

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет ТВШТСБ

Кафедра генетики, годівлі тварин та біотехнології
спеціальність 162– «Біотехнології та біоінженерія»

Допустити до захисту

Декан _____ М.І. ГИЛЬ

“ ____ ” _____ 2021 р.

Рекомендувати до захисту

В.о. зав. кафедри _____ С.І. ЛУГОВИЙ

“ ____ ” _____ 2021р.

ВПЛИВ РІЗНИХ РАС ДРІЖДЖІВ НА ПРОЦЕСИ ЗБРОДЖУВАННЯ ТА
КУЛЬТИВУВАННЯ В УМОВАХ МИКОЛАЇВСЬКЕ ВІДДІЛЕННЯ ПРАТ
«АБІНБЕВ ЕФЕС УКРАЇНА», м. МИКОЛАЇВ

04.02. – ВР. 128-О. 21 10 23. 002

Виконавець:

здобувач вищої

освіти II курсу _____ **О.А. БУГРИМ**

Науковий керівник:

доцент _____ **О.І. КАРАТЄЄВА**

Рецензент:

професор _____ **О.В. ЩЕРБАК**

Миколаїв – 2021

ЗМІСТ

Реферат	3
Вступ	5
1. Літературно-патентний огляд	7
1.1. Народногосподарське значення біотехнології та її сучасні досягнення	7
1.2. Історія, види і роль бродіння в харчовій промисловості	10
1.3. Таксономія дріжджів і їх класифікація та культивування при виробництві пива	16
1.4. Чинники, які впливають на розмноження і біохімічну активність дріжджів	19
2. Експериментальна частина	24
2.1. Об'єкти і методи дослідження	24
2.1.1. Об'єкти дослідження	24
2.1.2. Методи дослідження	26
2.2. Результати та їх обговорення	35
2.2.1. Характеристика апаратурно-технологічної схеми	35
2.2.2. Дослідження різних рас дріжджів за хіміко-технологічними показниками	39
2.2.3. Дослідження впливу різних рас дріжджів на їх зброджуванність та культивування	42
3. Технологічна частина	46
4. Економічна частина	50
5. Безпека життєдіяльності	52
Висновки	57
Список використаної літератури	58

РЕФЕРАТ

Дипломну кваліфікаційну роботу магістра виконано на 60 сторінках друкованого тексту, з використанням 24 бібліографічних джерел спеціальної, додаткової літератури та періодичних видань із них 1 латиницею. До роботи внесено 7 таблиць та 9 рисунків.

Тема дипломної роботи: «Вплив різних рас дріжджів на процеси зброджування та культивування в умовах Миколаївське відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС УКРАЇНА», м. Миколаїв».

Об'єкт досліджень – різні раси дріжджів які використовуються в процесі виробництва.

Предмет досліджень – вплив різних рас дріжджів на процеси виробництва.

Мета досліджень – дослідити вплив різних рас дріжджів на процеси зброджування та культивування в умовах Миколаївське відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС УКРАЇНА».

Для виконання мети були поставлені наступні завдання:

- надати характеристику апаратурно-технологічної схеми;
- провести дослідження різних рас дріжджів за хіміко-технологічними показниками;
- встановити вплив різних рас дріжджів на їх зброджуванність та культивування;
- надати характеристику рас дріжджів, як основного продуцента даних досліджень;
- встановити економічну ефективність проведених досліджень.

Методи дослідження – загально-прийняті стандартні мікробіологічні методи лабораторної та індустріальної пропагації дріжджів.

Результати досліджень апробовані на студентській конференції та опубліковані у Студентському науковому віснику, Випуск 2 (17), серія: «Сільськогосподарські науки».

ВСТУП

Пиво – це результат життєдіяльності дріжджів. Малі підприємства не мають у своєму розпорядженні необхідного обладнання для розведення чистої культури дріжджів, тому використовують препарати активних сухих пивоварних дріжджів. Однак життєздатність таких дріжджів часто знижена, і кількість мертвих клітин суттєво перевищує необхідний рівень [1].

Поряд із використовуваною сировиною (хміль, солод, вода), а також способом обробки сусла в останні роки все більше увагу звертають на технологічні процеси, пов'язані з дріжджами.

На відміну від минулих років, сьогодні вже недостатньо зброджувати сусло насінневими дріжджами. Використання дріжджів з великою кількістю генерацій призводить до уповільнення процесу бродіння, зниження здатності клітин до розмноження, нетипової поведінки при бродінні і до мутацій, які можуть бути викликані старінням культури [9].

Крім того, на багатьох пивоварних підприємствах використовують циліндро-конічні танки. Бродіння в ЦКТ при підвищених концентраціях та тисках несприятливо впливає на фізіологічні властивості дріжджів і, зокрема, на їхню життєздатність. Тому кількість використовуваних генерацій знижується [19].

При використанні ж закуплених виробничих дріжджів, що практикується на багатьох підприємствах, існує реальна небезпека занесення інфекції. Крім того, таким дріжджам потрібен період адаптації до сусла цього підприємства [23].

Для будь-якого сучасного пивоварного підприємства, що прагне міцно зайняти свою нішу на ринку, необхідно мати свою установку для пропагації чистої культури дріжджів (ЧКД), так як це суттєво впливає на якість та стабільність одержуваної кінцевої продукції [7].

В даний час існує достатня різноманітність машинно-апаратних схем для пропагації ЧКД. Однак усі пропоновані установки мають значні недоліки і

не завжди дозволяють пивовару отримати бажаний кінцевий результат, а саме чисту культуру дріжджів у достатній кількості за максимально короткий проміжок часу з гарантованою мікробіологічною чистотою та високою життєздатністю [4].

Тому зважаючи на все вище зазначене, нами було поставлено за мету дослідити вплив різних рас дріжджів на процеси зброджування та культивування в умовах Миколаївське відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС УКРАЇНА».

1. ЛІТЕРАТУРНО-ПАТЕНТНИЙ ОГЛЯД

1.1. Народногосподарське значення біотехнології та її сучасні досягнення

Людство здавна опанувало на практиці різні процеси біотехнології. Ще з біблейських часів було відоме виноробство, випікання хліба, а дещо пізніше – одержання кисломолочних продуктів, квашеної капусти, медових алкогольних напоїв, силосування кормів тощо. Стародавні народи інтуїтивно використовували прийоми і способи виготовлення продуктів, які сьогодні ми відносимо до біотехнологічних.

Значний поштовх у розвитку біотехнології пов'язаний з видатними дослідженнями великого французького вченого Луї Пастера (1822–1895) – основоположника наукової мікробіології. Він розкрив мікробну природу бродіння, довів можливість життя у безкисневих умовах, експериментально спростував уявлення про самовільне зародження живих істот, створив наукові основи вакцинопрофілактики і вакцинотерапії, запропонував метод стерилізації, названий його ім'ям, – пастеризацією тощо.

Починаючи з другої третини ХХ століття розпочалось впровадження крупномасштабного герметизованого обладнання, яке забезпечує проведення процесів у стерильних умовах. Особливо потужний поштовх у розвитку промислового біотехнологічного обладнання був відмічений у період становлення і розвитку виробництва антибіотиків (період Другої світової війни 1939–1945 рр., коли виникла гостра необхідність у протимікробних препаратах для лікування хворих з інфікованими ранами). У цей час були вирішені основні завдання з конструювання, створення і впровадження у практику біореакторів, які використовуються й нині [1].

Звичайно, без фундаментальної роботи Ф. Кріка і Дж. Уотсона (1953) щодо встановлення структури ДНК було б неможливо досягнути сучасних результатів у сфері біотехнології. З'ясування механізмів функціонування і

регуляції ДНК, виділення і вивчення специфічних ферментів привело до формування чіткого наукового підходу, до розробки біотехнологічних процесів на основі генноінженерних робіт.

Уже в 1982 р. надійшов у продаж людський інсулін, синтезований кишковими паличками, які містили штучно вмонтовану інформацію про цей гормон. Згодом з'явилися інші генноінженерні препарати: інтерферони, соматотропний гормон людини, інтерлейкін-2 та ін. У цей період були одержані суперпродуценти антибіотиків, ферментів, амінокислот, вітамінів; розроблені та впроваджені екологічно чисті безвідходні технології; розроблена і впроваджена у практику спеціальна апаратура; здійснена автоматизація і комп'ютеризація біотехнологічних процесів тощо. Протягом останніх 10–15 років минулого століття проходив бурхливий розвиток біотехнології, визначались сфери пріоритетного впровадження конкретних результатів технологічних розробок.

Народногосподарське значення біотехнології полягає в одержанні біологічних об'єктів із новими цінними властивостями, підвищенні ефективності виробництва, поліпшенні якості продукції на основі екологічно безпечних наукоємних технологій.

З найдавніших часів людям були відомі біотехнологічні процеси, що використовуються в хлібопеченні, пивоварінні, виноробстві та приготуванні кисломолочних продуктів. Уже в ті далекі часи зброджування за допомогою мікроорганізмів відіграло важливу роль у практичній діяльності людини. І сьогодні біотехнологічні процеси проводяться з використанням бактерій, дріжджів, мікроскопічних грибів та водоростей, метаболізм та біосинтетичні можливості яких забезпечують вироблення специфічних речовин.

У наші дні біотехнологія стрімко висувається на передній край науково-технічного прогресу. Цьому сприяє бурхливий розвиток біологічної науки, що спирається на досягнення хімії та фізики, наукові відкриття яких дозволяють використовувати потенціал живих організмів у народному господарстві, охороні здоров'я та охороні навколишнього середовища.

Значні успіхи досягнуті в галузі біохімії, біоорганічної хімії та молекулярної біології створили передумови для керування складними механізмами життєдіяльності клітини, що стало потужним імпульсом для розвитку біотехнології [2].

Як першочергові завдання біотехнології, визначено створення та широке народногосподарське застосування нових біологічно активних речовин та лікарських препаратів для лікування, діагностики та профілактики хвороб у медицині; біологічних засобів захисту рослин від хвороб та шкідників; бактеріальних добрив та регуляторів росту рослин; цінних кормових добавок підвищення продуктивності тваринництва; високопродуктивних та стійких до несприятливих факторів зовнішнього середовища сортів сільськогосподарських рослин; нових технологій одержання цінних продуктів для харчової промисловості; технологій глибокої та ефективної переробки сільськогосподарських, промислових та побутових відходів; покращення стану ґрунтової мікрофлори; видобутку, збагачення та переробки корисних копалин; активних мікроорганізмів – руйнівників полімерів; біодеградації пестицидів; обмеження масштабів забруднення довкілля з допомогою безвідходних технологій.

Для розробки та впровадження біотехнологічних проектів будуть потрібні висококваліфіковані кадри – генетиків та молекулярних біологів, біохіміків та біоорганіків, вірусологів та мікробіологів, ензимологів та ентомологів, екологів та інженерів-технологів, програмістів та конструкторів біотехнологічного обладнання.

Розвиток біотехнології визначається не тільки вдосконаленням, підвищенням ефективності та автоматизацією традиційних біотехнологічних процесів, а й розробкою абсолютно нових проектів, які включають галузі де виробляють полімери, сировину для текстильної промисловості, виробляють екологічно чисте паливо; вилучають нафту з вичерпних родовищ; виробляють бактеріями-деемулгаторами поділ водної та нафтової фази, що може бути використане для концентрування нафти та очищення стічних вод від нафтових

домішок. За допомогою штамів псевдомонад, що утилізують сиру нафту, запобігається нафтовому забрудненню навколишнього середовища, зокрема усуваються нафтові плівки на поверхні вод морів і річок.

У наші дні біотехнологія надає реальну допомогу охороні здоров'я. Немає сумнівів щодо терапевтичної цінності інсуліну, інтерферонів, факторів згортання крові та імунної системи, тромболітичних ферментів, антибіотиків, виготовлених біотехнологічним шляхом. Крім отримання лікарських засобів, біотехнологія дозволяє проводити ранню діагностику захворювань на основі застосування препаратів антигенів, моноклональних антитіл, ДНК/РНК-проб. За допомогою нових вакцинних препаратів можливе запобігання інфекційним хворобам.

Біотехнологія допомагає обмежити масштаби забруднення країни промисловими, сільськогосподарськими, побутовими відходами та токсичними викидами в атмосферу. Перетин різних сфер застосування біотехнології таких як технологічна біоенергетика, сільське господарство, медицина та біогеотехнологія становить характерну особливість її сучасного етапу розвитку [3].

1.2. Історія, види і роль бродіння в харчовій промисловості

Бродіння (також зброджування, ферментація) – це анаеробний метаболічний розпад молекул (наприклад, глюкози) за допомогою мікроорганізмів. Найчастіше, кажучи про бродіння, мають на увазі перетворення цукру на спирт за допомогою дріжджів, але, наприклад, при виробництві кефіру використовується бродіння за допомогою інших бактерій.

Серед різноманіття процесів, що викликаються мікроорганізмами одним з істотних є бродіння. Під бродінням розуміють перетворення вуглеводів і деяких інших органічних сполук в нові речовини під впливом ферментів, які продукуються мікроорганізмами. Відомі різні види бродіння. Зазвичай їх називають по кінцевим продуктам, що утворюється в процесі бродіння,

наприклад спиртове, молочнокисле, оцтовокисле та ін. Багато видів бродіння – спиртове, молочнокисле, ацетонобутилове, оцтовокисле, лимоннокисле і інші, що викликаються різними мікроорганізмами – використовують у промисловості. Наприклад, у виробництві етилового спирту, хліба, пива застосовують дріжджі;

у виробництві лимонної кислоти – цвілеві гриби;

у виробництві оцтової і молочної кислот, ацетону – бактерії. Основна мета зазначених виробництв перетворення – субстрату (живильного середовища) під дією ферментів мікроорганізмів в необхідні продукти. В інших виробництвах, наприклад у виробництві хлібопекарських дріжджів, головним завданням є накопичення максимальної кількості культивованих дріжджів.

Основні групи мікроорганізмів, які використовуються в галузях харчової промисловості – бактерії, дріжджові і цвілеві гриби [21].

Бактерії. Використовують як збудників молочнокислого, оцтовокислого, маслянокислого, ацетонобутилового бродіння. Культурні молочнокислі бактерії використовують при отриманні молочної кислоти, в хлібопекарській промисловості, іноді в спиртовому виробництві. Вони перетворюють цукор на молочну кислоту. У виробництві житнього хліба важлива роль належить молочнокислим бактеріям. Молочнокислі бактерії житнього тіста істотно впливають також на смак хліба, оскільки він залежить від загальної кількості кислот, що містяться в хлібі, і від їх співвідношення. Крім того, молочна кислота впливає на процес утворення і структурно-механічні властивості житнього тіста.

Маслянокисле бродіння, що викликається маслянокислими бактеріями, використовують для виробництва масляної кислоти, ефіри якої застосовують в якості ароматичних речовин, а для спиртового виробництва ці бактерії небезпечні, оскільки масляна кислота пригнічує розвиток дріжджів і інактивує амілазу.

До особливих видів маслянокислих бактерій відносяться ацетонобутилові бактерії, здатні перетворювати крохмаль та інші вуглеводи в ацетон, бутиловий

і етиловий спирти. Ці бактерії використовують як збудники бродіння в ацетонобутиловому виробництві.

Оцтовокислі бактерії використовують для отримання оцту (розчину оцтової кислоти), оскільки вони здатні окисляти етиловий спирт в оцтову кислоту.

Дріжджі. Широко застосовуються в якості збудників бродіння при отриманні спирту і пива, у виноробстві, у виробництві хлібного квасу, а також у випіканні хліба для розпушення тіста.

Розповідь про відкриття спиртового бродіння варто розпочати із засновника сучасної хімії, французького вченого Антуана Лавуазьє. Він був одним із перших, хто зацікавився цим питанням. Наприкінці XVIII століття вчений встановив, що у процесі бродіння цукор поділяється на спирт та вуглекислий газ.

Пізніше інший француз Жозеф Гей-Люссак виявив, що маса розщепленого цукру дорівнює сумарній масі спирту та вуглекислого газу.

Одночасно дослідженням бродіння почалося вивчення дріжджів. Першовідкривач одноклітинних організмів нідерландець Антоні ван Левенгук, крім інфузорій, описав і ці найдрібніші грибочки. Потім, приблизно тридцять років XIX століття французький барон Шарль Каньяр де Ла-Тур і німець Теодор Шванн науково довели те що, дріжджі справді є живими клітинами, а бродіння – це результат їх життєдіяльності. Однак інші провідні хіміки того часу поставилися до цієї заяви з недовірою та відмовилися прийняти її.

Складно не помітити, що історія бродіння сповнена французьких імен. І це ще не все. У другій половині XIX століття щільним вивченням цього питання зайнявся мікробіолог Луї Пастер. Йому вдалося переконати сучасників, що бродіння це чисто хімічний процес. Він може відбуватися виключно за наявності живих мікроорганізмів.

Німецький біохімік Едуард Бухнер опублікував 1897 року роботу «Про спиртове бродіння без участі дріжджових клітин». Праця вченого викликала спекотні суперечки в академічному середовищі, через це йому довелося

витратити багато часу та сил на підтвердження своєї теорії. Хіміку вдалося довести свою правоту: у 1902 році була опублікована стаття обсягом 15 сторінок, в якій він підтвердив проведені раніше відкриття. За нього німецький вчений отримав Нобелівську премію [9].

Залежно від цього які кінцеві продукти утворюються, виділяють різні типи бродіння:

Молочнокисле бродіння. Процес анаеробного окислення вуглеводів, кінцевим продуктом при якому виступає молочна кислота. Назва отримала по характерному продукту – молочної кислоти. Для молочнокислих бактерій є основним шляхом катаболізму вуглеводів і основним джерелом енергії у вигляді АТФ. Також молочнокисле бродіння відбувається в тканинах тварин у відсутності кисню при великих навантаженнях.

Молочнокисле бродіння цукрових розчинів найкраще протікає під дією чистих культур молочнокислих бактерій (*Bacillus Delbrückii*) при температурі 34–45 °С, з добавкою необхідних для життя бактерій мінеральних речовин, а також крейди або карбонату цинку. Останні добавки вводяться для нейтралізації вільної кислоти, оскільки за значної концентрації кислоти бактерії гинуть і бродіння припиняється.

Молочнокисле бродіння є одним з процесів, що протікають при виготовленні масла (з кислого молока), при дозріванні сиру, квашенні капусти, за силосування кормів та ін.

Для молочнокислого бродіння, як і для спиртового, доведено існування особливого ензиму, зимази молочнокислого бродіння, що може викликати бродіння і без живих бактерій.

Молочнокисле бродіння використовується для консервації продуктів харчування (за рахунок інгібування росту мікроорганізмів молочною кислотою і зниження рН) з метою тривалого збереження (приклад – квашення овочів, сирокочення), приготуванні кисломолочних продуктів (кефіру, ряжанки, йогурту, сметани), силосуванні рослинної маси, а також біотехнологічного способу виробництва молочної кислоти.

Маслянокисле бродіння. Масляна кислота, бутанол, ацетон, ізопропанол та ряд інших органічних кислот, зокрема оцтова, капронова, валер'янова, пальмітинова, є продуктами збродження вуглеводів цукролітичними анаеробами (анаеробні бактерії роду клостридії, а також бактерії. Спектр цих кислот, який визначається за допомогою газорідинної хроматографії, використовується як експрес-метод при ідентифікації анаеробів.

Пропіоновокисле бродіння. Збудники відносяться також до роду анаеробів – пропіонобактерій, які використовуються у виробництві сирів. Кінцевий продукт бродіння – пропіонова кислота. Пропіонобактерії – мешканці шкіри та слизової оболонки людини та тварин можуть викликати анаеробні інфекції.

Спиртове бродіння. Біохімічний процес ферментації, при якому цукри, такі як глюкоза і фруктоза, розкладаються під дією ферментів з виділенням енергії і утворенням етилового спирту та вуглекислого газу. Дозволяє отримати два моль АТФ на моль глюкози в анаеробних умовах. Цей метаболічний шлях характерний для багатьох грибів (дріжджів, дріжджеподібних і деяких цвілевих грибків), водоростей, найпростіших та деяких бактерій. Спиртове бродіння здавна використовується людиною у процесі хлібопекарства (спричиняє «сходження» дріжджового тіста) та виготовлення алкогольних напоїв.

Однією із нових галузей застосування цього метаболічного шляху є виробництво етанолу як відновного і відносно недорогого біопалива.

Під час спиртового бродіння розщеплення глюкози починається гліколітичним шляхом.

У гліколітичних реакціях глюкоза розщеплюється і окиснюється до двох молекул пірувату, відбувається субстратне фосфорилування двох молекул АДФ із утворенням АТФ, а також відновлюються до НАДН дві молекули НАД⁺. За аеробних умов НАДН знову окиснюється віддаючи електрони через ряд посередників на молекулярний кисень, і тоді знову може бути використаний у процесі гліколізу. В анаеробних умовах регенерація НАД⁺ відбувається у кінцевих етапах бродіння, під час яких акцептором

електронів є сам піруват або його похідні: у випадку спиртового бродіння — ацетальдегід.

Ацетальдегід утворюється із пірувату шляхом декарбокซิлювання (відщеплення вуглекислого газу), яке каталізується піруватдекарбоксилазою. Цей фермент потребує присутності іонів Mg^{2+} та містить ковалентно приєднаний кофермент тіамініпрофосфат.

Наступним кроком є відновлення ацетальдегіду до етилового спирту завдяки перенесенню гідрид іона із НАДН, утвореного у гліколізі. Реакція відбувається за участі ферменту алкогольдегідрогенази, що містить в активному центрі іон цинку, який поляризує карбонільну групу субстрату полегшуючи приєднання гідриду.

Отже кінцевими продуктами спиртового бродіння на одну молекулу глюкози є дві молекули етилового спирту, дві молекули CO_2 , та дві молекули АТФ. В підсумку не відбувається ні окиснення ні відновлення глюкози (співвідношення С:Н однакове для вихідних речовин (глюкоза) і продуктів (етанол + вуглекислий газ) і становить 1:2).

Метаболічний шлях спиртового бродіння наявний у багатьох організмів, зокрема грибів (дріжджів, дріжджеподібних та деяких цвілевих грибів), водоростей, найпростіших, бактерій, деяких рослин. У частини анаеробних організмів він є основним шляхом отримання енергії, тоді як багато факультативних анаеробів, наприклад, пекарські дріжджі, використовують його як альтернативу диханню тільки за відсутності кисню.

Бутиленгліколеве бродіння. В результаті ферментації утворюються бутиловий спирт, етиленгліколь, сірководень та інші токсичні продукти. Цей вид бродіння викликають кишкова паличка та інші ентеробактерії, у тому числі – збудники кишкових інфекцій – сальмонельози, дизентерії.

Мурашинокисле (змішане) бродіння. Зустрічається у представників сімейств *Enterobacteriaceae* *Vibrionaceae*. Глюкоза розщеплюється за ФДФ-шляхом, глюконат розщеплюється по КДФГ-шляху.

Лимоннокисле бродіння відбувається під дією пліснявих грибків. Промислове одержання лимонної кислоти відбувається шляхом зброджування грибом *Aspergillus niger* розчину сахарози [4].

1.3. Таксономія дріжджів і їх класифікація та культивування при виробництві пива

Дріжджі – це група одноклітинних грибів сахароміцетів кулястої або овальної форми, на 3/4 складаються з води. Іншу частину мікроорганізму утворюють білки, мінеральні компоненти і вуглеводи в співвідношенні 44–67, 6–8 і близько 30% відповідно.

Основа активності дріжджів – вуглеводи трегалоза і глікоген. Додатковий вміст запасних вуглеводів – умова тривалого збереження клітини без втрати якості. Крім цього, в дріжджах присутні активний протеоліз, глутатіон, трипептид, набір вітамінів і ферментів (останні відповідальні за дихання, будова клітини, розмноження).

Зброджування цукру з кінцевими продуктами у вигляді спирту і вуглекислого газу відбувається під дією ферментативного комплексу зимази, таким чином вивільняється енергія для життєвого циклу клітини.

За спрощеною класифікацією дріжджі поділяються на родини, роди і види. Класифікують дріжджі по способах їх вегетативного розмноження (брунькування, ділення), здатності до спороутворення, а також за фізіологічними ознаками [9].

Для харчової промисловості найбільше значення має рід *Saccharomyces*. У цей рід входять як природні види, так і види, отримані шляхом селекції. Їх називають расами дріжджів. Вони розрізняються здатністю зброджувати різний цукор, інтенсивністю бродіння, кількістю спирту, що утворюється, оптимальною температурою бродіння, утворенням спор і ін.

У харчовій промисловості найбільш широко використовують два вида дріжджів роду *Saccharomyces*: *Sacch. cerevisiae* і *Sacch. ellipsoideus*, або *Sacch. vini*.

Saccharomyces cerevisiae мають круглу або овальну форму клітини. Їх використовують для отримання етилового спирту, а також в пивоварінні, квасоварінні, хлібопеченні. Кожне виробництво використовує свої специфічні раси дріжджів, що дають можливість отримати кінцевий продукт із заданими властивостями.

Saccharomyces ellipsoideus має клітини еліптичної форми. Цей вигляд дріжджів використовується переважно у винарстві. Кожна марка вина проводиться з використанням специфічної раси дріжджів.

Всі види дріжджів роду *Saccharomyces* і деякі природні дріжджі при спонтанному розвитку на харчових продуктах, що містять цукор, викликають їх псування: бродіння і прокисання.

З інших родів дріжджів найбільше значення мають два: *Torulopsis* і *Candida*, які широко поширені в природі, не здатні викликати спиртове бродіння, але викликають псування харчових продуктів, а дріжджі роду *Candida* мають до того ж патогенні форми, зухвалі кандидози слизової оболонки порожнини рота, особливо у дітей.

Дріжджі роду *Torulopsis* мають клітини округлої або овальної форми. Ці дріжджі спричиняють слабе спиртове бродіння. Окремі види цих дріжджів використовують при виробництві кумису і кефіру.

Дріжджі роду *Candida* мають клітини довгастої, циліндричної форми, іноді утворюють примітивний міцелій. Є види, які можуть окисляти цукор і етиловий спирт в органічні кислоти і є шкідниками при виробництві вин, пива, пекарських дріжджів. Вони викликають також псування квашених овочів, безалкогольних напоїв і багатьох інших харчових продуктів.

Деякі види дріжджів роду *Candida* використовувалися в тваринництві і птахівництві для виробництва кормового білка, багатого вітамінами.

Виробництво пива є одним із найстаріших відомих біотехнологічних процесів. Перші записи про виробництво бродильного напою подібного до пива виходять з Єгипту і відносяться до 6000 років до нашої ери. Проте роль дріжджів у процесі ферментації була відома до 1876 року, коли Луї Пастер продемонстрував, що ферментація – це процес живих організмів. В 1883 Еміль Хансен виділив першу чисту культуру пивних дріжджів, використовуючи техніку виділення чистих мікробних культур у Роберта Коха в 1881р. [10].

Пивні дріжджі традиційно поділяються на дві групи: дріжджі верхового бродіння, що використовуються для виробництва таких сортів пива, як ель, стаут або портер, а також дріжджі низового бродіння. Спочатку ці штами були класифіковані на основі їх властивостей флокуляції. Дріжджі верхового бродіння мають тенденцію підніматися рівня ферментованого сусла наприкінці бродіння, звідси і витікає їх назва. І навпаки, дріжджі для низового бродіння наприкінці ферментації осідають на дно ферментаційного апарату.

Дріжджі низового бродіння зазвичай мають нижчу оптимальну температуру росту (8–15 °C), ніж дріжджі верхового бродіння (15–26 °C), і тому до винаходу охолодження в середині 19 століття виробництво пива виключно пов'язане з використанням верхових дріжджів [11].

Нині виробництво пива вже є традиційним та усталеним процесом. Проте сучасність висуває значні вимоги як до якості продукції, і до економіки виробництва. Цільові генетичні модифікації дріжджового штаму є одним із способів задоволення цих вимог. Генетичні зміни пивних дріжджів дуже вимогливі. Набагато простіше генетично модифікувати добре охарактеризовані гаплоїдні лабораторні штами, ніж генетично складні промислові штами, які є поліплоїдними, анеуплоїдними або навіть алоплоїдними. Доказом є те, що стратегія, яка використовується для зміни лабораторного штаму, не обов'язково працює (і часто не працює) у промисловості.

Серед верхових пивних дріжджів є багато видів роду *Saccharomyces*, більшість з яких належать до *Saccharomyces cerevisiae* і утворюють різноманітну групу поліплоїдних дріжджових штамів. Однак деякі верхові

дріжджі є гібридними за своєю природою, про що свідчить молекулярна характеристика верхових штамів, де 25% штамів, що тестуються, ймовірно, були отримані шляхом гібридизації видів *Saccharomyces cerevisiae* і *Saccharomyces*. Гібриди виникли в результаті щонайменше двох гібридизацій, і деякі з них мають те ж походження, що і штами дріжджів, спочатку класифікованих як *Saccharomyces cerevisiae*. Тому можна припустити, що більшість верхових дріжджів, які в даний час класифікуються як *Saccharomyces cerevisiae*, також можуть бути гібридами [24].

1.4. Чинники, які впливають на розмноження і біохімічну активність дріжджів

На життєдіяльність дріжджових клітин значно впливають такі фактори зовнішнього середовища, як температура, рН, формальне число, аерація, концентрація осмотичних речовин, а також деякі хімічні сполуки.

Температура. Дріжджі належать до мезофільних мікроорганізмів, температурний оптимум 26–34 °С. Залежно від раси в діапазоні температур 20–36 °С питома швидкість зростання зростає прямо пропорційно до підвищення температури. При температурі вище 36 °С питома швидкість зростання сахароміцетів різко падає і практично припиняється при 40 °С. При температурі 45-50 °С дріжджі гинуть.

Низькі температури дріжджі не вбивають, але зупиняють їхню життєдіяльність, настає стан анабіозу з подальшим відновленням нормальних функцій при настанні сприятливих умов. Дріжджі добре переносять мінусові температури та в замороженому стані можуть зберігатися необмежений час. Відтавання та повторне заморожування їх вбиває.

Активна кислотність (рН) та формальне число. Дріжджі зберігають життєздатність у межах коливання рН – від 2,5 до 6,5. Оптимальна величина рН живильного середовища для розмноження дріжджів 45–55.

Формальне число свідчить про наявність у середовищі засвоюваного азоту, який буде необхідний для формування білка клітини. Нестача азоту середовищ гальмує синтез біомаси; швидкість зростання дріжджів у своїй знижується. Для забезпечення високої швидкості зростання дріжджів треба дотримуватись оптимальної величини формально число. У період інтенсивного зростання дріжджів формальне число складає: на стадії одержання засівних дріжджів 1,0–1,5 см³ 0,1 М NaOH, а товарних 0,7–0,8 см³ 0,1 М NaOH. У разі зниження його в період інтенсивного зростання до 0,4–0,5 см³ слід терміново вводити у культуральне середовище сульфат амонію або аміачну воду залежно від рН середовища. Наприкінці процесу ф.ч. знижується до 0,2–0,3 см³, а після дозрівання має становити 0,1–0,2 см³ 0,1 М NaOH.

Концентрація поживних речовин середовища. Швидкість росту дріжджів обумовлена осмотичним тиском водорозчинних речовин середовища та концентрацією клітинного соку дріжджів. Осмотичний тиск зовнішнього середовища має бути нижчим, ніж осмотичний тиск клітинного соку, що сприяє засвоєнню поживних речовин зростаючою дріжджовою клітиною. Чим більша різниця у величині осмотичного тиску в клітині та в середовищі, тим швидше накопичується біомаса клітин. Осмотичний тиск клітинного соку підвищується при культивуванні дріжджів у більш концентрованих середовищах. Осмотичний тиск у культуральному середовищі збільшується з підвищенням у ній концентрації сухих речовин.

Концентрацію живильного середовища у дріжджовому виробництві характеризують кратністю розведення, тобто ставленням одиниці маси меляси до кількості маси води, де вона розчинена. Залежно від стадії вирощування дріжджів готують мелясне сусло різного ступеня розведення. Так, у початкових стадіях прагнуть отримати дріжджі фізіологічно активні, здатні до швидкого розмноження та зброджування вуглеводів. Тому їх культивують у мало розбавлених середовищах (1:5– 1:7) при слабкій аерації. В умовах частина цукру неминуче витрачається. У кінцевих стадіях намагаються отримати можливо більший вихід дріжджів і тому їх вирощують у більш розбавлених

середовищах (1:10–1:17) при інтенсивній аерації. Вміст цукру в середовищі має точно відповідати швидкості розмноження дріжджів. З цією метою поживне середовище вводять в дріжджоростильний апарат не одноразово, а припливом, у міру використання її дріжджами [23].

Аерація культурального середовища. Зростання дріжджів супроводжується безперервним споживанням кисню на дихання та синтез клітинних речовин. Кисень, розчинений у живильному середовищі, дифундує в дріжджову клітину при різниці концентрацій його в середовищі та всередині клітини. Чим швидше йде споживання кисню клітинами, тим швидше ростуть дріжджі. Розчинний кисень пригнічує спиртове бродіння та активізує процеси дихання, при якому дріжджі отримують достатньо енергії для біосинтезу.

Тому в анаеробних умовах культивування дріжджів переважає спиртове бродіння з мінімальною витратою цукру на біосинтез, а в аеробних умовах, навпаки, майже весь цукор витрачається на синтез біомаси дріжджів, а спиртове бродіння зводиться до мінімуму.

На повноцінному поживному середовищі дріжджі вирощують при їх забезпеченні киснем з аерацією 100–175 м³/год повітря на 1 м³ суслу. Аерація середовища має бути безперервною [19].

Хімічні речовини. За своєю дією на дріжджові клітини хімічні речовини можна розділити на дві групи: інгібуючі та стимулюючі зростання та розмноження дріжджових клітин. До речовин, які найчастіше зустрічаються в дріжджовому виробництві, що гальмують швидкість росту, можна віднести сульфіді і сульфіти, фтор, миш'як, сірчистий ангідрид, леткі кислоти і нітроти. На швидкість зростання дріжджів також негативно впливають дезінфікуючі речовини, що застосовуються у дріжджовому виробництві (формалін та ін.).

До речовин, що активують ріст і розмноження дріжджів і підвищують швидкість їх зростання, відносяться кукурудзяний екстракт, карбоксилін та ін.

Вимоги до складу живильного середовища. При вирощуванні хлібопекарських дріжджів готують живильне середовище, що забезпечує клітини, що ростуть, як усіма компонентами, що входять до складу дріжджової

клітини, так і тими речовинами, які сприяють швидкому їх росту і розмноженню.

Для живлення мікроорганізмів необхідні вуглець, азот, фосфор, калій, магній, мікроелементи та ростові речовини.

Джерелами вуглецю для дріжджів є різні засвоювані вуглеводи, моно- і дицукри, а також спирти, альдегіди та органічні кислоти.

Азотистим харчуванням можуть бути розчинні сполуки азоту (органічні та неорганічні). Складні високомолекулярні вуглеводи та протеїни дріжджами не засвоюються, тому що в них не містяться ферменти, що гідролізують ці речовини. Дріжджі засвоюють продукти розпаду білків – амінокислоти, амідни та амонійні сполуки.

Велику роль життєдіяльності дріжджів грають макроелементи (K, Na, P, Mg, Ca) і мікроелементи (Fe, Cu, Mn, Zn, Al та інших.), тому присутність в поживному середовищі обов'язково.

Дріжджам необхідні також ростові речовини та вітаміни, особливо біотин.

У дріжджовому виробництві живильним середовищем є освітлений розчин меляси, розчини поживних солей та ростових речовин. Солі, що містять фосфор та азот, додають, виходячи з того, що готова продукція повинна містити 6–7 % азоту та 3,6–4,4 % P_2O_5 у перерахунку на сухі речовини дріжджів. Як джерело стимуляторів росту найчастіше використовується кукурудзяний екстракт, дріжджовий автолізат та дестіобіотин. Кукурудзяний екстракт додають із розрахунку 6 % до маси меляси, дестіобіотин – 400 мг на 1 т меляси. При переробці меляси із вмістом золи нижче 7 % у середовище додаються калійні та магнієві солі.

На формування дріжджових клітин значно впливає як загальна забезпеченість процесу необхідними зростання речовинами, а й розподіл їх під час культивування.

Для отримання високих швидкостей зростання рекомендовано солі, що містять калій, магній та мікроелементи, а також ростові речовини вносити при

завантаженні дріжджорослинного апарату, а вуглеводне, азотне та фосфорне харчування вводити поступово (притокою). Причому необхідно дотримуватися рівноваги між розмноженням дріжджів (їх приростом) та подачею вуглеводного, азотного та фосфорного харчування, а також аерацією культурального середовища. Відсутність збалансованого харчування порушує формування ферментних систем клітини, що знижує швидкість зростання дріжджів та його якість [19].

2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1. Об'єкти і методи дослідження

2.1.1. Об'єкти дослідження

Місце дослідження. ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС Україна» розміщений за адресою: м. Миколаїв, вул. Янтарна, будинок 320.

АВ InBev Efes була утворена 31 березня 2018 року в результаті злиття бізнесів АВ InBev і Anadolu Efes на території України та Росії. Загальна чисельність співробітників складає близько 7 тисяч осіб.

АВ InBev Efes є одним із лідерів українського пивоварного ринку та спільним підприємством найбільшої у світі пивоварної компанії Anheuser-Busch InBev, а також найбільшої пивоварної компанії Туреччини Anadolu Efes.

АВ InBev Efes має три броварні у Чернігові, Харкові та Миколаєві. Портфель пивних брендів складається з глобальних ТМ: Bud, Corona Extra, Stella Artois; міжнародних ТМ: Hoegaarden, Leffe, Beck's, Lowenbrau, Franziskaner, Spaten, Staropramen, Toller, Velkopropovickiy Kozel; а також локальних ТМ: «Чернігівське», «Рогань», «Янтар», «Жигулівське Оригінальне».

У Миколаївському відділенні пивного виробництва функціонують такі відділи:

- **Варильний цех.** У варильному цеху пивоварного заводу здійснюються такі технологічні операції: прийом добового запасу зернопродуктів, очищення зерна від домішок, дроблення зернопродуктів, затирання зернопродуктів, фільтрування затора, кип'ятіння суслу з хмелем, освітлення та охолодження суслу.
- **Дріжджове відділення.** У ньому є 5 танків для зберігання дріжджів. Дозволяє підприємству використовувати до 4 генерацій дріжджів, після чого вони утилізуються;

- **Відділення ЦКТ.** Процеси бродіння та дображування відбуваються у спеціальних резервуарах, званих ЦКТ (циліндро-конічними танками);
- **Відділення фільтрації.** Відділення оснащене мембранними та кізельгуровими фільтрами. Після проходження фільтра пиво стає прозорим;
- **Лінія розливу;**
- **Упаковка.**

Окремим відділом виробництва пива є сушка дріжджів. За допомогою нього завод піклується про довкілля. Найпоширенішим і доступним рішенням з переробки відпрацьованих пивних дріжджів є сушіння, а потім додавання їх у комбікорми як премікси або використання їх як окремий корм.

Також є власні лабораторії, де контролюється якість вхідної сировини, процесу виробництва на кожній стадії та готового біотехнологічного продукту.

Мета та завдання дослідження. Мета досліджень – дослідити вплив різних рас дріжджів на процеси зброджування та культивування в умовах Миколаївське відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС УКРАЇНА».

Об'єкт досліджень – різні раси дріжджів які використовуються в процесі виробництва.

Предмет досліджень – вплив різних рас дріжджів на процеси виробництва.

Для виконання мети були поставлені наступні завдання:

- надати характеристику апаратурно-технологічної схеми;
- провести дослідження різних рас дріжджів за хіміко-технологічними показниками;
- встановити вплив різних рас дріжджів на їх зброджуванність та культивування;
- надати характеристику рас дріжджів, як основного продуцента даних досліджень;
- встановити економічну ефективність проведених досліджень.

Методи дослідження – загально-прийняті стандартні мікробіологічні методи лабораторної та індустріальної пропагації дріжджів.

2.1.2. Методи дослідження

Дослідження проводилися в умовах Миколаївського відділення ПрАТ «АБІНБЕ ЕФЕС України», в період 2020-2021 рр. під час виробничої переддипломної практики.

Під час проходження практики матеріалом дослідження були 2 зразки різних рас дріжджів, якими користується пивовиробництво.

Отримання та зберігання дріжджів. Відповідно до регулярної програми розсилки дріжджів кожен пивоварний завод щокварталу отримує мінімально необхідну кількість пробірок із дріжджами необхідних штамів. Ця кількість пробірок буде покривати потребу заводу в пропагаціях на наступні три місяці, тобто на період максимально допустимого зберігання дріжджів.

При отриманні пробірки з дріжджами перевіряють наявність видимих ушкоджень. У випадку, якщо в упаковку вкладено термоіндикатор, слід перевірити, що під час транспортування дріжджі не були піддані впливу екстремальних температур нижче 1°C або вище 30°C.

Відразу після отримання пробірки з дріжджами поміщають на зберігання в холодильник при 2-3°C.

Повідомляють про успішну доставку. Реєструють офіційне кодування, ID пробірки, дату отримання та термін придатності. Ця інформація має бути легко доступна, оскільки може бути корисною у разі виникнення проблем.

Після закінчення терміну придатності пробірки з дріжджами знищують.

Ведення пропагації. Кожен цикл пропагації починають лише з пробірки. В ідеальному випадку для кожної пропагації слід використати нову оригінальну пробірку. Але на практиці оригінальна пробірка може бути використана неодноразово протягом терміну придатності при дотриманні наступних умов: максимальна кількість використань (відкривання пробірки) – 4, період використання – не більше 4-х тижнів з моменту першого відкривання.

Підготовка лабораторного посуду та обладнання. Стерилізація скляних колб, пляшечок, пробок проводиться в сухожаровій шафі при температурі 180°C протягом 1 години.

Пробірки та колби, призначені для лабораторної пропагації, стерилізуються разом із сушлом в автоклаві при температурі 116 °C протягом 20 хвилин по 2 рази. Проміжок між стерилізаціями – 12-24 години. Перед стерилізацією пробірки та колби ретельно миють, висушують, заливають у них сушло та закривають ватно-марлевими пробками, обгорнутими папером.

Для стерилізації беруть:

- 3 пляшечки по 100 мл, кожна з яких наливають по 30-40 мл сусла;
- 2 колби по 1 л, кожна з яких наливають по 200 мл сусла;
- 2 колби по 2 л, кожна з яких наливають по 800 мл сусла;
- 1 колба на 5 л із 3,5 л сусла.

Слід враховувати, що при стерилізації частина води з сусла випаровується, тому під час підготовки пробірок і колб сушло наливають трохи більше встановленої норми.

Колба Карлсберга стерилізується в автоклаві разом із сушлом 1 раз. Під час підготовки до стерилізації колбу Карлсберга ставлять у автоклав, заливають у неї 25 л сусла (приблизно 2/3 загального обсягу) і закривають кришкою. Потім щільно обертають папером носик крана, сам кран, а також місце кріплення фільтра та клапан скидання тиску. Папір фіксують лляною ниткою. При стерилізації Колби Карлсберга в автоклав закладаються також шланг для аерації, шланг передачі ЧКД пропатор, повітряний фільтр Колби Карлсберга і повітряний фільтр для трубопроводу стерильного повітря. Перед стерилізацією кінці шлангів щільно закривають папером і фіксують його лляною ниткою. Потім складають шланг, щільно пакують його в папір, який також фіксують лляною ниткою.

Перед стерилізацією фільтри ретельно промивають, закладають в них вату, вхідний та вихідний отвори щільно закривають папером і фіксують їх лляною ниткою. Потім щільно обертають фільтри папером та обв'язують.

Після закінчення стерилізації Колби Карлсберга на неї встановлюється повітряний фільтр.

Підготовка сусла. Для лабораторної пропагації ЧКД необхідно використовувати сусло без траба та бруха, щільністю 12-15.0P. Перед початком стерилізації необхідно профільтрувати сусло через кізельгур (1 ложка кізельгуру на паперовий складний фільтр) або вату. Високощільне сусло розбавити дистильованою водою до щільності 12.

Цинк сприяє синтезу білка дріжджовими клітинами та впливає на метаболізм вуглеводів. Кількість цинку, що додається в сусло, повинна бути такою ж, як і для подальшої ферментації. Як норма рекомендована концентрація цинку в суслі повинна бути в діапазоні 0,2-0,6 мг/л Zn^{2+} або 200-600 ppb залежно від раси дріжджів [5].

Лабораторна пропагація. Мета пропагації – зробити біомасу дріжджів, з кількістю мертвих клітин трохи більше 5%, вільну від зараження, з гарною здатністю відтворення ферментів. (Норми якості для SOPs VPO QUAL.3.1.27.25 Менеджмент дріжджів).

1. Сусло: при нормальній щільності 12.0 Plato, колба з перемішуванням струшуванням.

2. Критерії для тривалості інкубації засновані на КДК, що досягається, можуть залежати від температури.

3. Температура має бути $23 \pm 1^\circ\text{C}$ для всіх стадій до Колби Карлсберга;

4. Температура у Колбі Карлсберга – $20-21^\circ\text{C}$.

5. Перемішування на всіх стадіях має бути безперервним (шейкер/мішалка) – обов'язково. У Колбі Карлсберга – перемішування вручну – 1 раз на дві години.

6. Сусло в Колбі Карлсберга і в промисловому пропаторі – відповідає Plato варіння не більше –15' Plato, без мальтози.

Стерильне сусло зберігати у холодильнику за нормальної температури $4-7^\circ\text{C}$ трохи більше трьох днів.

Лабораторна пропагація включає 5 стадій з послідовним збільшенням обсягів (рис. 1): пробірки чи пляшечки; колби 0,5-1 л; колби 2 л; колба 5 л; колба Карлсберга.



Рис. 1. Лабораторна пропагація

Аерація сусла стимулює процес розмноження клітин. Для аерації рекомендується використовувати шейкери або магнітні мішалки. Колба Карлсберга повинна постійно аеруватися стерильним повітрям, так само потрібно перемішувати її кілька разів на день.

Перша стадія лабораторної пропагації-пробірки. Виготовляється паралельно в 3-х пробірках або пляшечках (30-40 мл).

Опис процесу:

- Перед початком пропагації обробляємо кімнату розведення ЧКД кварцюванням протягом години (з розрахунку на площу, що використовується).
- Перевіряємо температуру в кімнаті і при необхідності доводимо її до потрібного значення ($23 \pm 2^\circ\text{C}$).
- Не менше ніж за годину до передачі ЧКД необхідно вийняти пробірку, отриману із ЗЦРД та пробірки зі стерильним суслим із холодильника та помістити їх у кімнату розведення ЧКД з метою нагрівання пробірок до необхідної температури.
- Обробляємо стіл, на якому проводитиметься пропагація та руки 70% спиртом.
- Дістаємо мікробіологічну петлю з ємності з 70% спиртом (рис. 2) і обпалюємо її в полум'ї пальника до червона (рис. 3).

Потім ретельно обпалюємо і ручку петлі (рис. 4).



Рис. 2 Мікробіологічна петля



Рис. 3 Обпалювання мікробіологічної петлі



Рис. 4 Обпалювання ручки мікробіологічної петлі

- Зі суворим дотриманням всіх умов стерильності, поруч із полум'ям пальника (але не над полум'ям!) відкриваємо пробірку з ЧКД і за допомогою мікробіологічної петлі, обов'язково попередньо охолодженої об край середовища, переносимо дріжджі в пробірку зі стерильним сушлом (одна повна дріжджів) пробірку) для отримання першого обсягу інокулята (рис. 5).



Рис. 5 Перенесення ЧКД в пробірку із стерильним сушлом

- Швидко закриваємо пробірки над полум'ям. Пробірку із дріжджами щільно закриваємо і ставимо в холодильник.
- Водостійким маркером відзначаємо на пробірках їхній номер (пробірка №1, №2 та №3), расу дріжджів, номер генерації та розведення, а також дату та час інокуляції.
- Пробірки (пляшки) з інокулятом ставимо для аерації та перемішування на горизонтальний шейкер (рис. 6).

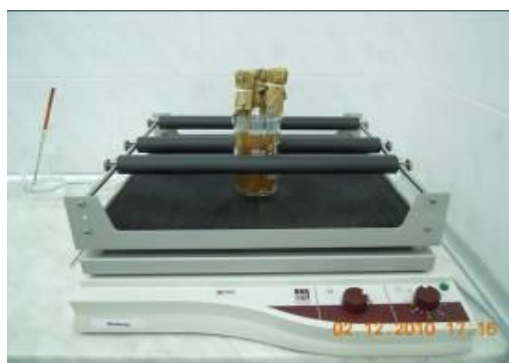


Рис. 6 Пробірки з інокулятом на горизонтальному шейкері

Подальше збільшення обсягу оптимально в кінці експоненційної фази зростання (фази «високих» завитків), клітини швидше адаптуються до змін у навколишньому середовищі, ніж клітини в стаціонарній фазі і, отже, фаза лаг вкорочується.

Друга стадія лабораторної пропagaції – колби по 1 літру. Виготовляється паралельно у 2-х колбах. При переході на другу стадію використовуються дві пробірки (пляшечки), в яких бродіння відбувається інтенсивніше. Опис процесу:

- Перед початком пропagaції обробляємо кімнату розведення ЧКД кварцюванням протягом години.
- Перевіряємо температуру в кімнаті і при необхідності доводимо її до потрібного значення ($23 \pm 2^\circ\text{C}$).
- За кілька годин до передачі ЧКД необхідно вийняти колби із сусликом із холодильника та помістити їх у кімнату розведення ЧКД з метою нагрівання до необхідної температури.

- Обробляємо стіл, на якому проводитиметься пропагація та руки 70% спиртом.
- Переливаємо сусло з ЧКД із пробірки (пляшечки) в колбу поруч із полум'ям (рис. 7).



Рис. 7 Переливання сусла з ЧКД в колбу

- На колбах відзначаємо № пробірки з якої було задано ЧКД, расу, номер генерації та розведення дріжджів, а також час та дату.
- Ставимо колби на горизонтальний шейкер для перемішування та аерації ЧКД (рис. 8).



Рис. 8 Колби на горизонтальному шейкері

Третя стадія лабораторної пропагації-колби по 2 літри. Виробляється аналогічно другій стадії.

Четверта стадія лабораторної пропагації-колба на 6 л. При переході на 4-ту стадію вибирається одна 2-літрова колба в якій бродіння відбувається більш інтенсивно. Виготовляється аналогічно 3-ій стадії.

П'ята стадія лабораторної пропагації – колба Карлсберга.

- Після автоклавування поміщаємо Колбу Карлсберга в кімнату розведення ЧКД не менше ніж за 12 годин до завдання чистої культури. За цей час Колба Карлсберга повинна встигнути охолонути після автоклавування до необхідної температури ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$).
- Перед початком пропагації обробляємо кімнату розведення ЧКД разом із колбою Карлсберга кварцюванням протягом години.
- Обробляємо колбу Карлсберга та руки 70% спиртом.
- Відкриваємо колбу Карлсберга і переливаємо сусло з ЧКД із колби на 6 л у колбу Карлсберга поруч із полум'ям [6].

Аерація колби Карлсберг. Аерація колби Карлсберга проводиться стерильним повітрям у дріжджовому відділенні Бродильного виробництва.

Після завдання ЧКД у колбу Карлсберга вона негайно транспортується до Дріжджового відділення, де підключається до трубопроводу стерильного повітря. Перед підключенням необхідно переконатися, що в зоні знаходження колби Карлсберга відсутні сторонні предмети, підлога та чисте обладнання, а краник трубопроводу (вихід стерильного повітря) щільно закритий кришкою.

Підготовка до аерації.

1. Знімаємо кришку виходу крана стерильного повітря із трубопроводу стерильного повітря, обробляємо вихід 96% спиртом.
2. Перед початком аерації необхідно провести мікробіологічний аналіз повітря із трубопроводу. Для цього розпаковуємо стерильний фільтр для повітря поблизу кріплення та швидко прикручуємо його до краника виходу повітря. Обробляємо 96% спиртом вихідний отвір фільтра.
3. Розпаковуємо установку для відбору повітря (200 мл стерильного фізіологічного розчину) та поблизу полум'я швидко одягаємо його на вихідний отвір повітряного фільтра. Обережно відкриваємо краник подачі повітря і залишаємо для барботування на 30 хв.
4. Через 30 хв закриваємо краник, знімаємо установку відбору повітря, негайно загортаємо в стерильний папір і поміщаємо в бюкс для доставки в

лабораторію. Вихідний отвір повітряного фільтра, що залишився відкритим, обробляємо 70% спиртом і закриваємо стерильним папером або фольгою.

5. До вихідного отвору повітряного фільтра, розпаковуємо один із кінців стерильного шланга для аерації, одягаємо його на повітряний фільтр. Далі розпаковуємо другий кінець шланга та кран колби Карлсберга та приєднуємо шланг до крана.

6. Встановлюємо колбу Карлсберга біля виходу трубопроводу стерильного повітря. Розпаковуємо колбу зі спиртом та встановлюємо її на кришку Колби Карлсберга. Розпаковуємо фільтр Колби Карлсберга, обробляємо його 96% спиртом та одягаємо на нього шланг колби зі спиртом.

7. Відкриваємо кран Колби Карлсберга. Потім дуже повільно і обережно відкриваємо кран подачі стерильного повітря до появи повітряного струменя у спиртовій колбі. Регулюємо інтенсивність подачі повітря за допомогою того ж краника. Аерацію робимо протягом 12-24 годин при температурі 20 ± 2 °C (рис. 9).



Рис. 9 Колба Карлсберга

Під час лабораторної пропагації проводимо мікробіологічний контроль процесу. При підозрі зараження дріжджів проводимо додаткові аналізи. На останній стадії лабораторної пропагації, у колбі Карлсберга, здійснюємо підрахунок кількості мертвих клітин [8].

Рекомендації щодо експлуатації Колби Карлсберга. Після використання колбу Карлсберга необхідно вимити з використанням 2% розчину

NaOH, продезінфікувати, висушити, закрити до використання. Силіконові шланги промити проточною водою до візуальної чистоти. Повітряний фільтр розібрати, промити.

Раз на півроку проводити технічне обслуговування Колби Карлсберга, змащувати кран харчовим мастилом, перевіряти стан мембрани, проводити огляд і заміну силіконових шлангів і прокладок, що зносилися [7].

2.2. Результати та їх обговорення

2.2.1 Характеристика апаратурно-технологічної схеми

Підготовка лабораторного посуду та обладнання. Стерилізація скляних флаконів для сусла, колби Карлсберга, відповідних перехідників та шлангів проводимо шляхом автоклавування при режимі 132 ± 200 °C 20 хвилин при 2 атм. Режим автоклавування контролюється хімічним та, при необхідності, фізичним методом, показаннями світлового табло[11].

Підготовка сусла. Для лабораторного розведення чистої культури дріжджів використовуємо сусло без траба та бруха. Високощільне сусло розбавлемо дистильованою водою до отримання необхідної щільності відповідно до вимоги конкретної раси (табл.1).

Таблиця 1

Залежність густини сусла від раси дріжджів

Умови культивування	Раса дріжджів	
	1	2
щільність сусла °P		
Пропагування до колби Карлсберга	12,0	12,0
Для колби Карлсберга	15,0	15,0

Підготовлене сусло наливаємо у флакони у таких обсягах:

Для рас низового бродіння: 1 – *Saccharomyces pastorianus*

- 3 флакони об'ємом 40 мл з 10 мл сусла 12,00 Р;
- 2 флакони об'ємом 500 мл з 190 мл сусла 12,00 Р;
- 3 флакони об'ємом 2000 мл з 1600 мл сусла 12,00 Р;
- КК з 16,5 л сусла 15,00 Р.

Для раси : 2 – *Saccharomyces cerevisiae*

- 3 флакони об'ємом 40 мл з 10 мл сусла 11,30 Р;
- 2 флакони об'ємом 500 мл з 190 мл сусла 13,00 Р;
- 6 флаконів об'ємом 2000 мл з 1600 мл сусла 13,00 Р;
- КК з 10 л сусла 13,00 Р.

Колбу Карлсберга із суслем стерилізуємо нещільно закритою, отвір для встановлення фільтра закриваємо марлею. Режим стерилізації: 110 С; 0,7 атм.; протягом 20 хвилин. Режим автоклавування контролюємо хімічним та, при необхідності, фізичним методом, показаннями світлового табло. Після закінчення процесу автоклавування встановлюємо фільтр, щільно закручуємо всі важелі та поміщуємо КК для зберігання у приміщення ЧКД.

Підготовка до роботи приміщення боксу ЧКД. Приміщення для роботи з ЧКД (бокс та передбоксник) піддається вологому прибиранню із застосуванням дез. засобів (ДП-2Т), обробляється УФО, для роботи в боксі використовуються окремі ЗІЗ: халат, капці, шапочка, рукавички. Стерильність приміщення контролюється щодня.

Ведення лабораторної пропагації. Перед початком лабораторної пропагації слоп з необхідною расою дріжджів дістаємо з холодильника та прогріваємо, температура дріжджів та сусла повинна бути ідентичною, щоб уникнути температурного шоку дріжджів.

Допускається використання одного слопа не більше 4-х разів протягом 1 місяця з моменту першого відкривання. Дати відкривання контролюються записом на пробірці та у файлі: «Журналі лабораторних розводок».

Лабораторна пропагація ведеться згідно з розробленими схемами. Критерії для тривалості інкубації досягаються КДК, зброджування сусла, можуть залежати від температури.

Під час роботи застосовуються правила асептики та антисептики.

Мета пропагації – зробити біомасу дріжджів, з кількістю мертвих клітин трохи більше 5%, вільну від зараження, з гарною здатністю відтворення ферментів.

Дріжджову культуру зі скошеного агару з дотриманням умов стерильності в полум'ї пальника за допомогою мікробіологічної петлі переносимо у пробірки зі стерильним суслom (одна петля в одну пробірку) для отримання першого обсягу інокулята.

Залежно від температурних умов і застосовуваних дріжджів розрізняють верхове і низове бродіння. Бродіння протікає у кілька стадій. Вони відрізняються один від одного і характеризуються зміною зовнішнього вигляду поверхні бродячого сусла, зміною температури, зниженням екстрактивності сусла і ступенем освітлення молодого пива.

Перша стадія бродіння, що характеризується утворенням поверхні сусла ніжно-білої піни, називається забілом. Через 15-20 год після завдання дріжджів з'являються перші ознаки бродіння. Стає помітним виділення вуглекислоти та поява ніжно-білих бульбашок піни. Початкова стадія бродіння триває 1-1,5 діб і характеризується головним чином розмноженням дріжджів.

Друга стадія бродіння – це період низьких завитків. Виділення бульбашок вуглекислоти стає інтенсивнішим, що з повноцінністю живильного середовища для дріжджових клітин. Стадія характеризується утворенням густої, білої, компактної, піни, що піднімається, яка за зовнішнім виглядом являє собою завитки красивої форми.

Третя стадія, звана стадією високих завитків, характеризується найбільшою інтенсивністю бродіння. Бродіння стає дуже інтенсивним, шар піни досягає найвищої межі, піна стає нерівною, а завитки більші і вищі, ніж у

другій стадії. Розмноження дріжджів закінчується, вміст сухих речовин сусла знижується на 1-1,5% на добу, температура підвищується до максимальної.

Четверта стадія – стадія обпадання завитків – характеризується поступовим опаданням піни, пластівцем утворенням дріжджів, зникненням завитків, в результаті чого поверхня сусла покривається тонким шаром коричневої піни, званої покришкою або декою.

Подальше збільшення обсягу оптимально в кінці експоненційної фази зростання (стадії «високих завитків»), клітини швидше адаптуються до змін у навколишньому середовищі, ніж клітини в стаціонарній фазі і, отже, лаг фаза коротшає [7].

Лабораторна пропагація включає 5 кроків з послідовним збільшенням обсягів. До 3 кроку лабораторну пропагацію проводимо паралельно для двох розводок, починаючи з 4 кроку вибираємо одну колбу в якій бродіння відбувається більш активно.

Температура пропагації не повинна перевищувати 28 °С, рекомендується проводити пропагацію за температури 23±2 °С (табл. 2).

Таблиця 2

Залежність температури пропагації від раси дріжджів

Умови культивування	Раса дріжджів	
	1	2
щільність сусла °P		
Для 1-4 стадії пропагації	23±2	23±2
Для колби Карлсберга	20±2	20±2

Під час лабораторної пропагації проводимо мікробіологічний контроль процесу відповідно до «Плану відбору проб».

При проведенні кожного кроку лабораторної пропагації перед колбою Карлсберга проводимо підрахунок кількості мертвих клітин та підрахунок КДК,

при необхідності проводимо додаткові дослідження відповідно до затверджених методик.

Аерація сусла стимулює процес розмноження клітин. Для аерації рекомендується використовувати шейкери або магнітні мішалки. За відсутності шейкера або магнітної мішалки, пробірки з дріжджовою культурою потрібно струшувати, а колби перемішувати круговими рухами вручну кілька разів на день для кращого надходження повітря [8].

2.2.2 Дослідження різних рас дріжджів за хіміко-технологічними показниками

У пивоварінні застосовують спеціальні раси дріжджів, культивовані у певних виробничих умовах, під впливом яких формується тип пива і його якість. Важливим критерієм оцінки бродильних властивостей дріжджів є зменшення вмісту екстрактивних речовин під час головного бродіння, яке має проходити повільно і постійно.

Активна кислотність сусла значно впливає на якість пива. В готовому пиві намагаються отримати рН 4,2-4,4. Значення рН, нижче за 4,4, що сприяє виділенню в осад колоїдно-нестабільних білкових речовин і покращує смак пива. Більш низькі значення рН (особливо нижче за 4,1) сприяють появі у пиві кислого смаку [17].

Глікоген – головний резервний полісахарид дріжджів. Він відіграє важливу роль у перетвореннях вуглеводів і забезпечує можливість тривалого росту і розмноження дріжджів у несприятливих умовах. Для збереження своєї життєдіяльності в умовах відсутності харчування дріжджова клітина переходить на запасне енергетичне джерело, що знаходиться в ній самій, використовуючи глікоген.

Підвищення рН вказує на початок автолізу дріжджів. Зниження величини рН має проходити помірно й одночасно по всьому об'єму сусла, що сприяє випаданню в осад хмелевих смол і білково-дубильних сполук, наявність яких у

готовому пиві не бажана. У разі автолізу дріжджів параметри якості пива знижуються. Зокрема, змінюється колір пива, з'являється дріжджовий різкуватий присмак, гіркота стає більш вираженою з появою залишкової, падає смакова стабільність через зниження відновлювальних процесів [18].

Бродильну активність дріжджів визначали за ступенем зброджування суслу. Як видно з даних, наведених у таблиці 3, за цим показником досліджувані дріжджі розташовуються у такій послідовності: раса 2, 1.

Таблиця 3

Фізико-хімічні показники молодого пива

Раса дріжджів	Вміст, %			рН	Ступінь зброджування, %		
	видимого екстракту	дійсного екстракту	спирту		видима	дійсна	кінцева
Раса 1	4,38± 0,038	5,15± 0,021	2,97± 0,001	4,55	58,90± 1,26	48,87± 2,21	52,68± 1,48
Раса 2	4,12± 0,016**	4,90± 0,034*	3,29± 0,001***	4,47	61,73± 2,41	49,81± 3,18	56,30± 3,27

За фізико-хімічними показниками раса № 2 характеризується кращими фізико-хімічними показниками. При нижчих показниках видимого і дійсного екстракту – 4,12% та 4,90% відповідно, що вірогідно менше за показники раси № 1 ($P \leq 0,01$ та $P \leq 0,01$), але при цьому у раси № 2 вищий вміст спирту – 3,29% ($P \leq 0,001$). При цьому він має кращі показники зброджування – 49,81-61,73%, порівняно зі зразком раси №1 – видима зброджуваність 61,73%, дійсна – 49,81% і кінцева зброджуваність – 56,30%.

Після доброджування в готовому пиві визначали фізико-хімічні показники. Як видно з даних таблиці 4, незалежно від раси застосованих дріжджів отримане пиво повністю відповідало вимогам чинного стандарту на світле пиво, але кращі фізико-хімічні показники спостерігалися у пива, отриманого з використанням раси 2. Так, вміст видимого та дійсного екстракту був вірогідно меншим за аналогічні показники раси 2 – 0,6% та 1,7 %

відповідно. А вміст спирту при цьому в пиві отриманого з дріжджів раси 2 був вищим – 4,22%.

Таблиця 4

Фізико-хімічні показники пива

Раса дріжджів	Вміст, %			рН	Ступінь зброджування, %		
	видимого екстракту	дійсного екстракту	спирту		видима	дійсна	кінцева
Раса 1	0,8± 0,04	2,0± 0,17	4,12± 0,03	4,48	69,90± 3,12	55,70± 2,17	78,80± 3,04
Раса 2	0,6± 0,01***	1,7± 0,32	4,22± 0,02	4,46	70,72± 1,71	57,17± 1,13	81,72± 2,05

Показники зброджуваності, також, значно кращі у пиві отриманого від раси 2 і становлять 57,17-81,72%.

Таким чином, більш якісне пиво отримується із застосуванням чистих культур або насінневих дріжджів раси 2.

Використання сухих дріжджів, окрім зниженої фізіологічної активності, вони можуть зашкодити здоров'ю обслуговуючого персоналу, що вимагає використання засобів особистого захисту. Якщо не має змоги відмовитись від сухих дріжджів, то для підвищення ефективності використання таких дріжджів їх попередньо потрібно активізувати.

Тому нами поставлено за мету дослідити зміну біомасу дріжджів різних рас в процесі бродіння. Так, нами встановлено, що кількість дріжджових клітин у зваженому стані збільшується у процесі головного бродіння до 60–80 млн./мл, при доброджуванні це значення повинно становити 15–20 млн/мл. (табл. 5). За результатами досліджень встановлено, що найкращою за основними показниками є раса 2, що скорочує процес бродіння на 2 доби.

Бродіння з використанням нових рас дріжджів протікало більш інтенсивно, досягаючи максимуму у раси дріжджів 2 на четверту добу при кількості дріжджових клітин 86,2 млн/см³ та 52,8 млн/см³ відповідно.

Результати заносили у таблицю 5, з якої ми бачимо, що дріжджі раси 1 повільно розброджувалися і максимум цих дріжджів склав на 5 добу – 63,2 млн./см³.

Таблиця 5

Зміна біомаси дріжджів різних рас в процесі бродіння

Тривалість бродіння, діб	Кількість дріжджових клітин, млн./ см ³	
	1	2
0	16,0	16,0
1	24,0	30,12
2	32,60	45,60
3	44,2	68,20
4	52,8	86,2
5	63,2	68,60
6	59,4	47,0
7	41,6	34,12
8	34,6	21,70
9	26,6	10,80
10	12,4	5,10
11	11,4	2,80
12	6,80	1,988
12,5	4,90	16,0
13	3,80	
14	2,00	

Таким чином, за фізико-хімічними та технологічними показниками виявилася кращою раса № 2, яка скорочувала процес бродіння пива на 2 доби і мала нижчі показники видимого і дійсного екстракту – 4,12% та 4,90% відповідно, при вищому вмісту спирту. А як наслідок, більш якісне пиво отримується із застосуванням чистих культур або насінневих дріжджів раси 2.

2.2.3. Дослідження впливу різних рас дріжджів на їх зброджувальність та культивування

Пиво є продуктом біохімічної діяльності дріжджів. Численні реакції, що

перебігають у дріжджових клітинах під час бродіння і доброджування, каталізуються великою кількістю ферментів. Оскільки активність ферментів обумовлена генетичним апаратом дріжджової клітини, то очевидним є вплив дріжджів на перебіг процесів бродіння, доброджування й утворення ними різнобічних продуктів. Основними вимогами до пивних рас дріжджів є висока швидкість зброджування цукрів сусла, утворення пластівців, освітлення пива під час бродіння та надання йому чистого смаку і характерного приємного аромату [11].

Леткі і нелеткі побічні продукти бродіння утворюються як при розмноженні дріжджів, так і під час перетворення вуглеводів в етиловий спирт, тобто синтез таких речовин обумовлений життєдіяльністю дріжджів. Якісний та кількісний склад утворених вторинних і побічних продуктів бродіння багато в чому залежить не тільки від хімічного складу зброджуваного сусла та умов бродіння, а й від раси дріжджів, що застосовуються [24].

Тому метою наших досліджень було порівняти різні раси пивних дріжджів для зброджування пивного сусла.

Порівняємо індустріальну пропагацію двох зразків дріжджів у двох пропаторах та внесення їх до ЦКТ.

В період з 30 липня 2021 року по 1 серпня 2021 року відбувалась індустріальна пропагація зразка дріжджів раси 1. Два дні з яких дріжджі знаходились в пропаторі № 1 (табл. 6). Бачимо, що рН та щільність сусла зменшується, а кількість дріжджів зростає. Це свідчить про те, що дріжджі активно розмножуються споживаючи вуглеводи в суслі. Коли в пиві вміст дріжджових клітин досягає 100-120 млн/л, то вміст пропатора №1 потрібно передати до пропатора № 2.

Це відбулося 31 липня 2021 року о 18:15. В пропаторі № 2 дріжджові клітини також ведуть активне розмноження. Завершальним етапом розведення дріжджів є їх внесення до ЦКТ. Це відбулося 2 липня 2021 року о 5:40.

Таблиця 6

Індустріальна пропagaція дріжджів раси №1

Дата	Час відбору проб	Місце розведення ЧКД	pH	Кількість дріжджів, млн	Щільність суслу	Температура в приміщенні пропagaції
30/07/21	17:40	Пропагатор № 1	5,2	7	15,2	17,0
31/07/21	14:30	Пр № 1	4,56	61	13,1	17,3
31/07/21	17:30	Пр № 1	4,33	86	12,3	17,1
31/07/21	18:15	Пр № 2	5,21	4	14,1	17,0
01/08/21	13:00	Пр №2	4,38	43	11,9	17,0
01/08/21	17:00	Пр № 2	4,1	92	10	17,1
02/08/21	5:40	ЦКТ №7	4,82	28	13	15,0
02/08/21	6:40	ЦКТ №7	4,95	13	14,8	15,8
02/08/21	16:30	ЦКТ №7		35		

В період з 8 серпня 2021 року по 10 серпня 2021 року відбувалося розмноження дріжджів раси 2. З 8 по 9 серпня дріжджі знаходились у пропagaторі № 1. З 9 по 10 серпня у пропagaторі № 2 та 10 серпня о 16:55 дріжджі потрапили до ЦКТ (табл. 7).

Таблиця 7

Індустріальна пропagaція дріжджів раси №2

Дата	Час відбору проб	Місце розведення ЧКД	pH	Кількість дріжджів, млн	Щільність суслу	Температура в приміщенні пропagaції
8/08/21	14:30	Пр № 1	4,9	9	14,8	18
9/08/21	9:10	Пр № 1	4,51	50	13,05	18
9/08/21	12:10	Пр № 1	4,34	65	12,3	18
9/08/21	14:30	Пр № 1	4,15	89	11,6	18
9/08/21	16:00	Пр № 1	3,99	98	10,9	16
9/08/21	16:30	Пр № 2	4,75	13	14,0	16
10/08/21	9:00	Пр № 2	4,27	63	11,4	16
10/08/21	12:00	Пр № 2	4,16	87	10,4	16
10/08/21	15:00	Пр № 2	4,07	110	9,7	15
10/08/21	16:55	ЦКТ № 7	4,76	17	9,7	15
11/08/21	2:30	ЦКТ № 7	4,54	39	12,9	14,1
11/08/21	3:30	ЦКТ № 7	4,88	26	13,9	14,3
11/08/21	14:45	ЦКТ № 7	4,59	48	13,5	14
11/08/21	15:30	ЦКТ № 7	4,81	24	14,3	13,7

Ми можемо спостерігати, що перший і другий зразок розмножуються більш – менш однаково. Якщо проаналізувати внесення двох зразків у ЦКТ, то можна спостерігати, що двом зразкам важко адаптуватися до нової температури приміщення, де вони знаходяться (табл. 6, 7). Це підтверджує факт, що дріжджі люблять тепло і для них дуже важливо створювати усі умови для життя. Протягом деякого часу вони адаптуються до нових умов існування та продовжують життєдіяльність.

Після внесення ЧКД з лабораторії за допомогою колби Карлсберга в пропагатор дріжджі зазнають шоку. Причина цього шоку ще не визначена остаточно, проте він виявляється в уповільненні процесу розмноження дріжджових клітин. Такий же ефект уповільнення зростання вмісту клітин спостерігається і при черговому розведенні дріжджі-сулової суспензії черговим завданням сула.

Таким чином, перша і друга раса у пропагаторі характеризуються однаковими особливостями розмноження. А при внесенні двох рас у ЦКТ, то можна спостерігати, що незалежно від раси дріжджів, вони важко адаптуються до нової температури приміщення, а при зростанні дуже важливо їм створювати усі необхідні умови для життєдіяльності.

3.ТЕХНОЛОГІЧНА ЧАСТИНА

Метою даного розділу був аналіз двох рас дріжджів, а саме *Saccharomyces pastorianus* та *Saccharomyces cerevisiae*, як основного продуцента даних досліджень.

Характеристика. *Saccharomyces cerevisiae* – один з видів дріжджів. Це найбільш відомий та важливий для людини вид дріжджів унаслідок їх використання здавна в пекарстві та пивоварінні. Вважається, що вони були спочатку ізольовані із шкірок винограду (дріжджі можна побачити як один з компонентів тонкого білого наліту на шкірці деяких кольорових і темних плодів, наприклад слив, вони існують серед воску кутикули). Цей мікроорганізм відповідає за найзагальніший тип бродіння. Він відтворюється за допомогою брунькування.

Хімічний склад. Вода – 74%, білки – 12,7%, жири – 2,7%, клітковина – 2,1%, мінеральні речовини (кальцій, калій, фосфор, магній, алюміній, сірка, залізо та ін.), вітаміни В₁, В₂, РР.

Біологічна характеристика. *Saccharomyces cerevisiae* – еукаріотичний одноклітинний мікроб, кулястої форми, жовтувато-зелений. Він хемоорганотрофний, оскільки вимагає органічних сполук як джерела енергії і не вимагає росту сонячного світла. Ці дріжджі можуть використовувати різні цукри, причому глюкоза є найкращим джерелом вуглецю.

S. cerevisiae є факультативно анаеробним, оскільки здатний рости в умовах дефіциту кисню. Під час цього стану навколишнього середовища глюкоза перетворюється на різні проміжні продукти, такі як етанол, СО₂ та гліцерин.

Останній відомий як спиртове бродіння. Під час цього процесу ріст дріжджів не є ефективним, однак це середовище, яке широко використовується промисловістю для ферментації цукрів, що містяться в різних зернах, таких як пшениця, ячмінь та кукурудза.

Геном *S. cerevisiae* був повністю секвенсований, що є першим досягнутим еукаріотичним організмом. Геном організований у гаплоїдний набір із 16 хромосом. Приблизно 5800 генів призначено для синтезу білка.

Геном *S. cerevisiae* дуже компактний, на відміну від інших еукаріотів, оскільки 72% представлений генами. У цій групі приблизно 708 було визначено як учасників метаболізму, здійснюючи близько 1035 реакцій.

Характеристика *Saccharomyces pastorianus*. *Saccharomyces pastorianus* – це дріжджі, що використовуються в промисловості для виробництва табірного пива, і був названий на честь Луї Пастера німцем Максом Рессом у 1870 році. Складний геном цих дріжджів, мабуть, є результатом гібридизації між двома чистими видами в комплексних найбільш цукрів, що призвело до труднощів у встановленні належної систематики цього виду.

Виділення дріжджів. Лабораторна пропагація складається з декількох етапів.

Перший етап це перенесення чистої культури дріжджів у пробірку з 30 мл стерильного сусла, де відбувається інкубація 1-2 дні при температурі 23 градусів з обов'язковим перемішуванням пробірки.

Другий етап – перенесення сусло з ЧКД у колбу 200 мл. Час розмноження – 1 день при температурі 23 градусів з перемішуванням.

Третій етап – перенесення колби 200 мл у колбу 800 мл. Інубація –1 день, температура 23 градуси з перемішуванням.

Четвертий етап – перенесення колби 800 мл у колбу 3,5 л. Інкубація також 1 день при температурі 23 градусів.

П'ятий етап – перенесення у колбу Калсберга, яка містить 15 л сусла, де відбувається інкубація 1 день при температурі 20-21 градус з непереривною аерацією сусла та струшуванням кожні 2-4 години вручну. Схема отримання дріжджів різних рас в умовах Миколаївське відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС УКРАЇНА» представлена на рисунку 9.

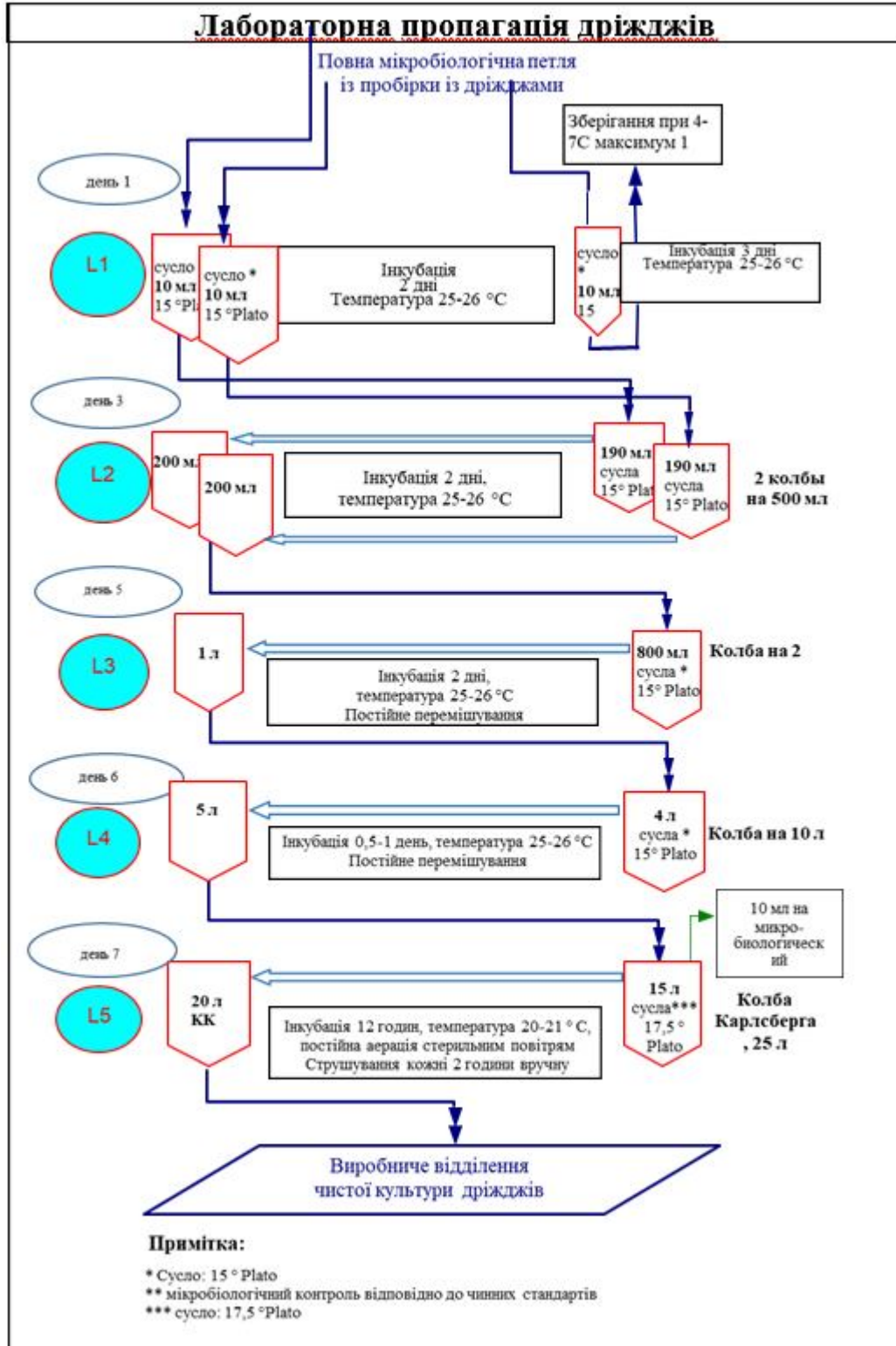


Рис. 9 Схема отримання дріжджів

Таким чином, Миколаївське відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС» впроваджує ефективні способи розмноження чистої культури пивоварних

дріжджів, які дозволяють отримати високий вихід біомаси клітин, сприяють скороченню терміну зброджування сусла і забезпечують зниження собівартості продукції. Використовуючи при цьому лабораторну та індустріальну пропagaцію дріжджів для виготовлення пивного сусла.

4. ЕКОНОМІЧНА ЧАСТИНА

Дослідження проводилися в умовах Миколаївського відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС Україна» в місті Миколаєві.

Головною метою дослідження є порівняння ефективності розмноження дріжджів в умовах підприємства та покупки у сусідніх підприємствах готових дріжджів.

Формування тарифу за дослідження включає наступні показники:

1. Вартість одиниці часу оператора відділу, згідно з окладом, вислуги років та шкідливості.

2. Накладні витрати.

3. Вартість матеріалів, які необхідні для проведення дослідження, за цінами придбання.

1) Оплата праці оператору відділу складає 11900 грн., тому вартість одиниці часу дорівнює: $11900:160$ (кількість годин в місяць) = 74,375 грн. Час роботи працівника 1,5 години, тому $74,375 \text{ грн} \times 1,5 \text{ години} = 111,56 \text{ грн}$.

2) Нарахування податку, який складає 22%: $111,56 \times 22\% = 24,54 \text{ грн}$.

3) Перед початком роботи потрібно все обладнання стерилізувати, а саме колби/пробірки та пропагатор:

- Сухим жаром стерилізують лабораторний скляний посуд (колби, піпетки, пробірки, чашки Петрі та інше) при температурі 160-200 С протягом 2 годин. Електроенергія для підприємства 1 кВт/год – 3,61 грн. Тобто, $2 \times 3,61 = 7,22 \text{ грн}$. Проводиться процедура 2 рази (до та після розведення ЧКД), тому загальна сума 14,44 грн.

- Септичне миття пропагатору: промивання водою – 10 хвилин, циркуляція каустика (каустична сода 90%-120% концентрації) – 15 хвилин; гаряча вода – 30 хвилин; промивання водою – 15 хвилин. Кількісні показники: витрати води – 1000 л; витрати на електроенергію – 0,5 год; каустична сода – 5 кг. Електроенергія – 1 кВт/год для підприємств – 3,61 грн: Водопостачання та водовідведення за 1 куб.м. з ПДВ – 32,292 грн; Ціна за 5 кг каустичної соди –

510 грн. Тобто, $3,61 \times 0,05 + 32,292 + 510 = 542,47$ грн. Проводиться процедура 2 рази (до та після розведення ЧКД), тому загальна сума 1084,95 грн.

4) Вартість дріжджів 11,5 г = 80 грн.

5) Вартість пивного сусла 3500 кг = 37282,61 грн.

Загальна вартість процесу: $14,44 + 1084,95 + 80 + 37\,282,61 + 111,56 + 24,54 = 38598,10$ грн.

Вартість готових дріжджів коштує 122500 грн. Розмножувати дріжджі на підприємстві вигідніше, ніж купувати. Економія складає: $122500 - 38598,10 = 83901,9$ грн.

Крім того, що в 3 рази дешевше розмножувати власноруч раси дріжджів для пивного сусла, так ще і безпечніше. Транспортування мікроорганізмів складний процес, який несе за собою великий шанс на зараження, а головною метою підприємства є безпечний та якісний продукт.

Таким чином, розрахунки економічної ефективності проведених досліджень підтверджують, доцільність використання власноруч розмножених дріжджів, порівняно з закупівлею готових дріжджів. Економічний ефект роботи Миколаївського відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС Україна» при використанні власних рас дріжджів становить 38598,10 грн.

5. БЕЗПЕКА ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ

Вихід залишкових пивних дріжджів становить 1,0-1,2% маси пива. За затвердженою нормою середній вихід їх по промисловості прийнято 0,5% пива, що виробляється. Вважається, що на 10 000 голів пива щорічно доводиться видаляти близько 15-18 тонн залишкових дріжджів.

Відходи спиртового та пивоварного виробництва становлять 10 млн. тонн на рік (за різними даними переробляється від 10 до 25%). Основний обсяг побічних продуктів пивоваріння, до 85%, посідає відпрацьоване зерно – пивну дробину. Інші 15% відходів пивоварного виробництва становлять залишкові дріжджі, солодові паростки та ін.

Залишкові дріжджі мають ХСК (показник хімічного споживання кисню) близько 0,53 кг/гЛ і тому відносяться до дуже потужних споживачів кисню.

ХСК використовують для оцінки якості питної води в природних водоймах та системах водокористування (ступінь забруднення органічними сполуками).

Злив великих мас відпрацьованих дріжджів у будь-яку водойму викликає до життя процеси бродіння та гниття. У стічних водах цих відходи порушують роботу очисних споруд, призводять до колосального навантаження, неконтрольованого зміни балансу і, що найімовірніше і неприємно, зниження якості питної води.

Великі національні виробники використовують різноманітні методи переробки та безпечної утилізації пивних відходів. Невеликі крафтові броварні стимулюють штрафами.

Найпоширенішим і доступним рішенням з переробки відпрацьованих пивних дріжджів є сушіння, а потім додавання їх у комбікорми як премікси або використання їх як окремий корм.

Пивні дріжджі містять 40-50% сирого протеїну, незамінні амінокислоти, мікроелементи та вітаміни групи В. Труднощі в тому, що в чистому вигляді вони погано засвоюються шлунково-кишковим трактом вищих тварин та

людини. Товсті стінки дріжджів мають високу стійкість до травних ферментів. Отже, дріжджові відходи необхідно готувати, обробляти, щоб зруйнувати їхню оболонку.

Залишкові дріжджі широко застосовуються у фармацевтичній промисловості для виробництва лікарських засобів, вітамінних добавок, БАД.

Вбити дріжджі досить легко або високою температурою або обробкою отрутою. Зруйнувати ферменти високою температурою вдається не у всіх випадках, наприклад, дріжджі, висушені при 37° С і піддані в сухому вигляді 6-годинному нагріванню при 100° С, гинуть, а ряд ферментів зберігається. Обробляючи дріжджі ацетоном, одержують убиті дріжджі, але з зруйнованими ферментами.

Для переробки відходів пивного виробництва існує готовий ринок: виробники преміксів та добавок до кормів для тварин, виробники БАД, виробники пластичних мас.

Плюси для пивоварних компаній очевидні:

- зниження фінансових ризиків від можливих штрафних санкцій;
- кратне зниження витрат на утилізацію відходів;
- звання екологічно чистого виробництва з усіма належними

преференціями від влади.

Виробництво. На підприємстві з виготовлення пива потрібне чітке дотримання санітарно-гігієнічних норм для забезпечення безпеки працюючих та споживачів. Результатом цього є стабільна якість продукції на виході.

Основні заходи виробничої санітарії:

1. Виробничий цех щоденно повинен підлягати обробці. Обробці піддається інструмент, виробнича поверхня та стіни. Обробка здійснюється за допомогою мильно-содового розчину, 2% розчину кальцинованої соди та інших спец. засобів.

2. Прибирання в гардеробних приміщеннях здійснюється щонайменше 1 раз на тиждень, для дезінфікування використовують 0,5% розчин хлорного вапна.

3. Дезінфекція фарбованих поверхонь або поверхонь вимощених плиткою – один раз на тиждень.

4. Санітарні приміщення не рідше одного дня на день.

5. Миття інвентарю щоденно після закінчення робочої зміни.

6. Щотижня повинно здійснюватися профілактична дезінфекція [12, 14].

Особиста гігієна працівників. Кожен працівник повинен слідкувати за власною гігієною, робочим місцем та виконанням санітарно-гігієнічних вимог та нести за це відповідальність. Для працівників встановлені такі правила:

1. Перед прийомом на роботу, кандидат повинен обов'язково пройти медичне обстеження, за необхідності вимоги можуть бути змінені санітарно-епідеміологічною.

2. Всі працюючі, без виключень, раз в два роки забор'язані проходити навчання та перевірку знань санітарного мінімуму.

Працівники працюючи на виробництві перед початок зміни повинні прийняти душ та одягти санітарний одяг. Санітарний одяг повинен повністю закривати особистий одяг працівника. Перед початком роботи двічі помити руки в теплій воді. Санітарний одяг необхідно змінювати щоденно або по мірі забруднення.

Для попередження потрапляння в продукцію небезпечних матеріалів забороняється проносити та зберігати потенційно небезпечні предмети, серед яких дрібне скло і металеві предмети. Застібати спец одяг шпильками та голками. Вхід в цех виключно в спец формі призначеній для роботи в цьому цеху.

Перед початком роботи працівник повинен підготувати робоче місце:

- Впевнитися в наявності вільних проходів;

- Впевнитися в надійному кріпленні робочої поверхні;
- Переконалися в відсутності сторонніх предметів на робочій поверхні та біля неї;
- Перевірити наявність та технічний стан робочого інструменту, при необхідності замінити його;
- Розташувати інструмент у порядку частоти його використання [13].

Охорона праці на підприємстві. Служба охорони праці на підприємстві здійснює контроль за дотриманням правил, техніки безпеки та виробничої санітарії. Також завданням служби охорони праці є забезпечення безпечних умов праці. Службу охорони праці очолює інженер з охорони праці. Начальники цехів повинні створювати контроль та безпеку робочих місць підпорядкованих їм працівників.

Працівник який не дотримався правил охорони праці підлягає дисциплінарній відповідальності у відповідності з правилами внутрішнього трудового розпорядку, трудовим договором і, при необхідності, підлягає позачерговій перевірці знань, норм і правил охорони праці.

Для всіх нових працівників проводиться вступний інструктаж. Цей інструктаж є обов'язковим і проводиться для кожного нового працівника без виключень. Метою такого інструктажу є забезпечення працівника основами безпеки на робочому місці, виробничої санітарії.

Для налагодження процесу виробництва керівник проводить інструктаж кожному робітнику на його робочому місці. Він проводиться індивідуально в формі бесіди і закріплюється показом безпечних методів роботи.

Інструктаж для ознайомлення з безпечними методами роботи на робочому місці проводять перед допуском в цех для всіх нових та переведених з іншого цеху робітників.

Повторний проводять згідно графіку і в строки, які встановлюються згідно інструктажу з техніки безпеки зважаючи на складність устаткування та технологічного процесу.

Позаплановий інструктаж з безпечного прийому роботи проводиться в декількох випадках:

- При зміні умов роботи в результаті зміни технологічного процесу, сировини та устаткування.
- При порушенні інструкцій та правил роботи робітниками, недотриманні виробничої та технологічної дисципліни, незважаючи на заходи які були прийняті у відношенні порушника.
- При недостатньому навчанні робітників в разі чого мали місце профзахворювання та/або нещасні випадки.

Проведення всіх видів інструктажів зазначається у спеціальному журналі для інструктажів з виробничої санітарії та техніки безпеки.

Забезпечення незалежного контролю, щодо безпечних умов праці здійснюється державний санітарний і технічний нагляд. Цей контроль здійснюється МОЗ України та санітарно епідеміологічною службою [15, 16].

ВИСНОВКИ

1. За фізико-хімічними та технологічними показниками виявилася кращою раса № 2, яка скорочувала процес бродіння пива на 2 доби і мала нижчі показники видимого і дійсного екстракту – 4,12% та 4,90% відповідно, при вищому вмісту спирту. А як наслідок, більш якісне пиво отримується із застосуванням чистих культур або насінневих дріжджів раси 2.

2. Встановлено, що перша і друга раса у пропаторі характеризуються однаковими особливостями розмноження. А при внесенні двох рас у ЦКТ, то можна спостерігати, що незалежно від раси дріжджів, вони важко адаптуються до нової температури приміщення, а при зростанні дуже важливо їм створювати усі необхідні умови для життєдіяльності.

3. Миколаївське відділення ПрАТ «АБІНБЕВ ЕФЕС» впроваджує ефективні способи розмноження чистої культури пивоварних дріжджів, які дозволяють отримати високий вихід біомаси клітин, сприяють скороченню терміну зброджування сусла і забезпечують зниження собівартості продукції. Використовуючи при цьому лабораторну та індустріальну пропачію дріжджів для виготовлення пивного сусла, що становить економічний ефект 38598,10 грн.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Биотехнология. [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.biotechnolog.ru/map.html>
2. Егорова Н. С. Промышленная микробиология. – М. : Высшая школа, 1999. – 414 с.
3. Аиба Ш., Хемфри А., Миллс Н. Биохимическая технология и аппаратура. – М. : Высшая школа, 1967. – 296 с.
4. Boulton C., Quain D. Brewing Yeast and Fermentation. – Oxford : Blackwell Science, 2001. – 638 с.
5. Кейтуков Ч. М. Развитие систем пропагации пивных дрожжей: автореф. дис. на соиск. науч. степени канд. техн. наук: спец. 05.18.12 «Процессы и аппараты пищевых производств». – М., 2007. – 20 с.
6. Вакербауер К., Хеонг Х., Бекман М. Разведение чистой культуры дрожжей. – Мир пива. – 2004. – № 2. – С. 16–28.
7. Кайтуков Ч. М. Системы пропагации пивных дрожжей, часть 2. – Индустрия напитков. – 2006. – №4. – С. 14–18.
8. Кайтуков Ч. М. Системы пропагации пивных дрожжей, часть 1. – Индустрия напитков. – 2006. – №3. – С.20–23.
9. Кунце В. Технология солода и пива. – Минск : Профессия, 2009. – 1100 с.
10. Меледина Т. В. Сырье и вспомогательные материалы в пивоварение Минск : Профессия, 2003. – 304 с
11. Мелетьев А. Є., Тодосійчук С. Р., Кошова В. М. Технохімічний контроль солоду, пива та безалкогольних напоїв : підручник. – Вінниця : Нова книга, 2008. – 300 с.
12. Закон України "Про охорону праці". Вилучено <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2694-12>

13. Державні санітарні правила та норми, гігієнічні нормативи «Правила влаштування і безпеки роботи в лабораторіях» <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0001588-02#Text>.

14. Заплатинський В. М. Ретроспективний аналіз становлення дисципліни безпека життєдіяльності у вищій школі України. – Вісник Кам'янець-Подільського національного університету імені Івана Огієнка. Фізичне виховання, спорт і здоров'я людини. – 2015 – Вип. 8. – С. 147–152.

15. Желібо Є. П., Зацарний В. В. Безпека життєдіяльності : Підручник. – Київ : Каравелла, 2006 – 288 с.

16. Серіков Я. О. Безпека життєдіяльності. – Харків : ХНАМГ, 2005. – 298 с.

17. Ермолаева Г. А., Колчева Р. А. Технология и оборудование производства пива и безалкогольных напитков. – М. : ИРПО, Издательский центр «Академия», 2000. – 416 с.

18. Карпенко Д. В. Влияние режима сбраживания пивного сусла на содержание этанола в молодом пиве. Пиво и напитки. –2001. – №3– С.40–42.

19. Кунце В. Технология солода и пива / В. Кунце. – Минск : Профессия, 2003. – 912 с.

20. Домарецький В. А., Ковбаса В. М., Прибильський В. Л. Технологія екстрактів, концентратів і напоїв рослинного походження. – К. : Фірма «ІНКОС», 2004. – 600 с.

21. Домарецький В. А., Остапчук М. В., Українець А. І. Технологія харчових продуктів. – К. : НУХТ, 2003. – 572 с.

22. Ермолаева Г. А. Брожение пивного сусла. – Пиво и напитки. – 2009. – №7 – С. 25–27.

23. Домарецкий В. А. Технология пивоваренного и безалкогольного производства. – К. : Вища шк., 1986. – 191 с.

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