодіодом. Ці зміни прямо корелюють з концентрацією аналіту, що дозволяє проводити точні та надійні вимірювання. Універсальність оптодів дозволяє застосовувати їх на місці в біореакторах з нержавіючої сталі, використовуючи стандартні порти, які полегшують інтеграцію з існуючими системами.

У маломасштабних контекстах, таких як пластини з глибокими лунками та колби для струшування, оптичні датчики можна застосовувати за допомогою клейових пластирів. Ця програма особливо цінна в системах з невеликим об'ємом, де місцеві датчики можуть бути неприйнятними або заважати гідродинаміці системи. Ці датчики широко використовуються для моніторингу критичних параметрів, таких як розчинений кисень, вуглекислий газ і рН, з деякими інноваціями в механізмах їх роботи. Здатність стерилізуватися гамма-випромінюванням перед використанням гарантує, що вони відповідають суворим стандартам стерильності необхідним у біопроцесах. Значні нововведення включають зменшення розміру спектрометричних датчиків до мініатюрної форми, здатної виконувати мікроскопічне сканування та вимірювання оптичної щільності. Крім того, розробка оптичних біосенсорів передбачає іммобілізацію ферментів, субстратів або бактерій у нерухомій фазі, якою може бути смола або якась наноструктура.

Ще однією сильною стороною оптичних хемосенсорів є можливість інтеграції з системами віддаленого моніторингу та промисловою автоматизацією. Із зростаючим впровадженням технологій Industry 4.0 здатність збирати й аналізувати дані в режимі реального часу є надзвичайно важливою. Оптоди можна легко підключити до сенсорних мереж і систем керування, що дозволяє безперервно контролювати й оптимізувати біотехнологічні процеси. Нові проекти вивчають перетворення смартфонів на оптичні датчики, перетворюючи повсякденний пристрій на точний вимірювальний інструмент

Звичайна оптична мікроскопія обмежена дифракційною межею світла, яка перешкоджає роздільній здатності об'єктів розміром менше 200 нанометрів. Мікроскопія з надвисокою роздільною здатністю долає це обмеження, використовуючи стратегії, які точно визначають розташування окремих флуорофорів, що дозволяє отримувати зображення з роздільною здатністю, та значно перевищує дифракційний бар'єр. Ця техніка зробила революцію в біовізуалізації, дозволяючи візуалізувати клітинні структури з надзвичайною деталізацією. У мікроскопії з високою роздільною здатністю конкретні клітинні структури позначаються флуоресцентними молекулами, і ці флуорофори активуються по одному, забезпечуючи точну локалізацію кожної молекули та створюючи зображення з набагато вищою роздільною здатністю. Інший підхід до покращення роздільної здатності передбачає модуляцію випромінювання флуорофорів, де мікроскопія зі стимульованим зменшенням випромінювання використовує лазер для придушення флуоресценції в певних регіонах, додатково підвищуючи чіткість зображення.

Мікроскопія з надвисокою роздільною здатністю має значний потенціал у біотехнології, особливо в біореакторах. Він дає змогу виявляти та аналізувати окремі клітини, відкриваючи раніше недоступні подробиці про їх внутрішню організацію, молекулярні взаємодії та динаміку. Ця технологія може сприяти моніторингу в режимі реального часу критичних біологічних процесів, таких як проліферація клітин, утворення біоплівки та виробництво метаболітів, безпосередньо в біореакторах. Крім того, це може оптимізувати умови

культивування, такі як температура, рН і концентрація поживних речовин, щоб максимізувати вихід цікавих біомолекул.

Крім того, мікроскопія з високою роздільною здатністю може спостерігати за формуванням і організацією сконструйованих тканин, підтримуючи розробку більш реалістичних моделей органів і тканин людини. Хоча методи надвисокої роздільної здатності традиційно застосовуються до внутрішньоклітинного середовища, останні дослідження зосереджені на використанні флуоресцентної мікроскопії для дослідження нанорозмірних фізико-хімічних варіацій у позаклітинному матриксі – ключовому біофізичному середовищі, яке зазнає динамічних змін під час різних фізіологічних процесів. Ця технологія пропонує новий погляд на процеси на молекулярному рівні, які важко виміряти за допомогою сучасних спектроскопічних методів.

9.5. Удосконалення електричних датчиків у біореакторах

Електрохімічні датчики відіграють вирішальну роль у моніторингу біопроцесів. Вони класифіковані на кілька категорій, таких як потенціометричні, кондуктометричні, вольтамперометричні та амперометричні. Кожен тип виконує унікальні функції: потенціометричні датчики виявляють зміни електричного потенціалу, кондуктометричні датчики вимірюють зміни провідності, вольтамперометричні датчики відстежують зміни в транспортуванні заряду за змінного потенціалу, а амперометричні датчики вимірюють транспортування заряду, зберігаючи постійний потенціал. Подібно до оптичних датчиків, вони високо цінуються за швидку реакцію, широкий діапазон вимірювань, економічну ефективність і широке застосування в різних галузях промисловості. Сучасні програми включають моніторинг рівнів рН, розчиненого кисню і кількісне визначення концентрацій глюкози та глутамату.

Удосконалення електроніки та напівпровідникових технологій сприяли розробці компактних портативних електрохімічних датчиків, які працюють ефективно з мінімальним споживанням енергії. Інновації в методах виявлення

хімічних речовин, методах біомодифікації та виробничих процесах значно підвищили чутливість, вибірковість і сумісність цих датчиків з біологічними системами. Нові моделі електричних датчиків досліджують складні додатки, включаючи аналіз динаміки клітинного росту в культуральних пластинах у реальному часі та оцінку поведінки клітинної адгезії на різних поверхнях. У цих оцінках використовуються зміни електропровідності в середовищі росту, мікрофлюїдна динаміка між взаємопов'язаними мікропланшетами та коливання електричних потенціалів, що вказують на біохімічні реакції.

Інтеграція електрохімічних датчиків у біореактори та лабораторні установки спростила моніторинг біопроцесів, запропонувавши негайні та точні вимірювання. Наприклад, датчики, призначені для моніторингу росту клітин, використовують ферментативні процеси окислення для передачі електронів від певних субстратів до електродного інтерфейсу. Ця можливість забезпечує точний моніторинг клітинного метаболізму в режимі реального часу, що має вирішальне значення для оптимізації біотехнологічних процесів. Електрохімічні датчики для вимірювання глюкози та глутамату представляють значний прогрес у моніторингу біопроцесів, що дозволяє здійснювати точний моніторинг клітинного метаболізму в реальному часі. Ці датчики використовують ферментативні процеси окислення для перенесення електронів від вимірюваного субстрату до електрода та призначені для негайного використання, легко інтегровані у колби для струшування або одноразові біореактори.

9.6. Інноваційні досягнення в застосуванні біореакторів

9.6.1. Виробництво біофармацевтичних препаратів

Враховуючи високу мінливість і складність біологічних процесів, необхідність підтримувати стерильне середовище в деяких випадках і доступність прямих вимірювань у реальному часі для керування біореакторами

наразі представляють певні проблеми. Ці проблеми призвели до розробки інноваційних рішень і виділили області, які потребують подальших досліджень і розробок. Технологія одноразового використання використовується для задоволення цих вимог. Одноразові біореактори також можуть бути використані в безперервних процесах пілотного масштабу, досягаючи в 4,6 разів більшої продуктивності ніж пакетний процес (зі зниженням витрат на 15%). Що стосується зниження витрат, то розробка біореакторів і відповідного обладнання вимагає значних інвестицій.

CFD (Computational Fluid Dynamics) можна застосовувати для моделювання та імітації роботи біореакторів, уникаючи виключної потреби в емпіричних тестах і знижуючи експлуатаційні витрати. Одноразові датчики також широко використовувалися щоб уникнути забруднення. Датчики надходять до користувача вже стерилізованими гамма-випромінюванням і можуть бути налаштовані для негайного використання.

Оцінено використання техніко-економічної моделі в SuperPro Designer. Ця модель зменшила витрати на 4–11% у порівнянні з традиційною груповою операцією для великомасштабного виробництва бутирилхолінестерази у двоступінчастому напівбезперервному біореакторі, представляючи цінний інструмент моделювання для фармацевтичного сектору рослинного виробництва та адаптовану обчислювальну систему для інших біотехнологічних процесів. Виробництво рекомбінантного білка подвоїлося при періодичному режимі живлення порівняно з напівбезперервним режимом, а питома продуктивність зросла на 35%. Вивчено неструктуровану кінетичну модель для прогнозування виробництва білка, поглинання нітратів і зростання біомаси, що дозволяє контролювати та оптимізувати процес.

9.6.2. Виробництво біопалива

Виробництво біопалива привернуло значну увагу, як стійка альтернатива викопному паливу. Вирощування мікроводоростей широко вивчається, як

виробництво біопалива третього покоління, головним чином для біодизеля. Вирощування у відкритих водоймах є дешевшим у будівництві та експлуатації, але не має контролю за забрудненням і чутливе до впливу навколишнього середовища. Фотобіореактори забезпечують кращий контроль процесу, що призводить до вищого виходу та чистоти продукту, але вони представляють вищі експлуатаційні та будівельні витрати. Розробляється багато альтернатив зниження витрат, таких як використання води аквакультури для культивування мікрободоростей у відкритих ставках, а також спільне виробництво продуктів з високою доданою вартістю у фотобіореакторах, таких як астаксанти, антиоксиданти, гормони, пігменти. Біореактивне паливо також може вироблятися на біореакторах з використанням генетично модифікованих мікроорганізмів. Використання лігноцелюлозної біомаси як джерела вуглецю для процесу бродіння вимагає попередньої обробки та послідовного оцукрювання, що збільшує експлуатаційні витрати та перешкоджає процесу масштабування. Консолідована біообробка є багатообіцяючою альтернативою, створюючи єдину систему, в якій виробництво целюлози, а також оцукрювання та ферментація можуть відбуватися одночасно.

9.6.3. Біоремедіація

Біореактори також можуть використовуватися для біоремедіації, забезпечуючи контрольоване середовище для розщеплення забруднюючих речовин мікроорганізмами.

Біоремедіація – комплекс методів очищення вод, ґрунтів і атмосфери з використанням метаболічного потенціалу біологічних об'єктів (рослин, грибів, комах, черв'яків, бактерій) або їх ферментів.

Мікроорганізми перетворюють забруднювачі на менш токсичні або екологічно чисті сполуки. Мікробну ремедіацію можна застосовувати в умовах

ex situ або in situ. Однак біоре mediaція на місці є повільним процесом, який важко оптимізувати та контролювати. Біореактори забезпечують оптимальні умови для росту мікроорганізмів і механізмів мікробної біодеградації. Деякі відходи можуть бути оброблені, такі як барвники-забруднювачі, відходи аквапоніки і навіть нафтові вуглеводні.

Зазвичай біореактори використовуються в біоре mediaції, такі як біореактор із псевдозрідженим шаром, біореактор із нерухомим шаром, біореактор із змішуваним резервуаром, біореактор із повітряним транспортуванням і біореактор із наповненим шаром. Вивчаються багатообіцяючі альтернативи, такі як мікробіореактори для очищення стічних вод від кількох процесів, зниження експлуатаційних витрат і вуглецевого сліду, покращення контролю процесу та забезпечення високопродуктивного скринінгу.

Мікробіореактори можуть включати складні структури, такі як пристрій лабораторії на чіпі, що містить мікроканали, які забезпечують контрольований потік рідини, або бути такими ж простими, як поліуретанова піна, просочена бактеріями, що харчуються маслом. Обробка відкритих просторів, таких як витоки нафти в морську воду, зазвичай виконується шляхом відновлення нафти, транспортування її до місця на суші та обробки цієї нафти фізичними та хімічними процесами. Запропонованою альтернативою є використання плаваючих бонів для локалізації розливів нафти як басейну біореактора, що дозволяє проводити біоре mediaцію на місці, зменшуючи витрати, пов'язані з транспортуванням.

9.6.4. Клітинна культура та тканинна інженерія

Тканинна інженерія об'єднує біологію, інженерію та матеріалознавство для впровадження інновацій у відновленні та зміцненні пошкоджених тканин, демонструючи потенціал трансформації регенеративної медицини шляхом лікування проблемних захворювань і травм. Біореактори мають вирішальне значення для розвитку тканинної інженерії, забезпечуючи масштабованість,

роблячи технологію більш доступною та економічно ефективною, а також забезпечуючи контрольоване середовище для росту функціональних тканин *in vitro*. Однак клітини ссавців повинні підтримувати суворі умови культивування, включаючи температуру (приблизно 37 °C), pH (7,2–7,4) і рівень кисню. Контроль навколишнього середовища має вирішальне значення для підтримки життєздатності та функціональності клітин, тому має бути забезпечена плавна циркуляція та однорідність поживних речовин і метаболітів, щоб уникнути пошкодження чутливих до зсуву клітин.

Перспективним напрямком є налаштування біореакторів для різних типів тканин. Кожен тип тканини потребує певних умов росту, і можливість налаштовувати біореактори відповідно до цих потреб є значним прогресом. Багатопрофільна співпраця між інженерами, біологами, медичними працівниками та вченими-матеріалами стимулює інновації та сприяє розробці більш складних та ефективних біореакторів. З цією метою дослідження *in silico* принесли прогрес в оптимізації механізмів, вбудованих в обладнання біореактора.

In silico – це латинська фраза, яка вживається у значенні «зроблено за допомогою комп'ютера або за допомогою комп'ютерної симуляції». Фразу стали вживати за аналогією до *in vivo* чи *in vitro*, які широко використовують у біології. Латинською мовою *in silico* нічого не означає; це штучно створена фраза.

Потенційні виробники, зацікавлені у використанні тваринних клітин, стикаються з проблемами вибору з багатьох методів підготовки клітин і конструкцій реакторів: мікроносіїв, мікрокапсул, суспендованих клітин, техніки масового культивування, порожнистих волокон, спіральних трубок, керамічних циліндрів із відділеннями, ерліфтних реакторів, резервуарів з обережним перемішуванням, реакторів з одноразовим гойданням (хвилею) перехресного потоку, тарілок з відсіками та блоків пластин.

Еукаріотичні біореактори схожі на мініатюрні лабораторії, що забезпечують контрольоване та оптимізоване середовище для культивування еукаріотичних клітин, таких як клітини тварин і рослин.

Еукаріоти – домен одно- та багатоклітинних організмів, що характеризуються переважно полігеномними клітинами, морфологічно сформованим ядром та наявністю мембранних субклітинних органел.

Вони є важливими інструментами для різноманітних галузей, від наукових досліджень до промислового виробництва ліків і біопродуктів. Однак поводження з цими біореакторами представляє кілька проблем, які можуть вплинути на їх ефективність. Серед цих проблем можна назвати наступні:

- масштабування: масштабування від лабораторних до промислових може бути складним; підтримання оптимальних умов, таких як аерація, перемішування та постачання поживних речовини, має вирішальне значення;
- стрес зсуву: еукаріотичні клітини часто більш чутливі до стресу зсуву, спричиненого хвилюванням і аерацією, що може призвести до пошкодження або загибелі клітин, впливаючи на загальну продуктивність;
- зараження: еукаріотичні культури більш схильні до зараження бактеріями, грибами або вірусами, які можуть поставити під загрозу весь біопроцес;
- постачання поживних речовин і видалення відходів: забезпечення постійного надходження поживних речовин і ефективного видалення відходів є критично важливим; дисбаланс може призвести до зниження росту та продуктивності клітин;
- перенесення кисню: еукаріотичні клітини, особливо клітини ссавців, мають високу потребу в кисні; ефективна передача кисню є важливою, але її може бути важко досягти у великих біореакторах;

- вартість: вартість обслуговування еукаріотичних біореакторів, включаючи середовища, добавки та обладнання, може бути значно вищою порівняно з прокаріотичними системами.

Ці виклики вимагають ретельного розгляду та інноваційних рішень для оптимізації продуктивності біореактора для культур еукаріотичних клітин. Спочатку біореактори для еукаріотичних клітин використовувалися для виробництва терапевтичних білків, моноклональних антитіл і досліджень клітинної біології. Однак із появою тканинної інженерії виклики посилилися, що зумовило необхідність культивування клітин у трьох вимірах для малих і середніх тканинних конструкцій і навіть цілих органів. Клітинна терапія надихнула на дослідження медичного застосування біореакторних лімфоцитів і макрофагів, отриманих з індукованих людиною плюрипотентних стовбурових клітин (iPSC), які мають потенціал для розробки клітинної терапії для багатьох захворювань. Однак, незважаючи на великий потенціал, обмеженням, яке необхідно подолати, є необхідність розширення *ex vivo* через недостатню кількість hMSC – Human Mesenchymal Stem Cells (Мезенхімальні стовбурові клітини людини), представлених у дорослих органах, і високі дози, необхідні для трансплантації.

Ex vivo означає, що події відбулися чи відбуваються в живих тканинах але поза живого організму. У науці цей термін уживають тоді, коли мають на увазі експерименти над живими тканинами (чи всередині них) у штучних умовах поза організмом.

Таким чином, в літературі можна знайти різні дослідження, які вивчають біореактори для клінічного використання мезенхімальних клітин. Однак розширення масштабів біореакторів для клітин ссавців представляє значні проблеми, які ще потрібно подолати. Складність тканин залишається однією з найбільших проблем через унікальний клітинний склад, структуру та функцію кожного типу тканини, що робить штучну реплікацію надзвичайно складною.

Хоча проблеми, пов'язані з еукаріотичними біореакторами, значні, вони також представляють унікальні можливості для інновацій та прогресу в тканинній інженерії. Останні досягнення в тканинній інженерії, що демонструють значний прогрес та інновації, включають органоїди, біодрук і використання структури природного позаклітинного матриксу для біоінженерії органу. Було збільшено культуру клітин: виробили 1 мільярд клітин у 5-денних культурах у масштабі 250 мл та 4 мільярди клітин у 4-денних культурах у масштабі 1 л, показуючи можливість друку тканин приблизно $1\text{см} \times 1\text{см} \times 0,1\text{ см}$; однак, щоб мати можливість надрукувати твердий орган, зазначено, що, згідно з іншими дослідженнями, будуть потрібні мільярди або навіть трильйони клітин.

Інша альтернатива, яка вивчається, це *перфузійні біореактори*.

Проточні (перфузійні) біореактори дозволяють здійснювати постійне оновлення поживного середовища.

Це спеціальний тип біореактора, що використовується для безперервного вирощування клітин у контрольованому середовищі. У культурі клітин перфузійна система, як правило, відноситься до біореактора, з'єднаного з CRD (Custom Resource Definition) – спеціальний ресурс в Kubernetes, який дозволяє вносити любі дані, відокремлює та утримує більшість клітин у біореакторі, поки збирається отриманий продукт. Він відрізняється від традиційних біореакторів тим, що постійно додає свіжі поживні речовини в культуру, одночасно видаляючи мертві клітини та продукти.

Більшість перфузійних біореакторів застосовують нерівномірний потік і напругу зсуву до біологічного матеріалу через геометрію камери для зразка та/або каналу потоку. Різке розширення або необертально-симетрична геометрія мають тенденцію генерувати області з нерегулярною швидкістю потоку на периферії камери для зразків; одноразові гойдальні біореактори (хвильові) широко використовуються для розробки та розширення масштабів біопроцесів *in vitro* після того, як вони подолають ці проблеми. Нещодавні публікації пропонують вірогідний напрям для розширення застосування цього варіанту в

підтримці регенеративної медицини та стратегій для безперервної біообробки та розробки систем метаболічних реакцій клітин, індукованих неприродним стресом, що зберігаються *in vitro*.

Досліджено масштабування процесів культивування клітин ссавців у різних біореакторах з перемішуванням і аерацією в діапазоні від 15 мл до 15 000 л, використовуючи обчислювальні та експериментальні методи. Основні параметри (максимальне гідродинамічне напруження, час перемішування та коефіцієнти масопередачі кисню) визначено експериментально для всіх масштабів.

Моделювання обчислювальної динаміки рідини, що об'єднує усереднені за часом рівняння руху для потоку рідини та враховує рівняння балансу розміру бульбашки, вказує на локальні та середні гідродинамічні напруги та коефіцієнти масопередачі. Цей комплексний підхід підтримує стратегії якості за проектом, полегшуючи перенесення культур клітин ссавців через реактори різної геометрії. Для контролю поведінки клітин інтеграція нановібраційних механізмів стимуляції (спочатку розроблених за допомогою комп'ютерного моделювання та перевірених за допомогою лазерної інтерферометрії) пропонує цікаву альтернативу.

Важливо зазначити, що гамма-стерилізоване одноразове пластикове обладнання відіграє вирішальну роль у зниженні виробничих витрат, збільшенні гнучкості заводу та скороченні часу обробки, забезпечуючи при цьому безпечний і відповідний нормативам продукт. Ці характеристики задовольняють потреби біофармацевтичної промисловості, і проблема вимиваних речовин розглядається протягом десятиліть.

Двома найпоширенішими речовинами для вилугування є пластифікатори та антиоксиданти, які зазвичай використовуються у виробництві полімерних матеріалів. Ці речовини можуть виділятися під час процесу стерилізації, під впливом розчинників, механічного впливу або навіть у нормальних умовах культивування, створюючи ризики для життєздатності клітин і послідовності біопродукції. Таким чином, важливо контролювати рівні

вимивних речовин та їх вплив, особливо в одноразових пристроях, які часто використовуються з пластиковими пакетами. Що стосується рослинних клітин, обговорюються різні типи біореакторів, які в даний час використовуються для виробництва якісних біомолекул, з акцентом на деякі види, які застосовано для отримання важливих метаболітів, з уявленням про тип біореактора та протоколи виробництва.

Для підтримки проектування біореакторів обчислювальне моделювання є потужним інструментом, щоб уникнути підходів проб і помилок. Обговорення включає загальні та специфічні для подразників вимоги (наприклад: перфузійні, механічні та електричні), які необхідно враховувати на етапі проектування на основі тканинної мішені. Обчислювальні моделі підтримують проектування біореакторів на основі наданого стимулу, з особливим акцентом на технології адитивного виробництва.

Основним напрямком тканинної інженерії є культивоване м'ясо. Огляд літератури висвітлює кілька досліджень, які вказують на те, що деякі біореакторні системи найкраще підходять для виробництва певного виду м'ясного продукту *in vitro* і можуть не працювати добре для виробництва м'яса інших форм або розмірів. Таким чином, у цій сфері ще потрібно досягти прогресу.

9.6.5. Виробництво харчових продуктів

SSF широко використовується у виробництві харчових продуктів, ферментованих нитчастими грибами в східних культурах. В Японії для отримання місо, сьою, саке та інших продуктів використовується коджі, специфічна грибна культура, яка виробляється з пропарених злаків. Після Другої світової війни, з модернізацією та індустріалізацією Японії, процеси отримання коджі почали розроблятися в біореакторах у більших масштабах, виготовлених з нержавіючої сталі або пластику та з аерацією типів (I) внутрішньої вентиляції, (II) поверхнева вентиляція та (III) невентильована. На ринку ферментаційного

обладнання кожді домінують біореактори з внутрішньою вентиляцією різних конфігурацій.

Окрім традиційних процесів бродіння для отримання їжі, наразі висвітлюються дослідження культивованого м'яса (також відомого як штучне м'ясо або м'ясо *in vitro*). Штучне м'ясо виробляється в процесі міогенезу *in vitro*. У порівнянні зі звичайним м'ясом, яке споживає сучасне суспільство, м'ясо, вирощене в лабораторії, має деякі переваги, такі як скорочення викидів парникових газів в атмосферу, оскільки немає необхідності утримувати великі стада, і скорочення величезної кількості тварин.

З метою підвищення темпів промислового виробництва фундаментальне значення мають дослідження з отримання культурного м'яса з використанням біореакторів різної конфігурації. На даний момент можна знайти дослідження, які повідомляють про виробництво м'яса в стендовому та пілотному масштабі з використанням реакторів STR у періодичному та безперервному режимах. Використання біореакторів STR у безперервному режимі порівняно з періодичним режимом має, як головну перевагу, більш оптимізовану швидкість росту клітин завдяки підтримці рівня поживних речовин.

Крім того, підтип реакторів безперервної дії, відомих як перфузійні реактори, заснований на зміні культурального середовища без порушення клітинного вмісту реакторів, що дозволяє досягти максимального повторного використання середовища та об'єму контейнера. Однак цей тип біореактора залежить від пристроїв утримання клітин, що забезпечують безперервну проліферацію та диференціювання клітин під час зміни середовища. Культуральні системи, засновані на рециркуляції супернатанту клітинної культури, які відрізняються від звичайної потокової фільтрації, також використовуються в контексті перфузійних реакторів.

Сепернатант – рідка фаза, що залишається після того, як нерозчинні речовини осаджуються в процесі центрифугування або осадження.

Вони призначені для досягнення утримання клітин і збільшення щільності клітин. На додаток до біореакторів STR з механічним перемішуванням, дослідження також проводилися з пневматичними біореакторами, такими як порожнисте волокно та ерліфт. Незважаючи на те, що пневматичні реактори забезпечують меншу напругу зсуву на клітинах і дозволяють відносно легко обмінюватися поживними речовинами та газами між культуральним середовищем і клітинами, вони мають недоліки обмеженої масштабованості, схильності до засмічення, обмеженої оксигенації та відносно високої вартості.

Нарешті, при проектуванні біореактора для виробництва культивованого м'яса необхідно враховувати кілька питань: біореактор може мати поверхню для прилипання клітин або здатність підтримувати зростаючі клітини, прикріплені до каркасів; установка має бути простою та використовувати безпечні та недорогі матеріали, щоб зменшити витрати на виробництво; установка повинна забезпечувати легку масштабованість, спрямовану на розробку обладнання для більших обсягів.

9.7. Майбутні перспективи: тенденції майбутнього біореакторних систем і вплив досягнень біореакторів на суспільство та промисловість

Заглядаючи вперед, еволюція біореакторних систем має глибокі наслідки як для промисловості, так і для суспільства. Очікувані тенденції вказують на все більш витончену інтеграцію датчиків і автоматизації, що відкриває еру моніторингу та контролю в реальному часі. Ці досягнення обіцяють підвищену точність і ефективність не лише у виробництві біофармацевтичних препаратів і вакцин, зміцнюючи глобальні можливості охорони здоров'я, а й для інших біотехнологічних продуктів, таких як біопаливо та продукти харчування. Крім того, інтеграція науки у виробництво готова стимулювати інновації в дизайні біореакторів із зростаючим акцентом на екологічно чисті матеріали та енергозберігаючі процеси. Поява одноразових біореакторів, розроблених для

мінімального впливу на навколишнє середовище та придатних для вторинної переробки, підкреслює перехід до більш екологічних біотехнологічних практик. Це узгоджується з ширшими суспільними вимогами щодо інноваційних технологічних рішень у промислових секторах.

Не дивлячись на вплив промисловості передбачається, що демократизація біотехнології знизить бар'єри для входу, сприяючи ширшій участі стартапів і малих підприємств. Ця демократизація сприяє створенню різноманітної екосистеми інновацій, потенційно відкриваючи нові програми та рішення, які задовольняють широкий спектр суспільних потреб.

По суті, майбутня траєкторія біореакторних систем передбачає трансформаційну роль у глобальній біотехнології, яка характеризується стійкістю, точністю та доступністю. Ці досягнення не лише обіцяють підвищити промислові можливості, але й вирішити нагальні суспільні проблеми за допомогою інноваційних біотехнологічних рішень.

Біореактори з'явилися як трансформаційні інструменти в біотехнологічному ландшафті, що дозволяє культивувати мікроорганізми та клітини для виробництва широкого спектру продуктів. Однак перехід від невеликих лабораторних установок до великомасштабного промислового виробництва створює значні проблеми, які необхідно вирішити, щоб повністю реалізувати потенціал цієї технології. Щоб подолати ці проблеми, потрібен багатогранний підхід, який поєднує автоматизацію, обчислювальне моделювання та сучасні матеріали. Системи автоматизації забезпечують точне керування декількома біореакторами, полегшуючи моніторинг і коригування в реальному часі. Інструменти обчислювального моделювання можуть симулювати умови біореактора, прогнозувати продуктивність і виявляти потенційні вузькі місця.

Сучасні матеріали відіграють вирішальну роль у підвищенні безпеки та ефективності біореактора. Долаючи розрив між дрібномасштабними дослідженнями та промисловим виробництвом, біореактори готові здійснити революцію в різних галузях промисловості. Алгоритми машинного навчання та

інноваційні конструкції крильчатки оптимізують споживання енергії та забезпечують однорідність процесу. Крім того, нові матеріали підвищують безпеку та контроль біопроцесів. Оскільки технологія біореакторів продовжує розвиватися, можливо очікувати ще більшої ефективності, стійкості та персоналізації в галузі біотехнологій, що в кінцевому підсумку призведе до проривів у здоров'ї людини, нових методів лікування та світлого майбутнього. Загалом, біореактори є необхідним обладнанням для розробки багатьох нових високоцінних продуктів, які є важливими як для початкових, так і для кінцевих етапів. Майбутнє біореакторів багатообіцяюче та повне можливостей. Постійні інновації в цій галузі дозволяють нам уявити майбутнє, де біотехнологія буде більш ефективною, стійкою та персоналізованою, приносячи користь здоров'ю людини та стимулюючи розробку нових методів та технологій.

Питання для самоконтролю

1. За яких умов з'явилися перші біореактори?
2. Що представляють у загальному плані біореактори, їх призначення?
3. Що таке біореактори для зануреного бродіння?
4. Що представляють собою біореактори для твердофазного бродіння?
5. Що представляє собою аерований біореактор STR?
6. Що таке пневматичні біореактори, їх різновидність?
7. Що таке хвильовий біореактор, принцип його роботи?
8. Які переваги мають одноразові біореактори?
9. У чому полягає конструкція мембранного біореактора?
10. Що представляють собою статичні біореактори, їх призначення?
11. Коли в біотехнологіях застосовують 3D-друк?
12. Як штучний інтелект сприяє підвищенню показників біотехнологій?
13. З якою метою в технологічному обладнанні застосовують різноманітні датчики, якими вони бувають?
14. Яку роль відіграють оптичні сенсори у біореакторах?

15. Які технологічні показники визначають за допомогою мікроскопів?
16. Яку роль відіграють біореактори в широкому різноманіттю сучасних біологічних процесів?
17. Як за допомогою сучасних біореакторів промисловість виробляє біопаливо?
18. Що означає таке поняття як біореMediaція?
19. Яку участь можуть приймати біореактори у тканинній біоінженерії?
20. В яких технологічних процесах слід очікувати застосування біореакторів у майбутньому?

Рекомендована навчальна література

1. Пирог Т.П., Антонюк М.М.,Скроцька О.І., Кігель Н.Ф. Харчова біотехнологія: підручник. К.: Видавництво Ліра-К,2016. 408 с.
2. Єгорова А.В., Капрельянц Л.В., Труфкаті Л.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Одес. нац. акад. харч. технологій. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.
3. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
4. Ростовський В. С., Колісник А. В. Система технологій харчових виробництв : навч. посібник. К. : Кондор, 2008. 256 с.
5. Stanbury P. F., Allan Whitaker, and Stephen J. Hall. Principles of fermentation technology. Elsevier, 2013.
6. Півоваров О.А., Ковальова О.С., Кошулько В.С. Інноваційний інжиніринг в окремих галузях харчового виробництва. Дніпро: ФОП Обдимко О.С., 2022. 407 с.

Розділ 10. ІННОВАЦІЙНІ ДОСЯГНЕННЯ У ЗАСТОСУВАННІ БІОРЕКТОРІВ

10.1. Окремі види біореакторів

Принцип роботи біореактора передбачає створення середовища, сприятливого для росту клітин або організмів, що культивуються. Наприклад, якщо потрібно виробити певний білок за допомогою бактерій, то необхідно буде забезпечити їх потрібними поживними речовинами, такими як глюкоза та амінокислоти. За для отримання якісного кінцевого продукту потрібно буде контролювати температуру та рН культури, щоб забезпечити оптимальний ріст бактерій.

Після того, як у біореакторі налаштовані відповідні умови, його засівають бактеріями. З часом бактерії будуть розмножуватися та виробляти білок, як цільовий продукт. При цьому вони споживатимуть поживні речовини та вироблятимуть відходи, такі як вуглекислий газ і молочна кислота. Ці відходи можуть накопичуватися в культурі та впливати на її ріст, тому їх необхідно періодично видаляти.

10.1.1. Ерліфтні біореактори

Одним із типів біореакторів, який набув популярності в останні роки, є ерліфтний біореактор. Цей тип біореакторів схожий на реактор з барботажною колоною, однак ерліфтні біореактори містять витяжну трубу. Вона може бути внутрішньою (із внутрішнім контуром) або зовнішньою (із зовнішнім контуром), але функція однакова: покращувати циркуляцію та передачу кисню. Тягова труба також вирівнює сили зсуву в біореакторі.

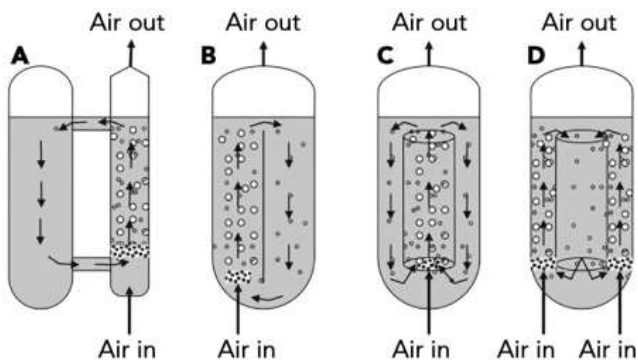


Рис. 23. Типові схеми ерліфтних реакторів з зовнішньою та внутрішньою циркуляційною трубою [26]

Ерліфт ферментер типу GQ/SQ (Китай). Ферментаційна система з повітряним перемішуванням придатна для культивування мікроорганізмів. Співвідношення діаметра та висоти резервуара ерліфтного ферментера 1:5. Ферментери такого типу мають ряд переваг: простота конструкції, відсутність бактеріального забруднення, висока ефективність розчиненого кисню, низьке споживання енергії. Широко використовується в процесі аеробної ферментації антибіотиків, амінокислот, ферментних препаратів, вітамінів, органічних кислот тощо.



Рис. 24. Ерліфт-ферментер типу GQ/SQ [27]

Характеристики ерліфт-ферментера типу GO/SQ

Загальний об'єм, л – 2, 5, 10, 40.

Робочий об'єм, % 50–70.

Бак зі скла та нержівлюючої сталі.

Співвідношення діаметра та висоти ферментера 1:5.

Контроль рН – рН 2–12.

Параметри контролю – 10 або 15-дюймовий сенсорний екран, Siemens PLC з контрольними параметрами (перемішування, рН, температура, подача та ін.), аналіз та запис отриманих даних.

Ерліфтні біореактори з внутрішніми петлями створюють внутрішні канали циркуляції рідини через один контейнер. Вони прості та мають фіксовану швидкість під час процесів бродіння. В ерліфтних біореакторах з зовнішніми петлями реакційні розчини циркулюють по окремих каналах.

Продуктивність біореактора залежить від нагнітання або введення повітря/газу та циркуляції середовища. Ерліфтні біореактори відрізняються від біореакторів із змішуваним резервуаром, оскільки їм не потрібне теплове покриття або пластина для контролю температури. Для температурозалежних утворень використовується двоступеневий ерліфтний біореактор.

Застосування повітряного біореактора:

- культивування чутливих організмів/клітин і виробництво одноклітинного білка;
- виробництва метанолу;
- очищення стічних вод;
- аеробна біообробка.

Переваги:

- надзвичайно енергоефективні, низька потреба в енергії;
- вони використовують простий дизайн;
- вони не мають рухомих частин, тому потребують менше обслуговування;
- менший ризик дефектів;

- оскільки вони не мають деталей валу мішалки, їх легше стерилізувати.

Недоліки:

- вони можуть бути дорогими в експлуатації; чим більший тиск повітря, тим більше споживається енергії;
- перемішування біореактора контролюється подачею повітря, тому потрібен більший тиск;
- під час вищого тиску потрібна більша пропускна здатність повітря;
- коли відбувається спінювання, відбувається неефективний розрив піни;
- оскільки немає лез, немає й розривника бульбашок.

10.1.2. Біореактори з бульбашковою колоною

Біореактори з бульбашковою колоною складаються з високої вертикальної колони, наповненої рідиною, яка аерується знизу для утворення бульбашок. Ці бульбашки забезпечують систему киснем, змішуванням і аерацією, сприяючи зростанню та життєдіяльності мікроорганізмів.

Конструкція біореактора з барботажною колоною досить проста, що робить його привабливим варіантом для багатьох застосувань. Посудина, яка використовується, як правило, має циліндричну форму і її розмір можна регулювати залежно від бажаного масштабу виробництва зі співвідношенням сторін 4-6.

Всередину біореактора повітря або газ додається в основу колони біореактора через перфоровані пластини, труби або мікропористі розпилювачі. Переважними є перфоровані пластини, оскільки вони покращують продуктивність барботажної колони біореактора. Додаючи в циліндр повітря або газ, він забезпечує газообмін. На швидкість потоку повітря або газу впливає змішування та перенесення кисню. Продукти виробляються методом ферментації, коли реагенти пресуються за допомогою дрібнодисперсного каталізатора.

Робота біореактора з барботажною колоною полягає в культивуванні мікроорганізмів у рідкому середовищі за допомогою бульбашок газу, що піднімаються. Процес відбувається в циліндричній посудині, відомій як бульбашкова колона, і він спирається на механізми масообміну, щоб забезпечити необхідні поживні речовини та гази мікроорганізмам для їх росту та метаболізму.

Покрокове пояснення роботи біореактора типу барботажної колони наступне:

1. *Введення мікроорганізмів:* процес починається з введення бажаних мікроорганізмів у біореактор; ці мікроорганізми можуть бути бактеріями, дріжджами, водоростями або будь-яким іншим типом клітин, придатним для запланованого біопроцесу.
2. *Розпилення газу:* газ, зазвичай повітря або суміш газів (залежно від вимог процесу), подається в біореактор у нижній частині через пристрій, який називається барботер; розпилювач випускає маленькі бульбашки в рідке середовище.
3. *Утворення бульбашок:* бульбашки газу піднімаються через рідке середовище завдяки плавучості; піднімаючись, вони створюють безперервний потік газу, що рухається до верхньої частини біореактора.
4. *Перенесення кисню:* коли бульбашки піднімаються крізь рідину, вони контактують з мікроорганізмами; однією з основних функцій бульбашок, що піднімаються, є забезпечення мікроорганізмів киснем, сприяючи аеробному метаболізму, кисень необхідний для росту та виробництва енергії аеробних мікроорганізмів.
5. *Переміщення та перемішування:* висхідний рух бульбашок газу призводить до обережного переміщення та перемішування рідкого середовища; це сприяє розподілу поживних речовин і запобігає осіданню мікроорганізмів на дні реактора. Однак важливо зазначити, що змішування в біореакторі з барботажною колоною зазвичай менш інтенсивне порівняно з біореакторами з механічним перемішуванням.

6. *Видалення вуглекислого газу*: коли бульбашки газу піднімаються крізь рідину, вони виносять вуглекислий газ та інші газоподібні побічні продукти, що утворюються під час мікробного метаболізму; таке видалення вуглекислого газу допомагає підтримувати оптимальний рівень рН у культуральному середовищі.
7. *Моніторинг і контроль*: протягом усього процесу постійно контролюються різні параметри, такі як температура, рН, рівні розчиненого кисню та концентрації поживних речовин; підтримка належних умов має вирішальне значення для оптимізації росту мікробів і утворення продукту.
8. *Збір*: після завершення бажаного періоду бродіння або росту оброблену культуру, що містить бажаний продукт або метаболіти, можна зібрати з верхньої частини біореактора з барботажною колоною.



Рис. 25. Біореактор з бульбашковою колонкою (Китай) [28]

Застосування біореактора з бульбашковою колоною:

- процеси бродіння;
- виробництво фармацевтичних та хімічних речовин;
- культивування чутливих організмів/клітин, таких як клітини рослин

Переваги:

- саморегулюючий;
- відмінне управління теплом;
- висока об'ємна продуктивність;
- хороший розподіл потоку.

Недоліки:

- менш ефективний, ніж інші типи біореакторів;
- вони не мають тягової труби;
- вони дорогі в установці;
- вони мають вищу каталітичну витрату, ніж біореактори з нерухомим шаром.

10.1.3. Біореактори безперервної дії з резервуаром з перемішуванням

Бакові біореактори безперервної дії з перемішуванням, також відомі як CSTR (Continuous Stirred Tank Reactors), є найпоширенішим типом біореактора, який найбільш широко використовується сьогодні у наукових лабораторіях і промисловості. Вони мають співвідношення сторін, як правило, 3–5. CSTR використовують каламутну статистику або хіміостатичні принципи для контролю швидкості потоку, і під тиском повітря додається до культури за допомогою барботерного пристрою.

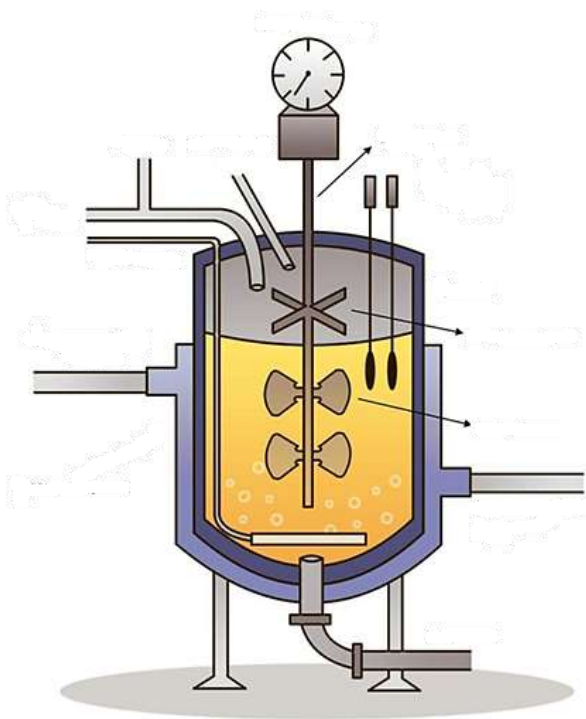


Рис. 26. Схема біореактора безперервної дії з перемішуванням [29]

Розпилювач утворює бульбашки, які потім розбиваються на менші бульбашки та рівномірно розподіляються по середовищу. Цей процес дозволяє створити однорідне середовище всередині біореактора і забезпечує реакцію біопроцесу.

Застосування біореакторів безперервного перемішування:

- очищення промислових стічних вод, багатих вуглеводнями;
- фармацевтична промисловість;
- процеси бродіння;
- біологічні процеси, наприклад культури клітин.

Переваги:

- безперервна робота робить їх ідеальними для великомасштабного виробництва біотехнологічних продуктів, де послідовність і ефективність є ключовими факторами;
- хороший контроль температури, тому вони потребують мінімального нагляду;
- процес можна легко адаптувати до двох фаз;
- легко чистити;
- забезпечують ефективний транспорт газу для росту клітин і змішування вмісту.

Недоліки:

- для них потрібні підшипники та ущільнення валу;
- можливе утворення піни;
- обмежені щодо розміру двигуна, ваги та довжини валу;
- споживають багато електроенергії через використання механічних насосів тиску.

Біореактор створює контрольоване середовище, в якому різні фактори, такі як температура, рН, вміст кисню та поживних речовин підтримуються на оптимальному рівні. Точний контроль цих параметрів оптимізує ріст, розвиток та ефективність мікроорганізмів або клітин під час виробництва бажаних продуктів. Перемішування є ключовим фактором забезпечення оптимальної гомогенізації газів та поживних речовин.

Основні компоненти біореактора:

- **камера-культиватор:** асептичний резервуар з нержавіючої сталі, в якому можуть рости та розвиватися мікроорганізми або клітини.
- **система перемішування:** рівномірне змішування поживних речовин та газів з використанням лопатей типу Раштон, що відмінно підходять для дисперсії газів у рідинах.
- **контроль температури:** підтримка оптимальної температури за допомогою систем нагріву або охолодження.

- **контроль рН:** вимірювання рН дозволяє оцінити поточний стан процесу.
- **дифузор газу:** подає кисень, необхідний для аеробних організмів, за допомогою аерації або упорскування кисню.
- **мутність:** показник каламутності дозволяє здійснювати моніторинг процесу розмноження мікроорганізмів.
- **системи живлення та вилучення:** додавання поживних речовин та вилучення продуктів і відходів контрольованим та асептичним чином, щоб уникнути можливого забруднення.
- **контроль газу:** контроль за концентрацією газу в резервуарі.

10.1.4. Біореактори з псевдозрідженим шаром

Біореактори з псевдозрідженим шаром схожі на біореактори з барботажною колоною, однак верхнє положення розширено, а колона звужена, щоб зменшити швидкість рідини. Це робиться для того, щоб тверді речовини залишалися в реакторі, тоді як рідина могла витікати.

Псевдозрідження може здійснюватися рідиною, газом або тим і іншим. Середовище тече вгору і викликає розширення пласта при високих витратах. Частинки біокатализатора повинні мати відповідний розмір і щільність. За останні кілька десятиліть спостерігалось значне збільшення застосування систем біореакторів з киплячим шаром. Вони в основному використовуються для клітин, які були іммобілізовані на твердих частинках. Такий захід дозволяє використовувати високу щільність частинок і швидкість потоку, необхідна для псевдозрідження, може бути досягнута незалежно від пропускної здатності реактора. Основними перевагами системи біореактора з псевдозрідженим шаром є чудові характеристики масо- та теплообміну, дуже добре змішування між трьома фазами, відносно низькі потреби в енергії та низькі швидкості зсуву. Все це робить реактор з псевдозрідженим шаром придатним також для клітин чутливих до зсуву (клітини ссавців і рослинні клітини). Реактори з

псевдозрідженим шаром використовуються з клітинами, адсорбованими всередині носія, виготовленого зі скла або з кераміки.

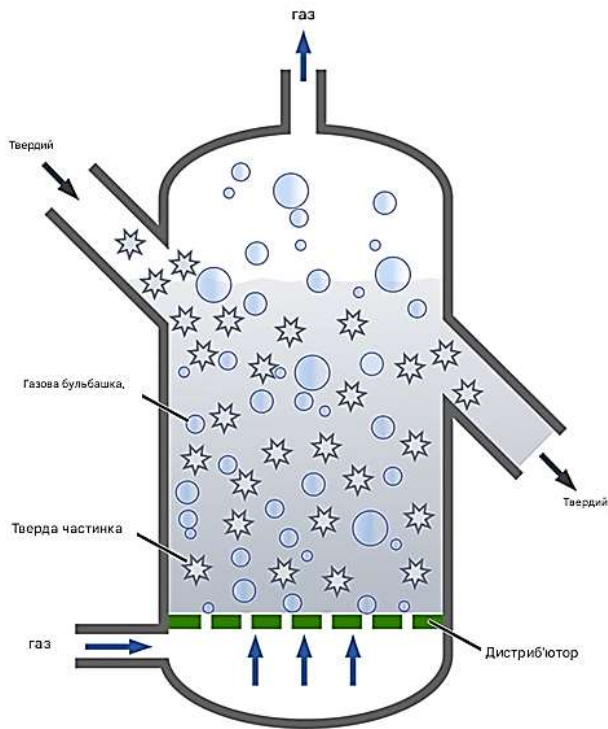


Рис. 27. Схема біореактора з псевдозрідженим шаром [30]

Біореактори з псевдозрідженим шаром газ–рідина–тверде тіло використовуються для виробництва лігнінолітичних ферментів, очищення стічних вод підприємств харчової промисловості, нафтопереробних заводів та очищення необроблених стічних вод.

10.1.5. Біореактори з упакованим шаром

Біореактори з упакованим шаром містять обмежений шар твердих частинок з біокаталізаторами. Ці тверді речовини можуть складатися з пористих

або непористих (твердих) гелів. Біокатализатор іммобілізований на твердих речовинах і середовище (живильний бульйон) постійно тече по ньому вгору або вниз. Коли рідина рухається вгору, швидкість не повинна перевищувати мінімальну швидкість псевдозрідження, тому кращим є гравітаційний низхідний потік. Продукти та метаболіти всередині біореактора диспергуються в середовищі, а під час відтоку вони видаляються.

Біокатализатори являють собою альтернативу звичайним катализаторам, надаючи ряд переваг, які включають доступність відновлюваних ресурсів, здатність до біологічного розкладання та високу селективність. Ферменти є білками і катализують широкий спектр реакцій, які застосовуються в ряді промислових процесів. Вони є надзвичайно ефективними біологічними катализаторами, мають високу селективність і можуть працювати в м'яких умовах (температура навколишнього середовища, фізіологічний pH і атмосферний тиск).

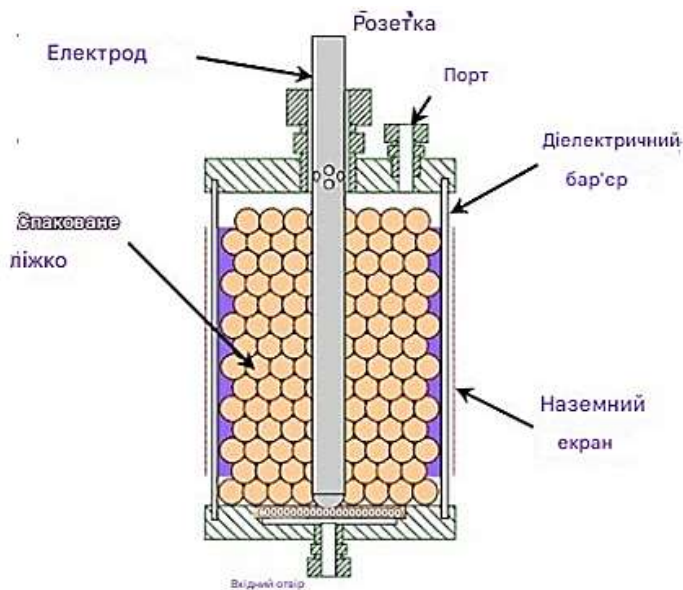


Рис. 28. Схема біореактора з упакованим шаром [31]

При використанні в органічному синтезі ферменти можуть усунути необхідність захисту та активації функціональних груп. Ферменти, як правило, розчиняються у воді і можуть уникнути використання органічних розчинників, що призводить до утворення меншої кількості відходів. Оксидоредуктази є класом ферментів, які каталізують окислювально-відновні реакції, такі як оксигенація, дегідрування, утворення окисного зв'язку та реакції переносу електронів.

Протягом останніх чотирьох десятиліть оксидоредуктази успішно поєднувалися з електрохімією в біопаливних елементах і біосенсорах. Використання оксидоредуктаз у біокатализі привернуло значну увагу в синтезі різноманітних хімічних речовин, таких як хіральні сполуки, біопаливо та аміак.

Хіральність – здатність відповідного об'єкта мати своє дзеркальне відбиття, не тотожне оригіналу. Інакше кажучи, об'єкт і його дзеркальне відбиття не можуть бути суміщені тільки обертанням і лінійним переміщенням. Відсутність симетрії правої і лівої сторони об'єкта.

У той час як біокаталізатори використовуються в реакторах періодичної дії, розробка біокаталітичних проточних реакторів викликає все більший інтерес. Оскільки це може принести значні переваги, які включають покращену масо- та теплопередачу, менші витрати та вищі продуктивності. Біокаталітичні реактори складаються з одного з двох типів реакторів, реакторів періодичної дії та проточних.

Застосування біореактора з упакованим шаром:

- іммобілізовані/конкретні біокаталізатори;
- очищення стічних вод;
- каталітичні реактори, ферментатори;
- може працювати з культурами високої щільності.

Переваги:

- низькі експлуатаційні витрати;

- можливість безперервної роботи (постійна швидкість потоку поживних речовин і кисню);
- не мають рухомих механічних частин, які зношуються;
- каталізатор залишається всередині біореактора;
- конструкція проста, тому вони ефективні при високих температурах і тиску;
- порівняно з іншими каталітичними біореакторами, біореактори з упакованим шаром мають вищу конверсію на одиницю маси;
- вони дуже універсальні, тому їх можна адаптувати до широкого спектру біологічних систем.

Недоліки:

- їх дуже важко чистити;
- небажані градієнти тепла та поганий контроль температури;
- складно замінити каталізатор.

10.1.6. Фотобіореактори

Фотобіореактори спеціально використовуються для бродіння під дією сонячного світла або штучного освітлення. Штучне освітлення є дорогим, тому що воно споживає багато електроенергії. А оскільки вони можуть вловлювати сонячну енергію, вибираються лише зовнішні фотобіореактори. Фотобіореактори використовуються для виробництва або перетворення деяких життєво важливих речовин, наприклад, зростання водоростей. Для конструкції можна використовувати скло або, що більш типово, прозорий пластик. Світлоприймальні конструкції складаються з масиву труб або плоских панелей (сонячні приймачі). Необхідно забезпечити достатнє проникнення сонячних променів. Фотобіореактори зазвичай працюють у безперервному режимі при температурі в діапазоні 25–40 °С. За допомогою відцентрових або ерліфтних насосів культуру можна циркулювати в сонячних приймачах. Дуже важливо, щоб клітини циркулювали безперервно, не осідаючи. Використовуючи

теплообмінник, трубки можна охолоджувати, аби уникнути підвищення температури. Оскільки кисень накопичується в біореакторі, більш висока концентрація кисню може пригнічувати ріст водоростей. Тому надлишкова кількість кисню виходить через депасуючий порт. Організми ростуть, а продукти виробляються протягом ночі. Фотобіореактори є потенційним інструментом для перетворення CO₂ і синтезу біопалива. При наявності сонячного світла водорості поглинають CO.

Фотобіореактори також можуть використовувати механічну мішалку або барботажний механізм для перемішування культурального середовища та пропускання повітря через середовище. Під час використання необхідно контролювати температуру та pH культурального середовища відповідно до росту мікроорганізмів. Фотобіореактор, що використовується, також має бути розроблений таким чином, аби запобігти можливому забрудненню. Конструкція, яка використовується, залежить від конкретного мікроорганізму, що культивується, а також кінцевого продукту. Існує чотири основні типи фотобіореакторів на вибір:

- відкритий ставок;
- плоский фотобіореактор;
- похилий трубчастий фотобіореактор;
- горизонтальний трубчастий фотобіореактор.

Застосування фотобіореактора:

- фармацевтична промисловість;
- виробництво біопалива;
- вирощування водоростей і ціанобактерій;
- виробництво харчових добавок;
- очищення стічних вод (відновлення);
- уловлювання вуглецю;
- аеробні та анаеробні процеси.

Переваги:

- дуже ефективні при видаленні поживних речовин;

- достатні умови змішування;
- низька вартість і проста експлуатація;
- легке обслуговування;
- інші ресурси вуглецю не потрібні;
- невеликий екологічний слід;
- не обмежені погодою і можуть працювати цілий рік;
- легко інтегрувати в очисні споруди;
- можна використовувати у великомасштабних програмах;
- можна використовувати як при високій, так і при низькій щільності.

Недоліки:

- початкова вартість дуже висока;
- складно стерилізувати.

Фотобіореактори можуть являти собою відкриті системи, такі як ставки, які покладаються на природні джерела світла та вуглекислого газу.



Рис. 29. Фотобіореактор [32]

Закриті фотобіореактори – це гнучкі системи, які можна контролювати відповідно до фізіологічних потреб культивованого організму, що забезпечує оптимальні темпи росту та рівні чистоти. Фотобіореактори зазвичай

використовуються при культивуванні біоактивних сполук для біопалива. При виробництві фармацевтичних препаратів та для інших промислових цілей.

Першим підходом до контрольованого виробництва фототрофних організмів були природні відкриті ставки або штучні ставки. Там культуральна суспензія, яка містить усі необхідні поживні речовини та вуглекислий газ, циклічно перекачується, освітлюючись сонячним світлом через поверхню рідини. Ставки з каналними шляхами все ще широко використовуються в промисловості через їх низьку експлуатаційну вартість у порівнянні з закритими фотобіореакторами. Однак вони забезпечують недостатній контроль умов реакції через їх залежність від зовнішнього світла та вуглекислого газу, а також можливого забруднення іншими мікроорганізмами. Використання відкритих технологій також призводить до втрат води через випаровування в атмосферу.

Конструкція закритих фотобіореакторів дозволяє уникнути системних втрат води та звести до мінімуму забруднення. Хоча через це закриті системи мають кращу продуктивність порівняно з відкритими системами, проте вони все ще потребують вдосконалення, аби зробити їх придатними для виробництва дешевих товарів, оскільки щільність клітин залишається низькою через кілька обмежуючих факторів.

Усі сучасні фотобіореактори намагаються балансувати між тонким шаром культуральної суспензії, оптимізованим застосуванням світла, низьким споживанням енергії накачування, капітальними витратами та мікробною чистотою. Однак ослаблення світла та збільшення потреб у вуглекислomu газі з ростом культури є двома найбільш неминучими змінами у фототрофних культурах, які серйозно обмежують продуктивність фотобіореакторів. Накопичення фотосинтетичного кисню з ростом мікроводоростей у фотобіореакторах також вважається значним обмежуючим фактором. Однак нещодавно за допомогою кінетичних моделей було показано, що рівні розчиненого кисню до 400% (при насиченні повітрям) не є пригнічуючими, коли щільність клітин є достатньо високою, аби послабити світло на пізніх стадіях культур мікроводоростей. Було випробувано багато

різних систем, але лише кілька підходів змогли працювати в промислових масштабах.

Перероблені лабораторні ферментери. Найпростішим підходом є переробка добре відомих скляних ферментерів, які є найсучаснішими у багатьох біотехнологічних дослідницьких і виробничих установах по всьому світу. Моховий реактор, наприклад, демонструє стандартну скляну посудину, яка ззовні забезпечується світлом. Існуючі головні форсунки використовуються для встановлення датчика та газообміну. Цей тип досить поширений у лабораторному масштабі, але він ніколи не був встановлений у більшому (промисловому) масштабі через обмежений розмір посудини.

Ялинковий фотобіореактор. Альтернативний підхід демонструє фотобіореактор, який має конічну геометрію і спірально прикріплену напівпрозору подвійну шлангову систему. У результаті виходить макет схожий на ялинку.



Рис. 30. Ялинковий фотобіореактор [33]

Трубчаста система складається з модулів і теоретично може бути масштабована на відкритому повітрі аж до сільськогосподарських масштабів. Спеціальне місце не має вирішального значення, як і в інших закритих системах, тому підходить будь-яка ділянка. Вибір матеріалу має запобігати біообростанню та забезпечувати високі кінцеві концентрації біомаси. Поєднання турбулентності та закритої концепції має забезпечити чисту роботу та високу робочу готовність.

Пластинчастий фотобіореактор. Інший підхід розвитку можна побачити в конструкції на основі пластикових або скляних пластин. Пластини з різним технічним дизайном монтуються для формування невеликого шару культуральної суспензії, що забезпечує оптимізоване світлопостачання. Крім того, більш проста конструкція порівняно з трубчастими реакторами дозволяє використовувати менш дорогі пластикові матеріали.



Рис. 31. Фотобіореактор із пластикових пластин [34]

В досліджуваннях використовували сукупності різних концепцій (дизайни звивистих потоків або системи з нижнім газом), представлені сукупності були реалізовані та показали хороші результати. Серед невирішених питань – стабільність матеріалу протягом тривалого часу або утворення біоплівки. Застосування в промисловому виробництві наразі обмежено масштабованістю пластинчастих систем. У квітні 2013 року у Німеччині була введена в експлуатацію будівля з вбудованим фасадом фотобіореактора зі скляної пластини.

10.2. Компактне технологічне обладнання для бродіння та дозрівання пива

Команда Czech brewery system ltd. є чеським виробником та дистриб'ютором обладнання, призначеного для професійного виробництва пива, вина чи напоїв cider. В останні роки ця компанія розробила і впровадила у виробництво спеціальні ферментаційні установки, на які слід звернути увагу.

FUIC - Ферментаційна установка з вбудованим охолоджувачем. Це компактна система, що включає все обладнання, необхідне для контрольованого бродіння та дозрівання пива (або сидру, вина та подібних алкогольних напоїв), для вимірювання температури та контролю температури в резервуарах, а також для охолодження або нагрівання напою. Частиною цього продукту є один або кілька компактних охолоджувачів води або гліколю, які розміщені на спеціальному каркасі разом з резервуарами.

FUEC - Блок для бродіння із зовнішнім охолоджувачем. Це компактна система, яка включає все обладнання, необхідне для бродіння та дозрівання пива (і сидру, вина або подібних алкогольних напоїв), для вимірювання та контролю температури, а також для охолодження та нагрівання напою. Частиною цього

устаткування є один або декілька компактних охолоджувачів води / гліколю, які розміщені поруч з рамою з резервуарами.

Установки FUIC / FUEC у порівнянні з класичною концепцією бродіння та дозрівання має багато переваг:

- **Негайний запуск.** Швидкий запуск повністю обладнаної системи для бродіння та дозрівання алкогольних напоїв – без додаткової електроустановки, без будь-яких кондуктованих розподілів та без будь-яких конструктивних змін на об'єкті. Кабель живлення блоку FUIC/FUEC просто підключається до настінної електричної розетки і система готова до негайного використання.

- **Незалежність.** Кожна ферментаційна установка незалежна від центральної системи охолодження. У тому випадку, якщо один кулер випаде з місця, всі інші резервуари все ще працюватимуть без будь-яких перерв.

- **Мобільність.** У разі потреби можна перенести весь блок бродіння в інше місце без відключення та повторної установки системи охолодження. Все це корисно у разі очищення кімнати або переконфігурування пивоварні.

- **Мінімізація збитків.** Виправити дефект охолоджувача можна легко і негайно, просто замінивши охолоджувач на інший, тоді як дефектний охолоджувач підлягатиме ремонту. Це реалізується без будь-яких перерв процесу бродіння в резервуарі та без будь-яких втрат продукту.

- **Просте підключення.** Кожен блок з'єднаний з пивоварнею, пивними баками, наповнювачами тощо. Легко та швидко встановлюються харчові труби. Не потрібно підключати кожен резервуар за допомогою фіксованої системи охолоджувальних труб.

- **Компактність.** Ферментаційні агрегати сумісні та корисні на всіх пивоварнях, у виноробнях, при виробництві сидрів, незалежно від базових технологій та їх виробників.

10.2.1. Типи компактних озерно-дозрівальних одиниць пива

Бродильні установки FUIC 1 (рис. 32).



Рис. 32. Бродильні установки FUIC 1 [35]

Ферментаційна установка включає один циліндрично-конічний резервуар із необхідним обсягом та вбудованим охолоджувачем, який забезпечує охолодження суслу або охолодження ферментованого пива / сидру за температури, необхідної технологу.

Бродильні установки FUIC 2 (рис. 33). Кожен блок ферментації включає в себе два циліндрично-конічні резервуари з необхідним об'ємом та інтегрованим охолоджувачем, що забезпечує охолодження суслу або охолодження ферментованого пива/сидру.



Рис. 33. Бродильні установки FUIC 2 [35]

Бродильні установки FUIC 3 (рис. 34). Кожен блок ферментації включає в себе три циліндрично-конічних цистерни з необхідним об'ємом та інтегрованим охолоджувачем, що забезпечує охолодження сусла або охолодження ферментованого пива / сидру до заданої температури.



Рис. 34. Бродильні установки FUIC 3 [35]

Бродильні установки FUIC 4 (рис. 35). Кожен блок ферментації включає в себе чотири циліндрично-конічні резервуари з необхідним об'ємом та інтегрованим охолоджувачем, що забезпечує охолодження сусла або охолодження ферментованого пива/сидру до заданої температури.



Рис. 35. Бродильні установки FUIC 4 [35]

Для резервуарів з об'ємом 1000 л виготовлено блоки FUIC як компактну систему "все в одному" на загальній рамі, яка обладнана опорою з регульованою висотою або колесами. Для резервуарів об'ємом більше, ніж 1000 л, блоки FUIC виготовляються з відокремлених резервуарів, системи охолодження та регулятора температури, яка розміщується в компактному блоці.

Питання для самоконтролю

1. Які конструктивні особливості закладено у разі проектування ерліфтних біореакторів?
2. На якому принципі працюють біореактори з бульбашковою колоною?
3. Якими перевагами і недоліками володіють біореактори з бульбашковою колоною?

4. Які особливості мають бакові біореактори безперервної дії з перемішуванням?
5. За яких умов досягається оптимальна гомогенізація газів та поживних речовин у біореакторах з перемішуванням?
6. З яких основних елементів складаються біореактори?
7. Якими особливостями володіють біореактори з псевдозрідженим шаром?
8. Як конструктивно виглядають біореактори з упакованим шаром?
9. У чому полягає конструкція каталітичного біореактора?
10. За яким принципом працюють фотобіореактори?
11. Що краще застосовувати відкриті або закриті фотобіореактори?
12. Якими особливостями володіють пластинчасті фотобіореактори?
13. З яких основних елементів складається компактне технологічне обладнання для бродіння та дозрівання пива?
14. У чому полягає різниця між ферментаційними установками з вбудованим і зовнішнім охолоджувачами?

Рекомендована навчальна література

1. Ковалевський К.А., Валько М.І., Мамай О.І. Інноваційні технології виноробства. Бродильні апарати і установки: навчальний посібник. Херсон: ХНТУ, 2018. 148 с.
2. Іванов С. В., Домарецький В. А., Куц А. М., Коренькова Г. М., Білько М. В. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник. Нац. ун-т харч. технологій. Київ : НУХТ, 2012. 487 с.
3. Валуйко Г.Г., Домарецький В.А., Загоруйко В.О. Технологія вина. К.: Центр навчальної літератури, 2021. 592 с.
4. Технологічні комплекси харчових виробництв : навчальний посібник / В. І. Теличкун, О. М. Гавва, Ю. С. Теличкун, О. О. Губеня, М. Г. Десик, О. М. Чепелюк. Київ : Видавництво «Сталь», 2017. 456 с.

5. Технологічне обладнання харчових виробництв : навч. посібник / В. І. Теличкун, Ю. С. Теличкун, О. О. Губеня, С. В. Стефанов, С. Т. Дамянова. Київ : Сталь, 2023. 634 с.
6. Білько М. В., Гречко Н. Я., Куц А. М., Бабич І. М. Технологія вина: задачі і приклади : навч. посіб. М-во освіти і науки України, Нац. ун-т харч. технол. Київ : НУХТ, 2017. 290 с.
7. Bamforth C. W. Beer: tap into the art and science of brewing. Oxford University Press, 2023.
8. Garavaglia C., Swinnen J. Economic perspectives on craft beer: A revolution in the global beer industry. Springer, 2017.
9. Ough Cornelius S. Winemaking basics. CRC Press, 2018.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Технології бродіння наочно демонструють особливості ферментативних процесів в харчових виробництвах, багатогранність ферментованих продуктів з унікальними властивостями і витонченими технологіями та обладнанням. Нові знання пов'язані, як правило, з останніми досягненнями у галузі мікробіології, у тому числі у справі захисту навколишнього середовища та зменшення парникового ефекту. Якщо наблизити по максимуму бродильні технології у екологічну сферу, можна досягти неабияких висот у збереженні оточуючого середовища, водоймищ і земель сільськогосподарського і промислового призначення. З іншого боку виробництво ферментованих продуктів дає змогу наповнити ринок здебільшого якісними їстівними виробами, у тому числі з властивостями, на які розраховують великі версти споживачів, що мають вади зі здоров'ям.

Слід відмітити, що ферментативні процеси сьогодні знаходяться на вищому піку досліджень і кожного разу відкриваються все нові результати, завдяки яким створюються нові продукти харчування з відмінною якістю і властивостями. Завдяки широкому колу наукових досліджень йде наповнення інформацією про кінетику процесів, а це сприяє моделюванню та побудові нових типів біореакторів зі збільшеною потужністю виробництва ферментованих продуктів споживання. За таких умов складається високий рівень виробництва з екологічним забезпеченням, культурою обслуговування і залученням найсучаснішого технологічного обладнання, що має високий ступінь автоматизації і контролю. Система перетворення біомаси на біо- H_2 виробляє менше CO_2 , ніж перетворення викопного палива на H_2 . Процес перетворення біомаси необхідно модифікувати та покращити у широких масштабах, щоб зробити його ефективнішим і дозволити збільшити генерацію, особливо в галузі біопалива.

Наукове співтовариство запропонувало біоекономіку H_2 для вирішення поточної глобальної енергетичної кризи. За допомогою комплексних методів біо- H_2 можна переробляти відходи біомаси з подвійними перевагами, такими як утилізація відходів і виробництво чистої енергії. Біологічні технології оцінюються на основі їх ефективності в плануванні процесів, використанні ресурсів і викидах вуглецю для визначення їх економічної життєздатності та екологічної стійкості

Запропонований навчальний посібник, безумовно, не надає відповіді на всі питання, які хвилюють студентів, аспірантів, працівників наукових і виробничих підрозділів, але він здатен дати поштовх до інженерного мислення у сфері проектування і побудови бродильного та іншого харчового виробництва. Саме таку мету закладено в представленому матеріалі. Особливо це стосується студентів, які вперше здобувають нові знання саме у харчовій галузі. Навчальний посібник знайомить їх з широким колом харчових виробництв, з яких можна виділити найбільш перспективні й розвинуті і при бажанні наслідувати їх досвід. Особливу увагу приділено різноманітним типам біореакторів і їх технологічному призначенню. Тож викладений матеріал зможе бути корисним широкому колу фахівців, які мають на меті вдосконалити виробництво та розширити спектр своїх знань в напрямку інноваційної харчової інженерії.

ВИКОРИСТАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Замість рослини і для комбучі: як вирощувати чайний гриб. URL: <https://www.rbc.ua/rus/stylr/zamist-roslini-i-kombuchi-k-viroshchuvati-1730403081.html> (дата звернення: 25.01.2025).
2. Saccharomyces Cerevisiae. URL: <https://sciencephotogallery.com/featured/4-saccharomyces-cerevisiae-yeast-kateryna-konscience-photo-library.html> (дата звернення: 25.01.2025).
3. Pichia. URL: <https://uk.wikipedia.org/wiki/Pichia> (дата звернення: 25.01.2025).
4. Stainless steel jacketed unitanks. URL: <https://www.craftmasterstainless.com/unitanks> (дата звернення: 26.01.2025).
5. Advancements in Beer Brewing: Exploring the Latest Innovations and Technologies. URL: <https://thebeerstore.co.za/advancements-in-beer-brewing-exploring-the-latest-innovations-and-technologies/> (дата звернення: 26.01.2025).
6. Виробництво віскі. URL: <https://razliv.com.ua/vyrobnnytstvo-viski> (дата звернення: 27.01.2025).
7. Vodka Prices Guide in 2023 – 20 Most Popular Vodka Brands in US - Wine and Liquor Prices. URL: <https://www.pinterest.com/pin/20-most-popular-vodka-brands-in-us-vodka-prices-guide-2024--381257924716008464/> (дата звернення: 27.01.2025).
8. Сорти рому. URL: <https://winefood.ua/ua/blog/interesno-znat/sorta-roma/> (дата звернення: 27.01.2025).
9. Види джину. URL: <https://games.goodserv.org.ua/gin-types-028/> (дата звернення: 28.01.2025).
10. 29 Popular Tequila Brands, Taste Tested And Ranked. URL: <https://www.tastingtable.com/750191/store-bought-tequila-brands-ranked-worst-to-best/> (дата звернення: 28.01.2025).
11. 10 Best Mezcal to Lift Your Spirits. URL: <https://manofmany.com/lifestyle/drinks/best-mezcal> (дата звернення: 28.01.2025).
12. Brandy Prices Guide 2023 – 11 Most Popular Brandy Brands in US. URL: <https://www.bottledprices.com/brandy-prices/> (дата звернення: 28.01.2025).
13. The Quick Guide to Great Cognac. URL: <https://media.winefolly.com/top-cognac-brands-to-know-winefolly.jpg> (дата звернення: 28.01.2025).
14. 10 best armagnacs to replace your favourite cognac. URL: <https://www.independent.co.uk/extras/indybest/food-drink/spirits/best-armagnac-brandy-a9465731.html> (дата звернення: 28.01.2025).
15. 8 Best Calvados Brandy Crammed With Normandy Apples. URL: https://www.reddit.com/r/drinksgeek/comments/u4x72b/8_best_calvados_brandies_crammed_with_normandy/?rdt=48513 (дата звернення: 29.01.2025).

16. Tasting Notes: Pisco. URL: <https://www.saveur.com/article/wine-and-drink/tasting-notes-pisco/> (дата звернення: 29.01.2025).
17. Aquavit. URL: <https://glossary.wein.plus/aquavit> (дата звернення: 29.01.2025).
18. Top 10 Best Mead Brands. URL: <https://drinksgeek.com/top-10-best-mead-brands/> (дата звернення: 30.01.2025).
19. Оцети. URL: <https://nuts.org.ua/c/bakaleya-2/uksusy/> (дата звернення: 30.01.2025).
20. Яблучний оцет. URL: <https://organiclive.com.ua/ua/product/4925> (дата звернення: 30.01.2025).
21. Оцет Руна Елітний натуральний яблучний. URL: <https://maudau.com.ua/product/otset-runaelitnyi-naturalnyi-yabluchnyi-6-500-ml> (дата звернення: 30.01.2025).
22. Квас. URL: <https://epicentrk.ua/ua/shop/sladkaya-voda/fs/vid-kvas/> (дата звернення: 30.01.2025).
23. Всегда неожиданный вкус. Что такое комбуча и в чем ее популярность и польза. URL: <https://nv.ua/food/eat/kombucha-hto-eto-takoe-i-pochemu-etot-napitok-tak-populyaren-sredi-molodezhi-kakaya-polza-ili-vred-50403109.html> (дата звернення: 31.01.2025).
24. Albuquerque, M.M.; Sartor, G.d.B.; Martinez-Burgos, W.J.; Scapini, T.; Edwiges, T.; Socol, C.R.; Medeiros, A.B.P. Biohydrogen Produced via Dark Fermentation: A Review. Methane 2024, 3, 500-532. DOI: <https://doi.org/10.3390/methane3030029>
25. Slivac, I., Srček, V. G., Radošević, K., Kmetič, I., & Kniewald, Z. (2006). Aujeszky's disease virus production in disposable bioreactor. Journal of biosciences, 31, 363-368. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02704109>
26. What Are Bioreactors? URL: <https://atlas-scientific.com/blog/types-of-bioreactors/> (дата звернення: 31.01.2025).
27. Ерліфт-ферментер типу GQ/SQ. URL: <https://fermentorchina.com/products/airlift-fermenter/> (дата звернення: 31.01.2025).
28. McClure, D. D., Zheng, Z., Hu, G., & Kavanagh, J. M. (2020). Towards in situ product recovery for bubble column bioreactors. Chemical Engineering Journal, 393, 124745. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124745>
29. Bioreactor. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Bioreactor#/media/File:Bioreactor_principle.svg (дата звернення: 01.02.2025).
30. File: Fluidized Bed Reactor Graphic. From Wikimedia Commons, the free media repository. URL: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Fluidized_Bed_Reactor_Graphic.svg (дата звернення: 01.02.2025).
31. Jakobsen H. (2009). Packed Bed Reactors. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-540-68622-4_11

32. Varicon Aqua - Algal Photobioreactors. URL: <https://freshbydesign.com.au/aquaponic-aquaculture-products/algae-systems/varicon-aqua-algal-photobioreactors-2/> (дата звернення: 01.02.2025).
33. File:20120927. Tannenbaumreaktor.jpg. From Wikimedia Commons, the free media repository. URL: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/f4/20120927_Tannenbaumreaktor.jpg (дата звернення: 01.02.2025).
34. Photobioreactor. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Photobioreactor#/media/File:Photobioreactor_PBR_500_P_IGV_Biotech.jpg (дата звернення: 01.02.2025).
35. FUIC, FUEC - Компактні установки для бродіння-визрівання пива. URL: <http://www.beertanks.eu/uk/offer/tank-sets/fuic-fuec/> (дата звернення: 01.02.2025).
36. Пивоваріння. Терміни та визначення понять. На заміну ДСТУ 3139-95; Чинний від 2015-11-01. Київ: УкрНДНЦ, 2015. III, 27 с. (Національний стандарт України). Бібліогр.: 26 с.
37. Bamforth C. W. Beer: tap into the art and science of brewing. Oxford University Press, 2023. URL: <https://surl.li/tpowgl>
38. Garavaglia C., Swinnen J. Economic perspectives on craft beer: A revolution in the global beer industry. Springer, 2017. URL: <https://surl.li/fdopyu>
39. Гуменюк О.Л. Технологія бродильних виробництв: тексти лекцій для студентів спеціальності 181 «Харчові технології» заочної форми навчання. Чернівці: НУЧП, 2020. 143 с.
40. Єгорова А.В., Капрельянц Л.В., Труфкаті Л.В. Мікробіологія галузі. Мікробіологія бродильних виробництв : навч. посіб. Одес. нац. акад. харч. технологій. Херсон : ОЛДІ-ПЛЮС, 2018. 136 с.
41. Пирог Т.П., Антонюк М.М.,Скороцька О.І., Кігель Н.Ф. Харчова біотехнологія: підручник. К.: Видавництво Ліра-К, 2016. 408 с.
42. Ковалевський К.А., Валько М.І., Мамай О.І. Інноваційні технології виноробства. Бродильні апарати і установки: навчальний посібник. Херсон: ХНТУ, 2018. 148 с.
43. Ough, C. S. (2018). Winemaking basics. CRC Press. URL: <https://surl.li/jzrxfb>
44. Валушко Г.Г., Домарецький В.А., Загоруйко В.О. Технологія вина. К.: Центр навчальної літератури, 2021. 592 с.
45. Інноваційні технології продуктів бродіння і виноробства: підручник / С.В.Іванов, В.А. Домарецький, В.Л. Прибильський [та ін.] // За заг. ред. д-ра хім. наук, проф. С.В. Іванова. К.: НУХТ, 2012. 487 с.
46. Технологічні комплекси харчових виробництв : навчальний посібник / В. І. Теличкун, О. М. Гавва, Ю. С. Теличкун, О. О. Губеня, М. Г. Десик, О. М. Чепелюк. Київ : Видавництво «Сталь», 2017. 456 с. <https://dspace.nuft.edu.ua/handle/123456789/27725>

47. Mishra, S. S., Ray, R. C., Panda, S. K., & Montet, D. (2017). Technological innovations in processing of fermented foods an overview. *Fermented Foods, Part II*, 21-45. <https://surl.li/vqojhh>
48. Mallu, M. R., Golamari, S. R., Kotikalapudi, S. R. C. K., & Vemparala, R. (2021). Overview of bacterial and yeast systems for protein expression. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(32A), 113-118. DOI: <https://doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i32A31722>
49. Sahu, L., & Panda, S. K. (2018). Innovative technologies and implications in fermented food and beverage industries: an overview. *Innovations in technologies for fermented food and beverage industries*, 1-23. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-74820-7_1
50. Terefe, N. S. (2022). Recent developments in fermentation technology: toward the next revolution in food production. *Food engineering innovations across the food supply chain*, 89-106. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821292-9.00026-1>
51. Siddiqui, S. A., Erol, Z., Rugji, J., Taşçı, F., Kahraman, H. A., Toppi, V., ... & Castro-Muñoz, R. (2023). An overview of fermentation in the food industry-looking back from a new perspective. *Bioresources and Bioprocessing*, 10(1), 85. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40643-023-00702-y>
52. Galimberti, A., Bruno, A., Agostinetti, G., Casiraghi, M., Guzzetti, L., & Labra, M. (2021). Fermented food products in the era of globalization: Tradition meets biotechnology innovations. *Current Opinion in Biotechnology*, 70, 36-41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.10.006>
53. Mannaa, M., Han, G., Seo, Y. S., & Park, I. (2021). Evolution of food fermentation processes and the use of multi-omics in deciphering the roles of the microbiota. *Foods*, 10(11), 2861. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10112861>
54. Soccol, C. R., Da Costa, E. S. F., Letti, L. A. J., Karp, S. G., Woiciechowski, A. L., & de Souza Vandenberghe, L. P. (2017). Recent developments and innovations in solid state fermentation. *Biotechnology Research and Innovation*, 1(1), 52-71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biori.2017.01.002>
55. Augustin, M. A., Hartley, C. J., Maloney, G., & Tyndall, S. (2023). Innovation in precision fermentation for food ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(18), 6218–6238. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2166014>
56. Xiang, H., Sun-Waterhouse, D., Waterhouse, G. I., Cui, C., & Ruan, Z. (2019). Fermentation-enabled wellness foods: A fresh perspective. *Food Science and Human Wellness*, 8(3), 203-243. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.08.003>
57. Voidarou, C., Antoniadou, M., Rozos, G., Tzora, A., Skoufos, I., Varzakas, T., ... & Bezirtzoglou, E. (2020). Fermentative foods: Microbiology, biochemistry, potential human health benefits and public health issues. *Foods*, 10(1), 69. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10010069>

58. Dank, A., van Mastrigt, O., Yang, Z., Dinesh, V. M., Lillevang, S. K., Weij, C., & Smid, E. J. (2021). The cross-over fermentation concept and its application in a novel food product: The dairy miso case study. *LWT*, 142, 111041. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111041>
59. Li, Q., Yu, S., Han, J., Wu, J., You, L., Shi, X., & Wang, S. (2022). Synergistic antibacterial activity and mechanism of action of nisin/carvacrol combination against *Staphylococcus aureus* and their application in the infecting pasteurized milk. *Food Chemistry*, 380, 132009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.132009>
60. Soltani, S., Hammami, R., Cotter, P. D., Rebuffat, S., Said, L. B., Gaudreau, H., ... & Fliss, I. (2021). Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. *FEMS microbiology reviews*, 45(1), fuaa039. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa039>
61. Solis-Balandra, M. A., & Sanchez-Salas, J. L. (2024). Classification and multi-functional use of bacteriocins in health, biotechnology, and food industry. *Antibiotics*, 13(7), 666. DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics13070666>
62. Cheruvari, A., & Kammara, R. (2024). Bacteriocins future perspectives: substitutes to antibiotics. *Food Control*, 110834. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110834>
63. Darbandi, A., Asadi, A., Mahdizadeh Ari, M., Ohadi, E., Talebi, M., Halaj Zadeh, M., ... & Kakanj, M. (2022). Bacteriocins: properties and potential use as antimicrobials. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(1), e24093. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcla.24093>
64. Мелетьєв А.С., Тодосійчук С.Р., Кошова В.М. Технохімічний контроль виробництва солоду, пива і безалкогольних. Вінниця: Нова Книга, 2007. 392 с.
65. Романова, З. М., Березка, Т. О., Негрей, О. В., Короткий, А. А., & Плахотна, Ю. М. (2016). Препарати танінів для підвищення стійкості пива. Вісник Національного технічного університету Харківський політехнічний інститут. Серія: Інноваційні дослідження у наукових роботах студентів, (19), 63-69.
66. Харандюк, Т. В., Косів, Р. Б., Березовська, Н. І., & Паляниця, Л. Я. (2018). Вплив температури на зброджування високогустинного суслу. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького. Серія: Харчові технології, (20, № 85), 51-55. DOI: <https://doi.org/10.15421/nvlvet8510>
67. ДСТУ 3888: 2015 Пиво. Загальні технічні умови. [Чинний від 2015-11-01]. Київ: Держспоживстандарт України, 2015. 16 с. (Національний стандарт України).
68. Barbagallo, R. N., Rutigliano, C. A., Rizzo, V., & Muratore, G. (2024). Innovative trends and strategies for the integral valorization of products in the beer supply chain. *Italian Journal of Food Science*, 36(3), 20. DOI: <https://doi.org/10.15586/ijfs.v36i3.2542>

69. Carvalho, G., Leite, A. C., Leal, R., & Pereira, R. (2023). The role of emergent processing technologies in beer production. *Beverages*, 9(1), 7. DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages9010007>
70. Bajerski, M., Klimczak, K., & Cioch-Skoneczny, M. (2021). Application of the oak wood chips in brewing®. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, (1), 124-129.
71. Rachwał, K., Waśko, A., Gustaw, K., & Polak-Berecka, M. (2020). Utilization of brewery wastes in food industry. *PeerJ*, 8, e9427. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.9427>
72. Archana, G., Gaurav, S., Shruti, M., Sarita, M., Anuradha, S., & Kumar, D. M. (2024). Beer production by fermentation process: a review. *Journal of Microbiology, Biotechnology & Food Sciences*, 13(4). DOI: <https://doi.org/10.55251/jmbfs.9532>
73. Raihofer, L., Zarnow, M., Gastl, M., & Hutzler, M. (2022). A short history of beer brewing: Alcoholic fermentation and yeast technology over time. *EMBO reports*, 23(12), e56355. DOI: <https://doi.org/10.15252/embr.202256355>
74. Iorizzo, M., Coppola, F., Letizia, F., Testa, B., & Sorrentino, E. (2021). Role of yeasts in the brewing process: Tradition and innovation. *Processes*, 9(5), 839. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr9050839>
75. Hager, A. S., Taylor, J. P., Waters, D. M., & Arendt, E. K. (2014). Gluten free beer—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 36(1), 44-54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.01.001>
76. Cela, N., Galgano, F., Di Cairano, M., Condelli, N., Scarpa, T., Marconi, O., ... & Perretti, G. (2023). Development of gluten-free craft beer: Impact of brewing process on quality attributes and consumer expectations for sensory properties. *Journal of Food Science*, 88(12), 5203-5215. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16786>
77. Cela, N., Condelli, N., Caruso, M. C., Perretti, G., Di Cairano, M., Tolve, R., & Galgano, F. (2020). Gluten-free brewing: Issues and perspectives. *Fermentation*, 6(2), 53. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation6020053>
78. Yang, D., & Gao, X. (2022). Progress of the use of alternatives to malt in the production of gluten-free beer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(10), 2820-2835. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1859458>
79. Tasić, S., Janjić, A., & Đorđević, S. (2023). Testing the possibility of production of organic gluten-free light kraft ipa beer from integral cereals and pseudocereals. *KNOWLEDGE-International Journal*, 60(3), 403-408. URL: <https://ikm.mk/ojs/index.php/kij/article/view/6279>
80. Хміль у світі крафтового пива та його основні характеристики. URL: <https://homebeer.com.ua/khmlil-u-sviti-kraftovoho-pyva> (дата звернення: 31.01.2025).

81. Гуменюк О.Л. Технологія бродильних виробництв: тексти лекцій для студентів спеціальності 181 «Харчові технології» заочної форми навчання. Чернігів: НУЧП, 2020. 143 с.
82. Національний стандарт України. ДСТУ 4806:2007 Вина. Загальні технічні умови. Зі Зміною № 1 та Поправкою. Київ ДЕРЖСПОЖИВСТАНДАРТ УКРАЇНИ, 2009.
83. Нікончук Н. В. Технологія переробки винограду: курс лекцій. Миколаїв : МНАУ, 2014. 58 с.
84. Лапицька, Н., & Бережнюк, К. (2022). Аналіз ринку плодово-ягідних вин та активаторів бродіння. *Biota. Human. Technology*, (3), 87-99. DOI: <https://doi.org/10.58407/bht.3.22.8>
85. Perestrelo, R., Silva, C., Gonçalves, C., Castillo, M., & Câmara, J. S. (2020). An approach of the madeira wine chemistry. *Beverages*, 6(1), 12. DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages6010012>
86. Sahu, L., & Panda, S. K. (2018). Innovative technologies and implications in fermented food and beverage industries: an overview. *Innovations in technologies for fermented food and beverage industries*, 1-23. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-74820-7_1
87. Cosme, F., Nunes, F. M., & Filipe-Ribeiro, L. (2024). Winemaking: Advanced Technology and Flavor Research. *Foods*, 13(12), 1937. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods13121937>
88. Giovenzana, V., Baroffio, S., Beghi, R., Casson, A., Pampuri, A., Tugnolo, A., ... & Guidetti, R. (2021). Technological innovation in the winery addressing oenology 4.0: Testing of an automated system for the alcoholic fermentation management. *Journal of Agricultural Engineering*, 52(4). DOI: <https://doi.org/10.4081/jae.2021.1213>
89. Cravero, M. C. (2023). Innovations in Sparkling Wine Production: A Review on the Sensory Aspects and the Consumer's Point of View. *Beverages*, 9(3), 80. DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages9030080>
90. Berbegal, C., Polo, L., García-Esparza, M. J., Álvarez, I., Zamora, F., Ferrer, S., & Pardo, I. (2022). Influence of the dry yeast preparation method on final sparkling wine characteristics. *Fermentation*, 8(7), 313. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation8070313>
91. Călugăr, A., Coldea, T. E., Pop, C. R., Pop, T. I., Babeș, A. C., Bunea, C. I., ... & Gal, E. (2020). Evaluation of volatile compounds during ageing with oak chips and oak barrel of Muscat Ottonel wine. *Processes*, 8(8), 1000. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr8081000>
92. Stegăruș, D. I., Călugăr, A., Tanase, C., Muscă, A., Botoran, O. R., Manolache, M., ... & Coldea, T. E. (2021). Influence of oak chips and oak barrel ageing on volatile profile in Chardonnay wine of Romania. *Applied Sciences*, 11(8), 3691. DOI: <https://doi.org/10.3390/app11083691>
93. Tarko, T., Krankowski, F., & Duda-Chodak, A. (2023). The impact of compounds extracted from wood on the quality of alcoholic beverages. *Molecules*, 28(2), 620. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28020620>

94. Black, K., & Walker, G. (2023). Yeast fermentation for production of neutral distilled spirits. *Applied Sciences*, 13(8), 4927. DOI: <https://doi.org/10.3390/app13084927>
95. Marhunova, E. M., Kulakovskaya, V. I., & Simonenko, S. V. (2022). Natural fermentation beverages on grain raw materials: innovations, technologies, solutions. DOI: <https://doi.org/10.52653>
96. Ogbo A. Innovation and modern techniques of alcoholic beverage production. *J Food Microbiol Saf Hyg*. 2023. 8:258.
97. Black, K., & Walker, G. (2023). Yeast fermentation for production of neutral distilled spirits. *Applied Sciences*, 13(8), 4927. DOI: <https://doi.org/10.3390/app13084927>
98. Stanzer, D., Hanousek Čiča, K., Blesić, M., Smajić Murtić, M., Mrvčić, J., & Spaho, N. (2023). Alcoholic fermentation as a source of congeners in fruit spirits. *Foods*, 12(10), 1951. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12101951>
99. Boeira, C. Z., de Carvalho Silvello, M. A., Remedi, R. D., Feltrin, A. C. P., Santos, L. O., & Garda-Buffon, J. (2021). Mitigation of nivalenol using alcoholic fermentation and magnetic field application. *Food Chemistry*, 340, 127935. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127935>
100. Sincak, M., Turker, M., Derman, Ü. C., Erdem, A., Jandacka, P., Luptak, M., ... & Sedlakova-Kadukova, J. (2024). Exploring the impact of magnetic fields on biomass production efficiency under aerobic and anaerobic batch fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific Reports*, 14(1), 12869. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63628-1>
101. Kellershohn, J., & Russell, I. (2015). Innovations in alcoholic beverage production. *Advances in Bioprocess Technology*, 423-433. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-17915-520>
102. Pauley, M., & Maskell, D. (2017). Mini-review: the role of *Saccharomyces cerevisiae* in the production of gin and vodka. *Beverages*, 3(1), 13. DOI: <https://doi.org/10.3390/beverages3010013>
103. Lurton, L., Ferrari, G., & Snackers, G. (2012). Cognac: production and aromatic characteristics. In *Alcoholic Beverages* (pp. 242-266). Woodhead Publishing. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-051-5.50011-0>
104. Zanghelini, G., Giampaoli, P., Athès, V., Vitu, S., Wilhelm, V., & Esteban-Decloux, M. (2024). Charentaise distillation of cognac. Part I: Behavior of aroma compounds. *Food Research International*, 178, 113977. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.113977>
105. Starowicz, M., & Granvogl, M. (2020). Trends in food science & technology an overview of mead production and the physicochemical, toxicological, and sensory characteristics of mead with a special emphasis on flavor. *Trends in food science & Technology*, 106, 402-416. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.006>

106. Liu, Y., Jiang, B., & Wang, K. (2023). A review of fermented bee products: Sources, nutritional values, and health benefits. *Food Research International*, 113506. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113506>
107. Близняк, М., Смирнов, А. (2024). Алкогольні напої, їх виробництво та продаж у волинських містах XVIII ст. Емінак: Науковий щоквартальний журнал , (2(46), 96-118. DOI: [https://doi.org/10.33782/eminak2024.2\(46\).708](https://doi.org/10.33782/eminak2024.2(46).708)
108. Leones-Cerpa, J. L., Mason, M., & Quicazán, M. M. C. (2024). Technical Feasibility of Mead Production as a Contribution to Generate Value to Beekeepers in Montes de María, Colombia. *Chemical Engineering Transactions*, 110, 31-36. DOI: <https://doi.org/10.3303/CET24110006>
109. Fentie, E. G., Jeong, M., Emire, S. A., Demsash, H. D., Kim, M. C., Lim, K., & Shin, J. H. (2022). Development of mixed starter culture for the fermentation of Ethiopian honey wine, Tej. *Scientific Reports*, 12(1), 13431. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17594-1>
110. Schwarz, L. V., Marcon, A. R., Delamare, A. P. L., & Echeverrigaray, S. (2020). Influence of nitrogen, minerals and vitamins supplementation on honey wine production using response surface methodology. *Journal of Apicultural Research*, 60(1), 57–66. DOI: <https://doi.org/10.1080/00218839.2020.1793277>
111. Dubinina, E. V., Andrievskaya, D. V., Tomgorova, S. M., & Nebezhev, K. V. (2020). Innovative technologies of alcoholic beverages based on fruit distillates. *Food systems*, 3(2), 18-23. DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-2-18-23>
112. Piras, F. (2024). A Systematic Literature Review on Technological Innovation in the Wine Tourism Industry: Insights and Perspectives. *Sustainability*, 16(22), 9997. DOI: <https://doi.org/10.3390/su16229997>
113. Guiné, R. P., Barroca, M. J., Coldea, T. E., Bartkiene, E., & Anjos, O. (2021). Apple fermented products: An overview of technology, properties and health effects. *Processes*, 9(2), 223. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr9020223>
114. Li, H., Huang, J., Wang, Y., Wang, X., Ren, Y., Yue, T., ... & Gao, Z. (2021). Study on the nutritional characteristics and antioxidant activity of dealcoholized sequentially fermented apple juice with *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* fermentation. *Food Chemistry*, 363, 130351. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130351>
115. Chen, X., Lin, M., Hu, L., Xu, T., Xiong, D., Li, L., & Zhao, Z. (2023). Research on the effect of simultaneous and sequential fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum* on antioxidant activity and flavor of apple cider. *Fermentation*, 9(2), 102. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation9020102>
116. Li, H., Liang, J., Han, M., Wang, X., Ren, Y., Wang, Y., ... & Gao, Z. (2022). Sequentially fermented dealcoholized apple juice intervenes fatty liver induced by high-fat diets via

- modulation of intestinal flora and gene pathways. *Food Research International*, 156, 111180. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111180>
117. Liang, J. R., Deng, H., Hu, C. Y., Zhao, P. T., & Meng, Y. H. (2022). Vitality, fermentation, aroma profile, and digestive tolerance of the newly selected *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lacticaseibacillus paracasei* in fermented apple juice. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1045347. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1045347>
118. Hu, L., Chen, X., Lin, R., Xu, T., Xiong, D., Li, L., & Zhao, Z. (2023). Quality improvement in apple ciders during simultaneous co-fermentation through triple mixed-cultures of *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kudriavzevii*, and *Lactiplantibacillus plantarum*. *Foods*, 12(3), 655. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12030655>
119. Чай каркаде: корисні властивості та способи вживання напою. URL: <https://surl.li/esorso> (дата звернення: 25.01.2025).
120. Цикорій – природний пребіотик. URL: <https://surl.li/ufzpng> (дата звернення: 25.01.2025).
121. Оробчук, О. М., Субтельний, Р. О., & Дзіняк, Б. О. (2022). Зброджування квасного суслу термотолерантними штамами мікроорганізмів. *Technology and Application of Substances (Хімія, технологія речовин та їх застосування)*, 5(2), 142-148. DOI: <https://doi.org/10.23939/ctas2022.02.142>
122. Ткаченко, А., & Молчанова, Н. (2023). Впровадження системи НАССР у виробництво квасу. *Науковий вісник Полтавського університету економіки і торгівлі. Серія «Технічні науки»*, (3), 28-33. DOI: <https://doi.org/10.37734/2518-7171-2023-3-4>
123. Khanturgaev, A. G., Khamagaeva, I. S., & Shiretorova, V. G. (2023). Production of probiotic kvass beverages enriched with pine nut shell extract and propionic acid bacteria. *Food Science and Technology*, 43. DOI: <https://doi.org/10.5327/fst.26823>
124. Kaszuba, J., Jańczak-Pieniążek, M., Migut, D., Kapusta, I., & Buczek, J. (2024). Comparison of the Antioxidant and Sensorial Properties of Kvass Produced from Mountain Rye Bread with the Addition of Selected Plant Raw Materials. *Foods*, 13(3), 357. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods13030357>
125. Pispönen, A., & Andreson, H. (2024). The impact of lactic acid bacteria and yeasts ratio on fermentation and taste of kvass. *Agronomy Research*, 22(S1), 513-522. DOI: <https://doi.org/10.15159/AR.24.026>
126. Wang, B., Rutherford-Markwick, K., Zhang, X. X., & Mutukumira, A. N. (2022). Kombucha: Production and microbiological research. *Foods*, 11(21), 3456. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11213456>

127. Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: a review. *Journal of food science*, 83(3), 580-588. DOI: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>
128. Nyhan, L. M., Lynch, K. M., Sahin, A. W., & Arendt, E. K. (2022). Advances in kombucha tea fermentation: A review. *Applied Microbiology*, 2(1), 73-103. DOI: <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2010005>
129. Gayathry, G., Uma T., Jothilakshmi, K. & Amutha, S. (2024). Improved functionality of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyx extract blended Kombucha, a fermented beverage. *Plant Science Today*. DOI: <https://doi.org/10.14719/pst.3791>
130. Taupiqurrohman, O., Hastuti, L. P., Oktavia, D., Al-Najjar, B. O., Yusuf, M., Suryani, Y., & Gaffar, S. (2024). From fermentation to cancer prevention: The anticancer potential of Kombucha. *Phytomedicine Plus*, 100633. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2024.100633>
131. Liao, T., Li, X. R., Fan, L., Zhang, B., Zheng, W. M., Hua, J. J., ... & Cheng, L. H. (2024). Nature of back slopping kombucha fermentation process: insights from the microbial succession, metabolites composition changes and their correlations. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1433127. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1433127>
132. Prajapati, K., Prajapati, J., Patel, D., Patel, R., Varshnei, A., Saraf, M., & Goswami, D. (2024). Multidisciplinary advances in kombucha fermentation, health efficacy, and market evolution. *Archives of Microbiology*, 206(9), 366. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-024-04086-1>
133. Kilmanoglu, H., Akbas, M., Cinar, A. Y., & Durak, M. Z. (2024). Kombucha as alternative microbial consortium for sourdough fermentation: Bread characterization and investigation of shelf life. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 35, 100903. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2024.100903>
134. Xu, C., Zhou, S., Zhang, J., Bu, D., Zang, C., Fan, R., ... & Yang, Y. (2024). Dynamic changes in microbial communities and volatile compounds in kombucha fermentation using *Flos sophorae* and Elm fruits, compared to black and green tea. *Food Research International*, 197, 115233. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.115233>
135. Козар, М. Ю., Шурська, К. О., Саблій, Л. А., & Кузьмінський, С. В. (2013). Очищення стічних вод солодового заводу з одержанням біоводню. *Восточно-Европейський журнал передових технологій*, 6(10 (66)), 33-36.
136. Garcia-Depraect, O., Munoz, R., Rodriguez, E., Rene, E. R., & Leon-Becerril, E. (2021). Microbial ecology of a lactate-driven dark fermentation process producing hydrogen under carbohydrate-limiting conditions. *International Journal of Hydrogen Energy*, 46(20), 11284-11296. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.08.209>

137. Ahmad, A., Rambabu, K., Hasan, S. W., Show, P. L., & Banat, F. (2024). Biohydrogen production through dark fermentation: Recent trends and advances in transition to a circular bioeconomy. *International Journal of Hydrogen Energy*, 52, 335-357. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2023.05.161>
138. Kumar, V., Kothari, R., & Singh, S. (2015). Dark Fermentation: a green way to produce hydrogen and methane. *Int. J. Sci. Technol. Soc.*, 1. DOI: <https://doi.org/10.18091/ijsts.v1i1.12>
139. Albuquerque, M. M., Sartor, G. D. B., Martinez-Burgos, W. J., Scapini, T., Edwiges, T., Soccol, C. R., & Medeiros, A. B. P. (2024). Biohydrogen Produced via Dark Fermentation: A Review. *Methane*, 3(3), 500-532. DOI: <https://doi.org/10.3390/methane3030029>
140. Han, W., Liu, Z., Fang, J., Huang, J., Zhao, H., & Li, Y. (2016). Techno-economic analysis of dark fermentative hydrogen production from molasses in a continuous mixed immobilized sludge reactor. *Journal of Cleaner Production*, 127, 567-572. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.04.055>
141. Lee, D. H. (2020). Efficiency and economic benefit of dark-fermentative biohydrogen production in Asian circular economies: Evaluation using soft-link methodology with data envelopment analysis (DEA) and computable general equilibrium model (CGE). *International Journal of Hydrogen Energy*, 45(6), 3688-3698. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2019.08.250>
142. Alam, M., & Nayan, N. F. (2024). Techno-Economic Assessment of Biohydrogen Production from Dark Fermentation of Wastewater Sludge. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3891939/v1>
143. Alam, M., & Nayan, N. F. (2024). Techno-Economic Assessment of Biohydrogen Production from Dark Fermentation of Wastewater Sludge. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3891939/v1>
144. Jain, R., Panwar, N. L., Jain, S. K., Gupta, T., Agarwal, C., & Meena, S. S. (2024). Biohydrogen production through dark fermentation: an overview. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(12), 12699-12724. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13399-022-03282-7>
145. Технології поводження з відходами харчових виробництв [Текст] : навч. посіб. для вищ. навч. закл./ Г. В. Крусір, Р. І. Шевченко, Я. П. Русєва [та ін.] ; Одес. нац. акад. харч. технологій.- Одеса : Астропринт, 2014. - 400 с. : табл., рис. - Бібліогр.: с. 382-397.
146. Lim, D., Renteria, E. S., Sime, D. S., Ju, Y. M., Kim, J. H., Criswell, T., ... & Yoo, J. J. (2022). Bioreactor design and validation for manufacturing strategies in tissue engineering. *Bio-design and manufacturing*, 5(1), 43-63. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42242-021-00154-3>
147. Bertaux, F., Sosa-Carrillo, S., Gross, V., Fraisse, A., Aditya, C., Furstenheim, M., & Batt, G. (2022). Enhancing bioreactor arrays for automated measurements and reactive control with

- ReacSight. Nature communications, 13(1), 3363. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31033-9>
148. Pandey, A., & Teixeira, J. A. C. (Eds.). (2016). Current developments in biotechnology and bioengineering: foundations of biotechnology and bioengineering. Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63668-3.00006-8>
149. Nelson, M. J., Nakhla, G., & Zhu, J. (2017). Fluidized-bed bioreactor applications for biological wastewater treatment: a review of research and developments. Engineering, 3(3), 330-342.. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.ENG.2017.03.021>
150. Liu, L., Zhang, J., Chen, Y., Guo, Z., Xu, G., Yin, L., ... & Lavrnić, S. (2023). Anaerobic fluidized-bed membrane bioreactor for treatment of liquid fraction of sludge digestate: Performance and agricultural reuse analysis. Sustainability, 15(9), 7698. DOI: <https://doi.org/10.3390/su15097698>
151. Palladino, F., Marcelino, P. R. F., Schlogl, A. E., José, Á. H. M., Rodrigues, R. D. C. L. B., Fabrino, D. L., ... & Rosa, C. A. (2024). Bioreactors: applications and Innovations for a sustainable and healthy future—a critical review. Applied Sciences, 14(20), 9346. DOI: <https://doi.org/10.3390/app14209346>
152. Ahmad Rizal Lim, F. N., Marpani, F., Anak Dilol, V. E., Mohamad Pauzi, S., Othman, N. H., Alias, N. H., ... & Abd Rahman, N. (2021). A review on the design and performance of enzyme-aided catalysis of carbon dioxide in membrane, electrochemical cell and photocatalytic reactors. Membranes, 12(1), 28. DOI: <https://doi.org/10.3390/membranes12010028>
153. Sheikh, H., Anand, G. G., & Shivanna, G. B. (2024). Fermentation: A Potential Strategy for Microbial Metabolite Production. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.114814>
154. Arshi, S., Nozari-Asbemar, M., & Magner, E. (2020). Enzymatic bioreactors: an electrochemical perspective. Catalysts, 10(11), 1232. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal10111232>
155. Maschke, R. W., Seidel, S., Rossi, L., Eibl, D., & Eibl, R. (2024). Disposable Bioreactors Used in Process Development and Production Processes with Plant Cell and Tissue Cultures. Plants as Factories for Bioproduction: Recent Developments and Applications, 119-144. DOI: https://doi.org/10.1007/10_2024_249
156. Behin, J., & Amiri, P. (2023). A review of recent advances in airlift reactors technology with emphasis on environmental remediation. Journal of Environmental Management, 335, 117560. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117560>
157. Ferreira, P., Lopes, M., & Belo, I. (2022). Use of pressurized and airlift bioreactors for citric acid production by *Yarrowia lipolytica* from crude glycerol. Fermentation, 8(12), 700. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation8120700>

158. Ramonet, F., Haddadi, B., & Harasek, M. (2023). Optimal design of double stage internal loop air-lift bioreactor. *Energies*, 16(7), 3267. DOI: <https://doi.org/10.3390/en16073267>
159. Merchuk, J. C. (2003). Airlift bioreactors: review of recent advances. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 81(3-4), 324-337. DOI: <https://doi.org/10.1002/cjce.5450810301>
160. Amabile, C., Abate, T., De Crescenzo, C., Sabbarese, S., Migliaccio, A., Chianese, S., & Musmarra, D. (2022). Poly (3-hydroxybutyrate) production from methane in bubble column bioreactors: Process simulation and design optimization. *New Biotechnology*, 70, 39-48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2022.04.004>
161. Frey, L. J., Vorländer, D., Ostsieker, H., Rasch, D., Lohse, J. L., Breitfeld, M., ... & Krull, R. (2021). 3D-printed micro bubble column reactor with integrated microsensors for biotechnological applications: From design to evaluation. *Scientific reports*, 11(1), 7276. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86654-9>
162. García-Depraet, O., Vargas-Estrada, L., Muñoz, R., & Castro-Muñoz, R. (2025). Membrane-Assisted Dark Fermentation for Integrated Biohydrogen Production and Purification: A Comprehensive Review. *Fermentation*, 11(1), 19. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation11010019>
163. Mendonça da Silva, J., Erro, E., Awan, M., Chalmers, S. A., Fuller, B., & Selden, C. (2020). Small-scale fluidized bed bioreactor for long-term dynamic culture of 3D cell constructs and in vitro testing. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 895. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00895>
164. Hadian, M., de Munck, M. J. A., Buist, K. A., Bos, A. N. R., & Kuipers, J. A. M. (2024). Modeling of a catalytic fluidized bed reactor via coupled CFD-DEM with MGM: From intra-particle scale to reactor scale. *Chemical Engineering Science*, 284, 119473. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2023.119473>
165. Shim, S., Won, S., Reza, A., Kim, S., Ahmed, N., & Ra, C. (2020). Design and optimization of fluidized bed reactor operating conditions for struvite recovery process from swine wastewater. *Processes*, 8(4), 422. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr8040422>
166. Warnock, J., Bratch, K. & Al-Rubeai, M. (2006). Packed Bed Bioreactors. DOI: https://doi.org/10.1007/1-4020-3741-4_4
167. Mitchell, D. A., Ruiz, H. A., & Krieger, N. (2023). A critical evaluation of recent studies on packed-bed bioreactors for solid-state fermentation. *Processes*, 11(3), 872. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr11030872>
168. Sirohi, R., Pandey, A., Sim, S. J., Chang, J. S., & Lee, D. J. (Eds.). (2023). *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Photobioreactors: Design and Applications*. Elsevier. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-99911-3.00008-7>

169. Carvalho, A. P., Silva, S. O., Baptista, J. M., & Malcata, F. X. (2011). Light requirements in microalgal photobioreactors: an overview of biophotonic aspects. *Applied microbiology and biotechnology*, 89, 1275-1288. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-010-3047-8>
170. Chanquia, S. N., Vernet, G., & Kara, S. (2022). Photobioreactors for cultivation and synthesis: Specifications, challenges, and perspectives. *Engineering in Life Sciences*, 22(12), 712-724. DOI: <https://doi.org/10.1002/elsc.202100070>
171. Kovalova, O., Vasylieva, N., Dikhtyar, A., Andrieieva, S., Omelchenko, S., Kotliar, O., Kariyk, A., Rudakov, S., Harbuz, S., Onyshchenko, L. (2024). Development of oat malt production technology using plasma-chemically activated aqueous solutions. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 5 (11 (131)), 80–91. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2024.311477>
172. Kovalova, O., Vasylieva, N., Zhulinska, O., Balandina, I., Zhukova, L., Bezpal'ko, V., Horiainova, V., Trybrat, R., Zazymko, O., & Barkar, Y. (2024). Development of lentil malt production technology using plasma-chemically activated aqueous solutions. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 4(11 (130)), 76–86. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2024.308298>
173. Kovalova, O., Vasylieva, N., Haliasnyi, I., Gavrish, T., Dikhtyar, A., Andrieieva, S., Gontar, T., Osmanova, O., Omelchenko, S., & Ashtaiev, O. (2024). Development of technology for the production of all-purpose buckwheat malt using plasmochemically activated aqueous solutions. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 1(11 (127)), 38–51. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2024.298797>
174. Kovaliova, O., Vasylieva, N., Stankevych, S., Zabrodina, I., Mandych, O., Hontar, T., Haliasnyi, I., Kotliar, O., Yanchyk, O., Bogatov, O. (2023). Development of a technology for the production of germinated flaxseed using plasma-chemically activated aqueous solutions. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 4 (11 (124)), 6–19. doi: DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2023.284810>
175. Kovalova, O., Vasylieva, N., Stankevych, S., Zabrodina, I., Haliasnyi, I., Gontar, T., Kotliar, O., Gavrish, T., Gill, M., Karatieieva, O. (2023). Determining the effect of plasmochemically activated aqueous solutions on the bioactivation process of sea buckthorn seeds. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 2 (11 (122)), 99–111. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2023.275548>
176. Kovaliova O, Pivovarov O, Vasylieva N, Koshulko V. Obtaining of rice malt with the use of plasma-chemically activated aqueous solutions. *Food science and technology*.2022;16(4):64-76. DOI: <https://doi.org/10.15673/fst.v16i4.2542>

177. Kovaliova, O., Pivovarov, O., Kalyna, V., Tchoursinov, Y., Kunitsia, E., Chernukha, A., Polkovnychenko, D., Grigorenko, N., Kurska, T., & Yermakova, O. (2020). Implementation of the plasmochemical activation of technological solutions in the process of ecologization of malt production. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 5(10 (107), 26–35. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2020.215160>
178. Kovaliova O., Pivovarov O., Koshulko V. Study of hydrothermal treatment of dried malt with plasmochemically activated aqueous solutions. *Food science and technology*. 2020. Vol. 14, Issue 3. P. 113-121 DOI: <https://doi.org/10.15673/fst.v14i3.1799>
179. Півоваров О.А., Ковальова О.С. Сучасні методи інтенсифікації солодощення: монографія. Дніпро: ДВНЗ УДХТУ, 2020. 242 с.
180. Kovaliova O., Pivovarov O., Koshulko V. Study of hydrothermal treatment of dried malt with plasmochemically activated aqueous solutions. *Food science and technology*. 2020. Vol. 14, Issue 3. P. 113-121 DOI: <https://doi.org/10.15673/fst.v14i3.1799>
181. Kovaliova, O., Tchoursinov, Y., Kalyna, V., Koshulko, V., Kunitsia, E., Chernukha, A., Bezuglov, O., Bogatov, O., Polkovnychenko, D., & Grigorenko, N. (2020). Identification of patterns in the production of a biologically-active component for food products. *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*, 2(11 (104), 61–68. DOI: <https://doi.org/10.15587/1729-4061.2020.200026>
182. Kovaliova O., Tchoursinov Y., Kalyna V., Khromenko T., Kunitsia E. Investigation of the intensive technology of food sprouts using organic acids. «EUREKA: Life Sciences». *Food Science and Technology*. 2020. Number 2. P. 45-53. DOI: <http://dx.doi.org/10.21303/2504-5695.2020.001204>
183. Kovalova O., Pivovarov O., Koshulko, V. Effect of plasma-chemically activated aqueous solutions on the process of disinfection of food production equipment. *Food Science and Technology*. 2022. 16 (3). P. 61-70. DOI: <https://doi.org/10.15673/fst.v16i3.2392>
184. Pivovarov O., Kovaliova O. Features of grain germination with the use of aqueous solutions of fruit acids. *Food Science and Technology*. 2019. Volume 13 Issue 1. P.83-89. DOI: <http://dx.doi.org/10.15673/fst.v13i1.1334>
185. Kovalova O.S., Chursinov Yu.O., Kofan D.D. Research of hydrothermal processing of dry barley malt. *Grain Products and Mixed Fodder's*. 2018. Vol.18, Issue 4. P.13-18. DOI: <https://doi.org/10.15673/gpmf.v18i4.1190>
186. Pivovarov O., Kovaliova O., Khromenko T., Shuliakevych Z. Features of obtaining malt with use of aqueous solutions of organic acids. *Food Science and Technology*, Volume 11 Issue 4/ 2017. P.29-35. DOI: <http://dx.doi.org/10.15673/fst.v11i4.728>

Навчальне видання
(українською мовою)

Піваров Олександр Андрійович
Ковальова Олена Сергіївна
Кошулько Віталій Сергійович

Інноваційні технології та обладнання
бродильних виробництв
Навчальний посібник

Друкується в авторській редакції
Відповідальний за випуск О.А. Піваров
Комп'ютерна верстка О.С. Обдимко

Оформлення згідно зі стандартами книговидавання

Підписано до друку 07.04.2025 р. Формат 60х84 1/16. Папір офсетний.
Друк цифровий. Ум.-друк. арк. 23,13. Обл.-вид. арк. 23,37.
Наклад 50 прим. Зам. № 3/25

Видавництво ФОП Обдимко О.С.,
м. Дніпро, вул. Уральська, 17
Свідоцтво про внесення до Державного реєстру виготовлювачів і
розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 6033 від 20.02.2018 р.
Віддруковано ФОП Обдимко О.С.,
49008, м. Дніпро, вул. Уральська, 17

